

ALEX

ALLERGY EXPLORER 

INSTRUCCIONES DE USO



Powered by
MAD 
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

El sistema de prueba Allergy Explorer es una prueba cuantitativa de diagnóstico "in vitro" para la medición de IgE específica frente a diferentes alérgenos (sIgE) y una prueba semicuantitativa de diagnóstico in vitro para la medición de IgE total (tIgE) en suero o plasma humano (excepto plasma EDTA). Está destinado para su uso en laboratorios químicos clínicos, personal de laboratorio con formación adecuada y profesionales de la medicina con la finalidad de respaldar el diagnóstico clínico de enfermedades en las que interviene la IgE junto con otros resultados clínicos o resultados de pruebas de diagnóstico.

Todos los principales sensibilizadores alérgicos están cubiertos por el panel de alérgenos ALEX. Contacte con support@macroarraydx.com para obtener la lista completa de extractos y alérgenos presentes en ALEX.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Las reacciones alérgicas son reacciones inmediatas de hipersensibilidad de clase I y son el resultado de la mediación de anticuerpos pertenecientes a la clase IgE de inmunoglobulinas. Después de la exposición a alérgenos específicos, la liberación de histamina por mediación de IgE y otros mediadores como, mastocitos y basófilos, provoca manifestaciones clínicas tales como el asma, rinoconjuntivitis alérgica, eczema atópico y síntomas gastrointestinales [1]. Por tanto, un detallado patrón de sensibilización a alérgenos específicos ayuda en la evaluación de pacientes alérgicos [2-6].

Información importante para el usuario

Para un uso correcto de ALEX, el usuario debe leer y seguir atentamente estas instrucciones de utilización. El fabricante no asumirá ninguna responsabilidad por cualquier uso de este sistema de prueba que no esté descrito en este documento ni por las modificaciones en el sistema de prueba realizadas por el usuario.

PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO

ALEX es un inmunoensayo en fase sólida. Los extractos alérgicos o los alérgenos moleculares que están acoplados a nanopartículas, son depositados de modo sistemático en estado sólido formando una matriz macroscópica. En primer lugar, los alérgenos unidos a la partícula reaccionan con la IgE específica que está presente en la muestra del paciente. Después de la incubación, la IgE no específica se elimina mediante lavado. El procedimiento continúa con la fase de detección con la adición de anticuerpo IgE - antihumano marcado con una enzima, el cual forma un complejo con la IgE específica unida a la partícula. Después de un segundo lavado, se añade un sustrato que se transforma en un precipitado insoluble, coloreado, por la acción de la enzima unida al anticuerpo. Finalmente, la reacción enzima-sustrato se detiene mediante la adición de un reactivo bloqueante. La cantidad de precipitado es proporcional a la concentración de IgE específica presente en la muestra del paciente. Al procedimiento de la prueba de laboratorio le sigue la lectura y análisis de imagen usando el dispositivo ImageXplorer. Los resultados de la prueba son analizados con el software MADx's Raptor y se muestran mediante informe en unidades de respuesta IgE (kU_A/L). Los resultados de IgE totales también se muestran mediante informe en unidades de respuesta IgE (kU/L).

ENVÍO Y ALMACENAMIENTO

El envío de ALEX se realiza en condiciones de temperatura ambiente. No obstante, el kit debe almacenarse inmediatamente después de su recepción a una temperatura de 2-8°C.

Si se almacena correctamente, ALEX y sus componentes se pueden usar hasta la fecha de caducidad indicada.



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







Con la excepción de los Array ALEX, dado que van envasados unitariamente.

ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Elimine el Array usado ALEX y los componentes del kit que no hayan sido usados y contengan residuos químicos de laboratorio. Cumpla con todas las regulaciones nacionales, estatales y locales en materia de eliminación de residuos.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

El significado del símbolo es el mismo, independientemente del color.

