



ALEX³ ALLERGY XPLOER

INSTRUCCIONES DE USO

ÍNDICE

I.	EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD RELATIVA AL IDIOMA.....	2
II.	DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	2
III.	DESCRIPCIÓN.....	2
IV.	FINALIDAD PREVISTA	3
V.	RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA.....	3
VI.	PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO	4
VII.	ENVÍO Y ALMACENAMIENTO.....	4
VIII.	ELIMINACIÓN DE RESIDUOS.....	5
IX.	GLOSARIO DE SÍMBOLOS	5
X.	COMPONENTES DEL KIT	7
XI.	EQUIPO NECESARIO PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS.....	11
XII.	MANIPULACIÓN DE ARRAYS	11
XIII.	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	12
XIV.	PROCEDIMIENTO DE ENSAYO.....	13
XV.	CONTROL DE CALIDAD.....	21
XVI.	ANÁLISIS DE DATOS	21
XVII.	RESULTADOS	21
XVIII.	LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....	22
XIX.	VALORES ESPERADOS.....	22
XX.	CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	23
XXI.	GARANTÍA	28
XXII.	ABREVIATURAS	28



I. EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD RELATIVA AL IDIOMA

Estas instrucciones de uso (IFU) se proporcionan en varios idiomas de acuerdo con el reglamento (UE) 2017/746. En caso de discrepancias o incoherencias entre la versión en inglés y cualquier versión traducida, prevalecerá la versión en inglés y se considerará la referencia oficial.

II. DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Se ha revisado la exactitud de estas instrucciones de uso. Las instrucciones del ALEX³ Allergy Xplorer eran correctas en el momento de su publicación. Las versiones posteriores de esta guía pueden actualizarse sin previo aviso.

El kit ALEX³ Allergy Xplorer es un dispositivo de diagnóstico in vitro destinado únicamente al uso por parte de personal de laboratorio capacitado. El kit ALEX³ Allergy Xplorer solo puede utilizarse para la finalidad prevista de acuerdo con estas instrucciones de uso. Las instrucciones de uso deben cumplirse sin excepción. Si no está familiarizado con el uso del kit ALEX³ Allergy Xplorer, está obligado a obtener información de MacroArray Diagnostics (MADx) antes de utilizarlo. MADx no asume ninguna responsabilidad por el uso inadecuado del kit ALEX³ Allergy Xplorer. MADx solo será responsable de cualquier daño o perjuicio a la propiedad que resulte directa o indirectamente de errores en estas instrucciones de uso en caso de negligencia grave o dolo, y de lesiones personales solo dentro del ámbito de las disposiciones legales obligatorias.

Si cualquier término o disposición de estas instrucciones de uso se considera ilegal o inaplicable, en su totalidad o en parte, en virtud de cualquier promulgación o norma de derecho, dicho término o disposición o parte se considerará, en esa medida, que no forma parte de estas instrucciones de uso, pero la aplicabilidad del resto de estas instrucciones de uso no se verá afectada.

Esta guía está protegida por derechos de autor. Ninguna parte de este documento podrá ser duplicada, reproducida ni copiada en ningún formato electrónico o legible por máquina sin el permiso previo y por escrito de MADx.

III. DESCRIPCIÓN

ALEX³ Allergy Xplorer (ALEX³) es una prueba de diagnóstico in vitro basada en ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) para la medición cuantitativa de IgE específica frente a alérgenos (sIgE). Se puede utilizar como ensayo manual en combinación con el dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01) o como ensayo automatizado con los sistemas MAX 9k (REF 17-0000-01) o MAX 45k (REF 16-0000-01).



Estas instrucciones de uso son aplicables a los siguientes productos:

UDI-DI básico	REF	Product
91201229203JS	03-2001-01	ALEX ³ para 20 análisis
	03-5001-01	ALEX ³ para 50 análisis

IV. FINALIDAD PREVISTA

ALEX³ Allergy Xplorer es un kit de prueba utilizado para el examen in vitro de suero o plasma humano (excepto plasma con EDTA), destinado a proporcionar información que contribuya al diagnóstico de enfermedades mediadas por IgE, en combinación con otros hallazgos clínicos o resultados de pruebas diagnósticas.

El dispositivo médico IVD detecta la IgE específica para alérgenos (sIgE) de forma cuantitativa y la IgE total (tIgE) de forma cuantitativa en el rango de 2 a 1000 kU/l (semicuantitativo 1001-2500 kU/l). El producto es utilizado por personal de laboratorio cualificado y profesionales médicos en un laboratorio médico.

V. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Las reacciones alérgicas son reacciones de hipersensibilidad de tipo I inmediatas y están mediadas por anticuerpos pertenecientes a la clase IgE de inmunoglobulinas. Tras la exposición a alérgenos específicos, la liberación mediada por IgE de histamina y otros mediadores de los mastocitos y basófilos da lugar a manifestaciones clínicas como asma, rinoconjuntivitis alérgica, eccema atópico y síntomas gastrointestinales [1]. Por lo tanto, un patrón detallado de sensibilización a alérgenos específicos ayuda a evaluar a los pacientes alérgicos [2-6]. No hay restricciones en la población a la que se puede realizar la prueba. Al desarrollar los ensayos de IgE, la edad y el sexo no se suelen considerar factores críticos, ya que los niveles de IgE, que se miden en estos ensayos, no varían significativamente en función de estos datos demográficos.

ALEX³ cubre todas las principales fuentes de alérgenos de tipo I. Al final de estas instrucciones se incluye una lista completa de los extractos de alérgenos y alérgenos moleculares de ALEX³.

Información importante para el usuario.

Para utilizar correctamente ALEX³, es necesario que el usuario lea atentamente y siga estas instrucciones de uso. El fabricante no asume responsabilidad alguna por el uso de este sistema diagnóstico que no esté descrito en este documento, ni por las modificaciones realizadas por el usuario.

Atención: La variante de kit 03-2001-01 de la prueba ALEX³ (20 arrays) está destinada exclusivamente al procesamiento manual. Para utilizar esta variante de kit ALEX³ con el MAX 9k automatizado, es necesario pedir por separado la Washing Solution (REF 00-5003-01) y



la Stop Solution (REF 00-5007-01). Encontrará toda la información adicional sobre el producto en las instrucciones de uso correspondientes: <https://www.madx.com/extras>.

La variante del kit ALEX³ 03-5001-01 (50 matrices) debe utilizarse para el procesamiento automatizado con MAX 9k (REF 17-0000-01) y MAX 45k (REF 16-0000-01), bajo ninguna circunstancia con el dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).

