



ALEX³ ALLERGY XPLOERER

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

ÍNDICE

I.	ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE RELATIVA À LÍNGUA	2
II.	DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE	2
III.	DESCRIÇÃO	2
IV.	FINALIDADE PREVISTA	3
V.	RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE	3
VI.	PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO	4
VII.	TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO	4
VIII.	ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS	5
IX.	GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS	5
X.	COMPONENTES DO KIT	7
XI.	EQUIPAMENTO NECESSÁRIO PARA O PROCESSAMENTO E ANÁLISE	11
XII.	MANUSEIO DE ARRAYS	11
XIII.	AVISOS E PRECAUÇÕES	12
XIV.	PROCEDIMENTO DE ENSAIO	13
XV.	CONTROLO DE QUALIDADE	20
XVI.	ANÁLISE DE DADOS	20
XVII.	RESULTADOS	21
XVIII.	LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	21
XIX.	VALORES ESPERADOS	22
XX.	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	22
XXI.	GARANTIA	27
XXII.	ABREVIATURAS	27



I. ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE RELATIVA À LÍNGUA

Estas Instruções de Utilização (IFU) são fornecidas em vários idiomas, em conformidade com o regulamento (UE) 2017/746. Em caso de discrepâncias ou inconsistências entre a versão em inglês e qualquer versão traduzida, a versão em inglês prevalecerá e será considerada a referência oficial.

II. DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Estas IFU foram revistas quanto à sua exatidão. As instruções para o ALEX³ Allergy Xplorer estavam corretas no momento da publicação. Versões posteriores deste guia podem ser atualizadas sem aviso prévio.

O kit ALEX³ Allergy Xplorer é um dispositivo de diagnóstico in vitro destinado a ser utilizado apenas por pessoal de laboratório qualificado. O kit ALEX³ Allergy Xplorer só pode ser utilizado para a finalidade prevista, de acordo com estas IFU. As IFU devem ser observadas sem exceção. Se não estiver familiarizado com a utilização do kit ALEX³ Allergy Xplorer, é obrigatório obter informações da MacroArray Diagnostics (MADx) antes de o utilizar. A MADx não assume qualquer responsabilidade pela utilização indevida do kit ALEX³ Allergy Xplorer. A MADx só será responsável por quaisquer danos ou prejuízos materiais resultantes, direta ou indiretamente, de erros nestas IFU em caso de negligência grave ou intencional, e por danos pessoais apenas no âmbito das disposições legais obrigatórias.

Se qualquer termo ou disposição destas IFU for considerado ilegal ou inexecutável, no todo ou em parte, ao abrigo de qualquer lei ou norma jurídica, tal termo ou disposição ou parte será considerado, nessa medida, como não fazendo parte destas IFU, mas a exequibilidade do restante destas IFU não será afetada.

Este guia está protegido por direitos de autor. Nenhuma parte do mesmo pode ser duplicada, reproduzida ou copiada em qualquer formato eletrónico ou legível por máquina sem a autorização prévia por escrito da MADx.

III. DESCRIÇÃO

O ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) é um teste de diagnóstico in vitro baseado no Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) para a medição quantitativa de IgE específica para alérgenos (slgE). Pode ser utilizado como um ensaio manual em combinação com o dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01) ou como um ensaio automatizado com os sistemas MAX 9k (REF 17-0000-01) ou MAX 45k (REF 16-0000-01).

Estas instruções de utilização são aplicáveis aos seguintes produtos:

UDI-DI Básico	REF	Produto
91201229203JS	03-2001-01	ALEX ³ para 20 análises
	03-5001-01	ALEX ³ para 50 análises



IV. FINALIDADE PREVISTA

ALEX³ Allergy Xplorer é um kit de teste utilizado para exames in vitro de soro ou plasma humano (exceto plasma EDTA) para fornecer informações que auxiliem no diagnóstico de pacientes que sofrem de doenças mediadas por IgE, em conjunto com outros resultados clínicos ou resultados de testes de diagnóstico.

O dispositivo médico IVD deteta IgE específica para alérgenos (sIgE) quantitativamente e IgE total (tIgE) quantitativamente na faixa de 2 a 1000 kU/l (semi-quantitativa 1001-2500 kU/l). O produto é utilizado por pessoal de laboratório qualificado e profissionais médicos num laboratório médico.

V. RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

As reações alérgicas são reações de hipersensibilidade do tipo I imediatas e são mediadas por anticorpos pertencentes à classe IgE de imunoglobulinas. Após a exposição a alérgenos específicos, a liberação mediada por IgE de histamina e outros mediadores dos mastócitos e basófilos resulta em manifestações clínicas como asma, rinoconjuntivite alérgica, eczema atópico e sintomas gastrointestinais [1]. Portanto, um padrão detalhado de sensibilização a alérgenos específicos auxilia na avaliação de pacientes alérgicos [2-6]. Não há restrições quanto à população testada. Ao desenvolver ensaios de IgE, a idade e o sexo normalmente não são considerados fatores críticos, pois os níveis de IgE, que são medidos nesses ensaios, não variam significativamente com base nessas características demográficas.

Todas as principais fontes de alérgenos do tipo I são cobertas pelo ALEX³. Uma lista completa dos extratos de alérgenos e alérgenos moleculares do ALEX³ pode ser encontrada no final desta instrução.

Informação importante para o utilizador!

Para a utilização correta do ALEX³, é necessário que o utilizador leia atentamente e siga estas instruções de utilização. O fabricante não assume qualquer responsabilidade pela utilização deste sistema de teste que não esteja descrita neste documento ou por modificações feitas pelo utilizador do sistema de teste.

Atenção: A variante do kit 03-2001-01 do teste ALEX³ (20 Arrays) destina-se exclusivamente ao processamento manual. Para utilizar esta variante do kit ALEX³ com o MAX 9k automatizado, a Washing Solution (REF 00-5003-01) e a Stop Solution (REF 00-5007-01) devem ser encomendadas separadamente. Todas as informações adicionais sobre o produto podem ser encontradas nas instruções de utilização correspondentes: <https://www.madx.com/extras>.

A variante do kit ALEX³ 03-5001-01 (50 matrizes) deve ser utilizada para processamento automatizado com MAX 9k (REF 17-0000-01), bem como MAX 45k (REF 16-0000-01), em nenhuma circunstância com o dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).



VI. PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O ALEX³ é um teste imunoquímico baseado no Ensaio Imunoenzimático (ELISA). Extratos de alérgenos ou alérgenos moleculares, que são acoplados a nanopartículas, são depositados de forma sistemática numa fase sólida, formando uma matriz macroscópica. Primeiro, os alérgenos e es ligados às partículas reagem com a IgE específica presente na amostra do paciente. Após a incubação, a IgE não específica é removida por lavagem. O procedimento continua com a adição de um anticorpo de detecção IgE anti-humano marcado com enzima, que forma um complexo com a IgE específica ligada às partículas. Após uma segunda etapa de lavagem, é adicionado um substrato que é convertido num precipitado colorido insolúvel pela enzima ligada ao anticorpo. Por fim, a reação da enzima com o substrato é interrompida pela adição de um reagente bloqueador. A quantidade de precipitado é proporcional à concentração de IgE específica na amostra do paciente. O procedimento do teste laboratorial é seguido pela aquisição e análise de imagens utilizando o sistema manual (ImageXplorer) ou o sistema automatizado (MAX 45k ou MAX 9k). Os resultados do teste são analisados com o RAPTOR SERVER Analysis Software e relatados em unidades de resposta IgE (kU_A/l). Os resultados totais de IgE também são relatados em unidades de resposta IgE (kU/l). O RAPTOR SERVER está disponível na versão 1. Para obter o número completo de quatro dígitos, consulte a impressão do RAPTOR SERVER disponível em www.raptor-server.com/imprint.