Símbolo	Descripción
	Marca CE
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Informa de un dispositivo médico que está destinado para usarse como dispositivo médico de diagnóstico in vitro.
	Contenido suficiente para realizar <n> pruebas Indica el número total de pruebas IVD que puede realizarse con el IVD.
	Consulte las instrucciones de uso Indica la necesidad para el usuario de consultar las instrucciones de uso.
	No utilizar si el embalaje está dañado Indica un dispositivo médico que no debe utilizarse si el embalaje está dañado o abierto.
	Número de catálogo Indica el número de catálogo del fabricante por el que el dispositivo médico puede ser identificado.



Límite de temperatura

Indica el límite de temperatura al que puede exponerse el dispositivo médico de forma segura.

Fecha de caducidad

Indica la fecha después de la cual el dispositivo médico ya no debe utilizarse.

Código de barras

Indica el código de barras del fabricante por el que se puede identificar el lote.

No reutilizar

Indica que el dispositivo médico está diseñado para un solo uso, o para ser usado con un solo paciente durante un único proceso.

Advertencia (pictograma GHS)

Consulte la hoja de registro de datos de seguridad si desea información más detallada.

Fabricante

Indica el fabricante del dispositivo médico tal como se define en las Directivas UE 90/385/ CEE, 93/42/CEE y 98/79/CE.

Nota importante

Solo para la evaluación de rendimiento IVD

Indica que un dispositivo IVD está diseñado para ser usado exclusivamente para evaluar sus características de rendimiento antes de comercializarlo para su uso en el diagnóstico médico.

Componentes del kit ALEX

Cada componente es estable hasta la fecha indicada en cada etiqueta individual del componente. No se recomienda juntar reactivos de lotes de kit diferentes. Contacte con support@macroarraydx.com si desea una lista de los extractos de alérgenos y de alérgenos moleculares inmovilizados en la matriz ALEX.

ALEX Test Kit	Para 20 análisis, calibración integrada en cada matriz; embalado y sellado.	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad.
ALEX Washing Solution	2 botellas de 50 mL	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad. Deje que la solución para lavado alcance la temperatura ambiente antes de utilizarla. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a una temperatura de 2-8°C.
ALEX Washing Solution	1 botella de 9 mL	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad. Deje que el diluyente de muestra alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a una temperatura de 2-8°C. Incluye inhibidor CCD.
ALEX Detection Antibody	1 botella de 11 mL	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad. Deje que el anticuerpo para detección alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a una temperatura de 2-8°C.
ALEX Substrate Solution	1 botella de 11 mL	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad. Deje que la solución sustrato alcance la temperatura ambiente antes de utilizarla. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a una temperatura de 2-8°C.
ALEX Stop Solution	2 viales de 1,2 mL	Listo para usar. Almacenar a 2-8°C hasta fecha caducidad. Deje que la solución alcance la temperatura ambiente antes de utilizarla. Una vez abierto, el reactivo es estable durante 6 meses a una temperatura de 2-8°C. La solución puede volverse turbia después de un almacenamiento prolongado. Esto no tiene ningún efecto sobre los resultados.

Equipamiento necesario para procesar y analizar ALEX

- Portador de cartuchos (Porta-Array) [opcional]
- ImageXplorer
- Agitador basculante de laboratorio (ángulo de inclinación 8°; velocidad necesaria 8 rpm)
- Cámara de incubación (An x F x Al=35x25x2 cm)
- Software de análisis Raptor
- PC/Laptop

ALEX Starter Kit contiene todo el equipamiento necesario, excepto el PC/Laptop – **REF 01-0010-00**.

Los componentes individuales del Starter Kit están disponibles a petición. El PC/Laptop solo se suministra a petición.

Equipamiento necesario no proporcionado por MADx

- Agua purificada
- Pipetas y puntas de pipeta (100 µL y 1000 µL)

Servicios de mantenimiento de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Manipulación de arrays ALEX

No tocar la superficie de la matriz. Cualquier defecto en la superficie causado por objetos contundentes o afilados puede interferir en una lectura correcta de los resultados.

