

ALEX

ALLERGY EXPLORER 

INSTRUCTIONS D'UTILISATION



Powered by
MAD 
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

UTILISATION CONFORME

L'Allergy Explorer (ALEX) est un test quantitatif de diagnostic in vitro mesurant l'allergène spécifique IgE (sIgE) ainsi qu'un test semi-quantitatif de diagnostic in vitro pour la mesure de l'IgE (tIgE) total dans le sérum ou plasma humain (à l'exception du plasma EDTA). Il est destiné aux laboratoires de chimie clinique, à être utilisé par le personnel de laboratoire formé et le corps médical dans une perspective de soutien du diagnostic clinique des maladies à médiation d'IgE en conjonction avec d'autres constats cliniques ou résultats de tests de diagnostic.

Tous les sensibilisants importants d'allergies sont couverts par le panneau d'allergène ALEX- Veuillez prendre contact avec info@nephrotek.fr ou support@macroarraydx.com pour la liste complète des extraits et des allergènes moléculaires présents sur ALEX.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Les réactions allergiques sont des réactions immédiates hyper sensibles de type I, déclenchées par médiation d'anticorps de la catégorie d'immunoglobulines IgE. Après une exposition à des allergènes spécifiques, la libération des histamines et autres médiateurs par médiation d'IgE des mastocytes et basophiles engendre des phénomènes cliniques comme l'asthme, la rhino-conjonctivite allergique, l'eczéma atopique et des symptômes gastro-intestinaux [1]. De ce fait, un schéma de sensibilisation détaillé aux allergènes spécifiques aide dans l'évaluation des patients allergiques [2-6].

Informations importantes pour l'utilisateur

Afin d'utiliser l'ALEX correctement, l'utilisateur doit lire attentivement ces instructions d'utilisation et les appliquer scrupuleusement. Le fabricant décline toute responsabilité pour une utilisation de ce système de test non décrit dans ce document et pour des modifications du système de test réalisées par l'utilisateur.

PRINCIPE DE PROCÉDURE

ALEX est un immuno-essai à phase solide. Les extraits allergènes ou allergènes moléculaires liés à des nanoparticules sont déposés de manière systémique sur une phase solide afin en un éventail macroscopique. Tout d'abord les allergènes liés aux particules réagissent avec un IgE spécifique présent dans l'échantillon pris sur le patient. Après incubation, l'IgE non spécifique est rincé. Le procédé continue par l'ajout d'une enzyme caractérisée comme un anticorps IgE antihumain composant un complexe avec l'IgE spécifique lié à la particule. Après une deuxième étape de lavage, le substrat est ajouté, puis converti en une précipitation non soluble colorée par l'enzyme liée à l'anticorps. Pour finir, la réaction enzyme-substrat est arrêtée en ajoutant un réactif de blocage. La quantité de la précipitation est proportionnelle à la concentration d'IgE spécifique dans l'échantillon du patient. Le procédé de test de laboratoire est suivi par l'acquisition d'image et l'analyse au moyen de l'appareil ImageXplorer. Les résultats du test sont analysés avec le logiciel Raptor de MADx et présentés dans les unités de réponse d'IgE (kUA/L). Tous les résultats IgE sont encore présentés dans les unités de réponse IgE (kU/L).

EXPÉDITION ET STOCKAGE

ALEX est expédié sous des conditions de température ambiante. Cependant, le kit doit être stocké immédiatement après la livraison à 2-8°C.

S'il est stocké correctement, ALEX et ses composants peuvent être utilisés jusqu'à la date d'expiration indiquée.









Les réactifs du kit restent stables pendant 6 mois après ouverture (dans les conditions de stockage précisées). À l'exception des cartouches ALEX, celles-ci étant emballées unitairement

MISE AU REBUT

Veuillez éliminer les cartouches ALEX utilisées ainsi que les composants du kit non utilisés comme des déchets chimiques de laboratoire. Appliquez toutes les réglementations nationales, régionales et locales en matière d'élimination des déchets.