VI. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

ALEX³ es una prueba inmunológica basada en ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). Los extractos de alérgenos o los alérgenos moleculares, acoplados a nanopartículas, se depositan de forma sistemática sobre una fase sólida, formando una matriz macroscópica (array). En primer lugar, los alérgenos unidos a las partículas reaccionan con la IgE específica presente en la muestra del paciente. Tras la incubación, se elimina la IgE no específica mediante un lavado. A continuación, se añade un anticuerpo de detección de anti-IgE humana marcado con enzima, que forma un complejo con la IgE específica unida a las partículas. Después de un segundo lavado, se añade el sustrato, que es transformado por la enzima unida al anticuerpo en un precipitado insoluble y coloreado. Finalmente, la reacción enzimática se detiene mediante la adición de un reactivo bloqueante. La cantidad de precipitado generado es proporcional a la concentración de IgE específica en la muestra del paciente. El procedimiento de la prueba de laboratorio se completa con la adquisición y el análisis de imágenes, utilizando el sistema manual (ImageXplorer) o los sistemas automatizados (MAX 45k o MAX 9k). Los resultados se analizan mediante RAPTOR SERVER Analysis Software y se expresan en unidades de respuesta IgE (kU_A/l). Los resultados de IgE total también se expresan en unidades de respuesta IgE (kU/l). RAPTOR SERVER está disponible en la versión 1. Para obtener el número de versión completo de cuatro dígitos, consulte el apartado pie de imprenta de RAPTOR SERVER disponible en www.raptor-server.com/imprint.

VII. ENVÍO Y ALMACENAMIENTO

El envío de ALEX³ se realiza a temperatura ambiente. No obstante, el kit debe almacenarse inmediatamente después de su entrega a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Si se almacena correctamente, ALEX³ y sus componentes pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada.



Los reactivos del kit son estables durante 6 meses después de su apertura (en las condiciones de almacenamiento indicadas).



Envío y almacenamiento de muestras

Tipo de muestra	Suero	Plasma (citrato)	Plasma (heparina)
Almacenamiento a corto plazo	1 semana a 2-8 °C (evitar el crecimiento microbiano)		
Almacenamiento a largo plazo	25-37 años a -20 °C [7-8]		
Transporte	17 días a temperatura ambiente [9]		

VIII. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Para garantizar la eliminación segura del kit, los usuarios deben cumplir con las normativas locales, regionales y nacionales pertinentes en materia de gestión de residuos y protección del medio ambiente. Se debe prestar especial atención a cualquier componente o material consumible que pueda presentar un riesgo de infección o contaminación microbiana (por ejemplo, materiales consumibles contaminados con muestras de suero humano). Los cartuchos ALEX³ usados y cualquier componente del kit que no se haya utilizado deben desecharse como residuos químicos de laboratorio.

IX. GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Advertencia (pictograma GHS) Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener más información.
	Número de catálogo
	Suficiente para <n> pruebas
	No utilizar si el envase está dañado
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Marca CE (Notified Body 2962: QMD Services GmbH, Zelinkagasse 10/3, 1010 Vienna, Austria)



	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	No reutilizar
	Cartridge (cartucho)
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura
	Precaución
	identificador único del producto



	Icono ALEX ³
	MacroArray Diagnostics (MADx)

X. COMPONENTES DEL KIT

Nueva nomenclatura para lotes de reactivos

Atención: Estamos introduciendo una nueva nomenclatura de lotes para todos los reactivos MADx (la nomenclatura de los cartuchos no se ve afectada).

Los kits ALEX³ con número de lote 03EAA01 y los lotes producidos posteriormente se verán afectados por este cambio.

Detalles importantes:

- **No hay cambios en las etiquetas de los cartuchos**
- Los reactivos específicos de un lote de reactivos mostrarán la misma nomenclatura en la etiqueta y se podrán combinar con lotes de cartuchos diferentes.
Solo variaremos **la posición 1 y 2** de nuestro **código de tres letras** para los reactivos.
Por ejemplo:
 - Los reactivos con etiquetas **DAA** se pueden combinar con los lotes de cartuchos **DAA, DAB, DAC, DAD, ... hasta DAT**.
 - Los reactivos con etiquetas **DBA** se pueden combinar con los lotes de cartuchos **DBA, DBB, DBC, DBD, etc., hasta DBT**.
- El RAPTOR SERVER Analysis Software ya se ha actualizado para reflejar estos cambios. **No es necesario que los clientes realicen ninguna acción.**
RAPTOR SERVER reconocerá y combinará los cartuchos correctos con los reactivos correspondientes.

Cada componente (reactivo) es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta de cada componente individual. No combine ni mezcle reactivos de diferentes lotes (las dos primeras letras son diferentes). Para obtener una lista completa de los extractos de alérgenos y los alérgenos moleculares inmovilizados en el array ALEX³, póngase en contacto con pm@macroarraydx.com.



Componentes del kit REF 03-2001-01	Contenido	Propiedades (los ingredientes reactivos están subrayados)
ALEX ³ Cartridge (cartucho)	2 blísteres de 10 ALEX ³ para un total de 20 análisis. Calibración mediante curva maestra disponible a través del RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartucho de poliestireno que contiene un <u>inmunoensayo en fase sólida</u> . Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad.
ALEX ³ Sample Diluent	1 botella de 9 ml	<u>CCD Blocker</u> , tampón TBS-Tween (0,2 %) y < 0,1 % de azida sódica. Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
Washing Solution	2 botellas de 50 ml	<u>Tampón TBS-Tween (0,2 %)</u> , < 0,1 % azida sódica. Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Detection Antibody	1 botella de 11 ml	<u>Anticuerpo de detección anti-IgE humana</u> en tampón conjugado con aditivos. Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usar. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 botella de 11 ml	<u>Sustrato NBT/BCIP</u> (NBT: cloruro de 4-nitrozol de tetrazolio, solución; BCIP: 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, sal de 4-toluidina). Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.



Componentes del kit REF 03-2001-01	Contenido	Propiedades (los ingredientes reactivos están subrayados)
(ALEX ³) Stop Solution	1 botella de 2,4 ml	Solución de <u>ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)</u> Listo para su uso. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C. Puede aparecer como una solución turbia después de un almacenamiento prolongado. Esto no afecta a los resultados.

