



RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A8020 RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents

REF	A0301	RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate
	A8010	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk
	A8101	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate
	A8121-05/-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1
	A8221-05/-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2
	A8321-05/-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3
	A8621-05/-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6
	A8821-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1
	A8822-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2
	A8823	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES
	A8824	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS
	A8825	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB
	A8826	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1
	A8827	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2
	A8828	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK
	A8829-05/-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG
	A8921	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1
	A8931	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized



Deutsch	3
English.....	21
Čeština	38
Dansk	55
Español.....	72
Ελληνικά	90
Français.....	109
Italiano	127
Nederlands	144
Norsk	162
Polski	179
Português	197
Suomi	215
Svenska.....	232

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Test ist ein quantitativer bzw. qualitativer Enzymimmunoassay (EIA) zum Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern gegen Nahrungsmittelallergene zur manuellen Abarbeitung. Der Test stellt eine Kombination aus Reagenzien sowie den dazugehörigen Mikrotiterplatten-Varianten dar. Es dürfen ausschließlich Komponenten der Foodscreen Produktfamilie miteinander kombiniert werden. Als Probenmatrix kann humanes Serum oder humanes Kapillarblut verwendet werden. Der Test sollte als Diagnosehilfe bei begründetem Verdacht auf eine IgG-vermittelte Nahrungsmittelunverträglichkeit (Typ-3 Nahrungsmittelallergie) eingesetzt werden.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Durch die Detektion spezifischer IgG-Antikörper kann eine Nahrungsmittelunverträglichkeit ermittelt werden. Nahrungsmittelunverträglichkeiten können die Folge einer erhöhten Permeabilität der Darmwand für die entsprechenden Nahrungsmittel sein. Durch die Penetration von Nahrungsmitteln bzw. Nahrungsmittelbestandteilen durch die Darmwand in das umliegende Gewebe, können Immunkomplexe aus IgG-Antikörpern und den Nahrungsmitteln entstehen und inflammatorische Reaktionen auslösen, die zu unterschiedlichen Krankheitsbildern führen können.

Der Test ist ein EIA. Alle unter Pkt. 4 „Packungsinhalt“ aufgeführten Mikrotiterplatten wurden in Kombination mit dem Reagenziensatz A8020 der Firma R-Biopharm AG validiert. Der Einsatz der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagenzien in Verbindung mit Mikrotiterplatten anderer Hersteller, bzw. der Einsatz der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Mikrotiterplatten mit Reagenzien anderer Hersteller, ist nicht zulässig.

3. Testprinzip

Extrakte von Nahrungsmitteln, welche eine Unverträglichkeitsreaktion auslösen können, sind an die Innenflächen der Kavitäten einer Mikrotiterplatte adsorbiert. Humane Patientenproben (Serum oder Eluat von Kapillarblut), Standard- und Kontrollseren werden in die entsprechenden Kavitäten pipettiert und bei Raumtemperatur inkubiert. Dabei binden spezifische IgG-Antikörper an ihre korrespondierenden, adsorbierten Nahrungsmittelantigene. Nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines mit alkalischer Phosphatase konjugierten anti-human-IgG-Antikörpers. Während einer erneuten Inkubationsphase bindet dieses Antikörperkonjugat an die humanen IgG Antikörper aus der Patientenprobe. Nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Letztlich wird das Substrat bei dessen Zugabe durch die alkalische Phosphatase dephosphoryliert und somit in ein gelbgefärbtes Produkt überführt. Die Intensität der Gelbfärbung ist proportional der Menge an antigenspezifischen Antikörpern im Serum und kann photometrisch bei 405 nm unter Abzug der Referenzwellenlängenmessung bei 620/630 nm gemessen werden. Mit Hilfe der Standardkurve erfolgt eine Quantifizierung der Messergebnisse (Achtung: Die Platten A0301, A8921 und A8931 ermöglichen lediglich eine qualitative Auswertung).

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Inhalt von RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte kundenspezifisch, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, ohne Standardkurve, qualitativ
-------	--------	--

Tab. 2: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Waschpuffersalz für 5 Liter Waschpuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standardserum 1, verd. Humanserum; Konz.: 2,5 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 2	30 ml	Standardserum 2, verd. Humanserum; Konz.: 10,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 3	30 ml	Standardserum 3, verd. Humanserum; Konz.: 40,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 4	30 ml	Standardserum 4, verd. Humanserum; Konz.: 200,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Control high	30 ml	Kontrollserum, verd. Humanserum; Konzentration siehe Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Conjugate IgG	1 l	Anti-human IgG Konjugat, (Schaf); gebrauchsfertig; alkalische Phosphatase-konjugierter Antikörper in stabilisierter Proteinlösung
AllergySub	1 l	Substratlösung, gebrauchsfertig, enthält pNPP

AllergyStop R	1 l	Stoppreagens, gebrauchsfertig
---------------	-----	-------------------------------

Tab. 3: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig
Wash buffer salt Tween	6 x	Waschpuffersalz für 1 Liter Waschpuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standardserum 1, verd. Humanserum; Konz.: 2,5 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 2	2 ml	Standardserum 2, verd. Humanserum; Konz.: 10,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 3	2 ml	Standardserum 3, verd. Humanserum; Konz.: 40,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 4	2 ml	Standardserum 4, verd. Humanserum; Konz.: 200,0 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung
Control high	2 ml	Kontrollserum, verd. Humanserum; Konzentration siehe Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Conjugate	80 ml	Anti-human IgG Konjugat (Schaf); gebrauchsfertig; alkalische Phosphatase-konjugierter Antikörper in stabilisierter Proteinlösung
AllergySub	80 ml	Substratlösung, gebrauchsfertig, enthält pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stoppreagens, gebrauchsfertig

Tab. 4: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte kundenspezifisch, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	--

Tab. 5: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5 / 3 x 5	Mikrotiterplatte 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
---------	------------------	---

Tab. 6: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5 / 3 x 5	Mikrotiterplatte 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
---------	------------------	---

Tab. 7: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5 / 3 x 5	Mikrotiterplatte 3, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
---------	------------------	---

Tab. 8: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5 / 3 x 5	Mikrotiterplatte 6, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
---------	------------------	---

Tab. 9: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Panel 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	---

Tab. 10: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Panel 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	---

Tab. 11: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte ES, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	--

Tab. 12: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte GS, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	--

Tab. 13: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte GB, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	--

Tab. 14: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte GP1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	---

Tab. 15: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte GP2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	---

Tab. 16: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte GK, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-------	--------	--

Tab. 17: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5 / 3 x 5	Mikrotiterplatte VEG, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Standardkurve, quantitativ
-----------	------------------	---

Tab. 18: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Prescreen 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Cut-Off, qualitativ
Cut-Off	5 ml	Cut-Off Kontrolle, verdünntes Humanserum; Konz.: 10 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung

Tab. 19: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Prescreen kundenspezifisch, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen (siehe beigelegte Allergenmatrix) beschichtet, inkl. Cut-Off, qualitativ
Cut-Off	5 ml	Cut-Off Kontrolle, verdünntes Humanserum; in stabilisierter Proteinlösung

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Das Testkit ist bei 2 – 8 °C zu lagern und bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar. Der verdünnte Waschpuffer **Wash buffer salt Tween** ist bei einer Lagerung von 2 – 8 °C maximal 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Eine Kontamination der Substratlösung **AllergySub** mit Konjugat **Conjugate** ist unbedingt zu vermeiden, da dies eine Verfärbung des Substrats **AllergySub** zur Folge hat. Ebenso ist eine direkte Lichteinwirkung auf das Substrat **AllergySub** zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Verfärbung durch Hydrolyse vorzubeugen. Bei starker Gelbfärbung darf das Substrat **AllergySub** nicht mehr verwendet werden. Siehe auch Pkt. 10.3 „Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall“.

5.1 Lagerung der Mikrotiterplatten

Da die Mikrotiterplatten [Plate] gegenüber Feuchtigkeit aus der Luft empfindlich sind, sollten die Alu-Beutel nach Entnahme der benötigten Platten [Plate] wieder gründlich verschlossen werden. Der Trockenbeutel sollte während der gesamten Lagerungszeit im Alu-Beutel vorhanden bleiben. Die Mikrotiterplatten [Plate] können im korrekt wiederverschlossenen Alu-Beutel über die angegebene Haltbarkeit bei 2 – 8 °C gelagert werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1 Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2 Zubehör

- Photometer für Mikrotiterplatten (mit 405 und 620/630 nm-Filter), Messbereich 0 bis 3,5 OD
- Mikrotiterplatten-Waschautomat für 8 – 96 Kavitäten
- 12-Kanal-Pipette
- Multistep-Pipette
- Horizontal-Schüttler (für die Elution von Kapillarblutproben)

7. Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die *in vitro* Diagnostik
- Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhaut vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Die im Kit befindlichen Standardseren wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie HbsAg und Syphilis CFR 21.640 untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten Sie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandeln. Es gelten die nationalen Sicherheitsbestimmungen für den Umgang sowie die Entsorgung von potentiell infektiösem Material.
- Standardseren [Standard], Konjugat [Conjugate] und Waschpufferkonzentrat [Wash buffer salt Tween] enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Bei Kontakt mit Blei- oder Kupferrohren können explosive Metallazide entstehen.

- Eine Berührung der Haut, Augen und Kleidung mit Stoppreagens und Substratlösung vermeiden! Bei Hautkontakt sofort mit Wasser und Seife waschen. Bei Augenkontakt sofort 15 Minuten bei gespreizten Lidern unter fließendem Wasser spülen. Augenarzt konsultieren. Bei Verschlucken viel Wasser trinken, Erbrechen vermeiden und umgehend einen Arzt aufsuchen.
- Alle Bestandteile des Kits müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden (siehe Sicherheitsdatenblätter der im Kit befindlichen Komponenten).
- Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder für mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen wurde für die Untersuchung von humanem Serum und Kapillarblut entwickelt.