GLOSSAIRE DES SYMBOLES

La signification des symboles est toujours la même, indépendamment de la couleur

Symboles	Description
	Marquage CE
	Appareil médical de diagnostic in vitro Indique un appareil médical destiné à être utilisé comme un appareil médical de diagnostic in vitro
	Contenu suffisant pour <n> tests Indique le nombre total de tests DIV que vous pouvez réaliser avec le dispositif DIV.
	Consulter les instructions d'utilisation Indique que l'utilisateur doit consulter les instructions d'utilisation.
	Ne pas utiliser quand un paquet est endommagé Indique un appareil médical qu'il ne faut pas utiliser quand le paquet a été endommagé ou ouvert.
	Numéro de catalogue Indique le numéro de catalogue du fabricant permettant d'identifier l'appareil médical.

	Température limite Indique les températures limites auxquelles les (réactifs de) tests peuvent être exposés en toute sécurité.
	Date limite Indique la date limite d'utilisation des (réactifs de) test.
	Ne pas réutiliser Indique le code du lot du fabricant permettant d'identifier le lot.
	Ne pas réutiliser Indique un test destiné à une seule utilisation ou à une utilisation sur un seul patient au moyen d'un seul procédé.
	Avertissement (pictogramme SGH) Se reporter à la fiche de données de sécurité à propos des détails
	Fabricant Indique un fabricant d'appareils médicaux comme défini dans les Directives UE 90/385/CEE, 93/42/CEE et 98/79/CE.
	Information importante
	Uniquement pour l'évaluation de la performance DIV Indique un DIV destiné uniquement à l'utilisation pour l'évaluation des caractéristiques de performance avant le lancement sur le marché pour une utilisation de diagnostic formelle.

Composants du kit ALEX

Chaque composant (réactif) est stable jusqu'à la date citée sur l'étiquette de chaque composant individuel. Il n'est pas conseillé de mélanger des réactifs de différents lots de kits. Veuillez prendre contact avec info@nephrotek.fr ou support@macroarraydx.com. pour une liste des extraits d'allergènes et des allergènes moléculaires fixés sur l'éventail ALEX.

ALEX Test Kit	Pour 20 analyses, calibrage intégré sur tous les événements; emballé et scellé	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration
ALEX Washing Solution	2 bouteilles à 50 mL	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration. Patienter jusqu'à ce que la solution de lavage arrive à la température ambiante avant de l'utiliser. Le réactif ouvert reste stable pendant 6 mois à 2-8°C.
ALEX Sample Diluent	1 bouteille à 9 mL	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration. Patienter jusqu'à ce que le diluant d'échantillon arrive à la température ambiante avant de l'utiliser. Le réactif ouvert reste stable pendant 6 mois à 2-8°C et inclut un inhibiteur CCD.
ALEX Detection Antibody	1 bouteille à 11 mL	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration. Patienter jusqu'à ce que l'anticorps de détection arrive à la température ambiante avant de l'utiliser. Le réactif ouvert reste stable pendant 6 mois à 2-8°C.
ALEX Substrate Solution	1 bouteille à 11 mL	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration. Patienter jusqu'à ce que la solution du substrat arrive à la température ambiante avant de l'utiliser. Le réactif ouvert reste stable pendant 6 mois à 2-8°C.
ALEX Stop Solution	2 flacons de 1,2 mL	Produit prêt à l'emploi. Stocker à 2-8°C. Après une certaine durée de stockage, la solution peut devenir trouble. Cela n'a aucun effet sur le résultat.

Équipement nécessaire pour le traitement et l'analyse d'ALEX

- Pore-cartouche (en option)
- ImageXplorer
- Lab Rocker (angle d'inclinaison 8°, vitesse requise 8 tr/min)
- Chambre d'incubation (LxPxH – 35x25x2 cm)
- Logiciel d'analyse Raptor
- PC/ordinateur portable

ALEX Starter kit contient tout l'équipement requis, hormis le PC/ordinateur portable – **REF 01-0010-00**.