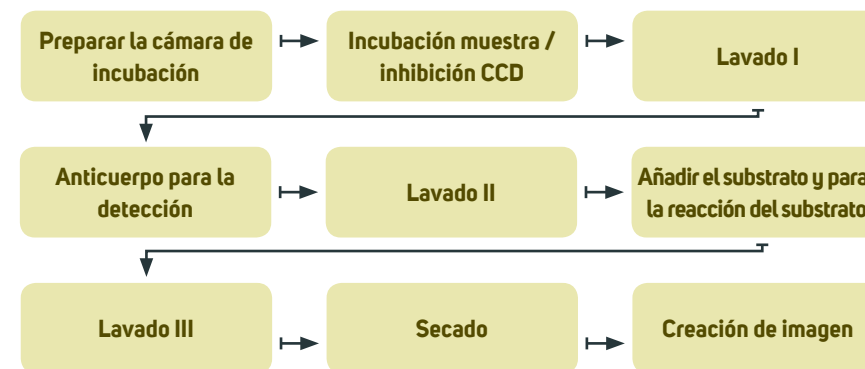
No adquirir imágenes ALEX antes de que la matriz esté completamente seca (secar a temperatura ambiente).

Advertencias y precauciones

- Se recomienda utilizar protección para las manos y para los ojos, así como batas de laboratorio y mantener las buenas prácticas de laboratorio al preparar y manipular reactivos y muestras.
- De conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, todos los materiales de origen humano deberían considerarse potencialmente infecciosos y ser manipulados con las mismas precauciones que se tienen con las muestras de los pacientes.
- El diluyente de muestra está preparado en parte a partir de fuentes de sangre humana. El producto ha sido probado y ha resultado no reactivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos para la hepatitis C (HCV) y anticuerpos para el HIV-1/HIV-2.
- El diluyente de muestra y la solución para lavado contienen acido sódico como conservante y deben manipularse con cuidado. La hoja de datos de seguridad está disponible a petición.
- Exclusivamente para uso de diagnóstico "in vitro". No apto para su uso interno o externo en humanos ni animales.
- Solo el personal con formación y práctica de laboratorio debería utilizar este kit.
- Compruebe los componentes del kit en busca de posibles daños en el momento de su recepción. Si uno de los componentes estuviera dañado (por ejemplo, las botellas para buffer, etc), contacte con MADx (support@macroarraydx.com). No utilice componentes del kit que estén dañados, ya que su uso podría suponer un pobre rendimiento del kit.
- No use reactivos después de que haya transcurrido la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos que pertenezcan a lotes diferentes.

PROCESO DE ENSAYO

Diagrama de flujo del proceso de ensayo



Preparación:

Preparación de las muestras: Se pueden usar muestras de suero o plasma (heparina, citrato, no EDTA) provenientes de sangre capilar o venosa. Las muestras de sangre se pueden recoger usando los procedimientos estándar. Almacenar las muestras a una temperatura de 2–8°C durante una semana, como mucho. Para un almacenamiento prolongado, mantener las muestras de suero y plasma a una temperatura de -20°C. Es procedente el envío de muestras de suero/plasma a temperatura ambiente. Dejar siempre que las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlas.

Cámara de incubación: Cerrar la tapa durante todos los pasos de la prueba para evitar el descenso de humedad.

Parámetros de procedimiento

- 100 µL de muestra + 400 µL ALEX Sample Diluent
- 500 µL ALEX Detection Antibody
- 500 µL ALEX Substrate Solution
- 100 µL ALEX Stop Solution
- 4500 µL ALEX Washing Solution

El tiempo para la prueba es de 3 h 30 min. aproximadamente.

No es recomendable realizar más ensayos de los que se pueden pipetear en 10 min.