Bei der venösen Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum nach vollständiger Gerinnung möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Die Serumproben sind bis zur Testung kühl (2 – 8 °C) oder gefroren (–20 °C) zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Serums sollte vermieden werden, ebenso mikrobielle Kontamination. Die Verwendung von Hitze-inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Seren kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

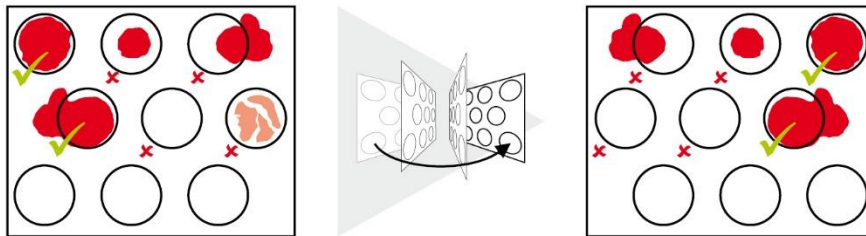
Bei der Verwendung von Kapillarblutproben im RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Test muss das entsprechende Zubehör (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card) verwendet werden. Nur dieses Zubehör wurde für diesen Test validiert. Die getrockneten Kapillarblutproben auf der Blood Collection Card (Bestandteil von A8025 und A8025-BCC) sind bei trockener Lagerung maximal 3 Wochen bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) stabil. Die Kapillarblutproben sollten nicht im Kühlschrank gelagert werden.

Tab. 20: Stabilität der Probentypen

unverdünntes Serum		verdünntes Serum	getrocknete Kapillarblutprobe	Eluat der Kapillarblutprobe
2 - 8 °C	-20 °C	20 – 25 °C	20 – 25 °C	20 – 25 °C
1 Monat	>3 Monate	max. 6 Stunden	3 Wochen	max. 6 Stunden

Wichtiger Hinweis für die Bearbeitung von Kapillarblutproben:

Die Kreise auf der Blutkarte müssen vollständig mit Blut gefüllt sein. Überprüfen Sie auch, ob die Kreise auf der Rückseite der Karte gut durchtränkt sind.



9. Testdurchführung

9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien, Patientenseren und die Mikrotiterplatte **Plate** unbedingt auf Raumtemperatur zu bringen (wichtig). Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch ist das Reagenzienkit wieder bei 2 – 8 °C zu lagern.

Die beschichteten Mikrotiterplatten **Plate** können nicht mehrfach verwendet werden. Reagenzien und die Mikrotiterplatten **Plate** dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Die beschichteten Mikrotiterplatten **Plate können mit Reagenzien verschiedener Kit-Chargen verwendet werden!**

Eine Abweichung von vorgegebenen Inkubationszeiten und –temperaturen führt zu einer Verschiebung der Standardkurve im Vergleich zum Zertifikat. Signifikante Unterschiede in den Werten der Standardkurve können zu ungültigen Testergebnissen führen. Anpassungen von Inkubationszeit und/oder -temperatur für z. B. eine vollautomatische Abarbeitung des Tests müssen vom Kunden durchgeführt (validiert) werden.

Direkte Sonneneinstrahlung ist während der Durchführung des Testes zu vermeiden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatten **Plate** während der Inkubationsphasen abzudecken.

9.2 Herstellung des Waschpuffers

Den Inhalt eines Päckchens Waschpuffersalz **Wash buffer salt Tween** in 1 Liter destilliertem Wasser lösen. Bitte nur die Menge ansetzen, die für den jeweiligen Testansatz benötigt wird. Verdünnter Waschpuffer **Wash buffer salt Tween** hat nur eine begrenzte Haltbarkeit von max. 4 Wochen (2 – 8 °C).

9.3 Vorbereiten der Mikrotiterplatten

Die beschichteten Mikrotiterplatten **Plate** können direkt eingesetzt werden. Vor dem Pipettieren sollten die Platten **Plate** mit Patientenname oder -nummer beschriftet werden.

9.4 Probenverdünnung

9.4.1 Probenverdünnung; Serumproben

Serumprobe mit Probenverdünnungspuffer **Sample Buffer IgG** 1:100 verdünnen.

Tab. 21: Empfohlene Probenverdünnungs-Ansätze

bis 50 Bestimmungen		bis 100 Bestimmungen		bis 200 Bestimmungen		bis 300 Bestimmungen	
Serum	Puffer	Serum	Puffer	Serum	Puffer	Serum	Puffer
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Proben-Elution; Kapillarblutproben

Die getrocknete Kapillarblutprobe wird mit dem Probenverdünnungspuffer **Sample Buffer IgG** eine (bis 14) Stunde(n) bei 20 - 25 °C auf einem Horizontal-Schüttler in einem geeigneten Gefäß geschüttelt. Dazu werden dem jeweiligen Testansatz entsprechend die Kreise **Card** an der Perforation herausgedrückt. Zum Herausdrücken der getrockneten, mit Blut gefüllten Kreise **Card** mit dem Finger, sollten Einmalhandschuhe getragen werden. Alternativ können die Kreise **Card** auch mit einem passenden sterilen Gegenstand herausgedrückt werden, z. B. dem Ende einer Pipettenspitze oder einem Laborspatel.

Tab. 22: Empfohlene Proben-Elutions-Ansätze

bis 50 Bestimmungen		bis 100 Bestimmungen		bis 200 Bestimmungen		bis 300 Bestimmungen	
Probe	Puffer	Probe	Puffer	Probe	Puffer	Probe	Puffer
2 Kreise	4,0 ml	4 Kreise	8,0 ml	6 Kreise	12,0 ml	8 Kreise	16,0 ml

Das Eluat der Kapillarblutprobe entspricht bereits der verdünnten Patienten-Probe und wird entsprechend der Anleitung auf die Mikrotiterplatte **Plate** pipettiert.

9.5 Erste Inkubation (Probeninkubation)

In die Kavitäten der Mikrotiterplatte **Plate** werden je 50 µl der Standardseren **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, der Kontrolle **Control high** oder **Cut-Off** und das verdünnte Patientenserum oder Eluat der Kapillarblutprobe entsprechend dem Pipettierschema pipettiert. Anschließend werden die Platten **Plate** für 90 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die Platten können in der Reihenfolge des Pipettierens gestapelt werden; oberste Platte bitte abdecken.

9.6 Waschen

Die Kavitäten werden 3-mal mit jeweils 350 µl verdünntem Waschpuffer **Wash buffer salt Tween** für jede Kavität in einem Waschautomaten gewaschen. Das letzte Absaugen sollte möglichst quantitativ erfolgen. Ggf. können die Platten **Plate** nach dem Waschen auf einer saugfähigen Unterlage ausgeklopft werden, um restliche Waschlösung zu entfernen.

9.7 Zweite Inkubation (Konjugat-Inkubation)

In alle Kavitäten werden je 50 µl Konjugat **Conjugate** pipettiert. Anschließend werden die Platten **Plate** für 90 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die Platten **Plate** können in der Reihenfolge des Pipettierens gestapelt werden; die oberste Platte **Plate** dabei bitte abdecken.

9.8 Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.6.

9.9 Dritte Inkubation (Substrat-Inkubation)

In alle Kavitäten werden 50 µl Substratlösung **AllergySub** pipettiert. Anschließend werden die Platten **Plate** für 60 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die inkubierenden Platten **Plate** sollten nicht dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden. Die Platten **Plate** können in der Reihenfolge des Pipettierens gestapelt werden; die oberste Platte **Plate** dabei bitte abdecken.

9.10 Stoppen der Reaktion und Messung

Durch die Zugabe von 50 µl Stoppreagens **AllergyStop R** in jede Kavität wird die Reaktion beendet. Nach Zugabe des Stoppreagens **AllergyStop R** die Platte **Plate** bitte leicht „klopfen“ um eine gute Durchmischung innerhalb der Kavitäten zu erreichen. Die Messung der Extinktion erfolgt bei 405 nm gegen die Referenzwellenlänge von 620/630 nm. Die Platten **Plate** können innerhalb von 24 Stunden erneut gemessen werden, wenn sie kühl und abgedeckt gelagert werden.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

10.1 Auswertung RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Bei jeder Testdurchführung sind auf jeder Platte [Plate] die Standards [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4] sowie die Kontrolle [Control high] mitzuführen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn folgende Kriterien erfüllt sind (alle Angaben beziehen sich auf eine Differenzmessung von 405 nm zu 620 nm (oder 630 nm) [OD_{405/620}]):

[Standard 2]	minus	[Standard 1]	≥ 0,08
[Standard 3]	minus	[Standard 2]	≥ 0,30
[Standard 4]	minus	[Standard 3]	≥ 0,70
[Standard 4]			> 1,0

10.2 Auswertung RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Bei jeder Testdurchführung ist auf jeder Platte [Plate] die Cut-Off-Kontrolle [Cut-Off] mitzuführen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn folgendes Kriterium erfüllt ist (Angaben bezieht sich auf eine Differenzmessung von 405 nm zu 620 nm (oder 630 nm) [OD_{405/620}]):

[Cut-Off]	≥ 0,20
-----------	--------

10.3 Anzeichen für Reagenzienverfall

Eine Abweichung von den geforderten Sollwerten, eine Trübung der Reagenzien oder eine starke Gelbfärbung des Substrates [AllergySub] vor Zugabe in die Kavitäten können ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Sollwerte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung Folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit

Eine stark gelblich verfärbte Substratlösung [AllergySub] darf nicht mehr verwendet werden. Sind auch nach der Wiederholung des Tests die Sollwerte nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.

11. Auswertung und Interpretation

11.1 Seren- und Kapillarblutbefundung

11.1.1 Berechnungsgrundlagen

Für die quantitative Testauswertung wird eine Berechnung anhand der Standardkurve vorausgesetzt. Dazu müssen die Standards auf jeder Platte mitgeführt werden. Zur Erstellung der Standardkurve werden die Extinktionswerte der Standards als Funktion der zugehörigen Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) halblogarithmisch (y-lin-/x-log-Darstellung) in einer point-to-point-Darstellung aufgetragen. Bei Doppelbestimmungen der Standards werden zur Erstellung der Standardkurve die Mittelwerte der Extinktionen aus den Doppelbestimmungen der Standards benutzt. Die Konzentrationen der spez. IgG-Antikörper in $\mu\text{g/ml}$ können anhand der Standardkurve aus den gemessenen OD-Werten ermittelt und anschließend in IgG-Klassen umgerechnet werden (siehe Tab. 23 und 24). Die Auswertung kann auch durch entsprechende Software durchgeführt werden. Die qualitative Testauswertung ist in Tab. erläutert.

Die Kalibrierung der Standardkurve des RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen erfolgte an einer internationalen Referenzpräparation: „1st WHO IRP 67/86 for human IgG“.