Les éléments individuels du kit de démarrage sont disponibles sur demande. Un PC/ordinateur portable est mis à disposition sur demande seulement.

Équipement requis, non fourni par MADx

- Eau purifiée
- Pipettes & embouts (100 µL & 1000 µL)

Services de maintenance conformément aux instructions du fabricant

Manipulation des éventails ALEX

Ne touchez pas la surface de l'éventail. Tout défaut de la surface provoqué par des objets contondants ou aiguisés peut compromettre la lecture correcte des résultats.

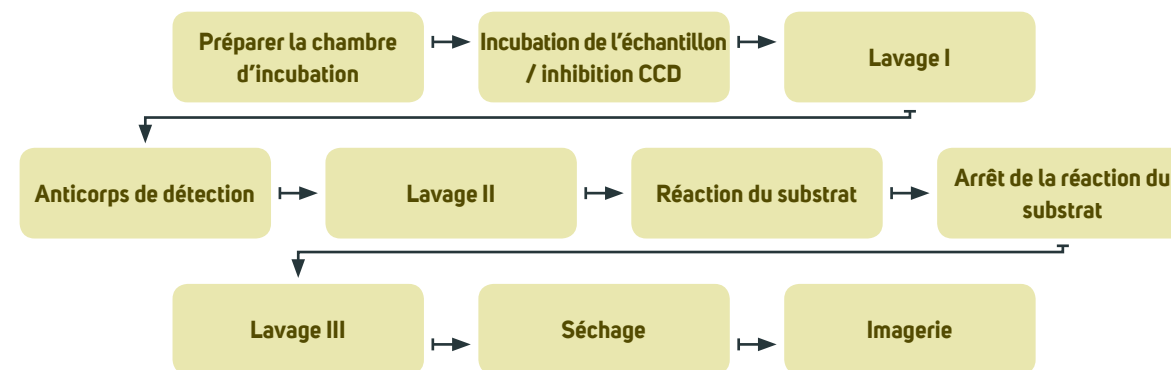
Procurez-vous les images ALEX seulement quand l'éventail est complètement sec (à la température ambiante de la pièce).

Avertissements et précautions

- Il est recommandé de porter des gants et des lunettes de protection ainsi que des manteaux de laboratoire et d'appliquer les bonnes pratiques de laboratoire en préparant et manipulant les réactifs et échantillons.
- Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, toute la matière de source humaine doit être considérée potentiellement infectieuse et doit être manipulée en appliquant les mêmes précautions que pour les échantillons des patients.
- Le diluant de l'échantillon provient partiellement de sources sanguines humaines. Le produit a été testé non-réactif pour l'antigène de surface d'hépatite B (HBsAg), anticorps d'hépatite C (HCV) et anticorps de HIV-1/HIV-2.
- Le diluant de l'échantillon et la solution de lavage contiennent de l'azoture de sodium comme agent de conservation et doit être manipulé prudemment. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande.
- Uniquement pour le diagnostic in vitro. Ne convient pas pour l'utilisation interne ou externe par des humains ou animaux.
- Ce kit doit être utilisé exclusivement par le personnel formé dans la pratique des laboratoires.
- Vérifiez dès la réception, si les composants du kit sont intacts. En cas d'un dommage de composants (par exemple des flacons à solution tampon), nous vous prions de prendre contact avec Nephrotek (info@nephrotek.fr) ou MADx (support@macroarraydx.com). N'utilisez pas de composants du kit endommagés, ils peuvent entraver la performance du kit.
- N'utilisez pas de réactifs passé la date d'expiration.
- Ne mélangez pas de réactifs de différents lots

PROCÉDÉ D'ESSAI

Schéma du procédé d'essai



Préparation:

Préparation des échantillons: Échantillons de sérum ou plasma (héparine, citrate, pas d'EDTA) du sang capillaire ou veineux possibles. Les échantillons de sang peuvent être prélevés selon des procédures standard. Conserver les échantillons jusqu'à une semaine à 2–8°C. Les échantillons de sérum et plasma peuvent être conservés à -20°C pour un stockage prolongé. Les échantillons de sérum/plasma peuvent être expédiés à une température ambiante. Patientez jusqu'à ce que l'échantillon arrive à la température ambiante avant de l'utiliser.