VII. TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

O envio do ALEX³ é feito em condições de temperatura ambiente. No entanto, o kit deve ser armazenado imediatamente após a entrega a 2-8 °C. Se armazenado corretamente, o ALEX³ e os seus componentes podem ser utilizados até à data de validade indicada.



Os reagentes do kit são estáveis por 6 meses após a abertura (nas condições de armazenamento indicadas).

Envio e armazenamento de amostras

Tipo de amostra	Soro	Plasma (citrato)	Plasma (heparina)
Armazenamento a curto prazo	1 semana a 2-8 °C (evitar o crescimento microbiano)		
Armazenamento a longo prazo	25-37 anos a -20 °C [7-8]		
Transporte	17 dias à temperatura ambiente [9]		



VIII. ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Para garantir a eliminação segura do kit, os utilizadores devem cumprir os regulamentos locais, regionais e nacionais relevantes relativos à gestão de resíduos e proteção ambiental. Deve ser dada especial atenção a quaisquer componentes ou consumíveis que possam apresentar um risco de infeção ou contaminação microbiana (por exemplo, consumíveis contaminados com amostras de soro humano). Os cartuchos ALEX³ usados e quaisquer componentes do kit não utilizados devem ser eliminados como resíduos químicos de laboratório.

IX. GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

	Aviso (pictograma GHS) Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter mais informações.
	Número de catálogo
	Suficiente para <n> testes
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Marcação CE (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Fabricante



	Data de fabrico
	Não reutilizar
	Cartridge (cartucho)
	Data de validade
	Limite de temperatura
	Precaução
	Identificação única do dispositivo
	Ícone ALEX ³
	MacroArray Diagnostics (MADx)



X. COMPONENTES DO KIT

Nova nomenclatura para lotes de reagentes

Atenção: Estamos a introduzir uma nova nomenclatura de lotes para todos os reagentes MADx (a nomenclatura dos cartuchos não é afetada).

Os kits ALEX³ com o número de lote 03EAA01 e lotes produzidos posteriormente serão afetados por esta alteração.

Detalhes importantes:

- **Nenhuma alteração nas etiquetas dos cartuchos**
- Os reagentes específicos de um lote de reagentes apresentarão a mesma nomenclatura na etiqueta e podem ser combinados com lotes de cartuchos diferentes. Apenas variaremos **as posições 1 e 2** do nosso **código de três letras** para os reagentes. Por exemplo:
 - Os reagentes com rótulos **DAA** podem ser combinados com os lotes de cartuchos **DAA, DAB, DAC, DAD, ... até DAT**.
 - Os reagentes com etiquetas **DBA** podem ser combinados com os lotes de cartuchos **DBA, DBB, DBC, DBD, ... até DBT**.
- O RAPTOR SERVER Analysis Software já foi atualizado para refletir essas alterações. **Não é necessária nenhuma ação por parte dos clientes.** O RAPTOR SERVER reconhecerá e combinará os cartuchos corretos com os reagentes correspondentes.

Cada componente (reagente) é estável até à data indicada no rótulo de cada componente individual. Não combine nem misture reagentes de lotes diferentes (primeiras duas letras diferentes). Para obter uma lista completa de extratos de alérgenos e alérgenos moleculares imobilizados na matriz ALEX³, contacte pm@macroarraydx.com.

Componentes do kit REF 03-2001-01	Conteúdo	Propriedades (os ingredientes reativos estão sublinhados)
ALEX ³ Cartridge (cartucho)	2 blisters com 10 ALEX ³ para um total de 20 análises. Calibração através da curva mestre disponível através do RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartucho de poliestireno contendo um <u>imunoensaio em fase sólida</u> . Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade.



Componentes do kit REF 03-2001-01	Conteúdo	Propriedades (os ingredientes reativos estão sublinhados)
ALEX ³ Sample Diluent	1 frasco com 9 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampão TBS-Tween (0,2%), < 0,1 % de azida de sódio. Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
Washing Solution	2 frascos de 50 ml	<u>Tampão TBS-Tween (0,2%)</u> , < 0,1 % de azida de sódio. Pronto a utilizar. Armazenar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de utilizar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 frasco de 11 ml	<u>Anticorpo de detecção anti-IgE humano</u> em tampão conjugado com aditivos. Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 frasco de 11 ml	<u>Substrato NBT/BCIP</u> (NBT: cloreto de 4-nitroazoteto de tetrazólio, solução, BCIP: 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, sal de 4-toluidina). Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.



Componentes do kit REF 03-2001-01	Conteúdo	Propriedades (os ingredientes reativos estão sublinhados)
(ALEX ³) Stop Solution	1 frasco de 2,4 ml	<u>Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)</u> - Solução Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C. Pode apresentar-se como uma solução turva após armazenamento prolongado. Isto não tem qualquer efeito nos resultados.

Componentes do kit REF 03-5001-01	Conteúdo	Propriedades (os ingredientes reativos estão sublinhados)
ALEX ³ Cartridge (cartucho)	5 blisters com 10 ALEX ³ para um total de 50 análises. Calibração através da curva mestre disponível através do RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartucho de poliestireno contendo um <u>imunoensaio em fase sólida</u> . Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade.
ALEX ³ Sample Diluent	1 frasco com 30 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampão TBS-Tween (0,2%), < 0,1 % azida de sódio. Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
Washing Solution	4 x conc. 1 frasco de 250 ml	<u>Tampão TBS-Tween (0,2%)</u> , < 0,1 % Azida de sódio. Armazenar a 2-8 °C até à data de validade. Diluir 1 para 4 com água desmineralizada antes de utilizar (250 ml de Washing Solution 4x conc. + 750 ml de água desmineralizada). Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de utilizar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.



Componentes do kit REF 03-5001-01	Conteúdo	Propriedades (os ingredientes reativos estão sublinhados)
ALEX ³ Detection Antibody	1 frasco de 30 ml	<u>Anticorpo de detecção anti-IgE humano</u> em tampão conjugado com aditivos. Pronto a usar. Armazenar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 frasco de 30 ml	<u>Substrato NBT/BCIP</u> . Pronto a usar. Conservar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 frasco de 10 ml	<u>Solução EDTA</u> . Pronto a usar. Armazenar a 2-8 °C até à data de validade. Deixe o reagente atingir a temperatura ambiente antes de usar. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C. Pode apresentar-se como uma solução turva após armazenamento prolongado. Isto não tem qualquer efeito nos resultados.



XI. EQUIPAMENTO NECESSÁRIO PARA O PROCESSAMENTO E ANÁLISE

Acessórios	Descrição
Acessórios/produtos para processamento <u>MANUAL</u>	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Dispositivo de imagem especificamente concebido para adquirir imagens de cartuchos de teste baseados na tecnologia ALEX para manuseamento <u>manual</u>
Array holder (opcional)	Produto para facilitar o manuseamento dos cartuchos durante o processamento <u>manual</u>
Lab Rocker	É necessário um agitador vertical durante o procedimento de teste <u>manual</u> (LxPxA – 28x15x33 cm, ângulo de inclinação 8°, velocidade necessária 8 rpm).
Incubation chamber	Necessária durante o procedimento de teste <u>manual</u> (LxPxA – 35x25x2 cm)
Acessórios/produtos para processamento <u>AUTOMATIZADO</u>	
Dispositivos MAX: MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Instrumentos para o processamento <u>automatizado</u> de cartuchos de teste baseados na tecnologia ALEX
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Reagentes para o processamento <u>automatizado</u> de cartuchos de teste baseados na tecnologia ALEX. A Washing Solution e a Stop Solution são componentes do kit, mas também podem ser adquiridas separadamente, caso sejam necessários volumes maiores de solução.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Outros acessórios/produtos necessários	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Software para aquisição e análise de imagens captadas pelos dispositivos ImageXplorer ou MAX.
PC ou computador portátil	-
Pipetas e pontas	10 - 100 µl e 100 - 1000 µl
Água desmineralizada	-

XII. MANUSEIO DE ARRAYS

Não toque na superfície da matriz. Quaisquer defeitos na superfície causados por objetos rombos ou pontiagudos podem interferir na leitura correta dos resultados. Não adquira imagens ALEX³ antes que a matriz esteja completamente seca (seca à temperatura ambiente).