Todas las incubaciones se llevan a cabo a temperatura ambiente, 20-26°C.

PROCESO DE ENSAYO ALEX



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

1. Preparar la cámara de incubación

Abrir la cámara de incubación y colocar papel absorbente en la parte inferior. Mojar el papel absorbente con agua purificada hasta que no haya partes secas visibles.

2. Incubación de muestra/inhibición CCD

Extraer el número necesario de Arrays ALEX y colocar en Porta-Arrays. Añadir 400 µL ALEX Sample Diluent

en cada Array. Añadir 100 µL de muestra de paciente en los Arrays. Asegurarse de que la solución resultante esté distribuida de manera uniforme. Colocar los Arrays sobre el agitador basculante de laboratorio y empezar la incubación de suero a 8 rpm durante 2 horas. Cerrar la cámara de incubación antes de poner en funcionamiento el agitador. Después de 2 horas, verter las muestras de los pacientes en un contenedor recolector. Limpie con cuidado las gotitas del Array con papel absorbente.



Se debe evitar tocar la superficie de la matriz con el papel absorbente. Evitar la transmisión o contaminación cruzada de muestras de pacientes entre Arrays individuales ALEX.

Opcional: con el protocolo estándar de inhibición de los CCD (como se describe en el párrafo 2: incubación de la muestra/inhibición de los CCD) la eficiencia de la inhibición de los CCD es del 85%. Si se necesita una mayor inhibición, preparar en un tubo de ensayo: 400 µL de diluyente de muestra mas 100 µL de suero. Incubar 30 minutos (sin agitación) y seguir con el procedimiento usual del ensayo.

Nota: El paso extra de inhibición CCD lleva a una inhibición superior al 95 %.

3. Lavado I

Añadir 500 µL ALEX Washing Solution en cada Array e incubar en el agitador (a 8 rpm) durante 5 minutos. Verter la solución de lavado en un recipiente colector con papel absorbente, sacudiendo enérgicamente los porta-Arrays (cartuchos).

Repetir este paso otras 2 veces.

4. Añadir anticuerpo para la detección

Añadir 500 µL ALEX Detection Antibody en cada Array.



Asegurarse de que toda la superficie de la matriz queda cubierta con ALEX Detection Antibody.

Colocar los Arrays en la cámara de incubación en el agitador e incubarlos a 8 rpm durante 30 minutos. Verter la solución anticuerpo para la detección en un contenedor recolector. Limpie cuidadosamente las gotitas restantes de los Arrays con un papel absorbente.

5. Lavado II

Añadir 500 µL ALEX Washing Solution en cada Array e incubar en el agitador (a 8 rpm) durante 5 minutos. Verter la solución de lavado en un contenedor recolector y secar las gotitas restantes de los Arrays. Repetir este paso 4 veces más como en el Lavado I.

6. Adición del sustrato y parada posterior de la reacción.

Añadir 500 µL ALEX Substrate Solution a cada Array.

Iniciar un temporizador (cronómetro) después de llenar el primer Array y continuar con el llenado de los Arrays restantes. Asegurarse de que toda la superficie de la matriz queda cubierta con la solución de sustrato e incubar las matrices durante 8 minutos en el agitador (8 rpm).

Después de **8 minutos exactamente**, añadir 100 µL ALEX Stop Solution en todos los Arrays, empezando por el primero, para asegurarse de que todas las matrices se han incubado durante el mismo tiempo con la solución de sustrato. Agitar cuidadosamente para repartir uniformemente la solución para la detención en las matrices de los Arrays, después de que la solución para la detención se haya pipeteado en todas las matrices.

A continuación, vierta la solución de sustrato de los Porta-Arrays y limpie las gotitas restantes de Porta-Arrays utilizando papel absorbente.

7. Lavado III

Agregue 500 µL Solución de lavado ALEX a cada Array e incube en el agitador a 8 rpm durante 30 segundos. Vierta la solución de lavado en un recipiente recolector con papel absorbente, sacudiendo enérgicamente los porta-Arrays.

