

ALEX

ALLERGY EXPLORER 

INSTRUÇÃO DE USO



Powered by
MAD
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

USO PRETENDIDO

O Allergy Explorer (ALEX) é um teste de diagnóstico in vitro quantitativo que determina a IgE específica para alérgenos (sIgE); e um teste de diagnóstico in vitro semiquantitativo para a determinação da IgE total (tIgE) no soro ou plasma humano (exceção EDTA-plasma). Deve ser usado por laboratórios de química clínica, pessoal de laboratório qualificado e profissionais médicos com o propósito de apoiar o diagnóstico clínico de doenças mediadas por IgE, em simultâneo com outros achados clínicos ou resultados de testes diagnósticos.

Os alérgenos major fazem parte do painel de alérgenos ALEX. Por favor, contate support@macroarraydx.com para obter a lista completa de extratos e alérgenos moleculares presentes no ALEX.

SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

As reacções alérgicas são reacções de hipersensibilidade tipo I imediatas e são mediadas por anticorpos pertencentes à Classe IgE de imunoglobulinas. Após a exposição a alérgenos específicos, há libertação, mediada por IgE, de histaminas e outros mediadores dos mastócitos e basófilos e consequentes manifestações clínicas, como a asma, a rinoconjuntivite alérgica, o eczema atópico e sintomas gastrointestinais [1]. Portanto, um padrão detalhado de sensibilização para alérgenos específicos auxilia a avaliação de pacientes alérgicos [2-6].

Informação importante para o utilizador

Para o uso correto do ALEX, é necessário que o utilizador leia atentamente e siga estas instruções de uso. O fabricante não se responsabiliza pela utilização deste kit de forma diferente da descrita neste documento ou por outras modificações feitas pelo utilizador.

PRINCÍPIO DO TESTE

O ALEX é um imunoensaio de fase sólida. Os 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 ligados às partículas reagem com a IgE específica que está presente na amostra do paciente. Após a incubação, a IgE não específica é removida na lavagem. O procedimento continua com a adição um anticorpo humano de detecção anti-IgE marcado com enzima, formando um complexo alérgeno - IgE específica - anti-IgE específica. Após um segundo passo de lavagem, é adicionado substrato que é convertido num precipitado insolúvel e colorido pelo enzima ligada ao anticorpo. Finalmente, a reação enzima-substrato é interrompida pela adição da solução STOP. A quantidade de O precipitado é proporcional à concentração de IgE específica na amostra do paciente. O procedimento laboratorial é seguido por aquisição e análise de imagens usando o dispositivo ImageXplorer. Os resultados do teste são analisados com o software Raptor da MADx e reportados em unidades de resposta IgE (kUA / L). Os resultados de IgE total também são reportados em unidades de resposta IgE (kU / L).

EXPEDIÇÃO E ARMAZENAMENTO

O envio do kit ALEX ocorre em condições de temperatura ambiente. No entanto, o kit deve ser armazenado imediatamente após a entrega a 2-8 ° C.

Se armazenado corretamente, o ALEX e seus componentes podem ser usados até a data de validade indicada.



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







Com exceção dos chips ALEX, pois são embalados individualmente.

DEPÓSITO DE LIXO

Descarte o chip ALEX usado e os componentes do kit não utilizados com resíduos químicos de laboratório. Siga todas as regulamentações nacionais, estaduais e locais relacionadas ao descarte.

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

O significado dos símbolos permanece o mesmo, independentemente da cor

| Símbolo | Descrição |
|---|---|
|  | Marca CE |
|  | Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Indica um dispositivo médico destinado a ser utilizado como um médico de diagnóstico in vitro dispositivo. |
|  | Contém o suficiente para testes <n> Indica o número total de testes de IVD que podem ser realizados com o IVD. |
|  | Consulte as instruções de uso Indica a necessidade do utilizador consultar as instruções de uso. |
|  | Não use se a embalagem estiver danificada Indica que um dispositivo médico não deve ser usado se a embalagem estiver danificada ou aberta. |
|  | Número de catálogo Indica o número de catálogo do fabricante para que o dispositivo médico possa ser identificado. |