XIII. AVISOS E PRECAUÇÕES

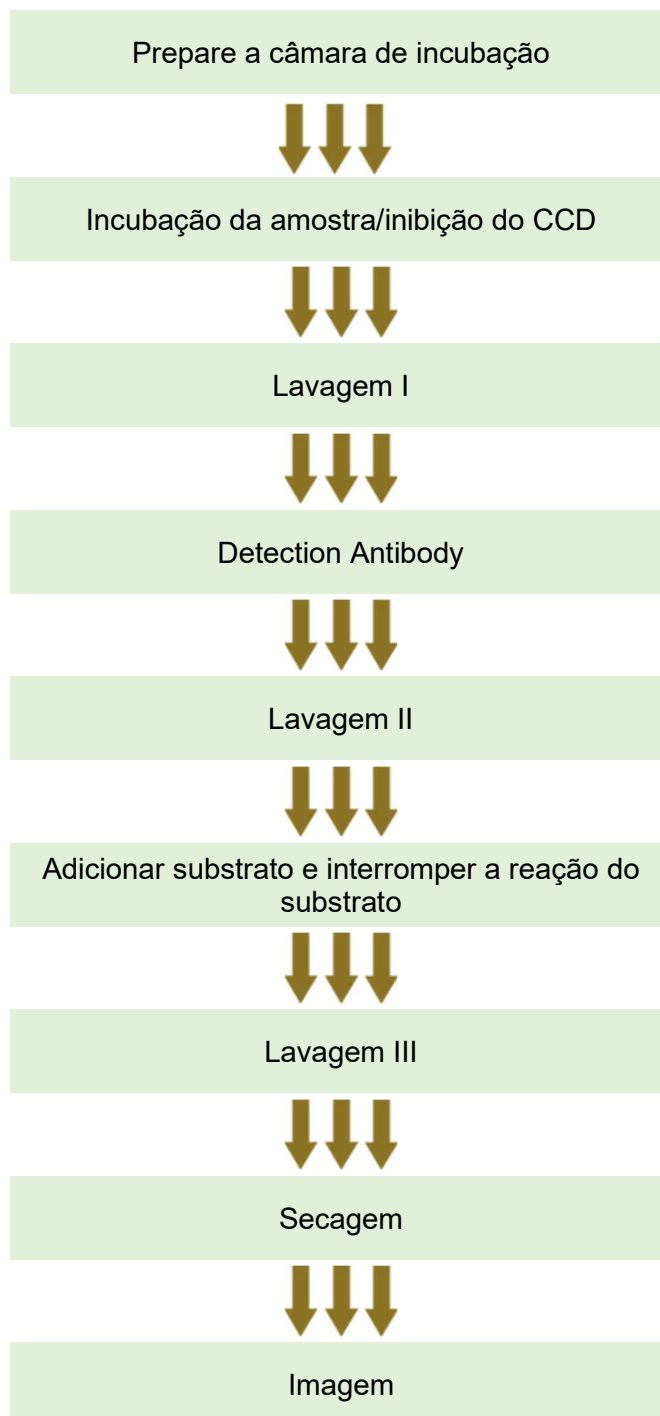
- Recomenda-se o uso de proteção para as mãos e os olhos, bem como batas de laboratório, e seguir as boas práticas laboratoriais ao preparar e manusear reagentes e amostras.
- De acordo com as boas práticas laboratoriais, todo o material proveniente do sangue (por exemplo, ingredientes em reagentes ou outros componentes) deve ser considerado potencialmente infeccioso e manuseado com as mesmas precauções que as amostras de sangue.
- O ALEX³ Sample Diluent e o Washing Solution contêm azida de sódio (<0,1%) como conservante e devem ser manuseados com cuidado. A ficha de dados de segurança está disponível mediante solicitação.
- A solução (ALEX³) Stop Solution contém ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e deve ser manuseada com cuidado. A ficha de dados de segurança está disponível mediante solicitação.
- Apenas para uso diagnóstico in vitro. Não se destina ao uso interno ou externo em seres humanos ou animais.
- Apenas pessoal com formação em práticas laboratoriais deve utilizar este kit.
- À chegada, verifique se os componentes do kit estão danificados. Se um dos componentes estiver danificado (por exemplo, frascos de tampão), contacte a MADx (support@madx.com) ou o seu distribuidor local. Não utilize componentes do kit danificados, pois a sua utilização pode comprometer o desempenho do kit.
- Não utilize reagentes após o prazo de validade.
- Não misture reagentes de lotes diferentes.
- Os cartuchos ALEX³ destinam-se a **uso único** e não devem ser reutilizados. Os reagentes podem ser abertos e reutilizados num período de até 6 meses a partir da data da primeira abertura ou até que o conteúdo do kit seja totalmente consumido, o que ocorrer primeiro.
- Para obter instruções detalhadas sobre a eliminação segura do dispositivo, consulte o Capítulo VIII das IFU.
- As seguintes declarações P e H são aplicáveis à Stop Solution: H319 - Provoca irritação ocular grave; P264 - Lave a pele intensamente após a utilização; P305+ P351+ P338 - Se entrar em contacto com os olhos: Lave cuidadosamente com água durante vários minutos. Retire as lentes de contacto, se estiverem presentes e for fácil fazê-lo. Continue a enxaguar; P337 + P313 - Em caso de irritação ocular persistente: consulte um médico.
- Qualquer **incidente grave** que ocorra em relação à utilização deste dispositivo deve ser comunicado ao **fabricante** em support@madx.com e à **autoridade competente** do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente está estabelecido.



XIV. PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Procedimento de ensaio manual

Os kits ALEX³ podem ser utilizados como ensaio manual em combinação com o dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Preparações

Preparação das amostras: Podem ser utilizadas amostras de soro ou plasma (heparina, citrato, sem EDTA) de sangue capilar ou venoso. As amostras de sangue podem ser recolhidas utilizando procedimentos padrão. Armazenar as amostras a 2–8 °C por até uma semana. Manter as amostras de soro e plasma a -20 °C para armazenamento prolongado. O envio de amostras de soro/plasma à temperatura ambiente é aplicável. Sempre deixar as amostras atingirem a temperatura ambiente antes de usar.

Incubation chamber: Feche a tampa durante todas as etapas do ensaio para evitar a queda da humidade.

Parâmetros do procedimento:

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

O tempo do ensaio é de aproximadamente 3 h 30 min (sem secagem da matriz processada).

Não é recomendável realizar mais ensaios do que aqueles que podem ser pipetados em 8 minutos. Todas as incubações são realizadas à temperatura ambiente, entre 20 e 26 °C.



Todos os reagentes devem ser utilizados à temperatura ambiente (20-26 °C).
O ensaio não deve ser realizado sob luz solar direta.

Prepare a câmara de incubação

Abra a câmara de incubação e coloque toalhas de papel na parte inferior. Molhe as toalhas de papel com água desmineralizada até que não haja partes secas visíveis.

Execução manual

1. Incubação da amostra/inibição do CCD

Retire o número necessário de cartuchos ALEX³ e coloque-os no(s) suporte(s) de matriz. Adicione 400 µl de ALEX³ Sample Diluent a cada cartucho. Adicione 100 µl da amostra do paciente aos cartuchos. Certifique-se de que a solução resultante está espalhada uniformemente. Coloque os cartuchos na câmara de incubação preparada e coloque a câmara de incubação com os cartuchos no lab rocker, de modo que os cartuchos balancem ao longo do lado comprido do cartucho. Inicie a incubação do soro a 8 rpm durante 2 horas. Feche a câmara de incubação antes de iniciar o lab rocker. Após 2 horas, descarregue as



amostras para um recipiente de recolha. Limpe cuidadosamente as gotículas do cartucho com uma toalha de papel.