Chambre d'incubation: Fermer le couvercle durant toutes les étapes de l'essai afin de prévenir une baisse de l'humidité.

Paramètres de la procédure

- 100 µL d'échantillon + 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

L'essai prend au total environ 3 h 30 min.

Il n'est pas conseillé d'exécuter plus d'essais que possible de prélever pendant 10 minutes. Toutes les incubations sont réalisées à une température ambiante de 20-26°C.

PROCÉDÉ D'ESSAI ALEX



Tous les réactifs doivent être utilisés à une température ambiante de la pièce (20-26°C). Le test ne doit pas être effectué à la lumière directe du soleil.

1. Préparation de la chambre d'incubation

Ouvrez la chambre d'incubation et placez des serviettes en papier en bas. Trempez les serviettes en papier dans de l'eau purifiée jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de parties sèches visibles.

2. Incubation des échantillons/inhibition CCD

Sortez le nombre de tests ALEX nécessaires et placez-les dans les supports des essais. Ajoutez 400 µL ALEX Sample Diluent dans chaque cartouche. Ajoutez 100 µL d'échantillon de patient dans les cartouches.

Assurez-vous que la solution résultat est distribuée uniformément. Placez les cartouches sur le mélangeur de laboratoire et lancez l'incubation du sérum à 8 tr/min pendant 2 heures. Fermez la chambre d'incubation avec le démarreur le mélangeur de laboratoire. Jetez les échantillons du patient après 2 heures dans un bac de collecte. Essuyez soigneusement les gouttelettes de la cartouche au moyen d'une serviette en papier.



**Évitez de toucher la surface de l'éventail avec la serviette en papier!
Évitez toute contamination croisée des échantillons du patient entre les différentes cartouches ALEX!**

Optionnel: avec le procédé d'inhibition CCD standard décrit dans le paragraphe 2, l'efficacité de l'inhibition d'anticorps CCD est 85 %. Si une inhibition supérieure est requise, préparez un tube d'échantillon d'1 mL et ajoutez l'échantillon ainsi que le ALEX Sample Diluent comme décrit dans paragraphe 2. Incubez pendant 30 minutes (sur le mélangeur de laboratoire à 8 tr/min), puis commencez le procédé comme décrit dans paragraphe 2.

Remarque: L'étape d'inhibition CCD supplémentaire résulte en un taux d'inhibition d'anticorps CCD supérieur à 95 %.

3. Lavage I

Ajoutez 500 µL ALEX Washing Solution dans chaque cartouche et incubez-la sur le culbuteur de laboratoire pendant 5 minutes à 8 tr/min. Jetez la solution de lavage dans un bac de collecte et essuyez les gouttelettes qui restent des cartouches.

Répétez cette étape encore 2 fois.

4. Ajouter les anticorps de détection

Ajoutez 500 µL ALEX Detection Antibody dans chaque cartouche.



Assurez-vous que la totalité de la surface de l'éventail est couverte par la solution de détection d'anticorps ALEX.

Placez les cartouches dans la chambre d'incubation sur le mélangeur de laboratoire et incubez-les à 8 tr/min pendant 30 minutes. Jetez la solution de détection d'anticorps dans un bac de collecte. Essuyez soigneusement les gouttelettes des cartouches au moyen d'une serviette en papier.

5. Lavage II

Ajoutez 500 µL ALEX Washing Solution dans chaque cartouche et incubez-la sur le mélangeur de laboratoire pendant 5 minutes à 8 tr/min. Jetez la solution de lavage dans un bac de collecte et essuyez les gouttelettes qui restent des cartouches.

Répétez cette étape encore 4 fois.

6. Ajouter du substrat

Ajoutez 500 µL ALEX Substrate Solution dans chaque cartouche.