| | |
|---|---|
|  | Limite de temperatura Indica os limites de temperatura aos quais o teste (reagentes) pode ser exposto com segurança. |
|  | Data de validade Indica a data após a qual o teste (reagentes) não deve ser usado. |
|  | Número do lote Indica o número do lote do fabricante para que o kit possa ser identificado. |
|  | Não reutilize Indica um teste destinado a um uso ou para uso num único paciente durante um único procedimento. |
|  | Advertência (pictograma GHS) Consulte a ficha de dados de segurança para detalhes |
|  | Fabricante Indica que o dispositivo médico está de acordo com as Directivas da UE 90/385 / CEE, 93/42 / CEE e 98/79 / CE. |
|  | Nota importante |
|  | Apenas para avaliação de desempenho de IVD Indica um IVD que se destina a ser usado apenas para avaliar suas características de desempenho antes de ser colocado no mercado para uso em diagnóstico médico. |

Componentes do Kit ALEX

Cada componente (reagente) é estável até a data indicada no rótulo. Não é recomendado misturar reagentes de lotes diferentes. Para uma lista de extratos de alergénios e alergénios moleculares, entre em contato com support@macroarraydx.com.

| | | |
|--------------------------------|---|---|
| ALEX Test Kit | Para 20 testes, calibração integrada em toda a matriz; embalado e selado. | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até a data de validade. |
| ALEX Washing Solution | 2 garrafas de 50 mL | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até à expiração da data de validade. Deixar que a solução de lavagem atinja a temperatura ambiente antes usar. Após abertura o reagente é estável durante 6 meses a 2-8 ° C. |
| ALEX Sample Diluent | 1 garrafa de 9 mL | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até à expiração da data de validade. Deixar que a amostra atinja a temperatura ambiente antes de usar. Após abertura, o reagente é estável por 6 meses a 2-8 ° C, inclui inibidor de CCD. |
| ALEX Detection Antibody | 1 garrafa de 11 mL | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até à expiração da data de validade. Deixar que o anticorpo de detecção atinja a temperatura ambiente antes usar. Após abertura, o reagente é estável durante 6 meses a 2-8 ° C. |
| ALEX Substrate Solution | 1 garrafa de 11mL | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até à expiração da data de validade. Deixar que a solução de substrato atinja a temperatura ambiente antes usar. Após abertura, o reagente é estável durante 6 meses a 2-8 ° C. |
| ALEX Stop Solution | 2 frascos de 1,2 mL | Pronto para uso. Armazenar a 2-8 ° C até à expiração da data de validade. Deixar que a solução de paragem atinja a a temperatura ambiente antes de usar. Após abertura, o reagente é estável durante 6 meses a 2-8 ° C. Pode aparecer como uma solução turva depois de armazenamento prolongado. Isso não tem efeito nos resultados. |

Equipamento necessário para processar e analisar ALEX

- Suporte para os chips (opcional)
- ImageXplorer
- Agitador (ângulo de inclinação 8 °, velocidade requerida 8 rpm)
- Câmara de Incubação (LxPxA - 35x25x2 cm)
- Software de análise Raptor
- PC/Laptop

O **kit ALEX Starter** contém todo o equipamento necessário, exceto PC / Laptop - **REF 01-0010-00**.

Os itens únicos do Starter Kit estão disponíveis mediante solicitação. PC / laptop é fornecido apenas mediante pedido.

Equipamento necessário, não fornecido pela MADx

- Água purificada
- Pipetas e pontas (100 µL e 1000 µL)

Serviços de manutenção de acordo com as instruções do fabricante.

Manuseamento dos chips ALEX

Não toque na superfície da matriz. Quaisquer defeitos superficiais causados por objetos pontiagudos podem interferir na correta leitura dos resultados.

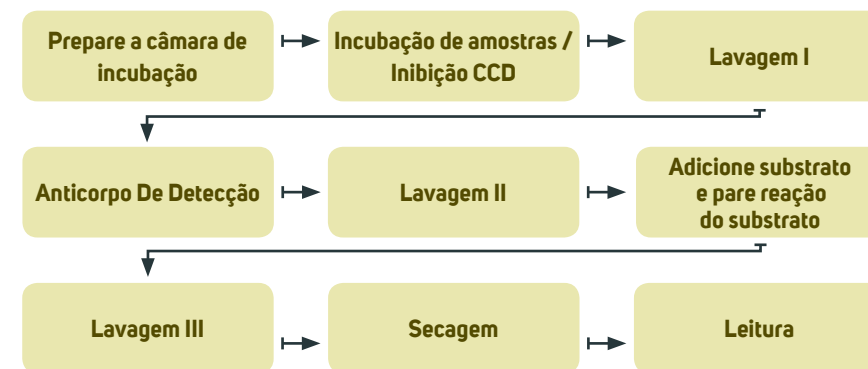
Não adquira imagens ALEX antes que o chip esteja completamente seco (seco à temperatura ambiente).