Evite tocar na superfície da matriz com a toalha de papel! Evite qualquer contaminação cruzada ou transferência de amostras entre cartuchos ALEX³ individuais!

Hom s LF (marcador CCD) opcional ou positivo: Com o protocolo padrão de inibição de anticorpos CCD (conforme descrito no parágrafo 2: incubação da amostra/inibição CCD), 98% de todas as amostras testadas apresentam um resultado negativo para o marcador de controlo de inibição CCD Hom s LF. Caso o Hom s LF seja positivo com o protocolo padrão, recomenda-se o seguinte procedimento:

Prepare um tubo de amostra de 1 ml, adicione 400 µl de ALEX³ Sample Diluent e 100 µl de soro. Incube durante 30 minutos (sem agitar) e, em seguida, prossiga com o procedimento de ensaio habitual.

Nota: A etapa extra de inibição da CCD leva, em muitos casos, mas não em todos, a uma inibição completa dos anticorpos CCD (Hom s LF negativo).

1a. Lavagem I

Adicione 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube no Lab Rocker (a 8 rpm) durante 5 minutos. Descarregue a Washing Solution para um recipiente de recolha e bata vigorosamente os cartuchos numa pilha de toalhas de papel secas. Limpe cuidadosamente as gotículas restantes dos cartuchos com uma toalha de papel.

Repita este passo mais 2 vezes.

2. Adicione o detection antibody

Adicione 500 µl de ALEX³ Detection Antibody a cada cartucho.



Certifique-se de que toda a superfície da matriz esteja coberta pela solução de ALEX³ Detection Antibody.

Coloque os cartuchos na câmara de incubação no lab rocker e incube a 8 rpm durante 30 minutos. Descarregue a solução de anticorpo de detecção para um recipiente de recolha e bata vigorosamente os cartuchos numa pilha de toalhas de papel secas. Limpe cuidadosamente as gotículas restantes dos cartuchos com uma toalha de papel.



2a. Lavagem II

Adicione 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube no lab rocker a 8 rpm durante 5 minutos. Descarregue a Washing Solution num recipiente de recolha e bata vigorosamente os cartuchos de ALEX³ Detection Antibody numa pilha de toalhas de papel secas. Limpe cuidadosamente as gotículas restantes dos cartuchos com uma toalha de papel.

Repita este passo mais 4 vezes.

3+4. Adicione a ALEX³ Substrate Solution e interrompa a reação do substrato

Adicione 500 µl de ALEX³ Substrate Solution a cada cartucho. Inicie um temporizador ao encher o primeiro cartucho e prossiga com o enchimento dos cartuchos restantes. Certifique-se de que toda a superfície da matriz está coberta pela Substrate Solution e incube as matrizes por exatamente 8 minutos sem agitar (**lab rocker a 0 rpm e na posição horizontal**).

Após exatamente 8 minutos, adicione 100 µl da (ALEX³) Stop Solution a todos os cartuchos, começando pelo primeiro cartucho para garantir que todos os arrays sejam incubados pelo mesmo tempo com a ALEX³ Substrate Solution. Agite cuidadosamente para distribuir uniformemente a (ALEX³) Stop Solution nos cartuchos da matriz, após a (ALEX³) Stop Solution ter sido pipetada em todas as matrizes. Em seguida, descarregue a (ALEX³) Substrate/Stop Solution dos cartuchos e bata vigorosamente os cartuchos numa pilha de toalhas de papel secas. Limpe cuidadosamente quaisquer gotículas remanescentes dos cartuchos com uma toalha de papel.



O Lab Rocker NÃO DEVE AGITAR durante a incubação do substrato!

4a. Lavagem III

Adicione 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube no Lab Rocker a 8 rpm durante 30 segundos. Descarregue a Washing Solution num recipiente de recolha e bata vigorosamente os cartuchos numa pilha de toalhas de papel secas. Limpe cuidadosamente quaisquer gotículas remanescentes dos cartuchos com uma toalha de papel.

5. Aquisição de imagens

Após concluir o procedimento do ensaio, seque os arrays ao ar à temperatura ambiente até que estejam completamente secos (pode demorar até 45 minutos). Se os arrays precisarem de um período de secagem prolongado, devem ser armazenados num ambiente protegido da luz até à análise.



A secagem completa é essencial para a sensibilidade do teste. Apenas as matrizes completamente secas fornecem uma relação sinal-ruído ideal.

Os arrays secos são subsequentemente digitalizados com o ImageXplorer.

Procedimento de ensaio automatizado

Os kits ALEX³ podem ser utilizados como um ensaio automatizado com os sistemas MAX 9k (REF 17-0000-01) ou MAX 45k (REF 16-0000-01). Estes produtos médicos IVD processam automaticamente as matrizes baseadas na tecnologia ALEX e adquirem imagens das mesmas.



O pessoal deve receber formação sobre o manuseamento dos dispositivos MAX (MAX 45k ou MAX 9k). A versão atual do MAX IFU (Sistemas) pode ser encontrada aqui: <https://www.madx.com/extras>.

Preparações

Preparação das amostras: Podem ser utilizadas amostras de soro ou plasma (heparina, citrato, sem EDTA) de sangue capilar ou venoso. As amostras de sangue podem ser recolhidas utilizando procedimentos padrão. Armazene as amostras a 2–8 °C por até uma semana. Mantenha as amostras de soro e plasma a -20 °C para armazenamento prolongado. O envio de amostras de soro/plasma à temperatura ambiente é aplicável. Deixe sempre as amostras atingirem a temperatura ambiente antes de usar.

Preparação da Washing Solution (apenas para REF 03-5001-01 e REF 00-5003-01 quando utilizado com o dispositivo MAX): Deite o conteúdo de 1 frasco de Washing Solution no recipiente de lavagem do instrumento. Encha com água desmineralizada até à marca vermelha e misture cuidadosamente o recipiente várias vezes sem formar espuma. O reagente aberto é estável durante 6 meses a 2-8 °C.

Execução automática

As instruções sobre como realizar um teste são fornecidas nos subcapítulos XVII.7-10 do MAX IFU e devem ser seguidas.

Dependendo do volume da amostra, estão disponíveis dois modos de operação para utilizar o ALEX³: pré-diluído manualmente e não pré-diluído.



Item	MAX 45k	MAX 9k
Tubos de amostra de baixo volume	Tubos Sarstedt com “false-bottom” 2,5 ml, 75x13 (redondos) Número de encomenda: 60.614.010	
Volume mínimo de amostra para 1 teste ALEX ³ , tubo de baixo volume	Não pré-diluído: 200 µl Pré-diluído manualmente: 120 µl de soro + 480 µl de Sample Diluent	
Tubos padrão de 13 mm	Altura: 75-100 mm Exemplo: tubos Sarstedt 5 ml 75x13 mm N.º de encomenda PS: 55.475 Utilizar com o adaptador fornecido	Altura: 75 mm Exemplo: tubos Sarstedt 5 ml 75 x 13 mm N.º de encomenda PS: 55.475
Tubos padrão de 16 mm	Altura mínima: 75 mm, altura máxima: 100 mm Exemplo: Tubos Sarstedt 13 ml 100x16 mm N.º de encomenda PS: 55.459	-
Volume mínimo de amostra para 1 teste ALEX ³ , tubo padrão de 13/16 mm	Não pré-diluído: 400 µl Pré-diluído manualmente: 145 µl de soro + 580 µl de Sample Diluent	

	Antes de utilizar qualquer outro tubo que não seja o especificado acima, contacte o suporte MADx ou o seu distribuidor.
---	---

Os requisitos detalhados dos tubos e as instruções para diluições estão disponíveis no capítulo XXI (Especificações Técnicas) do MAX IFU. A versão atual do MAX IFU (Sistemas) pode ser encontrada aqui: <https://www.madx.com/extras>.