11.1.2 Konzentrationen, IgG-Klassen, Berechnungen für RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tab. 23: Quantitativer Zusammenhang zwischen ermittelten IgG-Konzentrationen [$\mu\text{g/ml}$], IgG-Klassen und antigenspezifischen IgG-Gehalten des Patienten aus einer Serumprobe

IgG-Konzentration [μg / ml]	IgG-Klasse	Antigenspezifische r IgG-Gehalt	Alternativ e IgG-Klasse	Antigenspezifische r IgG-Gehalt
< 7,5	0	negativ	0	negativ
7,5 bis < 12,5	1	schwach	1	erhöht
12,5 bis < 20,0	2	erhöht		
20,0 bis < 50,0	3	hoch	2	stark erhöht
$\geq 50,0$	4	sehr hoch		

Tab. 24: Quantitativer Zusammenhang zwischen ermittelten Konzentrationen [$\mu\text{g/ml}$], IgG-Klassen und antigenspezifischen IgG-Gehalten des Patienten aus einer Kapillarblutprobe

IgG-Konzentration [$\mu\text{g / ml}$]	IgG- Klasse	Antigenspezifische r IgG-Gehalt	Alternativ e IgG- Klasse	Antigenspezifische r IgG-Gehalt
< 8,0	0	negativ	0	negativ
8,0 bis < 18,0	1	schwach	1	erhöht
18,0 bis < 40,0	2	erhöht	2	stark erhöht
$\geq 40,0$	3	hoch		

Die genannten Werte sind lediglich Anhaltspunkte. Internationale Standards für spez. IgG gegen Nahrungsmittel werden weltweit nicht angegeben.

Tab. 25: Qualitative Auswertung und Interpretation der RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) und RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) und Prescreen Customized Plate (A8931) aus einer Serum- oder Kapillarblutprobe

Quotient	Auswertung	Interpretation
$\leq 1,0$	-	negativ
> 1,0 bis < 2,5	+	schwach
$\geq 2,5$ bis < 5,0	++	erhöht
$\geq 5,0$	+++	hoch

Quotient = $\text{OD}_{405/620}$ (Probe) / $\text{OD}_{405/620}$ (Cut-Off), Der Test ist valide wenn: $\text{OD}_{405/620}$ Cut-Off $\geq 0,20$

12. Grenzen der Methode

Die mit diesem Testsystem ermittelten IgG-Konzentrationen ermöglichen eine Aussage über den Sensibilisierungsgrad des Patienten hinsichtlich der überprüften Nahrungsmittelantigene oder Mischungen.

Ein Zusammenhang zwischen der Höhe einer ermittelten IgG-Konzentration und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.

Falsch-positive Testergebnisse können durch Kreuzreaktivität des getesteten Antigens mit Epitopen anderer Antigene zustande kommen.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass durch die Herstellung der Nahrungsmittelextrakte und die Beschichtung der Mikrotiterplatten antigenwirkende Epitope fehlen, was zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann. IgG-Antikörper gegen Nahrungsmittelantigene, die erst durch die industrielle Verarbeitung, bei der Speisenzubereitung oder während des Verdauungsprozesses entstehen, können möglicherweise nicht nachgewiesen werden, da sie nicht in dem ursprünglichen Nahrungsmittel, auf das der Patient getestet wird, enthalten sind.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Präzision

Die Reproduzierbarkeit des RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Tests wurde mit Referenzproben bestimmt, die den gesamten Messbereich von negativ bis hoch positiv abdecken. Die Mittelwerte und die Variationskoeffizienten (VK) wurden für drei Reagenzien-Chargen sowie zwei Mikrotiterplatten ermittelt. Für die Bestimmung der Inter-Assay Reproduzierbarkeit wurden die Referenzproben an fünf aufeinanderfolgenden Arbeitstagen mit zwei Läufen am Tag in Triplikaten gemessen. Die Messungen wurden von zwei Technikern durchgeführt.

Tab. 26: Intra-Assay Präzisionsmessung

Mittlerer VK (%)	8,1
------------------	-----

Tab. 27: Inter-Assay Präzisionsmessung

Mittlerer VK (%)	11,1
------------------	------

Tab. 28: Inter-Lot Präzisionsmessung

Serumproben	1	2	3
Anzahl an Reagenzienkit-Chargen	3	3	3
Anzahl an Mikrotiterplatten-Chargen	2	2	2
Anzahl an Allergenen	44	44	44
Anzahl an Messungen	264	264	264
Variationskoeffizient	25,0 %	16,9 %	15,4 %
Mittlerer Variationskoeffizient	19,1 %		

Auf Grundlage der Intra-Assay, Inter-Assay und Inter-Lot Präzisionsmessungen kann davon ausgegangen werden, dass der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Test sowohl unter gleichen, als auch unter wechselnden Bedingungen sowie über verschiedene Kit-Chargen hinaus, im kompletten Messbereich präzise und reproduzierbare Ergebnisse liefert.

13.2 Stabilität

13.2.1 Transportstabilität

Die Kitkomponenten wurden auf ihre Stabilität unter transportbedingten Temperaturschwankungen untersucht. Dabei wurden sowohl zwei simulierte Transportszenarien, als auch ein reeller Überseetransport nach Australien untersucht. Die aufgetretenen Temperaturschwankungen sind über die gesamte Transportzeit dokumentiert worden. Es wurden Temperaturen zwischen 4,5 °C und 46 °C verzeichnet. Die Kitkomponenten wurden mit dem Referenz-Kit verglichen, welches bei der vorgeschriebenen Temperatur (2-8 °C) gelagert wurde.

In keinem Fall wurde eine Beeinträchtigung der Resultate nach Transport der Kitkomponenten festgestellt, d.h. der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ist stabil unter Transportbedingungen.

13.2.2 Kit-Stabilität nach Öffnen

Die Kitkomponenten wurden auf ihre Stabilität nach dem Öffnen der Einzelkomponenten über einen Zeitraum von 6 Wochen untersucht. Die Analyse erfolgte mit zwei Positiv-Seren, die nach 2,4 und 6 Wochen mit den Testergebnissen aus Woche 0 verglichen wurden, wobei diese 100 % (% REF) entsprechen. Zusätzlich erfolgte die Analyse nach 6 Wochen von einer offen-gelagerten Mikrotiterplatte kombiniert mit einem frisch geöffneten Reagenzien-Kit (Ref. Kit), sowie einer frisch geöffneten Mikrotiterplatte kombiniert mit einem offen-gelagerten Reagenzien-Kit (Ref. Plate). Die Kits wurden bei 2 – 8 °C gelagert.

Sowohl die Reagenzien als auch die Mikrotiterplatten zeigten keinerlei Stabilitätseinbußen über einen Zeitraum von min. 6 Wochen. Die mit diesen Kitkomponenten erzielten Testergebnisse verzeichneten außerdem keine signifikanten Abweichungen im Vergleich zu den Referenzen.

13.3 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität ist ein Maß für die Genauigkeit eines Tests bei niedrigen Konzentrationen des Analyten.

Der durchschnittliche LOB bzw. LOD von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen beträgt 2,8 µg/ml respektive 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenzen

Folgende potentiellen Substanzen wurden getestet: Hämoglobin, Bilirubin, Triglyceride, HSA.

Zu keiner der aufgeführten Substanzen konnten relevante Beeinträchtigungen des Testresultates des RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen festgestellt werden.

Es ist jedoch unbedingt zu beachten, dass keine Kombinationen von Substanzen getestet worden sind. Daher ist ein unplausibles Ergebnis bei hämolytischen, hämorrhagischen oder lipämischen Patientenproben stets genau in Hinblick auf das gesamte klinische Bild des Patienten zu hinterfragen.

14. Versionsübersicht

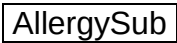
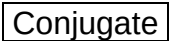
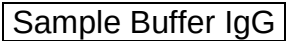
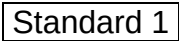
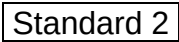
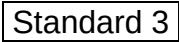
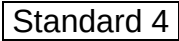
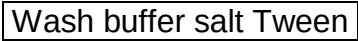
Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2016-08-29	Vorversion
2020-02-04	Generelle Überarbeitung: Neues Layout
2020-02-04	1. Zweckbestimmung 4. Packungsinhalt 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9. Testdurchführung 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall 11. Auswertung und Interpretation 13. Leistungsmerkmale Test-spezifische Symbole
2020-11-10	13. Leistungsmerkmale

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Test-spezifische Symbole

	Stoppreagens
	Substratlösung, gebrauchsfertig
	Blood Collection Card
	Mikrotiterplatte
	Konjugat
	Positivkontrolle
	Probenverdünnungspuffer
	Standard 1
	Standard 2
	Standard 3
	Standard 4
	Waschpuffersalz

16. Literatur

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Intended use

For *in vitro* diagnostic use. The RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen test is a quantitative or qualitative enzyme immunoassay (EIA) for the determination of specific IgG antibodies against food allergens. The test is designed for manual processing and is a combination of reagents and the associated microtiter plate variants. Only the Foodscreen product components shall be combined with each other. The test is suited for the use of human serum and human capillary blood samples. The test is a diagnostic aid in cases of suspected IgG-mediated food hypersensitivities.

2. Summary and explanation of the test

Food intolerance can be identified by the detection of specific IgG antibodies. Food intolerances can be the result of increased permeability of the intestinal wall for a specific food. Immune complexes consisting of IgG antibodies and food can form resulting from food or its ingredients penetrating through the intestinal wall into the surrounding tissue, and these complexes can trigger inflammatory responses that can lead to different diseases.

The test is an EIA. All microtiter plates listed under 4 "Reagents provided" were validated in combination with R-Biopharm AG's A8020 reagent kit. The RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen reagents may not be used in combination with microtiter plates from other manufacturers, and the RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen microtiter plates may not be used with reagents from other manufacturers.

3. Test principle

Food extracts that can cause an intolerance reaction are adsorbed on the inner surfaces of the wells of a microtiter plate. Human patient samples (serum or eluate from capillary blood), standard sera, and control sera are pipetted into the appropriate cavities and incubated at room temperature. During incubation, specific IgG antibodies bind to the corresponding adsorbed food antigens. Unbound material is removed by washing. An anti-human IgG antibody conjugated with alkaline phosphatase is then added. During another incubation phase, this antibody conjugate binds to the human IgG antibodies of the patient sample. Any unbound conjugate is removed by washing. Lastly, after being added, the substrate is dephosphorylated by alkaline phosphatase and turns into a yellow-colored product. The intensity of the yellow coloration is proportional to the amount of antigen-specific antibodies in the serum and can be measured by photometry at 405 nm minus the reference wavelength measurement at 620/630 nm. The standard curve is used to quantify the measurement results. (Important: Plates A0301, A8921, and A8931 allow only for a qualitative evaluation.)