Avisos e Precauções

- Recomenda-se o uso de proteção para as mãos e os olhos, bem como de batas de laboratório. Ao preparar e manusear os reagentes e as amostras siga as boas práticas de laboratório .
- De acordo com as boas práticas de laboratório, todo o material de origem humana deve ser considerado potencialmente infeccioso e manuseados com as mesmas precauções que as amostras de pacientes.
- O diluente da amostra é parcialmente preparado a partir de fontes de sangue humano. O produto foi testado como não reativo ao Antígeno de Superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos da Hepatite C (HCV) e anticorpos para o HIV-1 / HIV-2.
- O diluente da amostra e a solução de lavagem contêm azida de sódio como conservante e devem ser manuseados com cuidado.
- Ficha de dados de segurança está disponível mediante solicitação.
- Apenas para uso diagnóstico in vitro. Não para uso interno ou externo em humanos ou animais.
- Somente pessoal qualificado deve manusear este kit.
- Verifique a existência de defeitos nos componentes do kit. Se um dos componentes estiver danificado (por exemplo, frascos de buffer), contate MADx (support@macroarraydx.com). Não use componentes do kit danificados, pois seu uso pode levar a um mau desempenho do kit.
- Não use reagentes além de suas datas de validade.
- Não misture reagentes de diferentes lotes.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Fluxograma do Procedimento de Ensaio



Preparação:

Preparação das amostras: Podem ser utilizadas amostras de soro ou plasma (heparina, citrato, sem EDTA) de sangue capilar ou venoso. Amostras de sangue podem ser coletadas usando procedimentos padrão. As amostras podem ser armazenadas a 2 -8 ° C durante uma semana. Manter as amostras de soro e plasma a -20 ° C para armazenamento prolongado. Expedição de amostras de soro / plasma à temperatura ambiente é aplicável. Deixe sempre a que as amostras atinjam a temperatura ambiente antes de usar.

Câmara de incubação: Feche a tampa para todos os passos do ensaio para evitar a queda da humidade.

Parâmetros do Procedimento

- 100 µL de amostra + 400 µL de diluente de amostras ALEX
- 500 µL Anticorpo detecção ALEX,
- 500 µL de solução de substrato ALEX
- 100 µL ALEX solução stop
- 4500 µL solução de lavagem ALEX

O tempo do ensaio é de aproximadamente 3 h 30 min.

Não é recomendado executar mais testes do que os que possam ser pipetados em 10min.

Todas as incubações são realizadas à temperatura ambiente, 20-26 ° C.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO ALEX



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

1. 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 purificada até que não seja visível nenhuma parte seca das toalhas de papel.

2. Incubação da amostra / inibição do CCD

Retire o número necessário de testes ALEX e coloque-os no (s) suporte (s) da matriz. Adicionar 400 µL de amos-

tra ALEX diluente para cada chip. Adicione 100 µL de amostra do paciente aos chips. Assegure-se de que a solução resultante esteja espalhada uniformemente. Coloque os chips no agitador de laboratório e inicie a incubação de soro com 8 rpm por 2 horas. Feche acâmara de incubação antes de iniciar a agitação. Após 2 horas, descarte as amostras. Limpe cuidadosamente as gotas do chip com uma toalha de papel.



Evite tocar a superfície da matriz com a toalha de papel!

Evite qualquer contaminação ou contaminação cruzada de amostras de pacientes entre chips ALEX individuais!

Opcional: com o protocolo padrão de inibição de anticorpos CCD (conforme descrito no parágrafo 2: incubação de amostras / Inibição do CCD) a eficiência de inibição do CCD é de 85%. Se for necessária uma taxa maior de eficiência de inibição, prepare um tubo de amostra de 1 mL, adicione 400 µL de diluente de amostra e 100 µL de soro. Incubar por 30 minutos (sem agitação) e depois prossiga com o procedimento usual do ensaio.