Componentes del kit REF 03-5001-01	Contenido	Propiedades (los ingredientes reactivos están subrayados)
Cartucho ALEX	5 blísteres de 10 ALEX ³ para un total de 50 análisis. Calibración mediante curva maestra disponible a través del RAPTOR SERVER Analysis Software.	Cartucho de poliestireno que contiene un <u>inmunoensayo en fase sólida</u>. Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad.
ALEX ³ Sample Diluent	1 botella de 30 ml	<u>CCD Blocker</u>, tampón TBS-Tween (0,2 %) y < 0,1 % de azida sódica. Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usar. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
Washing Solution	4 x conc. 1 botella de 250 ml	<u>Tampón TBS-Tween (0,2 %)</u>, < 0,1 % azida sódica. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Diluir 1 a 4 con agua desmineralizada antes de usar (250 ml de Washing Solution 4x conc. + 750 ml de agua desmineralizada). Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usar. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.



Componentes del kit REF 03-5001-01	Contenido	Propiedades (los ingredientes reactivos están subrayados)
ALEX ³ Detection Antibody	1 botella de 30 ml	<u>Anticuerpo de detección anti-IgE humana</u> en tampón conjugado con aditivos. Listo para su uso. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de su uso. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
ALEX ³ Substrate Solution	1 botella de 30 ml	<u>Sustrato NBT/BCIP</u> . Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C.
(ALEX ³) Stop Solution	1 botella de 10 ml	<u>Solución de EDTA</u> . Listo para usar. Conservar a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad. Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de usar. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a 2-8 °C. Puede aparecer como una solución turbia después de un almacenamiento prolongado. Esto no afecta a los resultados.



XI. EQUIPO NECESARIO PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

Accesorios	Descripción
Accesorios/productos para el procesamiento <u>MANUAL</u>	
ImageXplorer (REF 11-0000-01)	Dispositivo de imagen diseñado específicamente para adquirir imágenes de cartuchos de prueba basados en la tecnología ALEX para su manipulación <u>manual</u> .
Array holder (opcional)	Producto para facilitar la manipulación de los cartuchos durante el procesamiento <u>manual</u>
Lab Rocker	El agitador vertical es necesario durante el procedimiento de prueba <u>manual</u> (Ancho x Profundidad x Altura: 28 x 15 x 33 cm, ángulo de inclinación 8°, velocidad requerida 8 rpm).
Incubation chamber	Necesaria durante el procedimiento de prueba <u>manual</u> (An x Pr x Al: 35 x 25 x 2 cm)
Accesorios/productos para el procesamiento <u>AUTOMATIZADO</u>	
Dispositivos MAX: MAX 45k (REF 16-0000-01) MAX 9k (REF 17-0000-01)	Instrumentos para el procesamiento <u>automatizado</u> de cartuchos de prueba basados en la tecnología ALEX
Washing Solution 4x conc. (REF 00-5003-01)	Reactivos para el procesamiento <u>automatizado</u> de cartuchos de prueba basados en la tecnología ALEX. La Washing Solution y la Stop Solution son componentes del kit, pero también se pueden adquirir por separado si se necesitan mayores volúmenes de solución.
Stop Solution (REF 00-5007-01)	
Otros accesorios/productos necesarios	
RAPTOR SERVER Analysis Software (REF 22-0000-01)	Software para la adquisición y análisis de imágenes tomadas por los dispositivos ImageXplorer o MAX.
PC o portátil	-
Pipetas y puntas	10 - 100 µl y 100 - 1000 µl
Agua desmineralizada	-

XII. MANIPULACIÓN DE ARRAYS

No toque la superficie del array. Cualquier defecto en la superficie causado por objetos romos o afilados puede interferir en la lectura correcta de los resultados. No adquiera imágenes ALEX³ antes de que el array esté completamente seca (seca a temperatura ambiente).



XIII. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

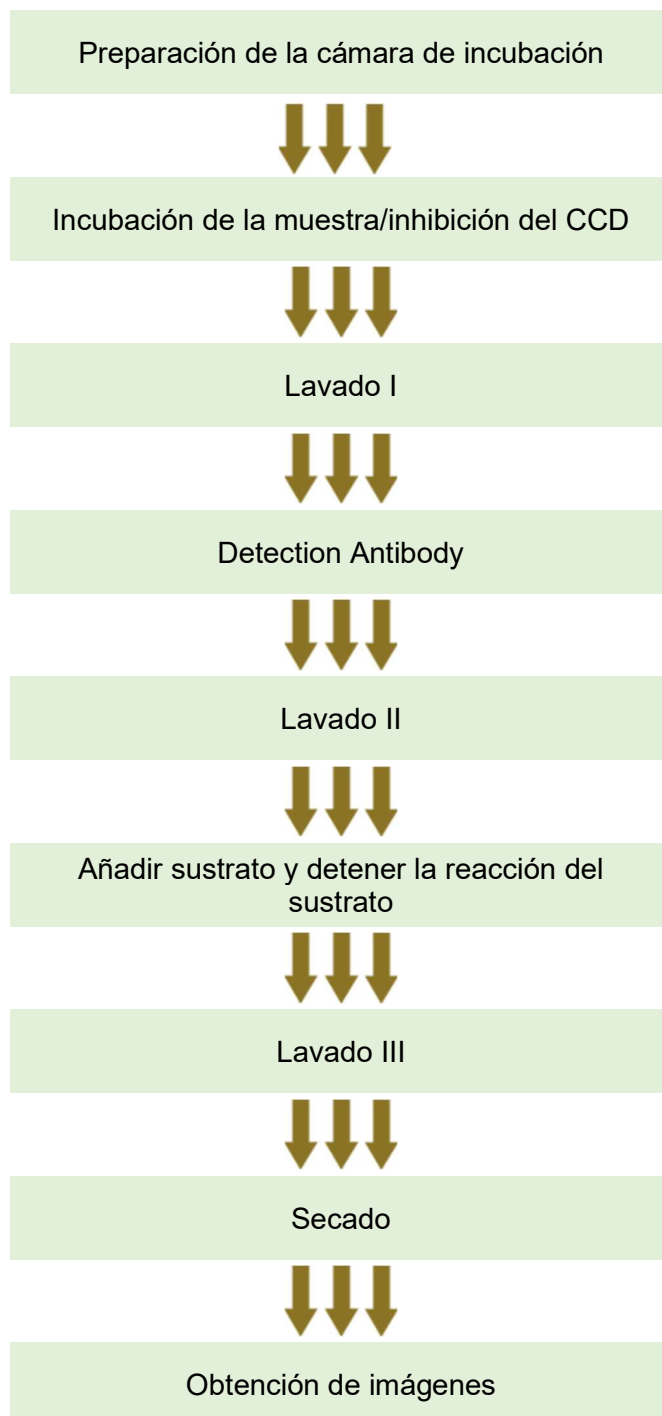
- Se recomienda utilizar protección para las manos y los ojos, así como batas de laboratorio, y seguir las buenas prácticas de laboratorio al preparar y manipular los reactivos y las muestras.
- De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, todo el material de origen sanguíneo (por ejemplo, los ingredientes de los reactivos u otros componentes) debe considerarse potencialmente infeccioso y manipularse con las mismas precauciones que las muestras de sangre.
- ALEX³ Sample Diluent y Washing Solution contienen azida sódica (<0,1 %) como conservante y deben manipularse con precaución. La ficha de datos de seguridad está disponible bajo petición.
- La solución Stop Solution (ALEX³) contiene ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y debe manipularse con precaución. La ficha de datos de seguridad está disponible bajo petición.
- Solo para uso en diagnóstico in vitro. No apto para uso interno o externo en seres humanos o animales.
- Solo el personal cualificado en prácticas de laboratorio debe utilizar este kit.
- A su recepción, compruebe que los componentes del kit no estén dañados. Si alguno de los componentes está dañado (por ejemplo, los frascos de tampón), póngase en contacto con MADx (support@madx.com) o con su distribuidor local. No utilice los componentes del kit que estén dañados, ya que su uso podría afectar al rendimiento del kit.
- No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes.
- Los cartuchos ALEX³ son de **un solo uso** y no deben reutilizarse. Los reactivos pueden abrirse y reutilizarse en un plazo máximo de 6 meses a partir de la fecha de la primera apertura o hasta que se haya consumido todo el contenido del kit, lo que ocurra primero.
- Para obtener instrucciones detalladas sobre la eliminación segura del dispositivo, consulte el capítulo VIII de estas instrucciones de uso.
- Las siguientes indicaciones P y H son aplicables a Stop Solution: H319 - Provoca irritación ocular grave; P264 - Lavarse la piel con abundante agua después de la utilización; P305+ P351+ P338 - En caso de irritación ocular: Aclarar con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si existe la posibilidad de hacerlo fácilmente. Seguir enjuagando; P337 + P313 - En caso de irritación ocular persistente: consultar a un médico.
- Cualquier **incidente grave** que se produzca en relación con el uso de este dispositivo deberá notificarse al **fabricante** vía support@madx.com y a la **autoridad competente** del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.