4. Reagents provided

Table 1: Contents of RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Microtiter plate, customer-specific, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), without standard curve, qualitative
-------	--------	--

Table 2: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Wash buffer salt for 5 liters of wash buffer, 10 mM PBS, 0.05% TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standard serum 1, diluted human serum; concentration: 2.5 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 2	30 ml	Standard serum 2, diluted human serum; concentration: 10.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 3	30 ml	Standard serum 3, diluted human serum; concentration: 40.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 4	30 ml	Standard serum 4, diluted human serum; concentration: 200.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Control high	30 ml	Control serum, diluted human serum; see certificate for concentration; in stabilized protein solution
Conjugate IgG	1 l	Anti-human IgG conjugate (sheep); ready to use; alkaline-phosphatase-conjugated antibody in stabilized protein solution
AllergySub	1 l	Substrate solution, ready to use, contains pNPP
AllergyStop R	1 l	Stop reagent, ready to use

Table 3: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Sample dilution buffer, ready to use
Wash buffer salt Tween	6 x	Wash buffer salt for 1 liters of wash buffer, 10 mM PBS, 0.05% TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standard serum 1, diluted human serum; concentration: 2.5 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 2	2 ml	Standard serum 2, diluted human serum; concentration: 10.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 3	2 ml	Standard serum 3, diluted human serum; concentration: 40.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Standard 4	2 ml	Standard serum 4, diluted human serum; concentration: 200.0 µg IgG/ml; in stabilized protein solution
Control high	2 ml	Control serum, diluted human serum; see certificate for concentration; in stabilized protein solution
Conjugate	80 ml	Anti-human IgG conjugate (sheep); ready to use; alkaline-phosphatase-conjugated antibody in stabilized protein solution
AllergySub	80 ml	Substrate solution, ready to use, contains pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stop reagent, ready to use

Table 4: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Microtiter plate, customer-specific, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	---

Table 5: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Microtiter plate 1, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
---------	-----------------	--

Table 6: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Microtiter plate 2, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
---------	-----------------	--

Table 7: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Microtiter plate 3, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
---------	-----------------	--

Table 8: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Microtiter plate 6, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
---------	-----------------	--

Table 9: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Microtiter plate panel 1, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	--

Table 10: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Microtiter plate panel 2, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	--

Table 11: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Microtiter plate ES, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	---

Table 12: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Microtiter plate GS, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	---

Table 13: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Microtiter plate GB, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	---

Table 14: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Microtiter plate GP1, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	--

Table 15: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Microtiter plate GP2, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	--

Table 16: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Microtiter plate GK, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-------	--------	---

Table 17: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Microtiter plate VEG, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including standard curve, quantitative
-----------	-----------------	--

Table 18: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Microtiter plate Prescreen 1, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including cut-off, qualitative
Cut-Off	5 ml	Cut-off control, diluted human serum; concentration: 10 µg IgG/ml; in stabilized protein solution

Table 19: Contents of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Microtiter plate Prescreen, customer-specific, coated with various food antigens (see enclosed allergen matrix), including cut-off, qualitative
Cut-Off	5 ml	Cut-off control, diluted human serum; in stabilized protein solution

Hazardous materials are indicated according to labeling obligations. For further details, see the safety data sheets (SDSs) at www.r-biopharm.com.

5. Storage instructions

The test kit must be stored at 2 to 8°C and can be used until the expiration date printed on the label. The diluted wash buffer **Wash buffer salt Tween** has a maximum shelf life of 4 weeks when stored at 2 to 8°C. Microbial contamination must be prevented. After the expiration date, the quality guarantee is no longer valid. Contamination of the substrate solution **AllergySub** with the conjugate **Conjugate** must be avoided as this will cause the substrate **AllergySub** to discolor. Likewise, direct exposure of the substrate **AllergySub** to light must be avoided to prevent degradation or discoloration by hydrolysis. Do not use the substrate **AllergySub** if it has developed an intense yellow coloration. See 10.3 “Quality control – indication of instability or expiration of reagents.”

5.1 Storage of microtiter plates

Since the microtiter plates [Plate] are susceptible to air humidity, the aluminum bags should be securely resealed after the required number of plates [Plate] has been removed. The desiccant bag needs to stay in the aluminum bag throughout the storage period. The microtiter plates [Plate] can be stored in the correctly resealed aluminum bag for the specified shelf life at 2 to 8°C.

6. Reagents required but not provided

6.1 Reagents provided

- Distilled or deionized water

6.2 Equipment

- Photometer for microtiter plates (with 405-nm and 620/630-nm filter), measuring range 0 to 3.5 OD
- Microtiter plate washer for 8 to 96 wells
- 12-channel pipette
- Multi-step pipette
- Horizontal shaker (for the elution of capillary blood samples)

7. Warnings and precautions for the users

- For *in vitro* diagnostic use only
- This test must be carried out only by trained laboratory personnel. The guidelines for working in medical laboratories must be followed. Always adhere strictly to the user instructions for carrying out this test.
- Do not pipette samples or reagents by mouth; avoid contact with injured skin and mucous membranes. Wear disposable gloves when handling samples and wash your hands after the test.
- Do not smoke, eat, or drink in areas where samples or test reagents are being processed.
- The standard sera in the kit were tested for HIV and HCV antibodies, HBsAg, and syphilis as per CFR 21.640 and were negative. Nevertheless, the patient samples and all materials that you touch should be treated as potentially infectious. Follow the national safety regulations for handling and disposing of potentially infectious material.
- Standard sera [Standard], conjugate [Conjugate], and wash buffer concentrate [Wash buffer salt Tween] contain sodium azide as a preservative. This substance must not be allowed to come into contact with skin or mucous membranes. Contact with lead or copper pipes may cause the formation of explosive metal azides.

- Do not allow the stop reagent or substrate solution to come into contact with skin, eyes, or clothing. In case of skin contact, wash with soap and water immediately. In case of eye contact, immediately flush under running water for 15 minutes with the eyelids open. Consult an eye specialist. If swallowed, drink plenty of water, avoid vomiting, and seek immediate medical attention.
- All components of the kit must be appropriately disposed of by the user after use (see safety datasheets for the components in the kit).
- All reagents and materials that come into contact with potentially infectious samples must be treated with suitable disinfectants or autoclaved at 121°C for at least one hour.

8. Collection and storage of samples

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen was developed for testing human serum and capillary blood.

During venous blood collection, the serum should be separated from the clot as quickly as possible after complete coagulation to prevent hemolysis. The serum samples must be stored cold (2 to 8°C) or frozen (–20°C) until they are tested. Avoid repeated freezing and thawing of the serum as well as bacterial contamination. The use of heat-inactivated, lipemic, hemolytic, icteric, or turbid sera may lead to false results.

When capillary blood samples are used in the RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen test, the right equipment must be used (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM

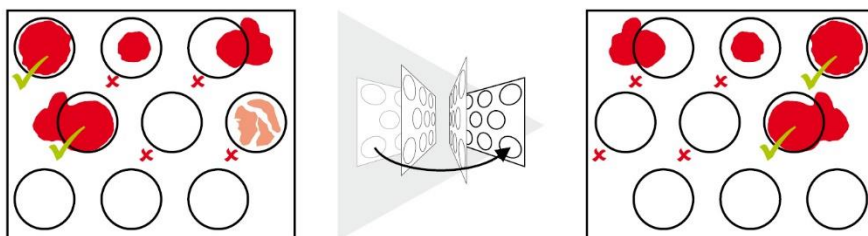
RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Only this equipment was validated for this test. The dried capillary blood samples on the Blood Collection Card (component of A8025 and A8025-BCC) are stable for a maximum of 3 weeks when stored in a dry location at room temperature (20 to 25°C). Do not store capillary blood samples in the refrigerator.

Table 20: Stability of sample types

Undiluted serum		Diluted serum	Dried capillary blood sample	Eluate of capillary blood sample
2 to 8°C	–20°C	20 to 25°C	20 to 25°C	20 to 25°C
1 month	> 3 months	Max. 6 hours	3 weeks	Max. 6 hours

Important note for processing capillary blood samples:

The circles on the blood card need to be completely filled with blood. Also check the back of the card to ensure the circles are soaked through.



9. Test procedure

9.1 General information

All reagents, patient sera, and the microtiter plate [Plate] must be brought to room temperature before use (important). Mix the reagents well immediately before use. After use, the reagent kit must be stored at 2 to 8°C.

The coated microtiter plates [Plate] may not be used more than once. Do not use reagents or the microtiter plates [Plate] if the packaging is damaged or the containers are not tightly sealed.

The coated microtiter plates [Plate] can be used with the reagents of different kit lots.

Any deviation from the specified incubation times and temperatures will cause the standard curve to shift in comparison with the certificate. Significant differences in the values of the standard curve can lead to invalid test results. The customer needs to modify (and validate) the incubation time and/or temperature, for example, for fully automated processing of the test.

Do not conduct the test in direct sunlight. It is recommended to cover the microtiter plates [Plate] during the incubation phases.

9.2 Preparing the wash buffer

Dissolve the contents of one package of wash buffer salt [Wash buffer salt] [Tween] in 1 liter of distilled water. Use only the amount needed for each assay. Diluted wash buffer [Wash buffer salt Tween] has only a limited maximum shelf life of 4 weeks (2 to 8°C).

9.3 Preparing the microtiter plates

The coated microtiter plates [Plate] cannot be used directly. Before pipetting takes place, the plates [Plate] need to be labeled with patient name or number.

9.4 Sample dilution

9.4.1 Sample dilution; serum samples

Dilute serum sample with sample dilution buffer [Sample Buffer IgG] 1:100.

Table 21: Recommended sample dilution preparations

Up to 50 determinations		Up to 100 determinations		Up to 200 determinations		Up to 300 determinations	
Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer
40 µl	4.0 ml	70 µl	7.0 ml	150 µl	15.0 ml	200 µl	20.0 ml

9.4.2 Sample elution; capillary blood samples

Shake the dried capillary blood sample with the sample dilution buffer [Sample Buffer IgG] in an appropriate vial for 1 (to 14) hour(s) at 20 to 25°C on a horizontal shaker. For each assay, punch out the corresponding perforated circles [Card]. Disposable gloves should be worn to punch out the dried, blood-filled circles [Card] using your finger. You can also use an appropriate sterile object, such as the end of a pipette tip or a laboratory spatula, to punch out the circles [Card].