Nota: O passo extra de inibição do CCD leva a uma taxa de inibição de anticorpos CCD acima de 95%.

3. lavagem I

Adicione 500 µL de solução de lavagem ALEX a cada chip e incube no agitador (a 8 rpm) durante 5 minutos. Descarte a solução de lavagem num recipiente e bata vigorosamente os chips numa pilha de toalhas de papel.

Repita este passo mais 2 vezes.

4. Adicione o anticorpo de detecção

Adicione 500 µL de Anticorpo de detecção ALEX a cada chip.



Certifique-se de que a superfície da matriz esteja coberta pela solução anticorpo de detecção ALEX.

Coloque os chips dentro da câmara de incubação no agitador e incube-os a 8 rpm durante 30 minutos. Descarte a solução de anticorpo de detecção num recipiente. Limpe cuidadosamente as gotas restantes dos chips usando uma toalha de papel.

5. Lavagem II

Adicione 500 µL solução de lavagem ALEX a cada chip e incube no agitador de laboratório a 8 rpm durante 5 minutos. Descarte a solução de lavagem num recipiente e bata vigorosamente os chips numa pilha de toalhas de papel.

Repita este passo mais 4 vezes.

6. Adicione substrato e interrompa a reação do substrato

Adicione 500 µL de Solução de Substrato ALEX a cada chip.

Inicie um temporizador depois de pipetar o primeiro chip e prossiga com a pipetagem dos chips restantes. Certifique-se de que a superfície da matriz é completamente coberta pela solução de substrato e incuba as matrizes durante 8 minutos no agitador (8 rpm).

Após exatamente 8 minutos, adicione 100 µl da solução Stop ALEX a todos os chips, começando com o primeiro chip para garantir que todas as matrizes são incubadas ao mesmo tempo com a solução de substrato. Agite com cuidado para uniformemente distribuir o reagente nos chips, após a pipetagem da solução stop em todas as matrizes.

Em seguida, descarte o substrato / solução stop dos chips e limpe as gotas restantes usando uma toalha de papel.

7. Lavagem III

Adicione 500 µL solução de lavagem ALEX a cada chips e incube no agitador a 8 rpm durante 30 segundos.

Descarte a solução de lavagem num recipiente e bata vigorosamente os chips numa pilha de toalhas de papel.

8. Análise de imagem

Após terminar o procedimento do ensaio, seque ao ar as matrizes à temperatura ambiente até estarem completamente secas (pode levar até 45 min).



Este passo é essencial para a sensibilidade do procedimento. Apenas matrizes completamente secas fornecem um sinal superior em relação ao background.

Finalmente, é feito um scan às matrizes completamente secas com o ImageXplorer e a imagem é analisada com o software Raptor. Para mais detalhes, consulte o manual do software Raptor.

O software Raptor é o único scanner validado para a o ImageXplorer MADx, pela Macro Array Diagnostics. A Macro Array Diagnostics não se responsabilizará pelos resultados, se outro sistema de imagem for usado (por exemplo, um scanner de mesa).

Calibração de Ensaio

Variações sistemáticas nos níveis de sinal entre os lotes são normalizadas por calibração heteróloga contra uma curva de referência IgE. Um ajuste de curva é calculado e a equação resultante aplicada para transformar unidades de intensidade arbitrárias em unidades quantitativas. Os parâmetros de curva para cada lote são ajustados por testes de referência internos contra uma preparação de soro testado no sistema ImmunoCAP para IgE específica contra vários alérgenos. Os resultados do ALEX são, portanto, indiretamente rastreáveis contra a preparação de referência da OMS 75/502 para IgE total.

Os parâmetros de calibração específicos do lote são codificados no código de barras e referenciados em relação a uma curva padrão de IgE presente em cada chip de teste para ajustar as variações do ensaio. Os resultados do teste ALEX sIgE são expressos em kUA / L. Resultados totais de IgE são semi-quantitativos e calculados a partir de duas medidas diferentes de anti-IgE com fatores de calibração específicos para cada lote codificado no código de barras ALEX.