XIV. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Procedimiento de ensayo manual

Los kits ALEX³ pueden utilizarse como ensayo manual en combinación con el dispositivo ImageXplorer (REF 11-0000-01).





Preparativos

Preparación de las muestras: Se pueden utilizar muestras de suero o plasma (heparina, citrato, sin EDTA) de sangre capilar o venosa. Las muestras de sangre se pueden recoger siguiendo los procedimientos habituales. Almacenar las muestras a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante un máximo de una semana. Conservar las muestras de suero y plasma a -20 °C para un almacenamiento prolongado. El envío de muestras de suero/plasma a temperatura ambiente es aceptable. Dejar siempre que las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlas.

Cámara de incubación: Cierre la tapa durante todos los pasos del ensayo para evitar la pérdida de la humedad.

Parámetros del procedimiento:

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

La duración del ensayo es de aproximadamente 3 h 30 min (sin considerar el secado del array procesado).

No se recomienda realizar más ensayos de los que se pueden pipetear en 8 minutos. Todas las incubaciones se realizan a temperatura ambiente, entre 20 y 26 °C.



Todos los reactivos deben utilizarse a temperatura ambiente (20-26 °C). El ensayo no debe realizarse bajo la luz solar directa.

Prepare la cámara de incubación

Abra la cámara de incubación y coloque toallas de papel en la parte inferior. Empape las toallas de papel con agua desmineralizada hasta que no se vean partes secas.

Ejecución manual

1. Incubación de la muestra/inhibición de la CCD

Saque el número necesario de cartuchos ALEX³ y colóquelos en el soporte o array holder. Añada 400 µl de ALEX³ Sample Diluent a cada cartucho. Añada 100 µl de muestra del paciente a los cartuchos. Asegúrese de que la solución resultante se distribuye de manera uniforme. Coloque los cartuchos en la cámara de incubación previamente preparada y coloque la cámara de incubación con los cartuchos en el lab rocker de modo que los cartuchos se agiten a lo largo del lado largo del cartucho. Inicie la incubación del suero a 8 rpm durante



2 horas. Cierre la cámara de incubación antes de iniciar el lab rocker. Después de 2 horas, descargue las muestras en un recipiente de recogida. Limpie cuidadosamente las gotas del cartucho con una toalla de papel.

	¡Evite tocar la superficie del array con la toalla de papel! ¡Evite cualquier transferencia o contaminación cruzada de muestras entre cartuchos individuales ALEX³!
--	---

Hom s LF (marcador CCD) opcional o positivo: Con el protocolo estándar de inhibición de anticuerpos CCD (tal y como se describe en el apartado 2: incubación de muestras/inhibición CCD), el 98 % de todas las muestras analizadas muestran un resultado negativo para el marcador de control de inhibición CCD Hom s LF. En caso de que Hom s LF sea positivo con el protocolo estándar, se recomienda el siguiente procedimiento:

Prepare un tubo de muestra de 1 ml, añada 400 µl de ALEX³ Sample Diluent y 100 µl de suero. Incube durante 30 minutos (sin agitar) y, a continuación, continúe con el procedimiento de ensayo habitual.

Nota: El paso adicional de inhibición de la CCD conduce en muchos casos, aunque no en todos, a una inhibición completa de los anticuerpos CCD (Hom s LF negativo).

1a. Lavado I

Añada 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube en el lab rocker (a 8 rpm) durante 5 minutos. Vacíe la Washing Solution en un recipiente colector y golpee enérgicamente los cartuchos sobre una pila de toallas de papel secas. Limpie con cuidado las gotas restantes de los cartuchos con una toalla de papel.

Repita este paso dos veces más.

2. Añada el detection antibody

Añada 500 µl de ALEX³ Detection Antibody a cada cartucho.

	Asegúrese de que toda la superficie del array quede cubierta por la solución ALEX³ Detection Antibody.
--	--

Coloque los cartuchos en la cámara de incubación sobre el lab rocker e incube a 8 rpm durante 30 minutos. Vacíe la solución de anticuerpo de detección en un recipiente de recogida y golpee enérgicamente los cartuchos sobre una pila de toallas de papel secas. Limpie con cuidado las gotas restantes de los cartuchos con una toalla de papel.



2a. Lavado II

Añada 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube en el lab rocker a 8 rpm durante 5 minutos. Vacíe la Washing Solution en un recipiente de recogida y golpee enérgicamente los cartuchos sobre una pila de toallas de papel secas. Limpie con cuidado las gotas restantes de los cartuchos con una toalla de papel.

Repita este paso 4 veces más.

3+4. Añada ALEX³ Substrate Solution y detenga la reacción del sustrato

Añada 500 µl de ALEX³ Substrate Solution a cada cartucho. Inicie un temporizador al llenar el primer cartucho y continúe con el llenado de los cartuchos restantes. Asegúrese de que toda la superficie del array esté cubierta por la solución de sustrato e incube las matrices durante exactamente 8 minutos sin agitar (**lab rocker a 0 rpm y en posición horizontal**).

Después de exactamente 8 minutos, añada 100 µl de (ALEX³) Stop Solution a todos los cartuchos, comenzando por el primer cartucho para asegurarse de que todas las matrices se incuban durante el mismo tiempo con la solución de sustrato ALEX³. Agite con cuidado para distribuir uniformemente la (ALEX³) Stop Solution en los cartuchos del array, después de pipetear la (ALEX³) Stop Solution en todas los arrays. A continuación, vacíe la (ALEX³) Substrate/Stop Solution de los cartuchos y golpee enérgicamente los cartuchos sobre una pila de toallas de papel secas. Limpie con cuidado cualquier gota restante de los cartuchos con una toalla de papel.



¡El Lab Rocker NO DEBE AGITARSE durante la incubación del sustrato!

4a. Lavado III

Añada 500 µl de Washing Solution a cada cartucho e incube en el lab rocker a 8 rpm durante 30 segundos. Vacíe la Washing Solution en un recipiente colector y golpee enérgicamente los cartuchos sobre una pila de toallas de papel secas. Limpie con cuidado cualquier gota restante de los cartuchos con una toalla de papel.

5. Adquisición de imágenes

Una vez finalizado el procedimiento del ensayo, seque al aire los arrays a temperatura ambiente hasta que estén completamente secas (puede tardar hasta 45 minutos). Si los arrays requieren un periodo de secado prolongado, deben almacenarse en un entorno protegido de la luz hasta su análisis.



El secado completo es esencial para la sensibilidad de la prueba. Solo las matrices completamente secas proporcionan una relación señal-ruido óptima.

A continuación, las matrices secas se escanean con el ImageXplorer.

Procedimiento de ensayo automatizado

Los kits ALEX³ pueden utilizarse como ensayo automatizado con los sistemas MAX 9k (REF 17-0000-01) o MAX 45k (REF 16-0000-01). Estos productos médicos IVD procesan automáticamente las matrices basadas en la tecnología ALEX y adquieren imágenes de las mismas.



El personal debe estar formado en el manejo de los dispositivos MAX (MAX 45k o MAX 9k). La versión actual de las instrucciones de uso de MAX (sistemas) se puede encontrar aquí: <https://www.madx.com/extras>.

Preparativos

Preparación de las muestras: Se pueden utilizar muestras de suero o plasma (heparina, citrato, sin EDTA) de sangre capilar o venosa. Las muestras de sangre se pueden recoger siguiendo los procedimientos habituales. Conserve las muestras a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante un máximo de una semana. Mantenga las muestras de suero y plasma a -20 °C para un almacenamiento prolongado. El envío de muestras de suero/plasma a temperatura ambiente es aceptable. Deje siempre que las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlas.

Preparación de Washing Solution (solo para REF 03-5001-01 y REF 00-5003-01 cuando se utiliza con el dispositivo MAX): Vierta el contenido de 1 vial de Washing Solution en el recipiente de lavado del instrumento. Llene con agua desmineralizada hasta la marca roja y mezcle cuidadosamente el recipiente varias veces sin generar espuma. El reactivo abierto es estable durante 6 meses a 2-8 °C.

Ejecución automática

Las instrucciones sobre cómo realizar una prueba se encuentran en los subcapítulos XVII.7-10 del manual de instrucciones del MAX y deben seguirse.

Dependiendo del volumen de la muestra, hay dos modos de funcionamiento disponibles para utilizar ALEX³: prediluido manualmente y no prediluido.



Elemento	MAX 45k	MAX 9k
Tubos de muestra de bajo volumen	Tubos Sarstedt con "false-bottom" de 2,5 ml, 75 x 13 (redondos) Número de pedido: 60.614.010	
Volumen mínimo de muestra para 1 prueba ALEX ³ , tubo de volumen reducido	Sin prediluir: 200 µl Prediluido manualmente: 120 µl de suero + 480 µl de Sample Diluent	
Tubos estándar de 13 mm	Altura: 75-100 mm Ejemplo: tubos Sarstedt de 5 ml, 75 x 13 mm N.º de pedido PS: 55.475 Utilizar con el adaptador suministrado	Altura: 75 mm Ejemplo: Tubos Sarstedt de 5 ml, 75 x 13 mm N.º de pedido PS: 55.475
Tubos estándar de 16 mm	Altura mínima: 75 mm, altura máxima: 100 mm Ejemplo: Tubos Sarstedt de 13 ml, 100 x 16 mm N.º de pedido PS: 55.459	-
Volumen mínimo de muestra para 1 prueba ALEX ³ , tubo estándar de 13/16 mm	Sin prediluir: 400 µl Prediluido manualmente: 145 µl de suero + 580 µl de Sample Diluent	

	Antes de utilizar cualquier otro tubo que no sea el especificado anteriormente, póngase en contacto con el servicio de asistencia de MADx o con su distribuidor.
---	--

Los requisitos detallados de los tubos y las instrucciones para las diluciones se encuentran en el capítulo XXI (Especificaciones técnicas) del manual de instrucciones de MAX. La versión actual del manual de instrucciones de MAX (Sistemas) se puede encontrar aquí: <https://www.madx.com/extras>.

Hom s LF opcional o positivo (marcador CCD): Con el protocolo estándar de inhibición de anticuerpos CCD (tal y como se describe en el apartado 2: incubación de la muestra/inhibición CCD), el 98 % de todas las muestras analizadas muestran un resultado negativo para el marcador de control de inhibición CCD Hom s LF.

En caso de que Hom s LF sea positivo con el protocolo estándar, las muestras de suero deben diluirse previamente de forma manual (véase la tabla anterior) e incubarse durante 30 minutos (sin agitar) antes de cargar los tubos de muestras en el carrusel de muestras.



Análisis de imágenes

Los arrays escaneados con tecnología ALEX se analizan con el RAPTOR SERVER Analysis Software (véanse los detalles en las instrucciones de uso de RAPTOR SERVER en <https://www.madx.com/extras>).

El RAPTOR SERVER Analysis Software solo se ha verificado en combinación con el instrumento ImageXplorer y los dispositivos MAX, por lo que MADx no se hace responsable de los resultados obtenidos con cualquier otro dispositivo de captura de imágenes (como escáneres).

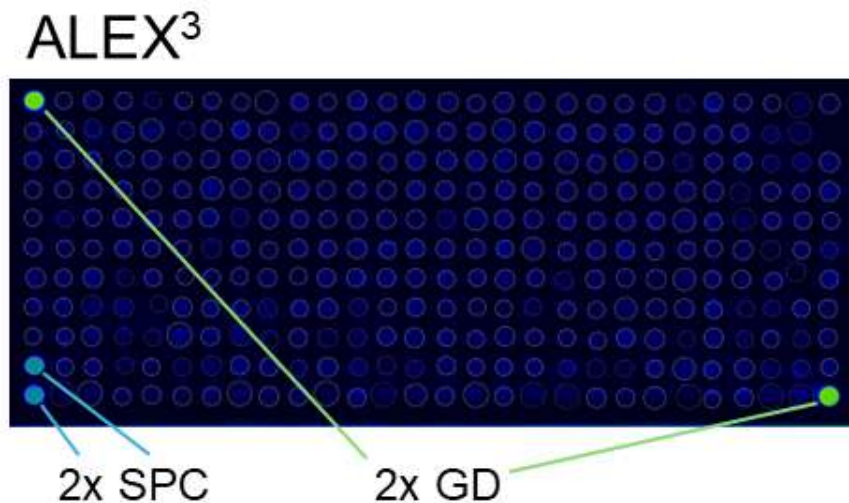
Hay dos puntos de control de pipetado de muestras (Sample Pipetting Control; SPC) en ALEX³. Ambos puntos están presentes para confirmar que las muestras de los pacientes se han sido transferidas a cada array del ensayo correspondiente. Después del procesamiento, los puntos SPC deben ser fácilmente visibles a simple vista. Si no son visibles, póngase en contacto con su distribuidor local o con el servicio de asistencia de MADx para saber cómo proceder. Si los puntos SPC son visibles, las muestras de los pacientes se han pipetado correctamente.

La matriz correspondiente a la medición, junto con su cuadrícula, se visualiza en el área de imagen analítica. El software identifica automáticamente la posición del array en los datos de la imagen basándose en los puntos guía (Guide Dots; GD). Hay 2 puntos guía en ALEX³.

Después del procesamiento, los puntos guía deben ser fácilmente visibles a simple vista. Compruebe también que su orientación sea correcta, tal y como se muestra en la imagen de ALEX³ a continuación. Si no son visibles, póngase en contacto con su distribuidor local o con el servicio de asistencia de MADx para saber cómo proceder. Si los puntos guía son visibles, el cartucho puede seguir analizándose.

Durante la adquisición de imágenes de un cartucho ALEX³, RAPTOR SERVER evalúa la señal de todos los puntos guía, así como la señal de fondo de la superficie de la membrana. Si se cumplen todos los criterios de calidad, el campo «automatic QC» debajo de la imagen se establece en «OK».

Para excluir la influencia de artefactos en el análisis automatizado de imágenes (manchas satélite, contaminaciones de muestras, polvo, manchas difuminadas, etc.), las imágenes deben ser comprobadas por un operador cualificado antes de aprobar los resultados, con el fin de descartar resultados falsos. En caso de discrepancias entre la matriz procesada y la imagen adquirida por RAPTOR SERVER, consulte a su distribuidor local o al servicio de asistencia de MADx.



Calibración del ensayo

La curva de calibración maestra de ALEX³ se estableció mediante pruebas de referencia con preparaciones de suero con IgE específica (slgE) contra diferentes antígenos que cubren el rango de medición previsto. Los parámetros de la curva para cada lote se ajustan mediante un sistema de pruebas de referencia interno, en comparación con preparaciones de suero analizadas con ImmunoCAP (Thermo Fisher), que actualmente se considera el «método de referencia» para las pruebas de IgE in vitro (documento de posición de la WAO). No se dispone de material de referencia para slgE. Para tIgE, se dispone de una preparación de referencia de la OMS 11/234, que se utilizó para generar la curva maestra de tIgE.

Los resultados de slgE son cuantitativos y se expresan en kU_A/l. Los resultados de IgE total (tIgE) se expresan en unidades de respuesta de IgE (kU/l), donde 1 kU/l se corresponde con 2,42 ng/ml. Los resultados de IgE total de 2-1000 kU/l son cuantitativos y se calculan a partir de mediciones de anti-IgE con factores de calibración específicos del lote, que son proporcionados por el RAPTOR SERVER Analysis Software y seleccionados de acuerdo con los códigos QR específicos del lote. Para tIgE, los resultados de 1001-2500 kU/l son semicuantitativos.

Las variaciones sistemáticas en los niveles de señal entre lotes se normalizan mediante calibración heteróloga con una curva de referencia de IgE. Se utiliza un factor de corrección para ajustar sistemáticamente las desviaciones de medición específicas de cada lote.



XV. CONTROL DE CALIDAD

Registro de cada ensayo

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda registrar los números de lote de todos los reactivos utilizados.

Muestras de control

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda incluir muestras de control de calidad en intervalos definidos. MADx puede proporcionar valores de referencia para determinados sueros de control disponibles en el mercado, previa solicitud.

XVI. ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis de imágenes de los arrays procesados, se debe utilizar ImageXplorer o un dispositivo MAX. Las imágenes ALEX³ se analizan automáticamente utilizando el RAPTOR SERVER Analysis Software y se genera un informe que resume los resultados para el usuario.

XVII. RESULTADOS

ALEX³ detecta cuantitativamente la slgE (en el rango de 0,3-50 kU_A/l) y la tlgE (en el rango de 2-1000 kU/l). Para niveles de tlgE entre 1001-2500 kU/l, la detección es semicuantitativa.

Los anticuerpos IgE específicos de alérgenos se expresan como unidades de respuesta IgE (kU_A/l), y los resultados totales de IgE como kU/l. El RAPTOR SERVER Analysis Software calcula y comunica automáticamente los resultados de slgE y tlgE.

Interpretación de los resultados

Los resultados de la prueba ALEX³ se analizan automáticamente y se presentan en un informe generado por el RAPTOR SERVER Analysis Software. Para facilitar aún más la interpretación clínica de los resultados de la prueba, se ha implementado un módulo de software especializado: RAVEN Interpretation Guidance. **Los detalles sobre la generación del informe RAPTOR SERVER y la interpretación por parte de RAVEN se proporcionan en las instrucciones de uso del RAPTOR SERVER Analysis Software, subcapítulos VII.2.1-2.4.**

La versión actual de las instrucciones de uso del RAPTOR SERVER Analysis Software se puede encontrar en: <https://www.madx.com/extras>



XVIII. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El diagnóstico clínico definitivo solo debe ser realizado por profesionales médicos, junto con todos los hallazgos clínicos disponibles, y no debe basarse únicamente en los resultados de un único método de diagnóstico.

En determinados ámbitos de aplicación (por ejemplo, alergia alimentaria), los anticuerpos IgE circulantes pueden seguir siendo indetectables, aunque exista una manifestación clínica de alergia alimentaria a un determinado alérgeno, ya que estos anticuerpos pueden ser específicos de alérgenos que se modifican durante el procesamiento industrial, la cocción o la digestión y, por lo tanto, no están presentes en el alimento original al que se somete a prueba el paciente.

Los resultados negativos para venenos solo indican niveles indetectables de anticuerpos IgE específicos para venenos (por ejemplo, debido a una exposición prolongada) y no excluyen la existencia de hipersensibilidad clínica a las picaduras de insectos.

En los niños, especialmente hasta los 2 años de edad, el rango normal de IgE es inferior al de los adolescentes y adultos [10]. Por lo tanto, es de esperar que, en una mayor proporción de niños menores de 2 años, el nivel total de IgE esté por debajo del límite de detección especificado. Esta limitación no se aplica a la medición de IgE específica.

XIX. VALORES ESPERADOS

La estrecha relación entre los niveles de anticuerpos IgE específicos de alérgenos y las enfermedades alérgicas es bien conocida y se describe exhaustivamente en la literatura [1]. Cada paciente sensibilizado mostrará un perfil de IgE individual cuando se le realice la prueba con ALEX³. La respuesta de IgE con muestras de individuos sanos y no alérgicos será inferior a 0,3 kU_A/l tanto para alérgenos moleculares individuales como para extractos de alérgenos, cuando se analicen con ALEX³. El área de referencia para la IgE total en adultos es <100 kU/l. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados.



XX. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El resumen de seguridad y rendimiento se puede encontrar en el sitio web de MADx: <https://www.madx.com/extras>.

1. Exactitud

ALEX³ demostró una alta precisión, como lo demuestra su buena exactitud (CV de repetibilidad del 6,6 %, CV de precisión total del 13,8 %) y su alta veracidad con el método de referencia ($R^2 > 0,9$).

(a) Precisión

La precisión de la prueba ALEX³ se evaluó según el diseño de «estudio en un solo sitio» descrito en la directriz EP05-A3. En este caso, se analizaron múltiples muestras durante 20 días, con una serie al día y tres réplicas por serie («diseño 20 x 1 x 3»). El análisis estadístico trata las fuentes de variación asociadas a los «días» y las «series» como factores. Este método proporciona estimaciones para dos tipos de precisión: repetibilidad (= precisión dentro de la serie) y precisión dentro del laboratorio (= precisión dentro del dispositivo = precisión total). [11]

Repetibilidad	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 %
Precisión 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) Veracidad de la medición (slgE)

Se analizaron 63 muestras diferentes con los 3 métodos ALEX³ y ALEX² (solo MAX 45k). Las muestras seleccionadas también se analizaron con el método ImmunoCAP para los alérgenos prioritarios. El coeficiente de determinación observado, R^2 , entre los diferentes métodos se muestra para todos los alérgenos prioritarios:



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					

Phl 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 t 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					

Car i

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

La media de R² entre todos los métodos es **0,972**
 La media de R² entre ImmunoCAP y ALEX³_MAX 45k es de **0,949**
 El R² medio entre ImmunoCAP y ALEX³_MAX 9k es **0,969**
 El R² medio entre ImmunoCAP y ALEX³_ImageXplorer es **0,947** (para más detalles, véase la figura anterior).

(b2) Veracidad de la medición (tlgE)

Se analizaron 28 muestras con los 3 métodos ALEX³ e ImmunoCAP como método de referencia para tlgE. Además, se añadió una muestra negativa con el estándar 11/234 de la OMS y se analizó por duplicado en nueve diluciones diferentes.

Resultados

Comparación de métodos tlgE «muestras reales»:
 R² tlgE ImmunoCAP y ALEX³_MAX 45k es **0,963**
 R² tlgE ImmunoCAP y ALEX³_MAX 9k es **0,919**
 R² tlgE ImmunoCAP y ALEX³_ImageXplorer es **0,963**

Comparación del método tlgE «muestras enriquecidas»:
 R² MAX 45k es **0,996** y CV interdilucional: **5,62 %**
 R² MAX 9k es **0,981** y CV interdilucional: **5,67 %**.
 R² ImageXplorer es **0,966** y CV interdilucional: **7,19 %**.



4. Sensibilidad analítica

El límite de detección (LoD) para sIgE se determinó para componentes alergénicos representativos (alérgenos prioritarios) y es de 0,3 kU_A/l para todos los componentes alergénicos analizados. El límite de detección (LoD) para tIgE es de 1,27 kU/l. [12]

5. Especificidad analítica

No se ha detectado reactividad cruzada con otras inmunoglobulinas humanas (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgM) en concentraciones fisiológicas normales.

No se detecta interferencia con citrato o heparina procedentes de la preparación de la muestra, ni con bilirrubina, colesterol/triglicéridos y hemoglobina en concentraciones fisiológicas normales. Tampoco se detecta interferencia con tIgE, que se ha analizado en concentraciones de hasta 3000 kU/l.

6. Trazabilidad metrológica de los valores del calibrador y del material de control

N/A

7. Rango de medición del ensayo

El rango de medición se estableció de la siguiente manera:

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

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

IgE total (semicuantitativa): 1001-2500 kU/l

Esto se basa en el LoD y el límite superior del rango de medición (efecto gancho), que se calculó en general conforme a la guía CLSI I/LA20, 3ª edición.

El valor de corte del ensayo es de 0,3 kU_A/l para IgE específica.

(a) Linealidad

Las muestras de suero positivas se diluyeron en serie con muestra en blanco en proporciones de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128. Las muestras sin diluir y diluidas se analizaron según el protocolo del ensayo ALEX³.

Para la IgE total, se añadió a una muestra en blanco la preparación 11/234 de la OMS como tercer estándar internacional para IgE sérica a una concentración de 2500 kU/l y se diluyó en serie para cubrir todo el rango de medición.



Los valores obtenidos (O) se comparan con los valores estimados (E). Se calcula el cociente O/E para los alérgenos prioritarios seleccionados.

Resultados	<u>slgE:</u> EI 83,8 % (o 264 de 315) de todos los valores O/E para los alérgenos prioritarios se encontraban entre 0,8 y 1,2. <u>tlgE:</u> EI 85,0 % (o 17 de 20) de todos los valores O/E de las preparaciones de tlgE enriquecidas se encontraban dentro del intervalo 0,8-1,2.
-------------------	--

8. Información sobre el rendimiento clínico

Dado que 247 de los 300 alérgenos ya estaban presentes en el array ALEX², la evaluación del rendimiento clínico de ALEX² es parcialmente aplicable a ALEX³. Se validaron 53 nuevos alérgenos utilizando sueros de pacientes bien caracterizados clínicamente, sensibilizados a la fuente alérgica correspondiente. Todos los alérgenos se evaluaron con sueros clínicamente validados. Se demostró que los nuevos alérgenos se unían específicamente a los anticuerpos IgE de al menos cinco pacientes sensibilizados a la fuente alérgica correspondiente. Cuando fue posible, los resultados también se compararon con los alérgenos específicos de ImmunoCAP, lo que confirmó aún más la especificidad. La especificidad de los nuevos alérgenos se validó mediante la ausencia de unión de IgE en sueros de individuos no sensibilizados. En los casos en los que no se disponía de un ImmunoCAP específico, el extracto de alérgeno se utilizó eficazmente como sustituto, lo que demostró la solidez del rendimiento clínico. Por lo tanto, se verifica el rendimiento clínico.

(a) Estudio clínico ALEX²

Un estudio clínico titulado «Precisión diagnóstica del sistema automatizado de laboratorio MADx Multi Array Xplorer (MAX 45k) y el MADx Allergy Explorer Versión 2 (ALEX²) - Prueba multiplex de IgE para el diagnóstico de grupos predefinidos de alérgenos específicos de alta prioridad (MADMAX)» (ClinicalTrials.gov ID: NCT04435678) se completó con éxito en abril de 2022.

Se inscribieron un total de 837 pacientes, entre ellos 689 alérgicos y 148 no alérgicos.

**(a1) Sensibilidad:**

Tipo de alergia	Sensibilidad (intervalo de confianza del 95 %)
Alergia al polen de abedul (n = 111)	94,6 % (88,6-98,0)
Alergia al polen de gramíneas (n=113)	98,2 % (93,8-99,8)
Alergia al ácaro del polvo doméstico (n=148)	91,2 % (85,4-95,2)
Alergia a los gatos (n=107)	92,5 % (85,8-96,7)
Alergia al veneno de abeja (n=104)	76,0 % (66,6-83,8)
Alergia al veneno de avispas (n=106)	94,3 % (88,1-97,9)

(a2) Especificidad:

Prueba	Especificidad (intervalo de confianza del 95 %)
Prueba ALEX ² en comparación con los síntomas clínicos (n = 146)	95,9 % (91,3-98,5)

(a3) Razón de verosimilitud

La razón de verosimilitud se calculó a partir de los datos de sensibilidad y especificidad según la siguiente fórmula: Sensibilidad / (1 - Especificidad).

Tipo de alergia	Razón de verosimilitud calculada
Alergia al polen de abedul (n=111)	23,1 (0,946/(1-0,959))
Alergia al polen de gramíneas (n=113)	24,0 (0,982/(1-0,959))
Alergia al ácaro del polvo doméstico (n=148)	22,2 (0,912/(1-0,959))
Alergia a los gatos (n=107)	22,6 (0,925/(1-0,959))
Alergia al veneno de abeja (n=104)	18,5 (0,760/(1-0,959))
Alergia al veneno de avispas (n=106)	23,0 (0,943/(1-0,959))

9. Información sobre la estabilidad

Las pruebas de estabilidad realizadas en un estudio de estabilidad acelerada de ALEX³ demostraron una alta robustez, dos años después de la producción, almacenado a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Por lo tanto, la vida útil determinada es de dos años. Además, como parte del estudio de estabilidad acelerada, se realizaron estudios de estabilidad durante el transporte. Para el estudio de simulación del transporte, los kits se sometieron a un protocolo de simulación del transporte (TS) antes de ser probados. Además, se comprobó la comodidad del embalaje y el etiquetado.



XXI. GARANTÍA

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito en estas instrucciones de uso. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento puede afectar a los resultados y MacroArray Diagnostics rechaza todas las garantías expresadas (incluida la garantía implícita de comerciabilidad e idoneidad para el uso) en tal caso. En consecuencia, MacroArray Diagnostics y sus distribuidores locales no serán responsables de los daños indirectos o consecuentes en tal caso.

XXII. ABREVIATURAS

ALEX	Allergy Xplorer
CCD	Determinantes de carbohidratos con reacción cruzada
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
IgE	Inmunoglobulina E
IVD	Diagnóstico in vitro
kU/l	Kilo unidades por litro
kU _A /l	Kilo unidades de IgE específica para alérgenos por litro
MADx	MacroArray Diagnostics
REF	Número de referencia
rpm	Revoluciones por minuto
slgE	IgE específica para alérgenos
tlgE	IgE total
µl	Microlitros



LISTA DE ALÉRGENOS ALEX³

Extractos 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 naturales 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



REFERENCIAS

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.



HISTORIAL DE CAMBIOS

Versión	Descripción	Fecha de emisión	Sustituye
03	Adaptation to English IFU Version 03	09-2025	02



© Copyright de MacroArray Diagnostics

MacroArray Diagnostics (MADx)

Lemböckgasse 59, Top 4

1230 Vienna, Austria

+43 (0)1 865 2573

<http://www.madx.com>

Número de versión: 03-IFU-01-ES-03