Table 22: Recommended sample elution preparations

Up to 50 determinations		Up to 100 determinations		Up to 200 determinations		Up to 300 determinations	
Sample	Buffer	Sample	Buffer	Sample	Buffer	Sample	Buffer
2 circles	4.0 ml	4 circles	8.0 ml	6 circles	12.0 ml	8 circles	16.0 ml

The eluate of the capillary blood sample already corresponds to the diluted patient sample and is pipetted onto the microtiter plate [Plate] according to the instructions.

9.5 First incubation (sample incubation)

Pipette 50 µl of the standard sera [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], the control [Control high], or [Cut-Off] and the diluted patient serum or eluate of the capillary blood sample into the wells of the microtiter plate [Plate] according to the pipetting scheme. Next, incubate the plates [Plate] for 90 minutes at 20 to 25°C. The plates can be stacked in the order of pipetting; please cover the top plate.

9.6 Washing

Wash the wells three times in a microplate washer using 350 µl of diluted wash buffer [Wash buffer salt Tween] for each well. Final siphoning should be quantitative, if possible. The plates [Plate] can be tapped out onto absorbable material after washing to remove any residual wash solution.

9.7 Second incubation (conjugate incubation)

Pipette 50 µl of conjugate [Conjugate] into each well. Next, incubate the plates [Plate] for 90 minutes at 20 to 25°C. The plates [Plate] can be stacked in the order of pipetting; please cover the top [Plate].

9.8 Washing

Wash as described in section 9.6.

9.9 Third incubation (substrate incubation)

Pipette 50 µl substrate solution [AllergySub] into each well. Next, incubate the plates [Plate] for 60 minutes at 20 to 25°C. Keep the incubated plates [Plate] out of direct sunlight. The plates [Plate] can be stacked in the order of pipetting; please cover the top plate [Plate].

9.10 Stopping the reaction and performing the measurement

Adding 50 µl of stop reagent [AllergyStop R] into each well will stop the reaction. After the stop reagent [AllergyStop R] is added, gently “tap” the plate [Plate] to achieve thorough mixing within the wells. Measure the extinction at 405 nm against the reference wavelength of 620/630 nm. The plates [Plate] can be remeasured within 24 hours if they are covered and refrigerated.

10. Quality control – Indication of instability or expiration of reagents

10.1 Evaluation of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

During each test procedure, each plate [Plate] should contain the standards [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], and the control [Control high]. The test was performed correctly if the following criteria are met (all information is based on a differential measurement of 405 nm to 620 nm (or 630 nm) [OD_{405/620}]):

[Standard 2]	minus	[Standard 1]	≥ 0.08
[Standard 3]	minus	[Standard 2]	≥ 0.30
[Standard 4]	minus	[Standard 3]	≥ 0.70
[Standard 4]			> 1.0

10.2 Evaluation of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

During each test procedure, each plate [Plate] should contain the cut-off control [Cut-Off]. The test was done correctly if the following criterion is met (information based on a differential measurement of 405 nm to 620 nm, or 630 nm [OD_{405/620}]):

$$\text{[Cut-Off]} \geq 0.20$$

10.3 Indication of instability or deterioration of reagents

A deviation from the expected reference value, turbidity of the reagents, or intense yellow coloration of the substrate [AllergySub] prior to addition to the wells can be an indication of an expired reagent.

If the specified reference values are not met, the following things must be checked before the test is repeated:

- Expiration date of the reagents used
- Functional performance of the equipment used (e.g., calibration)
- Correct test procedure
- Visual inspection of the kit components for contamination or leaks

Do not use substrate solution [AllergySub] that has an intense yellowish coloration. If the stipulated values are not obtained after repeating the test, please contact the manufacturer.

11. Evaluation and interpretation

11.1 Serum and capillary blood findings

11.1.1 Basis for the calculations

Calculations must be based on a standard curve for the quantitative evaluation and interpretation of the test. For such, the standards must be run on every plate. The extinction values of the standard are plotted as a function of the related concentrations (µg/ml) semi-logarithmically (y-ln-/x-log graph) in a point-to-point graph to generate the standard curve. In duplicate analyses of the standard, the mean extinctions from the duplicate analyses of the standards will be used to generate the standard curve. The concentrations of the specific IgG antibodies in µg/ml can be determined on the basis of the standard curve from the measured OD values and then converted into IgG classes (see Tables 23 and 24). The evaluation can also be done using appropriate software. The qualitative test evaluation and interpretation is explained in the table.

The standard curve of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen was calibrated to an international reference preparation: 1st WHO IRP 67/86 for human IgG.

11.1.2 Concentrations, IgG classes, and calculations for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Table 23: Quantitative relationship between the determined IgG concentrations [µg/ml], IgG classes, and the patient's antigen-specific IgG concentration from a serum sample

IgG concentration [µg/ml]	IgG class	Antigen-specific IgG content	Alternative IgG class	Antigen-specific IgG content
< 7.5	0	Negative	0	Negative
7.5 to < 12.5	1	Mild	1	Elevated
12.5 to < 20.0	2	Elevated		
20.0 to < 50.0	3	High	2	Highly elevated
≥ 50.0	4	Very high		

Table 24: Quantitative relationship between the determined concentrations [µg/ml], IgG classes, and the patient's antigen-specific IgG concentration from a capillary blood sample

IgG concentration [µg/ml]	IgG class	Antigen-specific IgG content	Alternative IgG class	Antigen-specific IgG content
< 8.0	0	Negative	0	Negative
8.0 to < 18.0	1	Mild	1	Elevated
18.0 to < 40.0	2	Elevated	2	Highly elevated
≥ 40.0	3	High		

These values are rough guidelines only. International standards for specific IgGs to foods do not exist.

Table 25: Qualitative evaluation and interpretation of RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) and RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921), and Prescreen Customized Plate (A8931) from a serum or capillary blood sample

Ratio	Evaluation	Interpretation
≤ 1.0	-	Negative
> 1.0 to < 2.5	+	Mild
≥ 2.5 to < 5.0	++	Elevated
≥ 5.0	+++	High

Ratio = $OD_{405/620} \text{ (sample)} \div OD_{405/620} \text{ (cut-off)}$. The test is valid if $OD_{405/620}$ of cut-off is ≥ 0.20 .

12. Limitations of the method

The IgG concentrations determined using this test system provide information about the level of sensitization of the patient with regard to the investigated food antigens or mixes.

A correlation between the level of a determined IgG concentration and the occurrence or the severity of clinical symptoms cannot be deduced from this. The results which are obtained must always be interpreted in combination with the complete clinical symptoms.

False-positive test results may occur due to cross-reactivity of the tested antigen with epitopes of other antigens.

The manufacture of food extracts and the coating of microtiter plates do not always eliminate antigenic epitopes, which can lead to false-negative results. IgG antibodies against food antigens that do not appear until during industrial preparation, food preparation, or digestion may not be detectable because they are not present in the original food for which the patient is tested.

13. Performance characteristics

13.1. Precision

The reproducibility of the RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen test was determined using reference samples covering the entire measuring range from negative to high positive. The mean values and the coefficients of variation (CV) were determined for three reagent lots and for two microtiter plates. For the determination inter-assay reproducibility, reference samples from five sequential working days were assayed in

triplicate, with two runs per day. The measurements were performed by two technicians.

Table 26: Intra-assay precision measurement

Mean CV (%)	8.1
-------------	-----

Table 27: Inter-assay precision measurement

Mean CV (%)	11.1
-------------	------

Table 28: Inter-lot precision measurement

Serum samples	1	2	3
Number of reagent kit lots	3	3	3
Number of microtiter plate lots	2	2	2
Number of allergens	44	44	44
Number of measurements	264	264	264
Coefficient of variation	25.0%	16.9%	15.4%
Mean coefficient of variation	19.1%		

The intra-assay, inter-assay, and inter-lot precision measurements suggest that the RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen test generates accurate and reproducible results in the complete measuring range under constant as well as changing conditions and over several kit lots.

13.2 Stability

13.2.1 Transport stability

The kit components were tested for stability under temperature fluctuations due to transportation. Two simulated transport scenarios (TC 1 and TC 2) and one genuine overseas transport to Australia (TC 3) were investigated. The temperature fluctuations were documented throughout the transport period. Temperatures between 4.5°C and 46°C were recorded. The kit components were compared with the reference kit, which was stored at the prescribed temperature (2 to 8°C).

No impact on the results after transport of the kit components was detected in any scenario, which means that RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen is stable under transport conditions.

13.2.2 Kit stability after opening

The kit components were tested for their stability after opening of the individual components for a period of 6 weeks. The analysis was done using two positive sera, which, after 2, 4 and 6 weeks, were compared with the test results from week 0, which correspond to 100% (% of REF). The analysis was also done on a microtiter plate left uncovered after 6 weeks combined with a recently opened reagent kit (Ref. Kit) and a recently opened microtiter plate combined with a reagent kit left uncovered (Ref. Plate). The kits were stored at 2 to 8°C.

No losses of stability were detected in the reagents or microtiter plates over a period of at least 6 weeks. The test results obtained with these kit components showed no significant deviations compared to the references either.

13.3 Analytical sensitivity

Analytical sensitivity is a measurement of the accuracy of a test at low concentrations of the analyte.

The mean LOB of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen is 2.8 µg/ml and the mean LOD 4.0 µg/ml.

13.4 Interferents

The following potential substances were tested: hemoglobin, bilirubin, triglycerides, HSA.

Relative impacts on the test result of RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen were not detected for any of the listed substances.

Keep in mind, however, that combinations of substances were not tested. Therefore, an implausible result in the event of hemolytic, hemorrhagic, or lipemic patient samples must always be investigated specifically in regard to the patient's overall clinical picture.

14. Version history

Version number	Section and designation
2016-08-29	Previous version
2020-02-04	General revision: New layout
2020-02-04	1. Intended use 4. Reagents provided 8. Collection and storage of samples 9. Test procedure 10. Quality control – Indication of instability or expiration of reagents 11. Evaluation and interpretation 13. Performance characteristics Test-specific symbols
2020-11-10	13. Performance characteristics

15. Explanation of symbols

General symbols

	For in vitro diagnostic use
	Consult instructions for use
	Batch number
	Use before
	Storage temperature
	Article number
	Number of tests
	Date of manufacture
	Manufacturer

Test-specific symbols

AllergyStop R	Stop reagent
AllergySub	Substrate solution, ready to use
Card	Blood collection card
Plate	Microtiter plate
Conjugate	Conjugate
Control high	Positive control
Sample Buffer IgG	Sample dilution buffer
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Wash buffer salt

16. References

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Účel použití

K diagnostickému použití *in vitro*. Test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen je enzymová imunoanalýza (EIA) určená ke kvantitativnímu nebo kvalitativnímu stanovení specifických protilátek IgG proti potravinovým alergenům. Test je určen k manuálnímu zpracování a jedná se o kombinaci činidel a příslušných variant mikrotitračních destiček. Kombinovat lze pouze součásti produktů Foodscreen. Test je vhodný k použití se vzorky lidského séra a lidské kapilární krve. Test slouží jako pomůcka při diagnostice suspektních potravinových hypersenzitivit zprostředkovaných protilátkami IgG.