8. Análisis de imagen

Después de terminar el procedimiento de ensayo, secar las matrices a temperatura ambiente hasta que estén completamente secas (puede llevar hasta 45 minutos).



Esto es esencial para la sensibilidad del procedimiento, dado que solo las matrices completamente secas proporcionan una relación superior señal/ruido.

Finalmente, las matrices completamente secas se escanean con el ImageXplorer y se analizan con el software Raptor. Para obtener más información, consulte el manual de software Raptor.

El software Raptor ha sido verificado exclusivamente con el MADx ImageXplorer y, en consecuencia, Macro Array Diagnostics no asumirá responsabilidad por los resultados si se utiliza otro sistema de creación de imágenes (por ejemplo, un escáner de superficie plana).

Calibración del ensayo

Las variaciones sistemáticas en los niveles de señal entre lotes se normalizan mediante una calibración heteróloga frente a una curva de referencia IgE. Se calcula un ajuste de curva y se aplica la ecuación resultante para transformar unidades de intensidad arbitraria en unidades cuantitativas. Los parámetros de la curva para cada lote se ajustan mediante pruebas internas de referencia frente a una preparación de sueros testados en ImmunoCAP para IgE específica frente a varios alérgenos. Los resultados de ALEX son, por lo tanto, indirectamente trazables frente al calibrador de referencia Internacional de la OMS 75/502 para IgE total.

Los parámetros de calibración específicos del lote están codificados en el código de barras y se refieren a una curva estándar IgE presente en cada cartucho de prueba, para ajustarlas a las variaciones del ensayo. Los resultados de la prueba ALEX sIgE se expresan como kU_A/L . Los resultados totales de IgE son semicuantitativos y se calculan a partir de dos mediciones diferentes anti-IgE con factores de calibración específicos del lote codificados en el código de barras ALEX.

Rango de medición

IgE específica: 0,3-50 kU_A/L , Cuantitativo

IgE total IgE: 1-2500 kU/L , semicuantitativa

CONTROL DE CALIDAD

Mantener un registro para cada ensayo

De conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, es recomendable llevar un registro de los números de lote de todos los reactivos usados.

Muestras de control

De conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda que las muestras de control de calidad se incluyan dentro de los intervalos definidos.

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Debe usarse el ImageXplorer para el análisis de imagen de los Arrays procesados. Las imágenes ALEX son analizadas automáticamente usando el software MADx's Raptor, generándose un informe con un resumen de los resultados para el usuario.

RESULTADOS

ALEX es un método cuantitativo para IgE específica y semicuantitativo para IgE total. Los anticuerpos alérgicos específicos IgE están expresados como unidades de respuesta IgE (kU_A/L); los resultados totales IgE, como kU/L . El software MADx's Raptor calcula automáticamente y genera un informe de resultados sIgE (cuantitativos) y resultados de IgE total (semicuantitativos).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Un diagnóstico clínico definitivo solo se deberá hacer en combinación con todos los resultados clínicos disponibles realizados por médicos profesionales y no deberá estar basado solamente en los resultados de un único método de diagnóstico.

En ciertas áreas de aplicación (por ejemplo, alergia a ciertos alimentos), los anticuerpos IgE en circulación pueden resultar indetectables, aunque pueda darse una manifestación clínica de alergia a ciertos alimentos, porque estos anticuerpos podrían ser específicos a alérgenos que son modificados durante el proceso industrial, la cocción o la digestión y, por lo tanto, no existen en el alimento original para el que se hace la prueba al paciente.

Algunos resultados negativos de veneno solo indican niveles indetectables de anticuerpos específicos IgE de veneno (por ejemplo, debido a una no exposición a largo plazo) y no excluyen la existencia de hipersensibilidad clínica a picaduras de insecto.