Gama de valores

IgE específica: 0,3-50 kUA / L, quantitativa

IgE total: 1-2500 kU / L, semiquantitativo

CONTROLO DE QUALIDADE

Manutenção de registos para cada ensaio

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

Reagentes controlo

De acordo com as boas práticas de laboratório, recomenda-se que as amostras de controlo de qualidade sejam incluídas dentro das intervalos.

ANÁLISE DE DADOS

Para a análise de imagens de matrizes processadas, o ImageExplorer deve ser usado. Imagens ALEX são analisadas automaticamente usando o software Raptor do MADx e um relatório é gerado resumindo os resultados para o utilizador.

RESULTADOS

O ALEX é um método quantitativo para IgE específica e método semiquantitativo para IgE total. Os anticorpos IgE específicos para alérgenos são expressos como unidades de resposta IgE (kUA / L), e os resultados de IgE total como kU / L. O software Raptor do MADx calcula automaticamente e reporta resultados sIgE (quantitativamente) e resultados tIgE (semi-quantitativamente).

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

Em certas áreas, por exemplo, alergia alimentar, os anticorpos IgE circulantes podem permanecer indetectáveis, embora a manifestação de alergia alimentar contra um determinado alérgeno pode estar presente, porque estes anticorpos podem ser específicos para alérgenos que são modificados durante o processo industrial, cozedura ou digestão e, portanto, não existem no alimento original para o qual o paciente está a ser testado.

Resultados de veneno negativo indicam apenas níveis indetectáveis de anticorpos IgE específicos para o veneno (por exemplo, devido a longo prazo não exposição) e não exclui a existência de hipersensibilidade clínica a picadas de insetos.

VALORES ESPERADOS

A estreita associação entre níveis de anticorpos IgE específicos para alérgenos e doenças alérgicas é bem conhecida e é descrita completamente na literatura [1].

Cada paciente sensibilizado mostrará um perfil de IgE individual quando testado com ALEX.

A resposta de IgE com amostras de indivíduos não alérgicos saudáveis será inferior a 0,3 kUA / L para alérgenos e para extratos alérgicos quando testados com ALEX.

Boas práticas de laboratório recomendam que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão

Os coeficientes de variação médios listados abaixo (CV) foram determinados para amostras de soro representativas (n = 96) usando o mesmo lote de reagentes. Amostras de pacientes multissensibilizados foram testadas em triplicados em 10 ensaios diferentes [7].

| Concentração - kUA / L | Intra CV% | Inter CV% | % CV total |
|------------------------|-----------|-----------|------------|
| 0.3 – 1.0 | 20 | 11 | 25 |
| 1 -10 | 10 | 6.3 | 16 |
| >10 | 6.9 | 3.9 | 11 |

Sensibilidade Analítica

O Limite de Detecção foi determinado de acordo com a diretriz CLSI EP17-A [8] para componentes representativos de alérgenos e estava abaixo de 0,3 kUA / L para todos os componentes alérgicos e todos os extratos alérgicos.

Especificidade Analítica

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

Interferência

Não há interferência detectável com bilirrubina, colesterol / triglicerídeos e hemoglobina em condições fisiológicas normais.

Também não há interferência na IgE que foi testada em concentrações de até 3.000 kU / L.

GARANTIA

Os dados de desempenho aqui apresentados foram obtidos usando o procedimento descrito nestas Instruções de Uso. Qualquer alteração ou modificação no procedimento pode afetar os resultados e o Macro Array Diagnostics renuncia a todas as garantias expressa (incluindo a garantia implícita de comerciabilidade e adequação ao uso) em tal evento. Consequentemente, A Macro Array Diagnostics e seus distribuidores autorizados não serão responsáveis por danos indiretos ou tal evento.

REFERÊNCIAS:

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



ALEX

ALLERGY EXPLORER

Powered by

MADx
MACRO ARRAY DIAGNOSTICS

01-IFU-01-PT-02

2019-03



©Copyright by Macro Array Diagnostics

Macro Array Diagnostics GmbH (MADx)

Gutheil-Schoder-Gasse 17

1230 Wien

Austria

+43 (0)1 865 2573

support@macroarraydx.com

To avoid substantially lengthening this instructions for use, the complete list of extracts and allergens present on ALEX is not stated in this document.

Please contact **support@macroarraydx.com** to obtain the complete list of extracts and allergens present on ALEX.