2. Souhrn a vysvětlení testu

Detekováním specifických protilátek IgG lze identifikovat potravinovou intoleranci. Potravinové intolerance mohou být výsledkem zvýšené permeability střevní stěny pro určité potraviny. Z potravy nebo jejích složek se při průniku střevní stěnou do okolní tkáně mohou utvářet imunitní komplexy sestávající z protilátek IgG a potravin a tyto komplexy mohou spouštět zánětlivé reakce, jež mohou vést k různým onemocněním. Tento test je EIA. Všechny mikrotitrační destičky uvedené v bodě 4 „Dodávaná činidla“ byly ověřeny v kombinaci s kitem činidla A8020 společnosti R-Biopharm AG. Činidla RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen nesmí být používána v kombinaci s mikrotitračními destičkami jiných výrobců a mikrotitrační destičky RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen nesmí být používány s činidly jiných výrobců.

3. Princip testu

Potravinové extrakty, které mohou způsobovat intoleranční reakci, jsou adsorbovány na vnitřních površích jamek mikrotitrační destičky. Vzorky lidských pacientů (sérum nebo eluát z kapilární krve), standardní séra a kontrolní séra se pipetují do příslušných dutinek a inkubují se při pokojové teplotě. Během inkubace se na odpovídající adsorbované potravinové antigeny navážou specifické protilátky IgG. Nenavázaný materiál se odstraní mytím. Poté se přidá protilátka proti lidské IgG konjugovaná s alkalickou fosfatázou. Během další inkubační fáze se tento konjugát protilátky naváže na lidské protilátky IgG ze vzorku pacienta. Nenavázaný konjugát se odstraní mytím. Nakonec se substrát defosforyluje přidáním alkalické fosfatázy a změní se ve žlutě zbarvený produkt. Intenzita žlutého zbarvení je úměrná množství protilátek specifických pro antigen v séru a lze ji fotometricky změřit při vlnové délce 405 nm minus měření při referenční vlnové délce 620/630 nm. Ke kvantifikaci naměřených výsledků se používá standardní křivka. (Důležité: Destičky A0301, A8921 a A8931 umožňují pouze kvalitativní hodnocení.)

4. Dodávaná činidla

Tabulka 1: Obsah RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička, dle požadavků zákazníka, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), bez standardní křivky, kvalitativní
-------	--------	--

Tabulka 2: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5x	Sůl do promývacího roztoku na 5 litrů promývacího roztoku, 10 mmol PBS, TWEEN20 0,05 %
Standard 1	30 ml	Standardní sérum 1, zředěné lidské sérum; koncentrace: 2,5 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 2	30 ml	Standardní sérum 2, zředěné lidské sérum; koncentrace: 10,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 3	30 ml	Standardní sérum 3, zředěné lidské sérum; koncentrace: 40,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 4	30 ml	Standardní sérum 4, zředěné lidské sérum; koncentrace: 200,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Control high	30 ml	Kontrolní sérum, zředěné lidské sérum; koncentrace viz certifikaci; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Conjugate IgG	1 l	Konjugát proti lidské protilátce IgG (ovčí); připraveno k použití; protilátka konjugovaná alkalickou fosfatázou ve stabilizovaném proteinovém roztoku
AllergySub	1 l	Roztok substrátu, připraveno k použití, obsahuje pNPP

AllergyStop R	1 l	Stop činidlo, připraveno k použití
---------------	-----	------------------------------------

Tabulka 3: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Roztok k ředění vzorků, připraveno k použití
Wash buffer salt Tween	6x	Sůl do promývacího roztoku na 1 litrů promývacího roztoku, 10 mmol PBS, TWEEN20 0,05 %
Standard 1	2 ml	Standardní sérum 1, zředěné lidské sérum; koncentrace: 2,5 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 2	2 ml	Standardní sérum 2, zředěné lidské sérum; koncentrace: 10,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 3	2 ml	Standardní sérum 3, zředěné lidské sérum; koncentrace: 40,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Standard 4	2 ml	Standardní sérum 4, zředěné lidské sérum; koncentrace: 200,0 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Control high	2 ml	Kontrolní sérum, zředěné lidské sérum; koncentrace viz certifikaci; ve stabilizovaném proteinovém roztoku
Conjugate	80 ml	Konjugát proti lidské protilátce IgG (ovčí); připraveno k použití; protilátka konjugovaná alkalickou fosfatázou ve stabilizovaném proteinovém roztoku
AllergySub	80 ml	Roztok substrátu, připraveno k použití, obsahuje pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stop činidlo, připraveno k použití

Tabulka 4: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička, dle požadavků zákazníka, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	--

Tabulka 5: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Mikrotitrační destička 1, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
---------	-----------------	---

Tabulka 6: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Mikrotitrační destička 2, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
---------	-----------------	---

Tabulka 7: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Mikrotitrační destička 3, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
---------	-----------------	---

Tabulka 8: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Mikrotitrační destička 6, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
---------	-----------------	---

Tabulka 9: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Panel k mikrotitrační destičce 1, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	---

Tabulka 10: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Panel k mikrotitrační destičce 2, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	---

Tabulka 11: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička ES, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	--

Tabulka 12: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička GS, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	--

Tabulka 13: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička GB, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	--

Tabulka 14: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička GP1, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	---

Tabulka 15: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička GP2, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	---

Tabulka 16: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotitrační destička GK, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-------	--------	--

Tabulka 17: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Mikrotitrační destička VEG, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně standardní křivky, kvantitativní
-----------	-----------------	---

Tabulka 18: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Předběžný screening k mikrotitrační destičce 1, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně hodnoty cut-off, kvalitativní
Cut-Off	5 ml	Cut-off kontrolní sérum, zředěné lidské sérum; koncentrace: 10 µg IgG/ml; ve stabilizovaném proteinovém roztoku

Tabulka 19: Obsah RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Předběžný screening k mikrotitrační destičce, dle požadavků zákazníka, potaženo různými potravinovými antigeny (viz příloženou matici alergenů), včetně hodnoty cut-off, kvalitativní
Cut-Off	5 ml	Cut-off kontrolní sérum, zředěné lidské sérum; ve stabilizovaném proteinovém roztoku

Nebezpečné materiály jsou označeny v souladu s předpisy pro značení. Podrobnosti uvádí bezpečnostní listy (SDS), které jsou k dispozici na stránkách www.r-biopharm.com.

5. Pokyny k uskladnění

Testovací kit skladujte při teplotě 2 až 8 °C a používejte do data použitelnosti vytištěného na příslušném štítku. Zředěný promývací roztok

Wash buffer salt Tween má při skladování při teplotě 2 až 8 °C maximální životnost 4 týdny. Je nutné zabránit mikrobiální kontaminaci. Po datu použitelnosti již není platná záruka kvality.

Nesmí dojít ke kontaminaci roztoku substrátu AllergySub konjugátem Conjugate, protože kontaminace způsobí změnu barvy substrátu AllergySub. Dále nesmí být substrát AllergySub přímo vystaven světlu, aby nedošlo k jeho degradaci nebo ke změně jeho barvy hydrolýzou. Pokud se u substrátu AllergySub objevilo intenzivní

žluté zbarvení, nepoužívejte jej. Viz 10.3 „Kontrola kvality – známky nestability nebo zkažení činidel“.

5.1 Skladování mikrotitračních destiček

Vzhledem k tomu, že mikrotitrační destičky **Plate** jsou citlivé na vlhkost vzduchu, je nutné hliníkový obal po odebrání potřebného počtu destiček **Plate** opět pevně uzavřít. Sáček s vysoušedlem musí zůstat v hliníkovém obalu po celou dobu skladování. Mikrotitrační destičky **Plate** lze ve správně uzavřeném hliníkovém obalu skladovat při teplotě 2 až 8 °C po uvedenou dobu životnosti.

6. Potřebná činidla, která nejsou součástí dodávky

6.1 Dodávaná činidla

- Destilovaná nebo deionizovaná voda

6.2 Vybavení

- Fotometr na mikrotitrační destičky (s filtrem 405 nm a 620/630 nm), rozsah měření 0 až 3,5 OD.
- Myčka na mikrotitrační destičky pro 8 až 96 jamek
- 12kanálová pipeta
- Vícekroková pipeta
- Horizontální šejkr (k louhování vzorků kapilární krve)

7. Varování a bezpečnostní opatření pro uživatele

- Pouze k diagnostickému použití *in-vitro*.
- Tento test smí provádět výhradně vyškolený laboratorní personál. Dodržujte pokyny pro práci ve zdravotnických laboratořích. Vždy striktně dodržujte uživatelské pokyny pro provádění testu.
- Nepipetujte vzorky ani činidla ústy; zabraňte jejich kontaktu s poraněnou kůží a sliznicemi. Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a po testu si umyjte ruce.
- Nekuřte, nejezte ani nepijte v oblastech, kde se zpracovávají vzorky nebo testová činidla.
- Standardní séra v kitu byla testována na protilátky proti HIV a HCV, HBsAg a syfilidě, dle normy CFR 21.640, a byla negativní. Nicméně se vzorky pacientů a veškerými materiály, kterých se dotýkáte, je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními. Při manipulaci a likvidaci potenciálně infekčního materiálu dodržujte národní bezpečnostní předpisy.
- Standardní séra **Standard**, konjugát **Conjugate** a koncentrát promývacího roztoku **Wash buffer salt Tween** obsahují azid sodný jako konzervační přípravek. Tato látka nesmí přijít do kontaktu s pokožkou ani sliznicemi. Při

kontaktu s olověnými nebo měděnými trubkami může dojít ke vzniku výbušných kovových azidů.