Réglez la minuterie après avoir rempli la première cartouche et remplissez les cartouches suivantes. Assurez-vous que la totalité de la surface de l'éventail est couverte par la solution de substrat et incubez les éventails pendant 8 minutes sur le mélangeur de laboratoire (8 tr/min).

7. Arrêt de la réaction de substrat.

Ajoutez après **8 minutes exactement** 100 µL ALEX Stop Solution à toutes les cartouches, en débutant avec la première cartouche afin de vous assurer que tous les éventails sont incubés au même moment avec la solution

de substrat. Mélangez prudemment afin de distribuer uniformément la solution d'arrêt dans les cartouches de l'éventail après avoir distribué la solution d'arrêt sur la totalité de l'éventail.

Jetez ensuite la solution de substrat des cartouches et essuyez les gouttes qui restent des cartouches à l'aide d'une serviette en papier.

8. Lavage III

Lavez toutes les cartouches avec 500 µL ALEX Washing Solution pendant 30 secondes et éliminez tout le fluide restant de la cartouche en tamponnant délicatement les arêtes avant des cartouches de l'éventail contre une serviette en papier que vous aurez préparée.

9. Analyse d'image

Après avoir terminé le procédé d'essai, laissez sécher les éventails complètement à la température ambiante de la pièce (cela peut prendre jusqu'à 45 min).



Cela est indispensable en raison de la sensibilité du procédé, car seuls les éventails complètement secs peuvent fournir un rapport signal - bruit élevé.

Pour finir, les éventails complètement secs sont scannés à l'aide d'ImageXplorer et analysés au moyen du logiciel Raptor. Veuillez consulter le manuel du logiciel Raptor à propos des détails.

Le logiciel Raptor a été certifié avec MADx ImagerXplorer uniquement, et, en conséquence, Macro Array Diagnostics n'assume aucune responsabilité pour les résultats obtenus à l'aide d'un autre système d'imagerie (par exemple, un scanner plat).

Calibrage de l'essai

Des variations systémiques des niveaux de signal sont normalisés par un calibrage hétérologue contre une courbe de référence IgE. L'ajustement de la courbe est calculé, et l'équation en résultant est appliquée afin de transformer les unités d'intensité arbitraire en unités quantitatives. Les paramètres de courbe pour chaque lot sont adaptés moyennant des tests de référence internes contre une préparation de sérum testée sur ImmunoCAP pour des IgE spécifiques de différents allergènes. Les résultats ALEX peuvent, de ce fait, être retracés indirectement contre la préparation de référence de l'OMS 75/502 pour l'IgE total.

Des paramètres de calibrage de lot spécifiques sont codés dans le code-barres et référencés contre une courbe IgE standardisée présente sur chaque cartouche de test pour ajustement en fonction des variations de l'essai. Les résultats de tests IgE d'ALEX sont exprimés comme kU_A/L . Les résultats IgE totaux sont des valeurs semi-quantitatives calculées de deux mesures anti-IgE différentes, avec des facteurs de calibrage de lot spécifiques codés dans le code-barres d'ALEX.

Plage de mesure

IgE spécifique : 0.3-50 kU_A/L , quantitatif

IgE total: 1-2500 kU/L , semi-quantitatif

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Suivi de chaque essai

Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est conseillé de documenter le numéro de lots de tous les réactifs utilisés

Spécimens de contrôle

Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est conseillé d'inclure des échantillons de contrôle de qualité selon les intervalles définis.

ANALYSE DE DONNÉES

ImageXplorer doit être utilisé pour l'analyse des images des éventails traités. Les images d'ALEX sont automatiquement analysées au moyen du logiciel Raport de MADx, puis un rapport est généré résumant les résultats pour l'utilisateur.