Hom s LF opcional ou positivo (marcador CCD): Com o protocolo padrão de inibição do anticorpo CCD (conforme descrito no parágrafo 2: incubação da amostra/inibição do CCD), 98% de todas as amostras testadas apresentam um resultado negativo para o marcador de controlo de inibição do CCD Hom s LF.

Caso o Hom s LF seja positivo com o protocolo padrão, as amostras de soro devem ser pré-diluídas manualmente (ver tabela acima) e incubadas durante 30 minutos (sem agitação) antes de colocar os tubos de amostra no carrossel de amostras.

Análise de imagens

As matrizes digitalizadas com base na tecnologia ALEX são analisadas com o RAPTOR SERVER Analysis Software (consulte os detalhes nas instruções de utilização do RAPTOR SERVER em <https://www.madx.com/extras>).



O RAPTOR SERVER Analysis Software só é verificado em combinação com o instrumento ImageXplorer e os dispositivos MAX, portanto, a MADx não se responsabiliza pelos resultados obtidos com qualquer outro dispositivo de captura de imagem (como scanners).

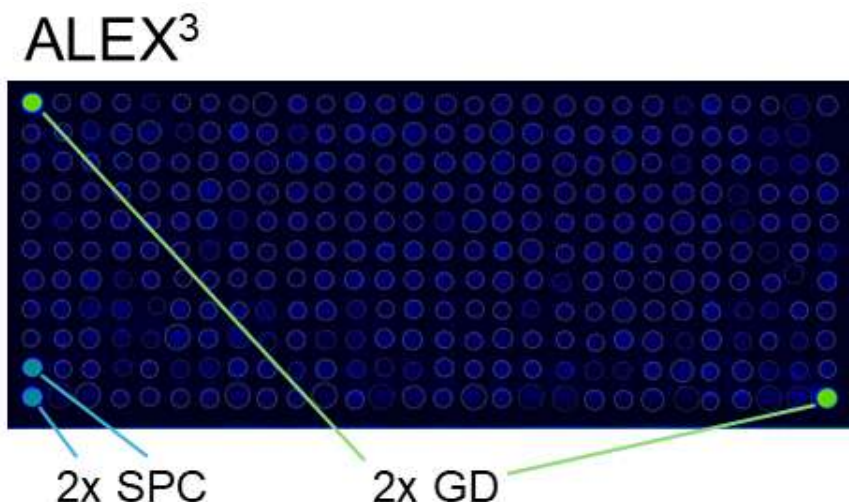
Existem dois pontos de controlo de pipetagem de amostras (Sample Pipetting Control; SPC) no ALEX³. Ambos os pontos estão presentes para garantir que as amostras dos pacientes foram transferidas para cada matriz da respetiva execução do ensaio. Após o processamento, os pontos SPC devem ser facilmente visíveis a olho nu. Se não forem visíveis, contacte o seu distribuidor local ou o suporte MADx para saber como proceder. Caso os pontos SPC sejam visíveis, as amostras dos pacientes foram pipetadas corretamente.

A matriz da medição com grelha é apresentada na área de imagem analítica. O software identifica automaticamente a posição da matriz nos dados da imagem com base nos pontos de orientação (Guide Dots; GD). Existem 2 pontos de orientação no ALEX³.

Após o processamento, os pontos de orientação devem ser facilmente visíveis a olho nu. Verifique também a orientação correta, conforme mostrado na imagem do ALEX³ abaixo. Se não estiverem visíveis, entre em contacto com o seu distribuidor local ou com o suporte MADx para saber como proceder. Caso os pontos de orientação estejam visíveis, o cartucho pode ser analisado.

Durante a aquisição da imagem de um cartucho ALEX³, o RAPTOR SERVER avalia o sinal de todos os pontos guia, bem como o sinal de fundo da superfície da membrana. Se todos os critérios de qualidade forem cumpridos, o campo «automatic QC» abaixo da imagem é definido como «OK».

Para excluir a influência de artefactos na análise automática da imagem (manchas satélite, contaminações da amostra, poeira, manchas manchadas, etc.), as imagens devem ser verificadas por um operador treinado antes que os resultados sejam aprovados, a fim de excluir resultados falsos. Em caso de discrepâncias entre a matriz processada e a imagem adquirida pelo RAPTOR SERVER, consulte o seu distribuidor local ou o suporte MADx.





Calibração do ensaio

A curva de calibração mestre ALEX³ foi estabelecida por testes de referência com preparações de soro com IgE específica (slgE) contra diferentes antigénios, cobrindo a faixa de medição pretendida. Os parâmetros da curva para cada lote são ajustados por um sistema de testes de referência interno, em comparação com preparações de soro testadas com ImmunoCAP (Thermo Fisher), que é atualmente considerado o «método de referência» para testes de IgE in vitro (documento de posição da WAO). Não está disponível nenhum material de referência e e para slgE. Para tlgE, está disponível uma preparação de referência da OMS 11/234, que foi utilizada para a geração da curva mestre tlgE.

Os resultados do slgE são quantitativos e apresentados em kU_A/l. Os resultados do IgE total (tlgE) são apresentados em unidades de resposta IgE (kU/l), em que 1 kU/l corresponde a 2,42 ng/ml. Os resultados de IgE total de 2-1000 kU/l são quantitativos e calculados a partir de medições anti-IgE com fatores de calibração específicos do lote, que são fornecidos pelo RAPTOR SERVER Analysis Software e selecionados de acordo com os códigos QR específicos do lote. Para tlgE, os resultados de 1001-2500 kU/l são semiquantitativos.

As variações sistemáticas nos níveis de sinal entre lotes são normalizadas por calibração heteróloga em relação a uma curva de referência de IgE. Um fator de correção é utilizado para ajustar sistematicamente os desvios de medição específicos do lote.

XV. CONTROLO DE QUALIDADE

Registo de cada ensaio

De acordo com as boas práticas laboratoriais, recomenda-se registar os números de lote de todos os reagentes utilizados.

Amostras de controlo

De acordo com as boas práticas laboratoriais, recomenda-se que as amostras de controlo de qualidade sejam incluídas em intervalos definidos. Os valores de referência para determinados soros de controlo disponíveis no mercado podem ser fornecidos pela MADx, mediante solicitação.

XVI. ANÁLISE DE DADOS

Para a análise de imagens de matrizes processadas, deve ser utilizado o ImageXplorer ou um dispositivo MAX. As imagens ALEX³ são analisadas automaticamente utilizando um software de análise RAPTOR SERVER e é gerado um relatório que resume os resultados para o utilizador.



XVII. RESULTADOS

O ALEX³ deteta quantitativamente sIgE (na faixa de 0,3-50 kU_A/l) e tIgE (na faixa de 2-1000 kU/l). Para níveis de tIgE entre 1001-2500 kU/l, a deteção é semiquantitativa.

Os anticorpos IgE específicos para alérgenos são expressos em unidades de resposta IgE (kU_A/l), os resultados totais de IgE em kU/l. O RAPTOR SERVER Analysis Software calcula e apresenta automaticamente os resultados sIgE e tIgE.