- Zabraňte tomu, aby se stop činidlo nebo roztok substrátu dostaly do kontaktu s kůží, očima nebo oděvem. V případě, že dojde ke kontaktu s kůží, postižené místo okamžitě umyjte vodou a mýdlem. V případě, že dojde ke kontaktu s očima, okamžitě je proplachujte tekoucí vodou po dobu 15 minut s otevřenými víčky. obraťte se na očního lékaře. V případě, že dojde ke spolknutí, vypijte velké množství vody, nezvracejte a okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc.
- Uživatel musí po použití všechny součásti kitu náležitým způsobem zlikvidovat (bližší informace k součástem v kitu najdete v bezpečnostních listech).
- Všechna činidla a materiály, které přijdou do kontaktu s potenciálně infekčními vzorky, je nutné ošetřit vhodnými dezinfekčními přípravky nebo alespoň jednu hodinu sterilizovat v autoklávu při teplotě 121 °C.

8. Odběr a uskladnění vzorků

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen byl vyvinut za účelem testování lidského séra a kapilární krve.

Během odběru žilní krve musí být ze séra po dokončení koagulace co nejdříve oddělena sraženina, aby se zabránilo hemolýze. Vzorky séra se musí až do doby, kdy budou testovány, skladovat v chladu (2 až 8 °C) nebo mrazu (–20 °C). Sérum opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte a zabraňte bakteriální kontaminaci. Použití séra inaktivovaného teplem, lipemického, hemolytického, ikterického nebo kalného může vést k falešným výsledkům.

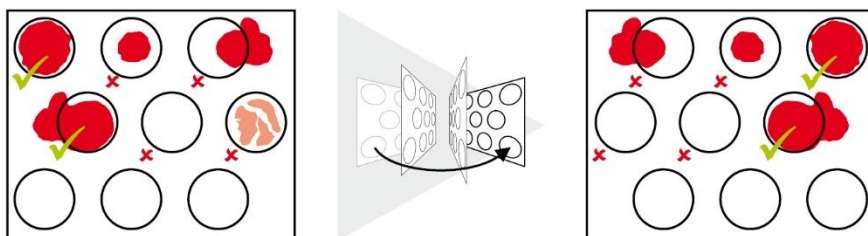
Při použití vzorků kapilární krve v testu RIDASCREEN® Spec. IgG musí být použito správné vybavení (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Pro tento test bylo ověřeno pouze toto vybavení. Usušené vzorky kapilární krve na kartičce k odběru krve (součást kitů A8025 a A8025-BCC) jsou stabilní po dobu maximálně 3 týdnů při uskladnění na suchém místě při pokojové teplotě (20 až 25 °C). Vzorky kapilární krve neskladujte v chladničce.

Tabulka 20: Stabilita typů vzorků

Neředěné sérum		Zředěné sérum	Usušený vzorek kapilární krve	Eluát vzorku kapilární krve
2 až 8 °C	–20 °C	20 až 25 °C	20 až 25 °C	20 až 25 °C
1 měsíc	> 3 měsíce	Max. 6 hodin	3 týdny	Max. 6 hodin

Důležitá poznámka ke zpracování vzorků kapilární krve:

Kroužky na kartičce s krví je nutné krví zcela zaplnit. Také zkontrolujte zadní stranu kartičky a ujistěte se, že krev v kroužcích prosákla přes papír.



9. Průběh testu

9.1 Obecné informace

Všechna činidla, séra pacientů a mikrotitrační destička **Plate** musí mít před použitím pokojovou teplotu. Činidla před použitím dobře promíchejte. Kit činidla musí být po použití uskladněn při teplotě 2 až 8 °C.

Potažené mikrotitrační destičky **Plate** nesmí být použity více než jednou.

Nepoužívejte činidla ani mikrotitrační destičky **Plate**, pokud je balení poškozené nebo nejsou nádoby pevně utěsněné.

Potažené mikrotitrační destičky **Plate lze použít s činidly z různých šarží kitu.**

Jakákoli odchylka od specifikované inkubační doby a teploty způsobí posun standardní křivky v porovnání s certifikátem. Významné rozdíly v hodnotách standardní křivky mohou vést k neplatným výsledkům testu. Zákazník musí inkubační dobu a/nebo teplotu upravit (a ověřit) například pro plně automatizované zpracování testu.

Neprovádějte test na přímém slunečním světle. Mikrotitrační destičky **Plate** doporučujeme během inkubačních fází zakrýt.

9.2. Příprava promývacího roztoku

Rozpusťte obsah jednoho balení soli do promývacího roztoku **Wash buffer salt Tween** v 1 litru destilované vody. Na každý test použijte pouze nezbytné množství. Zředěný promývací roztok **Wash buffer salt Tween** má pouze omezenou životnost 4 týdnů (při teplotě 2 až 8 °C).

9.3 Příprava mikrotitračních destiček

Potažené mikrotitrační destičky [Plate] nelze použít přímo. Ještě před pipetováním musí být destičky [Plate] označeny štítkem se jménem nebo číslem pacienta.

9.4 Ředění vzorku

9.4.1 Ředění vzorku; vzorky séra

Vzorek séra naředíte roztokem k ředění vzorků [Sample Buffer IgG] v poměru 1 : 100.

Tabulka 21: Doporučená příprava pro ředění vzorků

Až 50 stanovení		Až 100 stanovení		Až 200 stanovení		Až 300 stanovení	
Sérum	Roztok	Sérum	Roztok	Sérum	Roztok	Sérum	Roztok
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Louhování vzorku; vzorky kapilární krve

Ve vhodné lahvičce protřepávejte usušený vzorek kapilární krve s roztokem k ředění vzorků [Sample Buffer IgG] po dobu 1 hodiny (až 14 hodin) při teplotě 20 až 25 °C na horizontálním šejkru. Pro každý test vytlačte odpovídající perforované kroužky [Card]. K vytlačení usušených kroužků naplněných krví [Card] prstem použijte jednorázové rukavice. K vytlačení kroužků [Card] můžete použít rovněž vhodný sterilní předmět, např. konec špičky pipety nebo laboratorní špachtle.

Tabulka 22: Doporučená příprava pro louhování vzorků

Až 50 stanovení		Až 100 stanovení		Až 200 stanovení		Až 300 stanovení	
Vzorek	Roztok	Vzorek	Roztok	Vzorek	Roztok	Vzorek	Roztok
2 kroužky	4,0 ml	4 kroužky	8,0 ml	6 kroužků	12,0 ml	8 kroužků	16,0 ml

Eluát vzorku kapilární krve již odpovídá zředěnému vzorku pacienta a dle pokynů se pipetuje na mikrotitrační destičku [Plate].

9.5 První inkubace (inkubace vzorku)

Dle pipetovacího schématu napipetujte 50 µl standardních sér [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], kontrolního séra [Control high], nebo [Cut-Off] a zředěné sérum pacienta nebo eluát vzorku kapilární krve do jamek mikrotitrační destičky [Plate]. Dále destičky [Plate] inkubujte po dobu 90 minut při teplotě 20 až 25 °C. Destičky lze skládat na sebe v pořadí, v jakém byly pipetovány; horní destičku zakryjte.

9.6 Promývání

Jamky třikrát promyjte v myčce na destičky. Na každou jamku použijte 350 µl zředěného promývacího roztoku **Wash buffer salt Tween**. Je-li to možné, konečné sifonování by mělo být kvantitativní. Destičky **Plate** lze po promytí oklepat na absorpční materiál, a odstranit tak veškerý zbývající promývací roztok.

9.7 Druhá inkubace (inkubace konjugátu)

Napipetujte 50 µl konjugátu **Conjugate** do každé jamky. Dále destičky **Plate** inkubujte po dobu 90 minut při teplotě 20 až 25 °C.

Destičky **Plate** lze skládat na sebe v pořadí, v jakém byly pipetovány; horní destičku **Plate** zakryjte.

9.8 Promývání

Promyjte, jak je popsáno v části 9.6.

9.9 Třetí inkubace (inkubace substrátu)

Napipetujte 50 µl roztoku substrátu **AllergySub** do každé jamky. Dále destičky **Plate** inkubujte po dobu 60 minut při teplotě 20 až 25 °C. Inkubované destičky **Plate** udržujte mimo přímé sluneční světlo. Destičky **Plate** lze skládat na sebe v pořadí, v jakém byly pipetovány; horní destičku **Plate** zakryjte.

9.10 Zastavení reakce a provedení měření

Přidáním 50 µl stop činidla **AllergyStop R** do každé jamky zastavte reakci. Po přidání stop činidla **AllergyStop R** destičkou **Plate** opatrně „poklepejte“, aby v jamkách došlo k důslednému promíchání. Změřte extinkci při vlnové délce 405 nm proti referenční vlnové délce 620/630 nm. Pokud destičky **Plate** zakryjete a umístíte do chladničky, lze do 24 hodin provést opětovné měření.

10. Kontrola kvality – známky nestability nebo zkažení činidel

10.1 Hodnocení RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

V průběhu každého testu musí každá destička **Plate** obsahovat standardní séra **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** a kontrolní sérum **Control high**. Test byl proveden správně, jsou-li splněna následující kritéria (veškeré informace jsou založeny na diferenčním měření při vlnové délce 405 nm vůči 620 nm (nebo 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	minus	Standard 1	≥ 0,08
Standard 3	minus	Standard 2	≥ 0,30
Standard 4	minus	Standard 3	≥ 0,70

Standard 4

> 1,0

10.2 Hodnocení RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

V průběhu každého testu musí každá destička **Plate** obsahovat cut-off kontrolní sérum **Cut-Off**. Test byl proveden správně, je-li splněno následující kritérium (informace jsou založeny na diferenčním měření při vlnové délce 405 nm vůči 620 nm nebo 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off

≥ 0,20

10.3 Znamky nestability nebo zkažení činidel

Odchylka od očekávané referenční hodnoty, kalnost činidel nebo intenzivní žluté zbarvení substrátu **AllergySub** před přidáním do jamek může indikovat, že činidlo je exspirované.

Není-li dosaženo specifikovaných referenčních hodnot, je nutné před opakováním testu zkontrolovat tyto záležitosti:

- datum použitelnosti použitých činidel,
- funkční výkonnost použitého vybavení (např. kalibrace),
- správný průběh testu,
- vizuální kontrola kontaminace nebo úniku součástí kitu.

Roztok substrátu **AllergySub**, který má intenzivní žlutavé zbarvení, nepoužívejte. Pokud není stanovených hodnot dosaženo ani po opakování testu, obraťte se na výrobce.