RESULTATS

ALEX est une méthode quantitative pour des IgE spécifiques et une méthode semi-quantitative pour tous les IgE. Des anticorps IgE spécifiques pour certains allergènes sont exprimés comme des unités de réponse IgE (kUA/L), le total des résultats IgE comme kU_A/L . Le logiciel Raport de MADx calcule automatiquement les résultats IgE (quantitatifs) et IgE (semi-quantitatifs) et rédige un rapport.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Un diagnostic clinique définitif doit être prononcé uniquement en association avec tous les résultats cliniques obtenus par le corps médical, il ne doit pas être basé uniquement sur une seule méthode de diagnostic.

Pour certains domaines d'application (par exemple l'allergie alimentaire), les anticorps IgE ne sont éventuellement pas détectés, même en cas d'une manifestation d'une allergie alimentaire contre un certain allergène, parce que les anticorps peuvent être spécifiques pour des allergènes modifiés durant la transformation industrielle, la cuisson ou la digestion, et ils ne sont donc pas présents dans l'aliment original pour lequel le patient est testé.

Un résultat de venin négatif indique uniquement un niveau non détectable d'anticorps IgE spécifiques au venin (notamment suite à une exposition de longue durée) et ne peuvent pas exclure l'existence d'une hypersensibilité clinique aux piqûres d'insectes.

VALEURS ATTENDUES

L'association étroite entre les niveaux d'anticorps IgE spécifiques aux allergènes et une maladie allergique est bien connue et décrite extensivement dans la littérature [1]. Chaque patient sensibilisé aura un profil IgE personnel quand il est testé avec ALEX.

La réponse IgE avec des échantillons d'individus sains non allergiques sera inférieure à 0,3 kU_A/L pour les allergènes moléculaires individuels et pour les extraits d'allergènes lors des tests avec ALEX.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent à chaque laboratoire d'établir sa gamme de valeurs attendues.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Précision

Les coefficients de variation listés ci-dessous (CV) ont été déterminés pour des échantillons de sérum représentatifs (n=96) à l'aide d'un même lot de réactifs. Les échantillons de patients à sensibilité multiple ont été testés en triplets sur 10 différents cycles d'essais [7].

Concentration - kU _A /L	Intra CV%	Inter CV%	Total CV%
0,3 – 1,0	20	11	25
1 -10	10	6,3	16
>10	6,9	3,9	11

Sensibilité analytique

La limite de détection a été déterminée conformément à la ligne directrice CCRS EP17-A [8] pour composants représentatifs des allergènes ; elle est inférieure à 0,3 kU_A/L pour tous les composants et extraits d'allergènes.

Spécificité analytique

Il n'existe pas de réactivité réciproque détectable avec d'autres immunoglobulines humaines (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 et IgM) à une concentration physiologique normale.

Interférence

Il n'existe pas d'interférence détectable avec la bilirubine, le cholestérol/les triglycérides et l'hémoglobine à une concentration physiologique normale.

Il n'y a pas non plus d'interférence avec le tIgE testé dans une concentration jusqu'à 3000 kU/L.

GARANTIE

Les données de performance présentées dans ce document ont été obtenues à l'aide du procédé décrit dans ces instructions d'utilisation. Tout changement et toute modification du procédé peut avoir une incidence sur les résultats, et, le cas échéant, Macro Array Diagnostics décline toute prestation sous garantie (y compris la garantie impliquant une aptitude à la commercialisation et l'utilisation). En conséquence, Macro Array Diagnostics et ses distributeurs agréés ne peuvent pas être tenus responsables des dommages directs ou indirects d'une telle circonstance.

RÉFÉRENCES:

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 Mullo, 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

MADx
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

01-IFU-01-FR-01

2019-03

©Droit d'auteur détenu par Macro Array Diagnostics

Macro Array Diagnostics GmbH (MADx)

Gutheil-Schoder-Gasse 17

1230 Vienna

Austria

+43 (0)1 865 2573

support@macroarraydx.com

Afin d'éviter d'allonger considérablement les présentes instructions d'utilisation, la liste complète des extraits et allergènes présente sur ALEX n'est pas copiée dans ce document.

Veuillez prendre contact avec support@macroarraydx.com pour recevoir la liste complète des extraits et allergènes présente sur ALEX.