Interpretação dos resultados

Os resultados do teste ALEX³ são automaticamente analisados e apresentados num relatório gerado pelo RAPTOR SERVER Analysis Software. Para apoiar ainda mais a interpretação clínica dos resultados do teste, foi implementado um módulo de software especializado - RAVEN Interpretation Guidance. **Detalhes sobre a geração do relatório RAPTOR SERVER e a interpretação pelo RAVEN são fornecidos no RAPTOR SERVER Analysis Software IFU, subcapítulos VII.2.1-2.4.**

A versão atual do RAPTOR SERVER Analysis Software IFU pode ser encontrada em: <https://www.madx.com/extras>

XVIII. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Um diagnóstico clínico definitivo só deve ser feito em conjunto com todos os resultados clínicos disponíveis por profissionais médicos e não deve basear-se apenas nos resultados de um único método de diagnóstico.

Em determinadas áreas de aplicação (por exemplo, alergia alimentar), os anticorpos IgE circulantes podem permanecer indetetáveis, embora possa existir uma manifestação clínica de alergia alimentar a um determinado alérgeno, uma vez que estes anticorpos podem ser específicos de alérgenos que são modificados durante o processamento industrial, a cozedura ou a digestão e, por conseguinte, não existem no alimento original para o qual o paciente é testado.

Resultados negativos para veneno indicam apenas níveis indetetáveis de anticorpos IgE específicos para veneno (por exemplo, devido à não exposição a longo prazo) e não excluem a existência de hipersensibilidade clínica a picadas de insetos.

Em crianças, especialmente até aos 2 anos de idade, o intervalo normal de tIgE é inferior ao dos adolescentes e adultos [10]. Portanto, é de esperar que, numa proporção mais elevada de crianças com menos de 2 anos, o nível total de IgE se situe abaixo do limite de deteção especificado. Esta limitação não se aplica à medição específica de IgE.



XIX. VALORES ESPERADOS

A estreita associação entre os níveis de anticorpos IgE específicos para alérgenos e as doenças alérgicas é bem conhecida e descrita detalhadamente na literatura [1]. Cada paciente sensibilizado apresentará um perfil de IgE individual quando testado com ALEX³. A resposta IgE com amostras de indivíduos saudáveis não alérgicos será inferior a 0,3 kU_A/l para alérgenos moleculares únicos e para extratos de alérgenos quando testados com ALEX³. A área de referência para IgE total em adultos é < 100 kU/l. As boas práticas laboratoriais recomendam que cada laboratório estabeleça a sua própria gama de valores esperados.

XX. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O Resumo de Segurança e Desempenho pode ser encontrado no site da MADx: <https://www.madx.com/extras>.

1. Exatidão

O ALEX³ demonstrou alta precisão, conforme demonstrado pela boa repetibilidade (CV de repetibilidade 6,6%, CV de precisão total 13,8%) e alta veracidade com o método de referência ($R^2 > 0,9$).

(a) Precisão

A precisão do teste ALEX³ foi avaliada de acordo com o desenho de «estudo num único local» descrito na diretriz EP05-A3. Aqui, várias amostras são analisadas durante 20 dias, com uma execução por dia e três réplicas por execução («desenho 20 x 1 x 3»). A análise estatística trata as fontes de variação associadas a «dias» e «execuções» como fatores. Este método produz estimativas para dois tipos de precisão: repetibilidade (= precisão dentro da execução) e precisão dentro do laboratório (= precisão dentro do dispositivo = precisão total). [11]

Repetibilidade	Resultados
CV [0,3 - 1,0 kU _A /l]	13,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU _A /l]	7,0 %
CV [>10,0 kU _A /l]	5,7 %
CV [>1,0 kU _A /l]	6,6 %
Precisão total	Resultados
CV [0,3 - 1,0 kU _A /l]	25,7 %
CV [1,0 - 10,0 kU _A /l]	14,4 %
CV [>10,0 kU _A /l]	12,6 %
CV [>1,0 kU _A /l]	13,8 %



(b1) Precisão da medição (slgE)

Foram testadas 63 amostras diferentes com os 3 métodos ALEX³ e ALEX² (apenas MAX 45k). As amostras selecionadas também foram testadas com o método ImmunoCAP para os alérgenos prioritários. O coeficiente de determinação observado, R², entre os diferentes métodos é apresentado para todos os alérgenos prioritários:

Ara h 2					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,940	0,922	0,939	0,960
ALEX3 MAX 45K			0,993	0,990	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,985	0,989
ALEX3 IX Manual					0,988
ALEX2 MAX 45k					
Phi p 1					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,934	0,984	0,910	0,952
ALEX3 MAX 45K			0,976	0,769	0,964
ALEX3 MAX 9K				0,853	0,967
ALEX3 IX Manual					0,868
ALEX2 MAX 45k					
Gal d 1					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,986	0,983	0,980	0,979
ALEX3 MAX 45K			1,000	0,997	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,999	0,998
ALEX3 IX Manual					1,000
ALEX2 MAX 45k					
Pru p 3					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,954	0,991	0,972	0,975
ALEX3 MAX 45K			0,962	0,935	0,998
ALEX3 MAX 9K				0,991	0,994
ALEX3 IX Manual					0,995
ALEX2 MAX 45k					
Art v 1					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,952	0,940	0,951
ALEX3 MAX 45K			0,998	0,995	0,999
ALEX3 MAX 9K				0,992	0,998
ALEX3 IX Manual					0,995
ALEX2 MAX 45k					
Fel d 1					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,911	0,954	0,844	0,871
ALEX3 MAX 45K			0,982	0,976	0,988
ALEX3 MAX 9K				0,961	0,975
ALEX3 IX Manual					0,997
ALEX2 MAX 45k					
Pla l 1					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,949	0,993	0,987	0,978
ALEX3 MAX 45K			0,950	0,967	0,984
ALEX3 MAX 9K				0,976	0,969
ALEX3 IX Manual					0,996
ALEX2 MAX 45k					
Der p 2					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,959	0,956	0,943	0,962
ALEX3 MAX 45K			0,991	0,983	0,993
ALEX3 MAX 9K				0,992	0,998
ALEX3 IX Manual					0,985
ALEX2 MAX 45k					
Gal d 2					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,984	0,993	0,988	0,991
ALEX3 MAX 45K			0,997	0,999	0,999
ALEX3 MAX 9K				0,998	1,000
ALEX3 IX Manual					1,000
ALEX2 MAX 45k					
Gly m 4					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,927	0,966	0,932	0,966
ALEX3 MAX 45K			0,992	1,000	0,992
ALEX3 MAX 9K				0,994	1,000
ALEX3 IX Manual					0,994
ALEX2 MAX 45k					
Cari					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,899	0,942	0,935	0,947
ALEX3 MAX 45K			0,989	0,996	0,979
ALEX3 MAX 9K				0,997	0,998
ALEX3 IX Manual					0,990
ALEX2 MAX 45k					
Art v					
R ²	ImmunoCAP	ALEX3 MAX 45K	ALEX3 MAX 9K	ALEX3 IX Manual	ALEX2 MAX 45k
ImmunoCAP		0,992	0,998	0,994	0,991
ALEX3 MAX 45K			0,994	0,999	0,978
ALEX3 MAX 9K				0,996	0,995
ALEX3 IX Manual					0,984
ALEX2 MAX 45k					

Resultados

O R² médio entre todos os métodos é **0,972**
 O R² médio entre o ImmunoCAP e o ALEX³_MAX 45k é de **0,949**
 O R² médio entre o ImmunoCAP e o ALEX³_MAX 9k é **0,969**
 O R² médio entre o ImmunoCAP e o ALEX³_ImageXplorer é de **0,947**
 (para mais detalhes, consulte a figura acima)

(b2) Veracidade da medição (tlgE)

Foram testadas 28 amostras com os três métodos ALEX³ e ImmunoCAP como método de referência para tlgE. Além disso, uma amostra negativa foi adicionada ao padrão 11/234 da OMS e testada em duplicatas em nove diluições diferentes.



Resultados	<u>Comparação do método tlgE «amostras reais»:</u> R ² tlgE ImmunoCAP e ALEX ³ _MAX 45k é 0,963 R ² tlgE ImmunoCAP e ALEX ³ _MAX 9k é 0,919 R ² tlgE ImmunoCAP e ALEX ³ _ImageXplorer é 0,963
	<u>Comparação do método tlgE «amostras adulteradas»:</u> R ² MAX 45k é 0,996 e CV interdilucional: 5,62 % R ² MAX 9k é 0,981 e CV interdilucional: 5,67 % R ² ImageXplorer é 0,966 e CV interdilucional: 7,19 %

4. Sensibilidade analítica

O limite de deteção (LoD) para sIgE foi determinado para componentes alergénicos representativos (alergénicos prioritários) e é de 0,3 kU_A /l para todos os componentes alergénicos testados. O limite de deteção (LoD) para tIgE é de 1,27 kU/l. [12]

5. Especificidade analítica

Não há reatividade cruzada detectável com outras imunoglobulinas humanas (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgM) em concentrações fisiológicas normais.

Não há interferência detectável com citrato ou heparina da preparação da amostra, nem com bilirrubina, colesterol/triglicéridos e hemoglobina em concentrações fisiológicas normais. Também não há interferência com tIgE, que foi testada em concentrações de até 3000 kU/l.

6. Rastreabilidade metrológica dos valores do calibrador e do material de controlo

N/A

7. Intervalo de medição do ensaio

A gama de medição foi definida da seguinte forma:

IgE específica (quantitativa): 0,3-50 kU_A /l

IgE total (quantitativa): 2-1000 kU/l

IgE total (semi-quantitativa): 1001-2500 kU/l

Isto baseia-se no LoD e no limite superior da gama de medição (efeito gancho), que foi calculado em conformidade com a diretriz CLSI I/LA20, 3rd ed.

O valor limite do ensaio é de 0,3 kU_A /l para IgE específica.



(a) Linearidade

As amostras de soro positivas foram diluídas em série com amostra em branco para 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 e 1:128. As amostras não diluídas e diluídas foram testadas de acordo com o protocolo do ensaio ALEX³.

Para IgE total, uma amostra em branco foi adicionada com a preparação 11/234 da OMS como o 3.º Padrão Internacional para IgE sérica a uma concentração de 2500 kU/l e diluída em série para cobrir toda a faixa de medição.

Os valores obtidos (O) são comparados com os valores estimados (E). O quociente O/E é calculado para os alérgenos prioritários selecionados.

Resultados	<u>slgE:</u> 83,8% (ou 264 de 315) de todos os valores O/E para os alérgenos prioritários estavam dentro de 0,8 -1,2
	<u>tlgE:</u> 85,0% (ou 17 em 20) de todos os valores O/E das preparações de tlgE adicionados estavam dentro de 0,8 -1,2

8. Informações sobre o desempenho clínico

Uma vez que 247 dos 300 alérgenos já estavam presentes na matriz ALEX², a avaliação do desempenho clínico do ALEX² é parcialmente aplicável ao ALEX³. 53 novos alérgenos foram validados utilizando soros de pacientes clinicamente bem caracterizados, sensibilizados à respetiva fonte alergénica. Todos os alérgenos foram avaliados com soros clinicamente validados. Os novos alérgenos demonstraram ligar-se especificamente a anticorpos IgE de pelo menos cinco pacientes sensibilizados à fonte alergénica correspondente. Quando aplicável, os resultados também foram comparados com os alérgenos específicos do ImmunoCAP, confirmando ainda mais a especificidade. A especificidade dos novos alérgenos foi validada pela ausência de ligação de IgE em soros de indivíduos não sensibilizados. Nos casos em que não estava disponível um ImmunoCAP específico, o extrato do alérgeno foi utilizado eficazmente como substituto, demonstrando a robustez do desempenho clínico. O desempenho clínico é, portanto, verificado.

(a) Estudo clínico ALEX²

Um estudo clínico intitulado «Precisão diagnóstica do sistema laboratorial automatizado MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) e do MADx Allergy Explorer Versão 2 (ALEX²) – Teste IgE Multiplex para o Diagnóstico de Grupos Pré-definidos de Alergénios Específicos de Alta Prioridade (MADMAX)" (ClinicalTrials.gov ID: NCT04435678) foi concluído com sucesso em abril de 2022.

Foram inscritos um total de 837 pacientes, incluindo 689 indivíduos alérgicos e 148 não alérgicos.

**(a1) Sensibilidade:**

Tipo de alergia	Sensibilidade (intervalo de confiança de 95%)
Alergia ao pólen de bétula (n=111)	94,6% (88,6-98,0)
Alergia ao pólen de gramíneas (n=113)	98,2% (93,8-99,8)
Alergia aos ácaros do pó doméstico (n=148)	91,2% (85,4-95,2)
Alergia a gatos (n=107)	92,5% (85,8-96,7)
Alergia ao veneno de abelha (n=104)	76,0% (66,6-83,8)
Alergia ao veneno de vespas (n=106)	94,3% (88,1-97,9)

(a2) Especificidade:

Teste	Especificidade (intervalo de confiança de 95%)
Teste ALEX ² em comparação com os sintomas clínicos (n=146)	95,9% (91,3-98,5)

(a3) Razão de verossimilhança

A razão de verossimilhança foi calculada a partir dos dados de sensibilidade e especificidade, de acordo com a seguinte fórmula: Sensibilidade / (1 - Especificidade).

Tipo de alergia	Razão de verossimilhança calculada
Alergia ao pólen de bétula (n=111)	23,1 (0,946/(1-0,959))
Alergia ao pólen de gramíneas (n=113)	24,0 (0,982/(1-0,959))
Alergia aos ácaros do pó doméstico (n=148)	22,2 (0,912/(1-0,959))
Alergia a gatos (n=107)	22,6 (0,925/(1-0,959))
Alergia ao veneno de abelha (n=104)	18,5 (0,760/(1-0,959))
Alergia ao veneno de vespas (n=106)	23,0 (0,943/(1-0,959))

9. Informações sobre estabilidade

Os testes de estabilidade num estudo de estabilidade acelerada do ALEX³ demonstraram elevada robustez, 2 anos após a produção, armazenado a 2-8 °C. Assim, o prazo de validade determinado é de 2 anos. Além disso, como parte do estudo de estabilidade acelerada, foram realizados estudos de estabilidade durante o transporte. Para o estudo de simulação de transporte, os kits foram submetidos a um protocolo de simulação de transporte (TS) antes de serem testados. Além disso, a embalagem e a rotulagem foram testadas quanto à sua conveniência.



XXI. GARANTIA

Os dados de desempenho foram obtidos utilizando o procedimento descrito nestas Instruções de Utilização. Qualquer alteração ou modificação no procedimento pode afetar os resultados e a MacroArray Diagnostics isenta-se de todas as garantias expressas (incluindo a garantia implícita de comercialização e adequação ao uso) em tal caso. Consequentemente, a MacroArray Diagnostics e os seus distribuidores locais não serão responsáveis por danos indiretos ou consequentes em tal caso.

XXII. ABREVIATURAS

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Determinantes de carboidratos com reação cruzada
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	Ensaio imunoenzimático
IgE	Imunoglobulina E
IVD	Diagnóstico in vitro
kU/l	Quilo unidades por litro
kU _A /l	Quilogramas de IgE específica para alérgenos por litro
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Número de referência
rpm	Rotações por minuto
slgE	IgE específica para alérgenos
tlgE	IgE total
µl	Microlitro



LISTA DE ALERGÉNIOS ALEX³

Extratos de alérgenos:

Aca m, Aca s, Ach d, Ail a, All c, All s, Ama r, Amb a, Api m, Art v, Ave s, Ber e, Bos d_meat, Bos d_milk, Bro pa, Cam d, Can f_male urine, Can s, Cap h_epithelia, Cap h_milk, Car i, Car p, Che a, Che q, Chi spp, Cic a, Cla h, Clu h, Cuc p, Cup s, Equ c_meat, Equ c_milk, Fag e, Fic b, Fic c, Gal d_meat, Gal d_white, Gal d_yolk, Hel a, Hom g, Hor v, Jug r_pollen, Jun a, Lit spp, Loc m, Lol spp, Lup a, Mac i, Mel g, Ory_meat, Ovi a_meat, Ovi a_milk, Pan b, Pan m, Pap s, Par j, Pas n, Pen ch, Per a, Pers a, Phr c, Pin p, Pol d, Pru du, Pyr c, Raj c, Rud spp, Sal k, Sal s, Sco s, Sec c_flour, Sec c_pollen, Ses i, Sin a, Sol spp, Sol t, Sola l, Sus d_epithelia, Ten m, Tri s, Tyr p, Zea m

Componentes naturais purificados:

α-Gal, nAct d1, nAna o 1, nAna o 3, nApi m 1, nAra h 1, nAra h 3, nBos d 12, nBos d 4, nBos d 5, nBos d 6, nBos d 8, nCan f 3, nCoc n 1, nCor a 11, nCor a 9, nCry j 1, nCup a 1, nEqu c 3, nFag e 2, nGal d 2, nGal d 3, nGal d 4, nGal d 5, nGly m 5, nGly m 6, nJug r 4, nLit v 7, nMac i 1.0101(28-76), nOle e 7, nPap s 1.0101 (27-846), nPis v 2, nPis v 3, nPla a 2, nPru du 6, nSal s 6, nTri a aA_Tl, nZea m 1

Componentes recombinantes:

rAct d 10, rAct d 2, rAct d 5, rAln g 1, rAln g 4, rAlt a 1, rAlt a 6, rAmb a 1, rAmb a 4, rAna o 2, rAni s 1, rAni s 3, rApi g 1, rApi g 2, rApi g 6, rApi g 7, rApi m 10, rApi m 2, rAra h 15, rAra h 18, rAra h 2, rAra h 6, rAra h 8, rAra h 9, rArg r 1, rArt v 1.0101, rArt v 3.0201, rAsp f 1, rAsp f 3, rAsp f 4, rAsp f 6, rAsp f 8, rBer e 1, rBet v 1, rBet v 6, rBet v 7, rBla g 1, rBla g 2, rBla g 4, rBla g 5, rBla g 9, rBlo t 10, rBlo t 2, rBlo t 21, rBlo t 5, rBos d 10, rBos d 11, rBos d 2, rBos d 9, rCan f 1, rCan f 2, rCan f 4, rCan f 6, rCan f Fel d 1 like, rCan s 3, rCar i 1, rCari 2 (256-386), rCar i 4, rCav p 1, rChe a 1, rCla h 8, rClu h 1, rCor a 1.0401, rCor a 14, rCor a 8, rCra c 6, rCuc m 2, rCyn d 1, rCyp c 1, rCyp c 2, rDer f 1, rDer f 15, rDer f 18, rDer f 2, rDer p 1, rDer p 10, rDer p 2, rDer p 20, rDer p 21, rDer p 23, rDer p 5, rDer p 7, rDol m 2, rDol m 5, rEqu c 1, rEqu c 4, rFel d 1, rFel d 2, rFel d 4, rFel d 7, rFra a 3, rFra e 1, rGad m 1, rGal d 1, rGal d 7, rGly d 2, rGly m 4, rGly m 8, rHel a 3, rHev b 1, rHev b 11, rHev b 3, rHev b 5, rHev b 6.02, rHom s LF, rJug r 1, rJug r 2, rJug r 3, rJug r 6, rLen c 1, rLen c 3, rLep d 2, rMac r 1, rMac r 2, rMal d 1, rMal d 3, rMala s 11, rMala s 13, rMala s 5, rMala s 6, rMan i 1, rMes a 1, rMus a 2, rMus a 5, rMus m 1, rOle e 1, rOle e 9, rOry c 1, rOry c 2, rOry c 3, rPar j 2, rPen m 1, rPen m 2, rPen m 3, rPen m 4, rPer a 6, rPer a 7, rPers a 1, rPhl p 1, rPhl p 12, rPhl p 2, rPhl p 5.0101, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhod s 1, rPin p 1, rPis s 1, rPis s 2, rPis s 3, rPis v 1, rPla a 1, rPla a 3, rPla l 1, rPol d 5, rPru av 3, rPru p 3, rPru p 7, rQue a 1, rRaj c Parvalbumin, rRat n 1, rSal k 1, rSal k 5, rSal s 1, rSco s 1, rSes i 1, rSin a 1, rSola l 6, rSus d 1, rThu a 1, rTri a 14, rTri a 19, rTri a 36, rTri a 37, rTyr p 10, rTyr p 2, rVes v 1, rVes v 5, rVit v 1, rXip g 1, rZea m 14



REFERÊNCIAS

1. Hamilton, R.G. (2008). Assessment of human allergic diseases. *Clinical Immunology*. 1471-1484. doi: 10.1016/B978-0-323-04404-2.10100-9.
2. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, Valenta R. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jan;33(1):7-13. doi: 10.1046/j.1365-2222.2003.01550.x. PMID: 12534543.
3. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, Barletta B, Becker WM, Blaser K, Breiteneder H, Chapman M, Cramer R, Duchêne M, Ferreira F, Fiebig H, Hoffmann-Sommergruber K, King TP, Kleber-Janke T, Kurup VP, Lehrer SB, Lidholm J, Müller U, Pini C, Reese G, Scheiner O, Scheynius A, Shen HD, Spitzauer S, Suck R, Swoboda I, Thomas W, Tinghino R, Van Hage-Hamsten M, Virtanen T, Kraft D, Müller MW, Valenta R. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J*. 2002 Mar;16(3):414-6. doi: 10.1096/fj.01-0711fje. Epub 2002 Jan 14. PMID: 11790727
4. Ferrer M, Sanz ML, Sastre J, Bartra J, del Cuvillo A, Montoro J, Jáuregui I, Dávila I, Mullol J, Valero A. Molecular diagnosis in allergology: application of the microarray technique. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 Suppl 1:19-24. PMID: 19476050.
5. Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol*. 2010 Jan-Feb;20(1):54-61. doi: 10.1684/ejd.2010.0810. Epub 2009 Oct 2. PMID: 19801343.
6. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010 Oct;40(10):1442-60. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x. Epub 2010 Aug 2. PMID: 20682003.
7. Gislefoss RE, Grimsrud TK, Mørkrid L. Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(5):596-603. doi: 10.1515/CCLM.2009.121. PMID: 19290843.
8. Henderson CE, Ownby D, Klebanoff M, Levine RJ. Stability of immunoglobulin E (IgE) in stored obstetric sera. *J Immunol Methods*. 1998 Apr 1;213(1):99-101. doi: 10.1016/S0022-1759(98)00014-3. PMID: 9671128.
9. Rodríguez-Capote K, Schnabl KL, Maries OR, Janzen P, Higgins TN. Stability of specific IgE antibodies to common food and inhalant allergens. *Clin Biochem*. 2016 Dec;49(18):1387-1389. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.03.003. Epub 2016 Mar 16. PMID: 26994557.
10. Martins TB, Bandhauer ME, Bunker AM, Roberts WL, Hill HR. New childhood and adult reference intervals for total IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):589-91.
11. CLSI Protocols for Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline Third Edition CLSI Document EP5-A3 (ISBN 1-56238-968-8) 2014.
12. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guidelines. CLSI document EP17-A2 (ISBN 1-56238-796-0), 2012.



HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Versão	Descrição	Data de emissão	Substitui
02	Adaptation to English IFU Version 03	09-2025	01



© Copyright por MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

www.madx.com

Número da versão: 03-IFU-01-PT-02