11. Hodnocení a interpretace

11.1 Výsledky ze séra a kapilární krve

11.1.1 Základ pro výpočty

Výpočty musí být založeny na standardní křivce pro kvantitativní hodnocení a interpretaci testu. Za tím účelem je nutné nanášet standardy na každou destičku. Hodnoty extinkce standardu se zaznamenávají jako funkce souvisejících koncentrací (µg/ml) semilogaritmicky (graf: y-ln-/x-log) do spojnicového grafu a vytvářejí standardní křivku. V duplicitních analýzách standardu budou k vygenerování standardní křivky použity průměrné extinkce z duplicitních analýz standardů. Koncentrace specifických protilátek IgG v µg/ml lze stanovit na základě standardní křivky z naměřených hodnot OD a následně je lze převést na třídy IgG (viz tabulky 23 a 24). Hodnocení lze provést rovněž pomocí vhodného softwaru. V tabulce je vysvětleno hodnocení a interpretace kvalitativního testu.

Standardní křivka pro RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen byla kalibrována dle mezinárodní referenční přípravy: proti referenčnímu séru WHO 1st IRP 67/86 pro lidský IgG.

11.1.2 Koncentrace, třídy IgG a výpočty pro RIDASCREEN® Spec. IgG

Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabulka 23: Kvantitativní vztah mezi stanovenými koncentracemi IgG [$\mu\text{g/ml}$], třídami IgG a koncentrací IgG specifického pro antigen u pacienta ze vzorku séra

Koncentrace IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Třída IgG	Obsah IgG specifický pro antigen	Alternativní třída IgG	Obsah IgG specifický pro antigen
< 7,5	0	Negativní	0	Negativní
7,5 až < 12,5	1	Mírný	1	Zvýšený
12,5 až < 20,0	2	Zvýšený		
20,0 až < 50,0	3	Vysoký	2	Velmi zvýšený
$\geq 50,0$	4	Velmi vysoký		

Tabulka 24: Kvantitativní vztah mezi stanovenými koncentracemi IgG [$\mu\text{g/ml}$], třídami IgG a koncentrací IgG specifického pro antigen u pacienta ze vzorku kapilární krve

Koncentrace IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Třída IgG	Obsah IgG specifický pro antigen	Alternativní třída IgG	Obsah IgG specifický pro antigen
< 8,0	0	Negativní	0	Negativní
8,0 až < 18,0	1	Mírný	1	Zvýšený
18,0 až < 40,0	2	Zvýšený	2	Velmi zvýšený
$\geq 40,0$	3	Vysoký		

Tyto hodnoty slouží pouze jako přibližné vodítko. Mezinárodní standardy pro specifické IgG pro potraviny neexistují.

Tabulka 25: Kvalitativní hodnocení a interpretace RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) a RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) a Prescreen Customized Plate (A8931) ze vzorku séra nebo kapilární krve

Poměr	Hodnocení	Interpretace
$\leq 1,0$	–	Negativní
$> 1,0$ až $< 2,5$	+	Mírný
$\geq 2,5$ až $< 5,0$	++	Zvýšený
$\geq 5,0$	+++	Vysoký

Poměr = $OD_{405/620}$ (vzorek) $\div$ $OD_{405/620}$ (cut-off). Test je platný, pokud je $OD_{405/620}$ hodnoty cut-off $\geq 0,20$.

12. Omezení metody

Koncentrace IgG stanovené pomocí tohoto testovacího systému poskytují informace o úrovni senzitivace pacienta s ohledem na zkoumané potravinové antigeny nebo jejich mixy.

Korelaci mezi úrovní stanovené koncentrace IgG a výskytem nebo závažností klinických symptomů z nich vyvodit nelze. Získané výsledky je vždy nutné interpretovat v kombinaci s úplnými klinickými příznaky.

Z důvodu zkřížené reaktivity testovaného antigenu s epitopy jiných antigenů se mohou vyskytnout falešně pozitivní výsledky testů.

Výroba potravinových extraktů a potažení mikrotitračních destiček antigenními epitopy ne vždy eliminuje, což může vést k falešně negativním výsledkům. Protilátky IgG proti potravinovým antigenům, které se neprojeví až do průmyslové přípravy, přípravy potravy nebo trávení, nemusí být detekovatelné, protože v původní potravíně, na niž je pacient testován, nemusí být přítomny.

13. Provozní charakteristiky

13.1. Přesnost

Opakovatelnost testu RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen byla stanovena pomocí referenčních vzorků pokrývajících celý rozsah měření od negativního po silně pozitivní. Byly určeny střední hodnoty a variační koeficienty (CV) pro tři šarže činidel a pro dvě mikrotitrační destičky. Ke stanovení opakovatelnosti v rámci analýz byly triplicitně analyzovány referenční vzorky z pěti po sobě jdoucích pracovních dnů ve dvou bžích denně. Měření byla prováděna dvěma technikami.

Tabulka 26: Měření přesnosti uvnitř testu

Střední CV (%)	8,1
-----------------------	------------

Tabulka 27: Měření přesnosti v rámci testů

Střední CV (%)	11,1
-----------------------	-------------

Tabulka 28: Měření přesnosti v rámci šarží

Vzorky séra	1	2	3
Počet šarží kitu činidla	3	3	3
Počet šarží mikrotitračních destiček	2	2	2
Počet alergenů	44	44	44
Počet měření	264	264	264
Variační koeficient	25,0 %	16,9 %	15,4 %
Střední hodnota variačního koeficientu	19,1 %		

Měření přesnosti uvnitř testu, v rámci testů a v rámci šarží naznačují, že test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen generuje přesné a opakovatelné výsledky v úplném rozsahu měření za konstantních i proměnlivých podmínek a v několika šaržích kitů.

13.2 Stabilita

13.2.1 Stabilita při přepravě

Součásti kitů byly testovány ohledně stability při kolísání teplot způsobeném při přepravě. Zkoumány byly dva simulované scénáře přepravy (TC 1 a TC 2) a jedna skutečná zámořská přeprava do Austrálie (TC 3). V průběhu celé doby přepravy bylo dokumentováno kolísání teploty. Zaznamenána byla teplota v hodnotách mezi 4,5 °C a 46 °C. Součásti kitů byly porovnávány s referenčním kitem, který byl uskladněn při předepsané teplotě (2 až 8 °C).

Ani v jednom scénáři nebyl po přepravě součástí kitu detekován žádný negativní dopad na výsledky, což znamená, že test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen je při přepravě stabilní.

13.2.2 Stabilita kitu po otevření

Součásti kitu byly po dobu 6 týdnů testovány ohledně stability po otevření těchto jednotlivých součástí. Analýza byla provedena pomocí dvou pozitivních sér, kdy byly

výsledky po 2, 4 a 6 týdnech porovnány s výsledky testů z 0. týdne, které odpovídají 100 % (% REF). Analýza byla provedena také na nezakryté mikrotitrační destičce po 6 týdnech v kombinaci s nedávno otevřeným kitem činidla (Ref. Kit) a na nedávno otevřené mikrotitrační destičce v kombinaci s nezakrytým kitem činidla (Ref. Plate). Kity byly uskladněny při teplotě 2 až 8 °C.

V období minimálně 6 týdnů nebyly u činidel ani mikrotitračních destiček detekovány žádné ztráty stability. Výsledky testů získané s těmito součástmi kitů nevykázaly ani žádné významné odchylky v porovnání s referenčními hodnotami.

13.3 Analytická senzitivita

Analytická senzitivita je měření přesnosti testu při nízkých koncentracích analytu.

Střední hodnota LOB pro RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen činí 2,8 µg/ml a střední hodnota LOD 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenty

Testovány byly tyto potenciální látky: hemoglobin, bilirubin, triglyceridy, HSA.

U žádné z uvedených látek nebyly u RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen detekovány žádné relativní dopady na výsledek testu.

Upozorňujeme však, že kombinace látek testovány nebyly. Proto je nutné, aby nevěrohodný výsledek v případě hemolytických, hemoragických či lipemických vzorků pacientů byl vždy zkoumán specificky s ohledem na celkový klinický stav pacienta.

14. Historie verze

Číslo verze	Část a určení
2016-08-29	Předchozí verze
2020-02-04	Obecná revize: Nové rozvržení
2020-02-04	1. Účel použití 4. Dodávaná činidla 8. Odběr a uskladnění vzorků 9. Průběh testu 10. Kontrola kvality – známky nestability nebo zkažení činidel 11. Hodnocení a interpretace 13. Provozní charakteristiky Symboly specifické pro test
2020-11-10	13. Provozní charakteristiky

15. Vysvětlení symbolů

Všeobecné symboly

	Pro diagnostiku in vitro
	Prostudujte si návod k použití
	Číslo šarže
	Datum spotřeby
	Teplota při skladování
	Číslo výrobku
	Počet testů
	Datum výroby
	Výrobce

Symboly specifické pro test

AllergyStop R	Stop činidlo
AllergySub	Roztok substrátu, připraveno k použití
Card	Kartička k odběru krve
Plate	Mikrotitrační destička
Conjugate	Konjugát
Control high	Pozitivní kontrola
Sample Buffer IgG	Roztok k ředění vzorků
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Sůl do promývacího roztoku

16. Literatura

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Tilsigtet anvendelse

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test er en kvantitativ eller kvalitativ enzymimmunanalyse (EIA) til bestemmelse af specifikke IgG-antistoffer mod fødevareallergener. Testen er beregnet til manuel behandling og er en kombination af reagenser og de tilhørende mikrotiterpladevarianter. Kun Foodscreen-produktkomponenter må kombineres med hinanden. Testen er velegnet til brug af prøver af humant serum og humant kapillærblod. Testen er et diagnostisk hjælpemiddel i tilfælde af mistanke om IgG-medieret fødevareoverfølsomhed.

2. Oversigt og forklaring af testen

Fødevareintolerance kan påvises ved detektion af specifikke IgG-antistoffer. Fødevareintolerance kan skyldes øget permeabilitet i tarmvæggen for en bestemt fødevare. Immunkomplekser, der består af IgG-antistoffer, kan dannes af fødevarer eller fødevareingredienser, der trænger igennem tarmvæggen og ind i det omgivende væv. Disse komplekser kan udløse inflammatoriske reaktioner, der kan medføre forskellige sygdomme.

Testen er en EIA. Alle mikrotiterplader, der er anført i 4 "Leverede reagenser", blev valideret i kombination med R-Biopharm AG's A8020-reagenskit. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-reagenserne må ikke anvendes i kombination med mikrotiterplader fra andre producenter, og RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-mikrotiterpladerne må ikke anvendes sammen med reagenser fra andre producenter.

3. