

# Polycheck<sup>®</sup>

**Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE**

**English: Page 1-6**

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE

Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera

Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem

Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche

Italiano: Pagine 25-30

## REF:

**MKPPC 1 (Z)**

Pediatric Screen

**MKIPC 1 (Z)**

Inhalation Screen

**MKFPC 1 (Z)**

Food Screen

**MKMPC 1 (Z)**

Mediterranean Screen



20 (10)











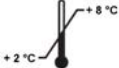

Biocheck GmbH  
Vorbergweg 41  
D-48159 Münster  
Germany

IVD

Distribution/Service:  
Vertrieb/Service:

**Milenia Biotec GmbH**  
Versailler Straße 1  
D-35394 Gießen, Germany  
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0  
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80  
E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)  
<http://www.milenia-biotec.de>

## Explanation of Symbols

| Symbols (GB)<br>Symbole (DE)<br>Simboli (IT)<br>Símbolos (ES)<br>Symboles (FR)<br>Jelölés (HU)<br>Symbole (PL)<br>Σύμβολα (GR)<br>Symbol (CZ) | Explanation<br>Erklärung<br>Significato<br>Significado<br>Signification<br>Magyarázat<br>objaśnienia<br>Επαξήγηση<br>Vysvětlení   | Symbols (GB)<br>Symbole (DE)<br>Simboli (IT)<br>Símbolos (ES)<br>Symboles (FR)<br>Jelölés (HU)<br>Symbole (PL)<br>Σύμβολα (GR)<br>Symbol (CZ) | Explanation<br>Erklärung<br>Significato<br>Significado<br>Signification<br>Magyarázat<br>objaśnienia<br>Επαξήγηση<br>Vysvětlení   |
|---|---|---|---|
|    | Expiry date<br>Haltbarkeitsdatum<br>Data di scadenza<br>Fecha de caducidad<br>Date d'expiration<br>Lejárati idő<br>Data przydatności<br>Ημερομηνία λήξης<br>Datum expirace  |    | Package size<br>Packungsgröße<br>Numero di test<br>Número de determinaciones<br>Nombre de tests par trousse<br>Kiszerezés nagysága<br>Ilość testów<br>Μέγεθος Συσκευασίας<br>Velikost balení  |
|   | <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device<br>In Vitro Diagnostikum<br>Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i><br>Para uso en el Diagnóstico <i>in vitro</i><br>Diagnostic <i>in vitro</i><br>In vitro diagnosztikum<br>Do diagnostyki <i>In Vitro</i><br>In Vitro ιατρική διαγνωστική συσκευή<br>In vitro diagnostikum |   | Manufacturer<br>Hersteller<br>Produttore<br>Fabricante<br>Fabriqué par<br>Gyártó<br>Producent<br>Παραγωγός<br>Výrobce   |
|    | Batch code<br>Los-Bezeichnung<br>Codice del lotto<br>Lote<br>Numéro de lot<br>Sarzszám<br>Kod partii towaru<br>Αριθμός Παρτίδας<br>Číslo šarže  |    | Only for evaluation purposes<br>Nur zur Leistungsbewertung<br>Solo per uso sperimentale<br>Con fines exclusivos de evaluación<br>Pour évaluation uniquement<br>Kizárólag vizsgálati célokra<br>Tylko do oceny produktu<br>Μόνο για λόγους αξιολόγησης<br>Pouze pro vyhodnocování                                |
|    | Catalogue number<br>Artikel-Nummer<br>Numero di catalogo<br>Referencia<br>Référence<br>Katalógusszám<br>Numer katalogowy<br>Αριθμός Καταλόγου<br>Katalogové číslo   |    | Consult Instructions for Use<br>Gebrauchsanweisung beachten<br>Consultare le istruzioni per l'uso<br>Consultar instrucciones de uso<br>Consulter la notice<br>A használati utasítás tanulmányozandó<br>Informacja dla użytkownika<br>Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης<br>Přečtěte si návod k použití           |
|    | Storage conditions<br>Lagerungsbedingungen<br>Temperatura di conservazione<br>Temperatura de conservación<br>Température de conservation<br>Tárolási körülmények<br>Temperatura przechowywania<br>Συνθήκες Φύλαξης<br>Skladovací podmínky   |    | Consult attended documents<br>Begleitdokumente beachten<br>Consultare i documenti relativi<br>Consultar documentos adjuntos<br>Consulter le document avec attention<br>A csatolt dokumentumok tanulmányozandók<br>Dodatkowe dokumenty<br>Συμβουλευτείτε τα αντίστοιχα έντυπα<br>Projděte si příslušné dokumenty |

## Materials Supplied, Storage and Stability

| Components  | Cat.-No.    | Content                         | Preparation                                     | Store at   | Shelf Life  |
|---|-------------|---------------------------------|---|--|---|
| <b>Polycheck® Pediatric Screen,</b><br>Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens:<br>f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06, w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02     | MCPPC 1(Z)  | 20 (10) Chips                   | ready to use                                    | 2 - 8 °C<br><b>Protect from moisture!</b><br><br>Store together <b>with desiccant</b> in a carefully sealed <b>plastic bag</b> | until the expiration date                                 |
| <b>Polycheck® Inhalation Screen,</b><br>Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02, e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06    | MCIPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                   |   |  |   |
| <b>Polycheck® Food Screen,</b><br>Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens:<br>f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25, f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05          | MCFPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                   |   |  |   |
| <b>Polycheck® Mediterranean Screen,</b><br>Chip coated with 5 calibrators and 20 allergens:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06 | MCMPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                   |   |  |   |
| <b>Start Solution,</b><br>buffered protein solution   | MSPC        | 2 vials (1 vial)<br>5 mL, blue  | ready to use                                    | 2 - 8 °C   | 30 days after opening, respectively until expiration date |
| <b>anti-IgE Antibody,</b><br>monoclonal (murine) antibody labeled with ligand   | MAPC        | 2 vials (1 vial)<br>5 mL, green | ready to use                                    | 2 - 8 °C   | 30 days after opening, respectively until expiration date |
| <b>Enzyme-Labeled anti-Ligand,</b><br>Ligand conjugated to alkaline phosphatase   | MEPC        | 2 vials (1 vial)<br>5 mL, white | ready to use                                    | 2 - 8 °C   | 30 days after opening, respectively until expiration date |
| <b>Substrate Solution,</b><br>5'bromo-4'chloro-3' indolyl-phosphate-and 4' nitroblue tetrazolium, buffered  | MBPS3       | 2 vials (1 vial)<br>5 mL, black | ready to use                                    | 2 - 8 °C<br><b>protect from light!</b>   | 30 days after opening, respectively until expiration date |
| <b>Wash Buffer,</b><br>phosphate buffer, pH 7.4   | MWBPC       | 1 pouch                         | dissolve in 1 litre sterile demineralized water | 2 - 8 °C   | 30 days after opening, respectively until expiration date |

Material Safety Data Sheets are available on request (look as well [www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de)).

## Materials Required

- Personal computer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), printer
- Flat- bed- scanner (requested types on demand)
- Biocheck Imaging Software (BIS) for patient-oriented analysis, calculation and report
- shaker (orbital shaker: approx. 120 rpm)
- variable pipette for 250 µl up to 1000 µL; Multipette (1 mL) to dispense the wash solution
- sterile demineralized water
- sterile-one-litre bottle (for diluted wash solution)

## Specimen Collection and Preparation

Sera samples can be stored at 2-8 °C for up to 3 days. Storage at -20°C or lower is recommended for longer term storage. Avoid repeated freezing and thawing. Lipemic sera should be cleared by centrifugation.

## Warnings and Precautions

All reagents of this kit are strictly intended for *in-vitro* diagnostic use only. Do not replace or mix up reagents from one and the same or several test packages. Reagents' bottles shelf-life (30 days) starts with opening the bottles. Opened bottles should be used beforehand opening a new bottle! Only the powdered wash buffer can be exchanged between several kit packages. The application should be used by staff particularly informed and educated in the practice of *in-vitro* diagnostics. Compliance with the prescribed protocol for test implementation is always recommended. Sample material of patients (e.g. serum or plasma) normally used in laboratory determinations are always considered potentially infectious. Samples of such high risk patient groups should always be marked clearly and if necessary be handled in safety work benches (e.g. lamina flow bench).

## Method and Test Principle

The Polycheck<sup>®</sup> screening assay is an enzyme- immuno assay for the quantitative determination of allergen-specific IgE. There are 20 lines of relevant paediatric, food, or inhalant allergens coated together with 5 calibrators on a carrier membrane, which is located in the cavity of the Polycheck<sup>®</sup> chip. During incubation the patient's serum allergen-specific IgE binds to the corresponding allergens. Non-bound serum components are removed by washing. Ligand labeled anti-IgE antibodies bind to allergen-specific IgE. Unbound antibodies are removed by washing. Enzyme-labeled anti-ligand binds to the immune-complexes; surplus of enzyme conjugate is washed away. The substrate solution is added. Specifically bound enzymes convert the colourless substrate to a dark precipitate. The colour intensity of the (allergen-) lines is proportional to the respective allergen-specific IgE concentration in the patient's serum.

The Polycheck<sup>®</sup> chips can be evaluated using the Biocheck Imaging Software (BIS), a PC and a flat- bed scanner. The results are quantified in kU/L. This calculation is based on a number of calibrators, run on each chip.

## Test Performance

### Important notes:

- The required number of chips and test reagents should be at room temperature, before use.
  - Powdered wash buffer should be diluted with steril demineralized water at least 30 minutes prior to use. Use a steril bottle.
  - Do not allow the membrane of the test chips to dry during the assay is running.
  - All incubation steps are performed at room temperature (18-24°C) and with continual shaking.
1. Prepare a required number of Polycheck<sup>®</sup> allergen chips and mark them. Overlay allergen chips with **400 µL** Start Solution (blue) and incubate them for a few seconds. Tap the chips carefully on adsorbent paper.
  2. Add **400 µL** patient's serum and incubate for **45 minutes** on an orbital shaker.
  3. Decant sample, and wash **three times** with **1 ml** wash buffer.  
For that place the chips onto the work bench and pipet carefully 1 ml wash buffer into the cavity of the chip. Decant washing solution from the wells into a sink. Afterwards, add two times more 1 ml wash buffer in the same way into the cavities. After this, tap the chips carefully on adsorbent paper again.
  4. Then, pipet **400 µL** wash buffer into every chip cavity and incubate for **5 minutes** on the shaker. Decant and wash again every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap the chips carefully on adsorbent paper.
  5. Pipet **400 µL** anti-IgE Antibody (green) and incubate for **45 minutes** on the shaker.
  6. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully chips on adsorbent paper.
  7. Add **400 µL** Enzyme-labeled Anti-Ligand (white) and incubate for **20 minutes** on the shaker.
  8. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully on adsorbent paper.
  9. Pipet **400 µL** substrate solution (black) and incubate **20 minutes in the dark** on the shaker.
  10. Decant and wash every chip **3x with 1 ml** wash buffer. Tap carefully the chips on adsorbent paper.
  11. Let the Polycheck<sup>®</sup>Chips become **air-dry**. Before evaluation with a scanner and the BIS software the membranes **must be absolutely dry!**

The chips can be evaluated up to 3 month, if they will be stored at room temperature and protected from light and humidity.

## Interpretation of Results

The evaluation of the Polycheck<sup>®</sup> allergen chips are operated with the assistance of a PC, the Biocheck Imaging Software (BIS), and a flat-bed scanner. The Software (BIS) analyzes, documents, and stores all patients' results in its database.

The Polycheck<sup>®</sup> Allergen chips are placed upside down onto the flat-bed-scanner's surface. Afterwards they are scanned and the data are processed by the software. - Please note orientation labelling on the surface.

The BIS-program verifies the technique of the chips, the validity of the calibrators, and ranges the intensity of greyscales and the position of the scanned band pattern to each allergen of the selected panel. BIS calculates allergen-specific IgE concentrations for each allergen on the membran. A patient's report is generated for every sample. There are all allergens listed which have been tested in this panel with the present concentration of allergen specific IgE. The results were quantitatively reported in International Units [kU IgE/L]. The RAST-class score to the respective IgE concentrations, and its clinical interpretation is shown in the following table:

| IgE [kU/L] | Class | Interpretation   |
|------------|-------|--|
| < 0.35     | 0     | No allergen specific antibody detectable   |
| 0.35 – 0.7 | 1     | Very low antibody titer; often no clinical symptom- despite sensitization        |
| 0.7 – 3.5  | 2     | Low antibody titer; sensitization, often clinical evidence in upper class ranges |
| 3.5 – 17.5 | 3     | Clear antibody titer; clinical evidence is mostly present                        |
| 17.5 – 50  | 4     | High antibody titer; always nearly with existing actuality clinical signs        |
| 50 – 100   | 5     | Very high antibody titer   |
| > 100      | 6     | Extreme high antibody titer  |

## Limitation of the Method

1. A definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single diagnostic method. It should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
2. Allergenicity of food allergens may be modified by heating (cooking) and/or digestion. In this case the Polycheck<sup>®</sup> results may be inconsistent with the clinical findings.
3. Due to occurrence of common antigenic determinants in allergens of one natural substance family, the possibility of crossreactions cannot completely be excluded. With the Polycheck<sup>®</sup> system only the declared allergen panels can be covered, but not other (crossreacting) allergens!

## Assay Characteristics

|                        |  |
|------------------------|--|
| Sample material:       | serum  |
| Incubation time:       | 2 hours and 10 minutes at room temperature (18-24°C) on an orbital shaker            |
| Lower detection limit: | 0.15 kU/ L   |
| Specificity            | human IgE; no crossreaction with IgG, IgA, IgD, IgM                                  |
| Calibration:           | using single donor's and pool sera with defined allergen- specific IgE concentration |
| Method Comparison      | skin tests and alternative solid-phase immunoassays                                  |

## Short Instruction: Polycheck®

| Steps  | Solution                           | per Chip |
|--|------------------------------------|----------|
| Pipet  | Start Solution (blue)              | 400 µl   |
| Incubate a few seconds, decant and tap the chips on absorbant paper.   |                                    |          |
| Pipet  | Sample                             | 400 µl   |
| Incubate <b>45 min at room temperature (RT)</b> on an orbital shaker.  |                                    |          |
| Decant, wash <b>3x</b> with <b>1mL</b> wash buffer (per chip).<br>Add <b>400 µL</b> wash buffer and incubate <b>5 min</b> at <b>RT</b> on the shaker.<br>Decant, wash <b>3x</b> with <b>1mL</b> wash buffer, tap the chips on absorbant paper. | Wash Buffer                        | 400 µl   |
| Pipet  | Ligand-labeled anti-IgE (green)    | 400 µl   |
| Incubate <b>45 min at RT</b> on an orbital shaker.   |                                    |          |
| Decant, wash <b>3x</b> with <b>1mL</b> wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.   |                                    |          |
| Pipet  | Enzyme-labeled anti-Ligand (white) | 400 µl   |
| Incubate <b>20 min at RT</b> on a shaker.  |                                    |          |
| Decant, wash <b>3x</b> with <b>1mL</b> wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.   |                                    |          |
| Pipet  | Substrate Solution (black)         | 400 µl   |
| Incubate <b>20 min at RT</b> on a shaker <b>in the dark</b>  |                                    |          |
| Decant, wash <b>3x</b> with <b>1mL</b> wash buffer (per chip), tap the chips on absorbant paper.   |                                    |          |
| Air-dry the chips.   |                                    |          |
| Evaluate the <b>dry</b> chips by using Biocheck Imaging Software and a scanner.  |                                    |          |

For detailed description of the procedure see page 4, also.

## Available Panels:

| Pediatric (MKPPC)       |     | Inhalation (MKIPC)      |     | Food (MKFPC)         |     | Mediterranean (MKMPC)                         |     |
|-------------------------|-----|-------------------------|-----|----------------------|-----|---|-----|
| Peanut                  | f13 | Birch Pollen            | t03 | Hazelnut             | f17 | Birch Pollen / <i>Betula alba</i>             | t03 |
| Milk                    | f02 | Alder Pollen            | t02 | Peanut               | f13 | Alder Pollen / <i>Alnus spp.</i>              | t02 |
| Egg White               | f01 | Nutbush Pollen          | t04 | Walnut               | f16 | Nutbush Pollen / <i>Corylus avellana</i>      | t04 |
| Egg Yolk                | f75 | Oak Pollen              | t07 | Almond               | f20 | Oak Pollen / <i>Quercus robur</i>             | t07 |
| Potato                  | f35 | Timothy Grass           | g06 | Milk                 | f02 | Timothy Grass / <i>Phleum pratense</i>        | g06 |
| Carrot                  | f31 | Cultivated Rye          | g12 | Egg White            | f01 | Cultivated Rye / <i>Secale cereale</i>        | g12 |
| Codfish                 | f03 | Mugwort                 | w06 | Egg Yolk             | f75 | Common Ragweed / <i>Ambrosia elatior</i>      | w01 |
| Apple                   | f49 | English Plantain        | w09 | Casein               | f78 | Mugwort / <i>Artemisia vulgaris</i>           | w06 |
| Soybean                 | f14 | <i>D. pteronyssinus</i> | d01 | Potato               | f35 | English Plantain / <i>Plantago lanceolata</i> | w09 |
| Wheat Flour             | f04 | <i>D. farinae</i>       | d02 | Celery               | f85 | Pellitory / <i>Parietaria judaica</i>         | w21 |
| Birch Pollen            | t03 | Dog Epithelia           | e02 | Carrot               | f31 | Olive Pollen / <i>Olea europea</i>            | t09 |
| Timothy Grass           | g06 | Cat Epithelia           | e01 | Tomato               | f25 | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>         | d01 |
| Mugwort                 | w06 | Horse Epithelia         | e03 | Codfish              | f03 | <i>Dermatophagoides farinae</i>               | d02 |
| <i>D. pteronyssinus</i> | d01 | Guinea pig Epithelia    | e06 | Shrimp               | f24 | Dog Epithelia                                 | e02 |
| <i>D. farinae</i>       | d02 | Hamster Epithelia       | e84 | Peach                | f95 | Cat Epithelia                                 | e01 |
| Dog Epithelia           | e02 | Rabbit Epithelia        | e82 | Apple                | f49 | Horse Epithelia                               | e03 |
| Cat Epithelia           | e01 | <i>A. fumigatus</i>     | m03 | Soybean              | f14 | <i>Aspergillus fumigatus</i>                  | m03 |
| Horse Epithelia         | e03 | <i>C. herbarum</i>      | m02 | Wheat Flour          | f04 | <i>Cladosporium herbarum</i>                  | m02 |
| <i>A. fumigatus</i>     | m03 | <i>P. notatum</i>       | m01 | Sesame               | f10 | <i>Penicillium notatum</i>                    | m01 |
| <i>C. herbarum</i>      | m02 | <i>A. tenius</i>        | m06 | Cultivated Rye Flour | f05 | <i>Alternaria tenuis</i>                      | m06 |

# Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE  
English: Page 1-6

**Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE**  
**Deutsch: Seite 7-11**

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera  
Polski: Strony 12-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem  
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche  
Italiano: Pagine 25-30

## REF:

**MKPPC 1 (Z)**

Pediatric Screen

**MKIPC 1 (Z)**

Inhalation Screen

**MKFPC 1 (Z)**

Food Screen

**MKMPC 1 (Z)**

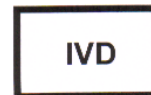
Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH  
Vorbergweg 41  
D-48159 Münster  
Germany



Distribution/Service:  
Vertrieb/Service:  
Dystrybucja /Serwis:  
Distribuce/Servis:  
Distribuzione/Assistenza:

**Milenia Biotec GmbH**  
Versailler Straße 1  
D-35394 Gießen, Germany  
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0  
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80  
E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)  
<http://www.milenia-biotec.de>

## Kitbestandteile, Lagerung und Stabilität

| Komponenten   | Art.-Nr.    | Inhalt                         | Vorbereitung  | Lagerung   | Haltbarkeit   |
|---|-------------|--------------------------------|---|--|---|
| Polycheck® Pädiatrie-Screen ,<br><b>(Polycheck® Pediatric Screen)</b> ,<br>Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen:<br>f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06,<br>w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02     | MCPPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                  | gebrauchsfertig   | 2 - 8°C<br><b>gut<br/>verschlossen,<br/>mit Trocken-<br/>mittel lagern</b> | bis zum<br>Verfallsdatum  |
| Polycheck® Inhalations-Screen,<br><b>(Polycheck® Inhalation Screen)</b> ,<br>Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02,<br>e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06   | MCIPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                  | gebrauchsfertig   |  |   |
| Polycheck® Nahrungsmittel-Screen,<br><b>(Polycheck® Food Screen)</b> ,<br>Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen:<br>f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25,<br>f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05      | MCFPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                  | gebrauchsfertig   |  |   |
| Polycheck® Mediterran-Screen,<br><b>(Polycheck® Mediterranean Screen)</b> ,<br>Chip beschichtet mit 5 Standards und 20 Allergenen:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09,<br>d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06 | MCMPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                  | gebrauchsfertig   |  |   |
| Starter-Lösung ( <b>Start Solution</b> ),<br>gepufferte Proteinlösung   | MSPC        | 2 Fl. (1 Fl.)<br>5 ml, blau    | gebrauchsfertig   | 2 - 8°C  | Je Flasche, 30<br>Tage nach Öffnen<br>bzw. bis zum<br>Verfallsdatum |
| anti-IgE Antikörper ( <b>anti-IgE Antibody</b> ),<br>monoklonaler (Maus-) Antikörper mit Ligand markiert  | MAPC        | 2 Fl. (1 Fl.)<br>5 ml, grün    | gebrauchsfertig   | 2 - 8°C  | Je Flasche, 30<br>Tage nach Öffnen<br>bzw. bis zum<br>Verfallsdatum |
| Enzym-markierter anti-Ligand<br><b>(Enzyme-Labeled anti-Ligand)</b> ,<br>Ligand konjugiert mit alkalischer Phosphatase  | MEPC        | 2 Fl. (1 Fl.)<br>5 ml, weiß    | gebrauchsfertig   | 2 - 8°C  | Je Flasche,<br>30 Tage nach<br>Öffnen bzw. bis<br>zum Verfallsdatum |
| Substratlösung ( <b>Substrate Solution</b> ),<br>5'Brom-4'Chlor-3'Indolyl-Phosphat-Toluoidin-Salz und<br>4'Nitroblaues Tetrazolium, gepuffert   | MBPS3       | 2 Fl. (1 Fl.)<br>5 ml, schwarz | gebrauchsfertig   | 2 - 8°C<br><b>vor Licht<br/>schützen</b>                                   | Je Flasche,<br>30 Tage nach<br>Öffnen bzw. bis<br>zum Verfallsdatum |
| Waschpuffer ( <b>Wash Buffer</b> ),<br>Phosphatpuffer, pH 7,4   | MWBPC       | 1 Beutel                       | in 1 Liter<br>sterilen<br>demineralisiertem<br>Wasser lösen | 2 - 8°C  | Je Flasche,<br>30 Tage nach<br>Öffnen bzw. bis<br>zum Verfallsdatum |

Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich (siehe auch unter [www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de)).

## Erforderliche Hilfsmittel

- Personalcomputer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), Drucker
- Flachbett-Scanner (Typen-Empfehlung auf Nachfrage)
- Biocheck Imaging Software (BIS) zur patientenorientierten Auswertung und Befunderstellung
- Schüttler (Orbitalschüttler: ca. 120 rpm)
- variable Pipette für 250 bis 1000 µl; Multipette (1 ml) zum Dispensieren der Waschlösung
- demineralisiertes Wasser
- Sterile 1-Liter-Flasche (für Waschlösung)

## Probenentnahme und -vorbereitung

Serumproben können bei 2–8 °C bis zur IgE-Bestimmung maximal 3 Tage aufbewahrt werden.  
Für eine längere Lagerung sollten die Seren bei –20 °C tiefgefroren werden.  
Lipämische Seren sollten durch Zentrifugation geklärt werden.



## Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Alle Reagenzien dieser Testpackung dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden. *Reagenzien verschiedener Testpackungen* dürfen nicht ausgetauscht oder gemischt werden. Die 30 Tage Haltbarkeit der Reagenzflaschen gilt immer ab deren Öffnungsdatum. Sie müssen zuerst aufgebraucht werden, bevor das nächste Fläschchen geöffnet wird. Nur das Waschpuffergranulat kann zwischen den verschiedenen Packungen ausgetauscht werden. Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in Anwendung von *in-vitro*-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die Einhaltung des vorgeschriebenen Protokolls zur Durchführung des Tests ist unbedingt erforderlich. Untersuchungsmaterial von Patienten (z.B. Plasma- oder Serumproben), wie es für Laboratoriumsuntersuchungen eingesetzt wird, ist stets als potentiell infektiös einzustufen. Proben von Risikopatienten sollten stets besonders gekennzeichnet werden und ggf. in Sicherheitswerkbänken (z. B. Laminar-Flow-Arbeitsplatz) bearbeitet werden.

## Methodik und Testprinzip

Der Polycheck® Screeningtest ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Allergen-spezifischem IgE. Dabei sind 20 Linien von relevanten pädiatrischen, inhalativen oder Nahrungsmittel-Allergenen zusammen mit 5 Standards auf einer Trägermembran aufgebracht, die sich in der Vertiefung des Polycheck® Chips befindet. Während der Inkubation des Patientenserums bindet Allergen-spezifisches IgE an die entsprechenden Allergene. Ungebundene Serumkomponenten werden durch Waschen entfernt. Ligand-markierte anti-IgE-Antikörper binden an das gebundene Allergen-spezifische IgE. Ungebundene Antikörper werden durch Waschen entfernt. Enzym-markierter Anti-Ligand bindet an die Immunkomplexe. Überschüssiges Enzymkonjugat wird durch Waschen entfernt. Die Substratlösung wird zu gegeben. Die spezifisch gebundenen Enzyme setzen das farblose Substrat zu einem dunklen Präzipitat um. Die Farbintensität ist proportional zur jeweiligen Allergen-spezifischen IgE- Konzentration des Patientenserums. Mit Hilfe der Biocheck Imaging Auswerte-Software (BIS) einem PC und einem Flachbettscanner werden die Polycheck® Allergie-Chips ausgewertet. Die Quantifizierung in kU/L basiert auf einer auf jedem Chip mitgeführten Standardreihe.

## Testdurchführung

### Wichtige Hinweise

- Nur die benötigte Anzahl Chips und die benötigten Reagenzflaschen, vor Testbeginn, auf Raumtemperatur bringen.
  - Waschpuffergranulat mind. 30 Minuten vor dem ersten Ansatz in sterilem, demineralisiertem Wasser in einem sterilen Gefäß auflösen.
  - Trägermembranen während des Tests **nicht austrocknen** lassen!
  - Alle Inkubationsschritte bei Raumtemperatur (18 – 24 °C) und unter konstantem Schütteln durchführen.
1. Eine ausreichende Anzahl Polycheck® Chips vorbereiten und beschriften. Allergenträger mit **400 µl** Starterlösung (blau) überschichten und einige Sekunden inkubieren. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
  2. **400 µl** des Patientenserums auf die Membran pipettieren und **45 Minuten** auf einem Orbitalschüttler inkubieren.
  3. Probe abgießen und jeden Chip **dreimal mit 1 ml** Waschpuffer spülen.  
Dazu werden die Chips auf die Arbeitsplatte gelegt und 1 ml Waschpuffer vorsichtig in die Vertiefung der Chips hineinpipettiert. Die Waschflüssigkeit, aus den Vertiefungen der Chips, in ein Waschbecken kippen. Danach in der gleichen Weise noch zweimal, 1 ml Waschpuffer zugeben. Anschließend auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
  4. **400 µl** Waschpuffer auf den Chip pipettieren und **5 Minuten** unter Schütteln inkubieren.  
Abgießen und erneut jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Vorsichtig auf Papiertüchern ausklopfen.
  5. **400 µl** anti-IgE Antikörper (grün) zupipettieren und **45 Minuten** auf dem Schüttler inkubieren.

6. Abgießen und jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
7. **400 µl** Enzym-markierten Anti-Liganden (weiß) zupipettieren und **20 Minuten** auf dem Schüttler inkubieren.
8. Abgießen und jeden Chip mit **3x 1 ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
9. **400 µl** Substratlösung (schwarz) zupipettieren und **20 Minuten im Dunkeln** auf dem Schüttler inkubieren.
10. Substrat abgießen und jeden Chip mit **3x 1ml** Waschpuffer spülen. Auf Papiertüchern vorsichtig ausklopfen.
11. Polycheck® Chips **lufttrocknen** lassen.  
Zur **Auswertung** am Scanner mit der BIS-Software müssen die Chips absolut **troocken** sein!

Chips können bis zu 3 Monate nach Testdurchführung gescannt werden, vorausgesetzt sie wurden lichtgeschützt und trocken bei Raumtemperatur gelagert.

## Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung der Polycheck® Allergen Chips erfolgt mit Hilfe eines Personalcomputers und eines Flachbett-Scanners. Das Auswerteprogramm Biocheck Imaging Software (BIS) kalkuliert, dokumentiert und speichert alle Patientenergebnisse in seiner Datenbank.

Die Polycheck® Allergen Chips werden mit den Membranen nach unten auf die Glasfläche des Flachbett-Scanners aufgelegt. - Bitte Auflagemarkierung des Scanners beachten. Dann werden sie gescannt und durch die Software verarbeitet. Das Auswerteprogramm prüft die technische Qualität der Chips, die Validität der Standardkurve, ordnet die Intensitäten der Allergenbanden, in Graustufen, den Positionen der Einzelallergene des angeforderten Panels zu. BIS errechnet die Konzentrationen der allergenspezifischen IgE-Reaktionen für jedes einzelne Allergen. Für jede Patientenprobe wird ein Befundbogen erstellt; auf diesem sind alle in diesem Panel getesteten Einzelallergene mit den zugehörigen Konzentrationen an allergenspezifischem IgE aufgelistet. Die Ausgabe der Messwerte erfolgt quantitativ in internationalen Einheiten [kU IgE/l]. Die RAST-Klassen-Zuordnung zu den jeweiligen IgE-Konzentrationen sowie deren Interpretation zeigt die folgende Tabelle:

| IgE [kU/l] | Klasse | Interpretation   |
|------------|--------|--|
| < 0,35     | 0      | Keine allergenspezifischen Antikörper nachweisbar  |
| 0,35 – 0,7 | 1      | Sehr niedriger Antikörpertiter; häufig keine klinische Symptomatik, trotz Sensibilisierung                               |
| 0,7 – 3,5  | 2      | Niedriger Antikörpertiter; Sensibilisierung, häufig erst klinische Symptomatik bei Titern im oberen Bereich der Klasse 2 |
| 3,5 – 17,5 | 3      | Deutlicher Antikörpertiter; klinische Symptomatik meist vorhanden  |
| 17,5 – 50  | 4      | Hoher Antikörpertiter; fast immer mit bestehender Symptomatik  |
| 50 – 100   | 5      | Sehr hoher Antikörpertiter   |
| > 100      | 6      | Extrem hoher Antikörpertiter   |

## Grenzen der Methode

1. Eine endgültige klinische Diagnose sollte alle klinischen Befunde und Laborergebnisse berücksichtigen.
2. Die Allergenität von Nahrungsmittelallergenen kann durch Erhitzen (Kochen) und/oder die Verdauung verändert werden. Die Polycheck®-Ergebnisse korrelieren in diesem Fall möglicherweise nicht mit den klinischen Symptomen.
3. Durch das Vorkommen gemeinsamer antigener Determinanten bei Allergenen einer Naturstoff-Familie ist die Möglichkeit von Kreuzreaktionen nicht vollständig auszuschließen. Mit dem Polycheck®-System werden nur die angegebenen Allergen-Panels und keine anderen (kreuzreagierenden) Allergene erfasst!

## Testcharakteristika

|                        |  |
|------------------------|--|
| Probenmaterial:        | Serum  |
| Inkubationszeit:       | 2 Stunden 10 Minuten bei Raumtemperatur (18–24 °C) auf einem Rotation-/ Orbitalschüttler (120 rpm) |
| Untere Nachweisgrenze: | 0,15 kU/l  |
| Spezifität:            | humanes IgE; keine Kreuzreaktionen mit IgG, IgA, IgD, IgM  |
| Kalibration:           | anhand von Einzelpendern und Poolseren mit definierten allergenspezifischen IgE-Konzentrationen    |
| Methodenvergleich:     | Hauttest und alternative Festphasen-Immunoassays   |

## Kurzanleitung: Polycheck®

| Schritte  | Lösung                              | pro Chip |
|---|-------------------------------------|----------|
| Pipettieren   | Starter-Lösung (blau)               | 400 µl   |
| Einige Sekunden inkubieren, dekantieren und auf Papiertüchern ausklopfen  |                                     |          |
| Pipettieren.  | Probe                               | 400 µl   |
| <b>45 min bei Raumtemperatur (RT)</b> auf einem Orbitalschüttler inkubieren.  |                                     |          |
| Dekantieren, mit <b>3x 1 ml</b> Waschpuffer (je Chip) waschen.<br><b>400 µl</b> Waschpuffer zugeben und <b>5 min</b> bei <b>RT</b> auf einem Orbitalschüttler inkubieren.<br>Dekantieren, mit <b>3x 1 ml</b> Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen. | Wasch-Lösung                        | 400 µl   |
| Pipettieren   | anti-IgE Antikörper (grün)          | 400 µl   |
| <b>45 min</b> bei <b>RT</b> auf dem Schüttler inkubieren  |                                     |          |
| Dekantieren, mit <b>3x 1 ml</b> Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen.  |                                     |          |
| Pipettieren   | Enzym-markierter anti-Ligand (weiß) | 400 µl   |
| <b>20 min</b> bei <b>RT</b> auf dem Schüttler inkubieren.   |                                     |          |
| Dekantieren, mit <b>3x 1 ml</b> Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen   |                                     |          |
| Pipettieren   | Substrat-Lösung (schwarz)           | 400 µl   |
| <b>20 min</b> bei <b>RT</b> auf dem Schüttler <b>im Dunklen</b> inkubieren  |                                     |          |
| Dekantieren, mit <b>3x 1 ml</b> Waschpuffer (je Chip) waschen, auf Papiertüchern ausklopfen.  |                                     |          |
| Chips an der Luft trocknen lassen.  |                                     |          |
| Die <b>trockenen</b> Chips mit der Biocheck Imaging Software und einen Scanner auswerten.   |                                     |          |

Vgl. auch Seite 9/10 für eine detaillierte Beschreibung der Testdurchführung.

# Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE  
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE  
Deutsch: Seite 7-11

**Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera**  
**Polski: Strony 12-18**

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem  
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche  
Italiano: Pagine 25-30

## REF:

**MKPPC 1 (Z)**  
Pediatric Screen

**MKIPC 1 (Z)**  
Inhalation Screen

**MKFPC 1 (Z)**  
Food Screen

**MKMPC 1 (Z)**  
Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH  
Vorbergweg 41  
D-48159 Münster  
Germany



Distribution/Service:  
Vertrieb/Service:  
Dystrybucja /Serwis:  
Distribuce/Servis:  
Distribuzione/Assistenza:

**Milenia Biotec GmbH**  
Versailler Straße 1  
D-35394 Gießen, Germany  
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0  
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80  
E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)  
<http://www.milenia-biotec.de>

## OFEROWANE PANELE:

| Pediatriczny<br>(MKPPC)  |     | Oddechowy<br>(MKIPC)     |     | Pokarmowy<br>(MKFPC) |     | Śródziemnomorski<br>(MKMPC) |     |
|--------------------------|-----|--------------------------|-----|----------------------|-----|-----------------------------|-----|
| Orzech ziemny            | f13 | Pyłek brzozy brodawkowej | t03 | Orzech laskowy       | f17 | Pyłek brzozy brodawkowej    | t03 |
| Mleko                    | f02 | Pyłek olszyny szarej     | t02 | Orzech ziemny        | f13 | Pyłek olszyny szarej        | t02 |
| Białko jaja              | f01 | Pyłek leszczyny          | t04 | Orzech włoski        | f16 | Pyłek leszczyny             | t04 |
| Żółtko jaja              | f75 | Pyłek dębu               | t07 | Migdał               | f20 | Pyłek dębu                  | t07 |
| Ziemniak                 | f35 | Tymotka łąkowa           | g06 | Mleko                | f02 | Tymotka łąkowa              | g06 |
| Marchew                  | f31 | Pyłek żyta               | g12 | Białko jaja          | f01 | Pyłek żyta                  | g12 |
| Dorsz                    | f03 | Pyłek bylicy             | w06 | Żółtko jaja          | f75 | Pyłek ambrosji              | w01 |
| Jabłko                   | f49 | Pyłek babki lancetowatej | w09 | Kazeina              | f78 | Pyłek bylicy                | w06 |
| Soja                     | f14 | D. pteronyssinus         | d01 | Ziemniak             | f35 | Pyłek babki lancetowatej    | w09 |
| Mąka pszenna             | f04 | D. farinae               | d02 | Seler                | f85 | Parietaria judaica          | w21 |
| Pyłek brzozy brodawkowej | t03 | Naskórek psa             | e02 | Marchew              | f31 | Pyłek oliwki europejskiej   | t09 |
| Tymotka łąkowa           | g06 | Naskórek kota            | e01 | Pomidor              | f25 | D. pteronyssinus            | d01 |
| Pyłek bylicy             | w06 | Naskórek konia           | e03 | Dorsz                | f03 | D. farinae                  | d02 |
| D. pteronyssinus         | d01 | Naskórek świnki morskiej | e06 | Krewetka             | f24 | Naskórek psa                | e02 |
| D. farinae               | d02 | Naskórek chomika         | e84 | Brzoskwinia          | f95 | Naskórek kota               | e01 |
| Naskórek psa             | e02 | Naskórek królika         | e82 | Jabłko               | f49 | Naskórek konia              | e03 |
| Naskórek kota            | e01 | A. fumigatus             | m03 | Soja                 | f14 | A. fumigatus                | m03 |
| Naskórek konia           | e03 | C. herbarium             | m02 | Mąka pszenna         | f04 | C. herbarium                | m02 |
| A. fumigatus             | m03 | P. nota tum              | m01 | Sezam                | f10 | P. nota tum                 | m01 |
| C. herbarium             | m02 | A. tennis                | m06 | Mąka żytnia          | f05 | A. tennis                   | m06 |

## Elementy zestawu, przechowywanie, stabilność

| Składniki  | Nr kat.        | Zawartość                                    | Przygotowanie                          | Przechowywanie  | Trwałość   |
|--|----------------|--|--|---|--|
| Polycheck® Panel pediatryczny,<br><b>(Polycheck® Pediatric Screen)</b> ,<br>Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami:<br>f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g06,<br>w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02         | MCPPC<br>1(Z)  | 20 (10)<br>Kasetek                           | Gotowe do użytku                       | 2 - 8°C<br><b>Chronić przed wilgocią</b><br><br>Przechowywać ze <b>środkiem pochłaniającym wilgoć</b> w szczelnie zamkniętej <b>plastikowej torebce</b> | Do daty przydatności                                     |
| Polycheck® Panel oddechowy,<br><b>(Polycheck® Inhalation Screen)</b> ,<br>Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02,<br>e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06           | MCIPC 1<br>(Z) | 20 (10)<br>Kasetek                           |  |   |  |
| Polycheck® Panel pokarmowy,<br><b>(Polycheck® Food Screen)</b> ,<br>Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami:<br>f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25,<br>f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05                 | MCFPD<br>1 (Z) | 20 (10)<br>Kasetek                           |  |   |  |
| Polycheck® Panel śródziemnomorski,<br><b>(Polycheck® Mediterranean Screen)</b> ,<br>Kasetka z naniesionymi 5 kalibratorami i 20 alergenami:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09,<br>d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06 | MCMPD<br>1 (Z) | 20 (10)<br>Kasetek                           |  |   |  |
| Roztwór startowy ( <b>Start Solution</b> ),<br>Buforowany roztwór białka   | MSPC           | 2 fiołki<br>(1 fiołka)<br>5 mL,<br>niebieska | Gotowy do użytku                       | 2 - 8°C   | 30 dni po otwarciu,<br>nieotwierany do daty przydatności |
| Przeciwciało anti-IgE ( <b>anti-IgE Antibody</b> ),<br>monoklonalne (mysie) sprzężone z ligandem   | MAPC           | 2 fiołki<br>(1 fiołka)<br>5 mL,<br>zielona   | Gotowe do użytku                       | 2 - 8°C   | 30 dni po otwarciu,<br>nieotwierany do daty przydatności |
| Anty-ligand sprzężony z enzymem<br><b>(Enzyme-Labeled anti-Ligand)</b> ,<br>Ligand sprzężony z fosfatazą alkaliczną  | MEPC           | 2 fiołki<br>(1 fiołka)<br>5 mL, biała        | Gotowy do użytku                       | 2 - 8°C   | 30 dni po otwarciu,<br>nieotwierany do daty przydatności |
| Roztwór substratu ( <b>Substrate Solution</b> ),<br>5'bromo-4'chloro-3' indolyl-phosphate-and 4' nitroblue tetrazolium, buforowany   | MBPS3          | 2 fiołki<br>(1 fiołka)<br>5 mL,<br>czarna    | Gotowy do użytku                       | 2 - 8°C<br><b>Chronić przed światłem</b>  | 30 dni po otwarciu,<br>nieotwierany do daty przydatności |
| Bufor płuczący ( <b>Wash Buffer</b> ),<br>bufor fosforanowy, pH 7.4  | MWBPC          | 1 (1) saszetka                               | Rozpuścić w 1 L demineralizowanej wody | 2 - 8°C   | 30 dni po otwarciu,<br>nieotwierany do daty przydatności |

Karty bezpieczeństwa dostępne na życzenie (lub patrz pod adresem [www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de))

## WYMAGANE WYPOSAŻENIE

- Komputer osobisty (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), drukarka
- Płaski skaner (zalecany typ może być podany na życzenie)
- Program Biocheck Imaging Software (BIS) analizujący wynik, dokonujący obliczeń i redagujący raport
- Wyrząsarka (orbitalna ok. 120 rotacji na minutę)
- Pipety nastawne na 250 µL do 1000 µL; Multipipeta (1 mL) do dodawania roztworu płuczającego
- Woda demineralizowana, sterylna
- Jedno litrowa, sterylna butelka do przygotowania buforu przemysłowego

## POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Próbki surowicy mogą być przechowywane w celu oznaczenia IgE maksymalnie 3 dni w temperaturze 2-8°C. Przechowywanie dłuższe wymaga zamrożenia próbki do -20°C lub do temperatur jeszcze niższych. Próbki lipemiczne powinny być klarowane przez wirowanie.

## OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Wszystkie odczynniki przedmiotowego zestawu mogą być używane wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Odczynniki nie mogą być wymieniane ani mieszane pomiędzy różnymi zestawami.

30 dniowy termin ważności odczynników liczy się od daty otwarcia buteleczek (fiolek )

Najpierw musi być zużyta buteleczka otwarta zanim zostanie otwarta następną.

Tylko granulaty używane do przygotowywania buforu przemywającego może być wymieniany pomiędzy różnymi zestawami.

Badanie może być prowadzone tylko przez personel wykształcony i przeszkolony do pracy w diagnostyce *in vitro*.

Zaleca się bezwzględne przestrzeganie ustalonego protokołu wykonywania testu.

Materiał pochodzący od pacjentów normalnie używany do badań laboratoryjnych (np. surowica lub osocze ) musi być postrzegany jako potencjalnie zakaźny.

Próbki pochodzące od pacjentów grup wysokiego ryzyka powinny być specjalnie, w widoczny sposób oznakowane i jeśli to konieczne opracowywane na stołach laboratoryjnych o podwyższonych standardach bezpieczeństwa (np. stoły z przepływem laminarnym ).

## METODA I ZASADA TESTU

Polycheck jest przesiewowym testem immunoenzymatycznym przeznaczonym do ilościowego oznaczania alergenowo-specyficznych przeciwciał klasy IgE. Na membranę nośną (bibułę ) naniesionych jest 20 prążków z odpowiednio 20 alergenami pediatrycznymi, pokarmowymi lub oddechowymi razem z 5 kalibratorami, całość znajduje się w zagłębieniu kasetki testowej Polycheck. Podczas inkubacji surowicy pacjenta, alergenowo- specyficzne IgE obecne w próbce wiążą się z odpowiednimi alergenami na membranie. Nie związane składniki surowicy usuwane są poprzez płukanie. Następnie dodaje się odczynnik w postaci przeciwciała monoklonalnego anti-IgE sprzężonego z ligandem, który łączy się ze związanymi alergenowo-specyficznymi IgE . Nie związane przeciwciała są usuwane poprzez płukanie. Teraz dodaje się anti-ligand sprzężony z enzymem (koniugat ), który wiąże się z powstałym uprzednio kompleksem immunologicznym. Nadmiar koniugatu jest odpłukiwany. Dodaje się roztwór substratu. Swoicście związane enzymy przekształcają bezbarwny substrat na ciemny precypitat.

Intensywność zabarwienia alergenowych prążków jest proporcjonalna do stężenia odpowiednich, alergenowo – specyficznych IgE w surowicy pacjentów.

Ocena intensywności zabarwienia paneli Polycheck jest dokonywana przy pomocy programu Biocheck Imaging Software ( BIS ), komputera i skanera obrazowego, płaskiego. Ilościowy odczyt wyników podany w KU/l bazuje na szeregu ( 5 ) kalibratorach znajdujących się na każdym panelu testowym.

## WYKONANIE TESTU

### Ważne wskazówki:

- Tylko konieczną do wykonania badań ilość kasetek testowych oraz buteleczki z niezbędnymi odczynnikami
- Granulat buforu przemywającego na minimum 30 minut przed pierwszym użyciem rozpuścić w sterylnym naczyniu w sterylnej, demineralizowanej wodzie.
- Nie dopuścić do wyschnięcia membrany (bibuły nośnej ) podczas całego wykonywania testu.
- Wszystkie inkubacje prowadzić w temperaturze pokojowej (18-24°C) przy ciągłym wytrząsaniu.

1. Przygotować i opisać wymaganą ilość kasetek alergenowych Polycheck.  
Bibułę nośną zalać równomiernie 400 mikrolitrami roztworu startowego (niebieski ) i inkubować kilka sekund. Wytrząsnąć kasetkę ostrożnie nad papierowym ręcznikiem.
2. Na membranę ( bibułę ) odpipetować 400 mikrolitrów surowicy pacjenta i inkubować przez 45 min. na włączonej wytrząsarce orbitalnej.
3. Próbkę zlać ( zdekantować ) i każdą kasetkę przemyć trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego.  
W tym celu ułóż kasetki testowe na blacie roboczym i zapipetuj ostrożnie 1 ml. buforu przemywającego do rynienki. Zlej z rynienki bufor przemywający do zlewu. Potem, w ten sam sposób dodaj jeszcze dwukrotnie do rynienki po 1 ml. buforu przemywającego. Na koniec wytrząśnij ostrożnie każdą kasetkę nad papierowym ręcznikiem.

4. Zapipetuj 400 mikrolitrów buforu przemywającego do rynienki każdej kasetki i inkubuj przez 5 minut nieprzerwanie wytrząsając.  
Zlej ( zdekantuj ) i przemyj ponownie każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie nad papierowym ręcznikiem
5. Dodaj 400 mikrolitrów przeciwciała anti-IgE sprzężonego z ligandem (zielone ) i inkubuj na włączonej wytrząsarce 45 min.
6. Zlej (zdekantuj ) i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
7. Dodaj 400 mikrolitrów anti-ligandu sprzężonego z enzymem ( biały ) i inkubuj 20 min. na włączonej wytrząsarce.
8. Zlej (zdekantuj ) i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. Wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
9. Dodaj 400 mikrolitrów roztworu substratu (czarny ) i inkubuj w ciemności przez 20 min. nieprzerwanie wytrząsając.
10. Zlej (zdekantuj ) substrat i przemyj każdą kasetkę trzykrotnie 1 ml. buforu przemywającego. wytrząśnij ostrożnie kasetkę nad papierowym ręcznikiem.
11. Pozostaw kasetki Polycheck do wyschnięcia na powietrzu. Zanim zaczniesz skanowanie i odczyt za pomocą programu BIS bibuła kasetek musi być zupełnie sucha.

Kasetki testowe mogą być skanowane i odczytywane na komputerze do trzech miesięcy od dnia wykonania testów pod warunkiem ich przechowywania w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła i wilgoci.

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

Ocena wyników kasetek alergenowych Polycheck® dokonywana jest przy pomocy komputera, programu Biocheck i skanera obrazowego płaskiego. Program Biocheck oblicza, dokumentuje i zapamiętuje wszystkie wyniki pacjentów w swojej bazie danych.

Kasetki alergenowe Polycheck® układane są membranami bibułowymi na dół na szklanej powierzchni skanera, proszę zwrócić uwagę na oznaczenie na skanerze sposobu układania skanowanych elementów. Potem kasetki są skanowane i analizowane przez program. Program sprawdza techniczną jakość kasetek, zatwierdza krzywą kalibracyjną, ocenia intensywność barwy prążków alergenowych wg. skali szarości oraz przyporządkowuje położenie poszczególnych skanowanych prążków do każdego alergenu znajdującego się na wybranym panelu.

Potem program wylicza stężenia alergenowo – specyficznych IgE dla każdego pojedynczego alergenu znajdującego się na membranie.

Dla każdej próbki pacjenta generowany jest osobny raport wyników, na którym wymienione są wszystkie testowane na danym panelu pojedyncze alergeny wraz z odpowiadającymi im, aktualnymi stężeniami alergenowo-specyficznych IgE. Wydawane pacjentom, mierzone wartości są wynikami ilościowymi podawanymi w jednostkach międzynarodowych (kU IgE/L). Ocenę wg. skali RAST związaną z odpowiadającymi jej stężeniami IgE jak również ich kliniczną interpretację przedstawia poniższa tabela.

| IgE(kU/L) | Klasa | Interpretacja  |
|-----------|-------|--|
| < 0.35    | 0     | Alergenowo - specyficzne przeciwciała nieoznaczalne  |
| 0.35-0.7  | 1     | Bardzo niskie miano przeciwciał, często brak objawów klinicznych, mimo uczulenia                             |
| 0.7- 3.5  | 2     | Niskie miano przeciwciał, uczulenie, często pierwsze objawy kliniczne przy mianach w górnym zakresie klasy 2 |
| 3.5-17.5  | 3     | Wyraźne miano przeciwciał, objawy kliniczne przeważnie obecne  |
| 17.5-50   | 4     | Wysokie miano przeciwciał, prawie zawsze z istniejącymi, rzeczywistymi objawami klinicznymi                  |
| 50-100    | 5     | Bardzo wysokie miano przeciwciał   |
| >100      | 6     | Krańcowo wysokie miano przeciwciał   |



## OGRANICZENIA METODY

1. Ostateczna diagnoza kliniczna nie powinna opierać się na wynikach pojedynczej metody diagnostycznej. Powinna uwzględniać wszystkie objawy kliniczne i wyniki wszystkich badań laboratoryjnych, powinna być dokonywana tylko przez lekarza po uwzględnieniu wszystkich danych klinicznych i laboratoryjnych.
2. Siła ekspresji alergenowej alergenów pokarmowych może ulegać zmianie pod wpływem podgrzewania (gotowania) i / lub pod wpływem trawienia. W takich przypadkach wyniki testów Polycheck mogą nie korelować z objawami klinicznymi
3. Ze względu na występowanie wspólnych determinant antygenowych w alergenach jednej rodziny produktów naturalnych, nie można całkowicie wykluczyć możliwości reakcji krzyżowych. Systemem Polycheck można objąć tylko alergeny występujące w danym panelu, żadne inne (reagujące krzyżowo) alergeny.

## Charakterystyka testu

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| Materiał:                     | Surowica   |
| Czas inkubacji:               | 2 godziny 10 minut w temperaturze pokojowej (18-24°C) z wytrząsaniem                                     |
| Niższa granica wykrywalności: | 0.15 kU/L  |
| Specyficzność:                | IgE ludzka; brak reakcji krzyżowych z IgG, IgA, IgD, IgM   |
| Kalibracja:                   | Użycie surowicy od pojedynczego dawcy lub puli surowic o określonym stężeniu alergenowo-specyficznej IgE |
| Porównanie metod:             | testy skórne i alternatywne testy immunologiczne fazy stałej.  |

## Krótką instrukcją: Polycheck®

| Krok   | Roztwór  | Na kasetkę |
|--|--|------------|
| Odpipetować  | Roztwór startowy (niebieska)                         | 400 µL     |
| Inkubować kilka sekund, zdekantować i wytrząsnąć kasetkę nad papierowym ręcznikiem.  |  |            |
| Odpipetować  | Próbka   | 400 µL     |
| Inkubować <b>45 min. w temperaturze pokojowej</b> na wytrząsarce orbitalnej.   |  |            |
| Zdekantować, przemyć <b>3 x 1 ml.</b> buforem przemywającym (każdą kasetkę). Dodać <b>400 µL</b> buforu przemywającego i inkubować <b>5 min.</b> w temperaturze pokojowej na wytrząsarce orbitalnej. Zdekantować przemyć 3 x 1 ml buforem przemywającym (każdą kasetkę) i wytrząsnąć kasetkę nad papierowym ręcznikiem | Bufor przemywający                                   | 400 µL     |
| Odpipetować  | Przeciwciało anty-IgE sprzężone z ligandem (zielona) | 400 µL     |
| Inkubować <b>45 min.</b> w temperaturze pokojowej na wytrząsarce orbitalnej  |  |            |
| Zlać, płukać <b>3x 1mL</b> buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą.  |  |            |
| Odpipetować  | Anty-ligand sprzężony z enzymem (biała)              | 400 µL     |
| Inkubować <b>20 min.</b> w t. p. wytrząsając.  |  |            |
| Zlać, płukać <b>3x 1mL</b> buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą.  |  |            |
| Odpipetować  | Roztwór substratu (czarna)                           | 400 µL     |
| Inkubować w <b>ciemności 20 min.</b> w t. p. wytrząsając.  |  |            |
| Zlać, płukać <b>3x 1mL</b> buforu płuczącego (na kasetkę), odsączyć kasetki bibułą   |  |            |
| Suszyć kasetki w powietrzu.  |  |            |
| Wynik na <b>wysuszonych</b> kasetkach opracowywany jest przez program Biocheck Imaging Software po wczytaniu płaskim skanerem.   |  |            |

**Szczegółowy opis procedury wykonania znajduje się na poprzednich stronach ulotki.**

# Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE  
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE  
Deutsch: Seite 7-11

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera  
Polski: Strony 12-18

**Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem**  
**Česky: Strana 19-24**

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche  
Italiano: Pagine 25-30

## REF:

**MKPPC 1 (Z)**

Pediatric Screen

**MKIPC 1 (Z)**

Inhalation Screen

**MKFPC 1 (Z)**

Food Screen

**MKMPC 1 (Z)**

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH  
Vorbergweg 41  
D-48159 Münster  
Germany

IVD

Distribution/Service:  
Vertrieb/Service:  
Dystrybucja /Serwis:  
Distribuce/Servis:  
Forgalmazó/ Szerviz:  
Distribuzione/Assistenza:

**Milenia Biotec GmbH**  
Versailler Straße 1  
D-35394 Gießen, Germany  
Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0  
Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80  
E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)  
<http://www.milenia-biotec.de>

## Dostupné panely:

| Pediatrický (MKPPC)     |     | Inhalační (MKIPC)       |     | Potravinový (MKFPC) |     | Mediterranean (MKMPC)                           |     |
|-------------------------|-----|-------------------------|-----|---------------------|-----|---|-----|
| Podzemnice olejná       | f13 | Pyl břízy               | t03 | Lískový ořech       | f17 | Pyl břízy / <i>Betula alba</i>                  | t03 |
| Mléko                   | f02 | Pyl olše                | t02 | Podzemnice olejná   | f13 | Pyl olše / <i>Alnus spp.</i>                    | t02 |
| Vaječný bílek           | f01 | Pyl Lísky obecné        | t04 | Vlašský ořech       | f16 | Pyl Lísky obecné / <i>Corylus avellana</i>      | t04 |
| Vaječný žloutek         | f75 | Pyl dubu                | t07 | Mandle              | f20 | Pyl dubu / <i>Quercus robur</i>                 | t07 |
| Brambory                | f35 | Bojínek luční           | g06 | Mléko               | f02 | Bojínek luční / <i>Phleum pratense</i>          | g06 |
| Mrkev                   | f31 | Žito seté               | g12 | Vaječný bílek       | f01 | Žito seté / <i>Secale cereale</i>               | g12 |
| Treska                  | f03 | Pelyněk černobýl        | w06 | Vaječný žloutek     | f75 | Ambrózie pelyňkolistá / <i>Ambrosia elatior</i> | w01 |
| Jablko                  | f49 | Jitrocel kopinatý       | w09 | Kasein              | f78 | Pelyněk černobýl/ <i>Artemisia vulgaris</i>     | w06 |
| Sójový bob              | f14 | <i>D. pteronyssinus</i> | d01 | Brambory            | f35 | Jitrocel kopinatý / <i>Plantago lanceolata</i>  | w09 |
| Pšeničná mouka          | f04 | <i>D. farinae</i>       | d02 | Řapíkatý celer      | f85 | Drnavec palestinský / <i>Parietaria judaica</i> | w21 |
| Pyl břízy               | t03 | Psí epitel              | e02 | Mrkev               | f31 | Pyl olivovníku / <i>Olea europea</i>            | t09 |
| Bojínek luční           | g03 | Kočičí epitel           | e01 | Rajče               | f25 | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>           | d01 |
| Pelyněk černobýl        | w06 | Koňský epitel           | e03 | Treska              | f03 | <i>Dermatophagoides farinae</i>                 | d02 |
| <i>D. pteronyssinus</i> | d01 | Morčecí epitel          | e06 | Kreveta             | f24 | Psí epitel                                      | e02 |
| <i>D. farinae</i>       | d02 | Epitel křečka           | e84 | Broskev             | f95 | Kočičí epitel                                   | e01 |
| Psí epitel              | e02 | Králičí epitel          | e82 | Jablko              | f49 | Koňský epitel                                   | e03 |
| Kočičí epitel           | e01 | <i>A. fumigatus</i>     | m03 | Sójový bob          | f14 | <i>Aspergillus fumigatus</i>                    | m03 |

## Materiály dodávané se soupravou, uchování, stabilita

| Komponenty  | Kat.číslo   | Obsah                            | Příprava                                  | Skladování   | Expirační doba                             |
|---|-------------|----------------------------------|---|--|--|
| Polycheck® Pediatrický panel<br><b>(Polycheck® Pediatric Screen)</b> ,<br>Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny:<br>f13, f02, f01, f75, f35, f31, f03, f49, f14, f04, t03, g03,<br>w06, d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02       | MCPPC 1(Z)  | 20 (10) čipů                     | Připraveno k použití                      | 2 - 8 °C<br><b>Chraňte před vlhkem!</b><br><br>Skladujte s <b>desikantem</b> v důkladně uzavřeném <b>plastovém sáčku</b> | Do data expirace                           |
| Polycheck® Inhalační panel<br><b>(Polycheck® Inhalation Screen)</b> ,<br>Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w06, w09, d01, d02, e02,<br>e01, e03, e06, e84, e82, m03, m02, m01, m06        | MCIPC 1 (Z) | 20 (10) čipů                     |   |  |  |
| Polycheck® Potravinový panel<br><b>(Polycheck® Food Screen)</b> ,<br>Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny:<br>f17, f13, f16, f20, f02, f01, f75, f78, f35, f85, f31, f25,<br>f03, f24, f95, f49, f14, f04, f10, f05            | MCFPC 1 (Z) | 20 (10) čipů                     |   |  |  |
| Polycheck® Mediterranean Panel<br><b>(Polycheck® Mediterranean Screen)</b> ,<br>Čip pokrytý 5-ti kalibrátory a 20-ti alergeny:<br>t03, t02, t04, t07, g06, g12, w01, w06, w09, w21, t09,<br>d01, d02, e02, e01, e03, m03, m02, m01, m06 | MCMPC 1 (Z) | 20 (10) čipů                     |   |  |  |
| Startovací roztok ( <b>Start Solution</b> ),<br>pufrovaný proteinový roztok   | MSPC        | 1 lahvička (modrá)<br>10 (5) mL  | Připraveno k použití                      | 2 - 8 °C   | 30 dní po otevření, resp. do data expirace |
| anti-IgE Protilátka ( <b>anti-IgE Antibody</b> ),<br>monoklonální (myší) protilátka značená ligandem  | MAPC        | 1 lahvička (zelená)<br>10 (5) mL | Připraveno k použití                      | 2 - 8 °C   | 30 dní po otevření, resp. do data expirace |
| Anti-Ligand značený enzymem<br><b>(Enzyme-Labeled anti-Ligand)</b> ,<br>Ligand konjugovaný s alkalickou fosfatázou  | MEPC        | 1 lahvička (bílá)<br>10 (5) mL   | Připraveno k použití                      | 2 - 8 °C   | 30 dní po otevření, resp. do data expirace |
| Roztok substrátu ( <b>Substrate Solution</b> ),<br>5'-bromo-4'-chloro-3'-indolyl-phosphate-and 4'-nitroblue tetrazolium, pufrovaný roztok   | MBPS3       | 1 lahvička (černá)<br>10 (5) mL  | Připraveno k použití                      | 2 - 8 °C<br><b>Chraňte před světlem!</b>   | 30 dní po otevření, resp. do data expirace |
| Promývací roztok ( <b>Wash Buffer</b> ),<br>fosfátový pufr, pH 7.4  | MWBPC       | 1 (1) sáček                      | Rozpusťte v 1 litru demineralizované vody | 2 - 8 °C   | 30 dní po otevření, resp. do data expirace |

**MSDS jsou dostupné na našich webových stránkách ([www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de)), nebo na vyžádání.**

### Potřebný materiál

- osobní počítač (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), tiskárna
- skener (typ doporučíme na vyžádání)
- Biocheck Image Software (BIS) pro analýzu vzorků dle pacientů, výpočet a report
- třepačka (orbitální třepačka: cca. 120 rpm)
- nastavitelná pipeta s přesností od 250 µl do 1000 µL; multikanálová pipeta (1 mL) pro pipetování promývacího roztoku
- sterilní demineralizovaná voda
- sterilní litrová láhev (pro zředěný promývací roztok)

### Získání vzorku a příprava

Získané vzorky mohou být uchovávány zchladené při 2-8 °C maximálně 3 dny. Pro delší uchovávání by vzorky měly být zmrazeny při -20°C nebo níže. Zamezte opakovanému zmrazování a rozmrazování. Lipemická séra by měla být před zahájením stanovení odstředěna.

## Upozornění a bezpečnostní opatření

Všechny reagenty v této soupravě jsou určeny pouze pro použití in vitro. Se soupravou by měl pracovat pouze personál odborně způsobilý a speciálně vyškolený v manipulaci s diagnostickými metodami in vitro. Striktně dodržujte pořadí pipetovacích kroků, které jsou uvedeny v tomto protokolu.

Vzorky pacientů (např. sérum nebo plazma), které se používají v laboratorních stanoveních, jsou vždy klasifikovány jako potencionálně infekční materiály. Vzorky rizikových pacientů by měly být speciálně označené a v případě nutnosti uložené v bezpečnostním boxu (v laminárním boxu).

## Metoda a princip stanovení

PolyCheck screening je enzymoimuno-analytická metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek. Nosná membrána, která je umístěna v jamce testovací jednotky PolyCheck, je pokryta 20-ti druhy vybraných pediatrických, potravinových nebo inhalačních alergenů a 5-ti kalibrátory. Během inkubační doby se alergen specifické IgE vzorku pacienta naváže na příslušné alergeny. Nenavázané komponenty séra jsou odstraněny vymytím. Anti-IgE protilátky značené ligandem jsou navázané na IgE protilátky navázané na alergen. Nenavázané protilátky jsou následně odstraněny vymytím. Enzymaticky značený anti-Ligand je dále navázán na vzniklé imunokomplexy; zbytek enzymatického konjugátu je odstraněn vymytím. Nyní je přidán substrát a specificky navázané enzymy způsobují konverzi bezbarvého roztoku na tmavý precipitát. Barevná intenzita (alergen-) proužků je úměrná koncentraci příslušných alergen specifických IgE protilátek v pacientově séru.

Testovací jednotky PolyCheck jsou interpretovány pomocí programu BioCheck Image Software (BIS), počítače a skeneru. Každý jednotlivý alergen bude identifikován a podle kalibrační křivky přítomné v každé testovací jednotce (čipu) bude kvantifikována koncentrace (kU/L) specifických IgE u jednotlivých alergenů.

## Postup stanovení

### Důležitá upozornění:

- Všechny komponenty testu by měly být před použitím v pokojové teplotě a dobře promíchány.
- Promývací roztok v prášku by měl být naředěn demineralizovanou vodou a to nejméně 30 minut před použitím
- Nenechte během metody vyschnout membrány testovacího zařízení.

Všechny inkubační kroky se provádí při pokojové teplotě (18 – 24 °C) a při neustálém třepání.

1. Připravte si adekvátní počet Polycheck® alergen čipů a označte je.  
Aplikujte (překryjte vrstvou) 400 µl startovacího roztoku (modrý) na alergenové čipy (testovací jednotky) a inkubujte několik vteřin. Opatrně osušte čipy absorpčním papírem.
2. Přidejte **400 µL** příslušného vzorku pacienta a inkubujte **45 minut** v třepačce.
3. Slijte vzorek a promyjte jej **tříkrát s 1 ml** promývacího roztoku.  
Při této proceduře položte čip na pracovní plochu a opatrně napipetujte 1 ml promývacího roztoku do jamky čipu. Vylijte promývací roztok z jamky do umyvadla. Tento postup opakujte ještě dvakrát. Po ukončení promývání opatrně osušte čipy absorpčním papírem.
4. Přidejte **400 µL** promývacího roztoku do každého čipu a inkubujte **5 minut** v třepačce.  
Slijte a opět promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Čipy opatrně osušte absorpčním papírem.
5. Napipetujte **400 µL** IgE protilátky (zelená) a inkubujte **45 minut** v třepačce.
6. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
7. Přidejte **400 µL** anti-Ligandu značeného enzymem (bílý) a inkubujte **20 minut** v třepačce.
8. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
9. Napipetujte **400 µL** roztoku substrátu (černý) a inkubujte **20 minut v temnu** na třepačce.
10. Slijte a promyjte každý čip **3x s 1 ml** promývacího roztoku. Opatrně osušte absorpčním papírem.
11. Ponechte Polycheck čipy **volně uschnout**. Membrány musí být při vyhodnocování pomocí skeneru a BIS softwaru **suché!**  
Čipy mohou být vyhodnocovány po dobu maximálně 3 měsíců, musí být uchovávány při pokojové teplotě a chráněny před světlem a vlhkem.

## Interpretace výsledků

Pro vyhodnocení Polycheck® alergen čipů použijte počítač a připojený skener. Vyhodnocovací software BioCheck Image Software (BIS) analyzuje a dokumentuje všechny pacientovy výsledky.

PolyCheck alergen čipy umístěte spodní/podložní stranou nahoru (vzhůru nohama) do skeneru a poté jsou odečteny softwarem. – Prosím, všimněte si orientace nálepky na povrchu.

BIS-vyhodnocovací program techniku čipu, ověřuje validitu kalibrační křivky a rozmězí intenzity na šedivé stupnici a přiřadí odpovídající alergen na určitou pozici skenovaného proužku a vypočítá koncentraci specifických IgE pro každý alergen na membráně. Zpráva o pacientovi je vytvořena pro každý pacientův vzorek a obsahuje seznam všech testovaných alergenů a koncentrací příslušných alergen specifických IgE. Kvantitativní výsledky jsou uváděny v mezinárodních jednotkách [kU IgE/l]. Koncentrace IgE je rozdělena do 7 tříd (RAST třídy) a jejich související klinická interpretace je uvedena níže:

| IgE [kU/L] | Třída | Interpretace  |
|------------|-------|---|
| < 0.35     | 0     | Nebyla detekována specifická protilátka   |
| 0.35 – 0.7 | 1     | Velmi nízký titr protilátek; často bez klinických příznaků senzibilizace  |
| 0.7 – 3.5  | 2     | Nízký titr protilátek; senzibilizace, klinické příznaky se projevují často při hodnotách u horní hranice této třídy |
| 3.5 – 17.5 | 3     | Průkazný titr protilátek; klinické příznaky jsou většinou přítomny  |
| 17.5 – 50  | 4     | Vysoký titr protilátek; téměř vždy s klinickou symptomatologií  |
| 50 – 100   | 5     | Velmi vysoký titr protilátek  |
| > 100      | 6     | Extrémně vysoký titr protilátek   |

## Omezení metody

1. V konečné klinické diagnóze by měly být zohledněny všechny laboratorní nálezy a klinické výsledky.
2. Alergenicitá potravinových alergenů může být ovlivněna vařením a/nebo trávením. Následkem toho nemusí výsledky testu Polycheck odpovídat klinickému nálezu.
3. Díky výskytu běžných antigenních determinant v určitých alergenech příbuzné biologické rodiny nelze zcela vyloučit možnost zkřížených reaktivit. Polycheck systémem mohou být deklarovány pouze alergeny na panelu, ale ne další alergeny (zkřížených reaktivit)!

## Charakteristika metody

|                       |  |
|-----------------------|--|
| Vyšetřovaný materiál: | sérum  |
| Inkubační doba:       | 2 hodiny a 10 minut při pokojové teplotě (18-24°C) ve třepačce                                       |
| Nižší limit detekce:  | 0,15 kU/L  |
| Specifičnost:         | lidský IgE, žádná zkřížená reakce s IgG, IgA, IgD, IgM   |
| Kalibrace:            | použitím vzorků sér jednotlivých pacientů a vzorků sér s definovanými koncentracemi specifických IgE |
| Srovnání metody:      | kožní test a alternativní imuno-analytická souprava  |

## Stručný návod: Polycheck®

| Kroky   | Roztok                             | Na 1 čip |
|---|------------------------------------|----------|
| Napipetujte   | Startovací roztok (modrý)          | 400 µl   |
| Inkubujte několik vteřin, slijte a osušte absorpčním papírem  |                                    |          |
| Napipetujte   | Vzorek                             | 400 µl   |
| Inkubujte <b>45 min při pokojové teplotě (PT)</b> v třepačce.   |                                    |          |
| Slijte, promyjte <b>3x s 1mL</b> promývacího roztoku (na jeden čip).<br>Přidejte <b>400 µL</b> promývacího roztoku a inkubujte <b>5 min při PT</b> v třepačce.<br>Slijte, promyjte <b>3x s 1mL</b> promývacího roztoku, osušte čipy absorpčním papírem. | Promývací roztok                   | 400 µl   |
| Napipetujte   | Anti-IgE značený ligandem (zelený) | 400 µl   |
| Inkubujte <b>45 min při PT</b> v třepačce.  |                                    |          |
| Slijte, promyjte <b>3x s 1mL</b> promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.  |                                    |          |
| Napipetujte   | Anti-ligand značený enzymem (bílý) | 400 µl   |
| Inkubujte <b>20 min při PT</b> v třepačce.  |                                    |          |
| Slijte, promyjte <b>3x s 1mL</b> promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.  |                                    |          |
| Napipetujte   | Roztok substrátu (černý)           | 400 µl   |
| Inkubujte <b>20 min při PT</b> v třepačce <b>v temnu</b>  |                                    |          |
| Slijte, promyjte <b>3x s 1mL</b> promývacího roztoku (na jeden čip), osušte čipy absorpčním papírem.  |                                    |          |
| Nechte čipy volně uschnout.   |                                    |          |
| <b>Suché</b> čipy vyhodnoťte pomocí Biocheck Imaging Softwaru a skeneru.  |                                    |          |

**Detailní postup naleznete také na straně 22/23.**



# Polycheck®

Scanner-based screening assay for the quantitative determination of allergen specific IgE  
English: Page 1-6

Scanner-gestützter Suchtest für den quantitativen Nachweis von Allergen-spezifischem IgE  
Deutsch: Seite 7-12

Przesiewowy, ilościowy test do oznaczania alergenowo-specyficznej IgE, oparty na fotometrycznym odczycie z wykorzystaniem skanera  
Polski: Strony 13-18

Screeningová metoda pro kvantitativní stanovení alergen specifických IgE protilátek s odečítáním výsledků scannerem  
Česky: Strana 19-24

Test di screening con utilizzo di scanner per la determinazione quantitativa di IgE specifiche  
Italiano: Pagine 25-30

## REF:

**MKPPC 1 (Z)**

Pediatric Screen

**MKIPC 1 (Z)**

Inhalation Screen

**MKFPC 1 (Z)**

Food Screen

**MKMPC 1 (Z)**

Mediterranean Screen



20 (10)



Biocheck GmbH  
Vorbergweg 41  
D-48159 Münster  
Germany

IVD

Vertrieb/Service:  
Dystrybucja /Serwis:  
Distribuce/Servis:  
Distribuzione/Assistenza:

**Milenia Biotec GmbH**  
Hohe Straße 4-8  
D-61231 Bad Nauheim, Germany  
Tel.: +49-(0)6032-8040-0  
Fax: +49-(0)6032-8040-80  
E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)  
<http://www.milenia-biotec.de>

## Pannelli Disponibili:

| Pediatrico (MKPPC)  |     | Inalatorio (MKIPC)      |     | Alimentare (MKFPC) |     | Mediterraneo (MKMPC)                   |     |
|---------------------|-----|-------------------------|-----|--------------------|-----|--|-----|
| Arachide            | f13 | Betulla                 | t03 | Nocciola           | f17 | Betulla / <i>Betula alba</i>           | t03 |
| Latte               | f02 | Ontano                  | t02 | Arachide           | f13 | Ontano / <i>Alnus spp.</i>             | t02 |
| Albume              | f01 | Nocciolo                | t04 | Noce               | f16 | Nocciolo / <i>Corylus avellana</i>     | t04 |
| Tuorlo              | f75 | Quercia                 | t07 | Mandorla           | f20 | Quercia / <i>Quercus robur</i>         | t07 |
| Patata              | f35 | Phleum Pratense         | g06 | Latte              | f02 | <i>Phleum pratense</i>                 | g06 |
| Carote              | f31 | Segale                  | g12 | Albume             | f01 | Segale / <i>Secale cereale</i>         | g12 |
| Merluzzo            | f03 | Artemisia Vulg.         | w06 | Tuorlo             | f75 | Ambrosia / <i>Ambrosia elatior</i>     | w01 |
| Mela                | f49 | Lanciola                | w09 | Caseina            | f78 | <i>Artemisia vulgaris</i>              | w06 |
| Soia                | f14 | <i>D. pteronyssinus</i> | d01 | Patata             | f35 | Lanciola / <i>Plantago lanceolata</i>  | w09 |
| Farina di grano     | f04 | <i>D. farinae</i>       | d02 | Sedano             | f85 | Parietaria / <i>Parietaria judaica</i> | w21 |
| Betulla             | t03 | Epitelio di cane        | e02 | Carota             | f31 | Olivo / <i>Olea europea</i>            | t09 |
| Phleum Pratense     | g03 | Epitelio di gatto       | e01 | Pomodoro           | f25 | <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>  | d01 |
| Artemisia Vulg.     | w06 | Epitelio di cavallo     | e03 | Merluzzo           | f03 | <i>Dermatophagoides farinae</i>        | d02 |
| Derm. Pteroyss.     | d01 | Epitelio di cavia       | e06 | Gamberi            | f24 | Epitelio di cane                       | e02 |
| <i>D. farinae</i>   | d02 | Epitelio di criceto     | e84 | Pesca              | f95 | Epitelio di gatto                      | e01 |
| Epitelio di cane    | e02 | Epitelio di coniglio    | e82 | Mela               | f49 | Epitelio di cavallo                    | e03 |
| Epitelio di gatto   | e01 | <i>A. fumigatus</i>     | m03 | Soia               | f14 | <i>Aspergillus fumigatus</i>           | m03 |
| Epitelio di cavallo | e03 | <i>C. herbarum</i>      | m02 | Grano              | f04 | <i>Cladosporium herbarum</i>           | m02 |
| <i>A. fumigatus</i> | m03 | <i>P. notatum</i>       | m01 | Sesamo             | f10 | <i>Penicillium notatum</i>             | m01 |
| <i>C. herbarum</i>  | m02 | <i>A. tenuis</i>        | m06 | Segale             | f05 | <i>Alternaria tenuis</i>               | m06 |

## Materiale fornito, conservazione e stabilità

| Componenti  | Cat.-No.    | Contenuto                                | Preparazione   | Conservazione  | Stabilità   |
|---|-------------|--|--|--|---|
| <b>Polycheck Screening Pediatrico</b><br>"PolyCheck Pediatric Screen / Demo Screen",<br>contenente 5 calibratori e 20 allergeni:<br>D1, D2, E1, E2, E3, F1, F2, F3, F4, F13, F14,<br>F31, F35, F49, F75, G6, M2, M3, T3, W6 | MCPPC 1 (Z) | 20 (10) Card                             | Pronto all'uso   | 2 - 8 °C<br><b>Proteggere dall'umidità!</b><br><b>Conservare con essiccante e in buste di plastica sigillate</b> | Fino alla data di scadenza                            |
| <b>PolyCheck Screening Inalatorio,</b><br>"PolyCheck Inhalation Screen",<br>Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni:<br>D1, D2, E1, E2, E3, E6, E82, E84, G6, G12,<br>M1, M2, M3, M6, T2, T3, T4, T7, W6, W9           | MCIPC 1 (Z) | 20 (10) Card                             |  |  |   |
| <b>PolyCheck Screening Alimenti,</b><br>„PolyCheck Food Screen“,<br>Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni:<br>F1, F2, F3, F4, F5, F10, F13, F14, F16, F17,<br>F20, F24, F25, F31, F35, F49, F75, F78, F85,<br>F95    | MCFPC 1 (Z) | 20 (10) Card                             |  |  |   |
| <b>PolyCheck Screening Mediterraneo</b><br>„PolyCheck Mediterranean Screen“,<br>Card contenente 5 calibratori e 20 allergeni:<br>D1, D2, E1, E2, E3, G6, G12, M1, M2, M3,<br>M6, T2, T3, T4, T7, T9, W1, W6, W9, W21        | MCMPC 1 (Z) | 20 (10) Chips                            |  |  |   |
| <b>Soluzione Starter</b> „Start Solution“,<br>Soluzione proteica tamponata  | MSPC        | 2 flaconi<br>(1 flacone)<br>5 mL, blu    | Pronto all'uso   | 2 - 8 °C   | 30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza |
| <b>Anticorpo anti-IgE</b> „anti-IgE Antibody“,<br>Anticorpo monoclonale (murino) marcato con legante  | MAPC        | 2 flaconi<br>(1 flacone)<br>5 mL, verde  | Pronto all'uso   | 2 - 8 °C   | 30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza |
| <b>Anti-legante coniugato all'enzima</b><br>„Enzyme-Labeled anti-Ligand“,<br>Legante coniugato a fosfatasi alcalina   | MEPC        | 2 flaconi<br>(1 flacone)<br>5 mL, bianco | Pronto all'uso   | 2 - 8 °C   | 30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza |
| <b>Soluzione substrato</b> "Substrate Solution",<br>5'bromo-4'cloro-3' indolyl-fosfato e blu di 4' nitro-tetrazolio tamponato   | MBPS3       | 2 flaconi<br>(1 flacone)<br>5 mL, nero   | Pronto all'uso   | 2 - 8 °C<br><b>proteggere dalla luce</b>   | 30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza |
| <b>Tampone lavaggio</b> "Wash Buffer",<br>tampone fosfato, pH 7.4   | MWBPC       | 1 (1) busta)                             | sciogliere il contenuto di una busta in 1 litro di acqua deion.. | 2 - 8 °C<br>evitare la formazione di schiuma   | 30 giorni dall'apertura, o fino alla data di scadenza |

Le schede di sicurezza sono disponibili a richiesta (consultare [www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de)).

## Materiale richiesto

- personal computer (Windows 98, Windows ME, Windows 2000, Windows XP), stampante
- scanner piatto (modelli adeguati su richiesta)
- Biocheck Imaging Software (BIS) in grado di fornire analisi per paziente, calcolo e referto
- Agitatore (agitatore rotativo: circa 120 rpm)
- micropipetta regolabile da 250 a 1000 µL ; Multipette (1 mL) per dispensare la soluzione di lavaggio
- acqua deionizzata
- bottiglia da un litro (per preparare la soluzione di lavaggio)

## Raccolta e preparazione del campione

Campioni di sieri possono essere conservati a 2 - 8 °C per 3 giorni. Per periodi più lunghi congelare a -20 °C. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. Sieri lipemici devono essere centrifugati prima del test.

## Avvertimenti e precauzioni

Tutti i reattivi di questo kit sono tassativamente da intendersi solo per uso diagnostico *in vitro*.

Non sostituire o mescolare reagenti di confezioni diverse. La stabilità dei reagenti (30 giorni) si intende dall'apertura dei flaconi. I contenitori già aperti vanno utilizzati completamente prima di aprire un nuovo contenitore! Solo il tampone in polvere può essere utilizzato per kit diversi.

Il kit va utilizzato da personale particolarmente addestrato all'uso di metodologie diagnostiche *in vitro*. Preghiamo di seguire alla lettera lo schema di lavoro indicato in questa procedura.

I campioni dei pazienti (ad esempio siero o plasma) usati nei test di laboratorio sono sempre da considerarsi come potenzialmente infetti. Campioni di pazienti a rischio vanno etichettati in modo evidente e, se necessario, maneggiati in banchi di lavoro con dispositivi di sicurezza (per esempio banchi con cappe a flusso laminare).

## Metodo e principio del test

Il test di screening Polycheck® è un test immunoenzimatico per la misurazione quantitativa di IgE specifiche. 20 linee di allergeni importanti di uso pediatrico o alimentare o inalatorio sono fissate sulla membrana di supporto insieme a 5 calibratori, la membrana è alloggiata in un pozzetto della Polycheck® card. Nel corso dell'incubazione del siero in esame le IgE allergene-specifiche si legano ai corrispondenti allergeni. Le componenti del siero non legate sono rimosse attraverso il lavaggio. Gli anticorpi leganti anti-IgE si legano al complesso allergeni-IgE. Gli anticorpi non legati vengono rimossi con il lavaggio. Infine gli anticorpi anti-leganti marcati con enzima si legano agli immuno-complessi; l'eccesso di marcato con enzima è rimosso dal lavaggio. Viene aggiunta la soluzione substrato e l'enzima legato trasforma il substrato incolore in un precipitato scuro. L'intensità delle linee colorate ottenute è proporzionale alla concentrazione delle IgE specifiche corrispondenti.

Con l'aiuto del Biocheck Imaging Software (BIS), di un PC e di uno scanner le Polycheck® card sono interpretate. Ogni singolo allergene viene identificato ed in base alla curva di calibrazione presente in ogni card si ottiene il dosaggio quantitativo delle IgE specifiche presenti.

## Esecuzione del test

### Osservazioni importanti:

- Tutti i componenti del kit devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso e mescolati con cura.
  - Il tampone di lavaggio deve essere sciolto con acqua deionizzata almeno 30 minuti prima dell'uso.
  - Non lasciare che la membrana della card si asciughi durante l'esecuzione del test.
  - Tutte le fasi di incubazione vanno effettuate a temperatura ambiente (18 - 24 °C) e con agitazione costante.
1. Preparare un numero di Polycheck® card necessarie e contrassegnarle. Riempire il pozzetto delle card con **400 µL** di Starter Solution (blu) e incubare per pochi secondi. Asciugare le card battendola su un foglio di carta assorbente.
  2. Aggiungere **400 µL** di siero dei pazienti e incubare per **45 minuti** su un agitatore.

3. Eliminare il siero e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio.  
A questo scopo, porre la card sul piano di lavoro ed aggiungere con attenzione 1 ml di tampone lavaggio nella cavità apposita. Eliminare la soluzione di lavaggio. Ripetere l'operazione analogamente altre due volte con 1 ml di tampone lavaggio. Al termine è necessario asciugare le card battendo su carta assorbente.
4. Pipettare **400 µL** di soluzione lavaggio in ogni card e incubare **5 minuti su agitatore**.  
Vuotare e lavare ancora **3x con 1 ml** di soluzione lavaggio.
5. Pipettare **400 µL** di soluzione anticorpo anti-IgE (verde) e incubare per **45 minuti su agitatore**.
6. Eliminare e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio. Battere le card su carta assorbente
7. Aggiungere **400 µL** di soluzione Enzyme-labeled Anti-Ligand (bianco) e incubare per **20 minuti** su agitatore.
8. Eliminare e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio. Asciugare accuratamente la card con percussione sulla carta assorbente.
9. Pipettare **400 µL** soluzione substrato (nero) e incubare **20 minuti al buio su agitatore**.
10. Eliminare la soluzione substrato e lavare **tre volte** con **1 mL** tampone lavaggio.  
Asciugare le card ripetendo l'operazione di percussione sulla carta assorbente.
11. **Asciugare** la Card Polycheck<sup>®</sup> con aria calda. Per la lettura utilizzando lo scanner **deve essere asciutta!**  
Le card possono essere lette fino a tre mesi, se conservate a temperatura ambiente e al riparo da luce e umidità

## Interpretazione dei risultati

Per la lettura della Polycheck<sup>®</sup> allergen card vengono utilizzati un PC e uno scanner piatto. Il software di valutazione BioCheck Image Software (BIS) analizza e documenta tutti i risultati dei pazienti.

Le Polycheck<sup>®</sup> Allergen card sono posizionate a faccia in giù sullo scanner e lette per mezzo del software specifico. Preghiamo di voler seguire l'orientamento sull'etichetta. Il programma di valutazione controlla la validità della curva di calibrazione, assegna all'allergene corrispondente ogni posizione delle bande acquisite dallo scanner e calcola le concentrazioni delle IgE specifiche per ciascun allergene. Uno specifico referto è generato per ogni paziente, elencando gli allergeni testati e la concentrazione delle IgE specifiche presenti. I risultati sono riportati quantitativamente in Unità Internazionali [kU IgE/I]. Le classi corrispondenti alle rispettive concentrazioni di IgE e la loro interpretazione clinica sono elencate qui sotto:

| IgE [kU/L] | Classe | Descrizione  |
|------------|--------|--|
| < 0.35     | 0      | Nessuna evidenza di anticorpi  |
| 0.35 – 0.7 | 1      | Anticorpi molto deboli , spesso assenza di sintomi   |
| 0.7 – 3.5  | 2      | Debole presenza di anticorpi , sensibilizzazione presente, evidenza clinica solo al livello superiore di questa classe |
| 3.5 – 17.5 | 3      | Chiara presenza di anticorpi , evidenza clinica frequente  |
| 17.5 – 50  | 4      | Forte presenza di anticorpi , evidenza clinica quasi sempre presente   |
| 50 – 100   | 5      | Presenza molto forte di anticorpi  |
| > 100      | 6      | Titolo anticorpale estremamente alto   |

## Limiti del metodo

1. Per una diagnosi clinica completa tutti i sintomi clinici e i risultati di laboratorio devono essere presi in considerazione.

2. Il potere allergenico degli allergeni alimentari può essere influenzato dalla cottura o dalla digestione. Di conseguenza il test Polycheck® può risultare non coerente con la storia clinica del paziente.
3. A causa della presenza di determinanti antigenici comuni in alcuni allergeni di una famiglia di composti naturali, non è completamente da escludere la possibilità cross-reazioni. Con il test Polycheck® è possibile dosare solo gli allergeni indicati, non altri allergeni che crossreagiscono.

## Caratteristiche del test

|                        |  |
|------------------------|--|
| Campione:              | siero  |
| Tempo di Incubazione:  | 2 ore e 10 minuti a temperatura ambiente (18-24 °C) su agitatore                                   |
| Limite di sensibilità: | 0.15 kU/L  |
| Specificità            | IgE umane; nessuna cross-reazione con IgG, IgA, IgD, IgM   |
| Calibrazione:          | contro sieri di donatori singoli o pool di sieri con concentrazioni note di singole IgE specifiche |
| Confronto tra metodi:  | test cutanei e solid phase immunoassays alternativi  |

## Metodica breve: Polycheck®

| Fasi   | Reagenti                            | per Card |
|--|-------------------------------------|----------|
| Pipettare  | Soluzione Starter (blu)             | 400 µL   |
| Incubare pochi secondi, vuotare e battere le card su carta assorbente                            |                                     |          |
| Pipettare  | Campione                            | 400 µL   |
| Incubare <b>45 min a temperatura ambiente (RT)</b> su agitatore                                  |                                     |          |
| Vuotare, lavare <b>3 x</b> con <b>1 mL</b> tampone lavaggio (per card)                           |                                     |          |
| Aggiungere <b>400 µL</b> tampone lavaggio e incubare <b>5 min a RT</b> su agitatore              | Tampone lavaggio                    |          |
| Vuotare, lavare <b>3 x</b> con <b>1 mL</b> tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente |                                     |          |
| Pipettare  | Ligand-labeled anti-IgE (verde)     | 400 µL   |
| Incubare <b>45 min a TA</b> su agitatore   |                                     |          |
| Vuotare, lavare <b>3 x</b> con <b>1 mL</b> tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente |                                     |          |
| Pipettare  | Enzyme-labeled anti-Ligand (bianco) | 400 µL   |
| Incubare <b>20 min a TA</b> su agitatore   |                                     |          |
| Vuotare, lavare <b>3 x</b> con <b>1 mL</b> tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente |                                     |          |
| Pipettare  | Soluzione Substrato (nero)          | 400 µL   |
| Incubare <b>20 min a TA</b> su agitatore <b>al buio</b>  |                                     |          |
| Vuotare, lavare <b>3 x</b> con <b>1 mL</b> tampone lavaggio, battere le card su carta assorbente |                                     |          |
| Asciugare con aria   |                                     |          |
| Leggere le card <b>asciutte</b> utilizzando BioCheck Imaging Software e uno scanner              |                                     |          |

Per una descrizione dettagliata della procedura vedi anche a pagine 28/ 29.