VALORES PREVISTOS

La estrecha relación entre los niveles de anticuerpo alergénico específico IgE y la enfermedad alérgica es bien conocida y está descrita exhaustivamente en la bibliografía [1].

Cada paciente sensibilizado mostrará un perfil IgE individual cuando se haga la prueba con ALEX.

La respuesta IgE con muestras de individuos sanos no alérgicos estará por debajo de 0,3 kU_A/L por componentes alergénicos individuales y por extractos alergénicos cuando se haga la prueba con ALEX.

Las buenas prácticas de laboratorio recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores previstos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Precisión

En el cuadro de abajo se pueden ver los coeficientes de variación (CV) determinados por un número representativos de muestras utilizando el mismo lote de reactivos. Las muestras fueron obtenidas de pacientes poli-sensibilizados y realizadas por triplicado en 10 ensayos diferentes.

Concentración - kU _A /L	Intra CV%	Inter CV%	Total CV%
0.3 – 1.0	20	11	25
1 -10	10	6.3	16
>10	6.9	3.9	11

Sensibilidad Analítica

El Límite de Detección se determinó de acuerdo con la directriz CLSI EP17-A[8] para los componentes alergénicos representativos estando por debajo de 0,3 kU_A/L para todos los componentes alergénicos y todos los extractos de alérgenos.

Especificidad Analítica

No hay reactividad cruzada detectable con otras Inmunoglobulinas humanas (IgA, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgM) a concentraciones fisiológicas normales.

Interferencia

No hay interferencia detectable con bilirrubina, colesterol/triglicéridos y hemoglobina en concentraciones fisiológicas normales.

Tampoco hay interferencia con IgE Total que hayan sido testadas en concentraciones de hasta 3000 kU/L.

GARANTÍA

Los datos de rendimiento aquí presentados se obtuvieron usando el procedimiento diseñado en estas instrucciones de uso. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento podría afectar a los resultados y Macro Array Diagnostics rechaza todas las garantías expresas (incluyendo la garantía implícita de comercialidad o idoneidad de uso) en tal caso. Consecuentemente, Macro Array Diagnostics y sus distribuidores autorizados no se harán responsables de los daños indirectos o consecuentes, en tal caso.

REFERENCIAS:

1. Hamilton RG. Assessment of human allergic disease. En: Rich RR et al ed. *Clinical Immunology, Principles and Practice*, tercera ed. Mosby Elsevier; 2008:1471-84
2. Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, Valenta R. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2003 enero; 33(1):7-13
3. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J*. 2002 marzo; 16(3):414-6. Epub 2002 enero 14.
4. Molecular diagnosis in Allergology: application of the microarray technique. M Ferrer, ML Sanz, J Sastre, J Bartra, A del Cuvillo, J Montoro, I Jáuregui, I Dávila, J Mullol, A Valero. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2009; 19 suplemento 1:19-24
5. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. Ott H., Fölster-Holst R., Mark H.F., Baron J.M. *European Journal of Dermatology*, 2010, 20(1), 1-8.
6. Molecular diagnosis in allergy. Sastre J. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:1442-1460
7. CLSI Protocols for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline Second Edition CLSI Document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9) 2004.
8. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guidelines. CLSI document EP17-A (ISBN 1-56238-551-8), 2004.



ALEX

ALLERGY EXPLORER 

Powered by

MADx
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

01-IFU-01-ES-03

2019-03



©Copyright by Macro Array Diagnostics

Macro Array Diagnostics GmbH (MADx)

Gutheil-Schoder-Gasse 17

1230 Viena

Austria

+43 (0)1 865 2573

support@macroarraydx.com

Para evitar que estas instrucciones de uso sean excesivamente extensas, no se ha incluido en este documento la lista completa de extractos y alérgenos presentes en ALEX.

Contacte con support@macroarraydx.com para obtener la lista completa de extractos y alérgenos presentes en ALEX.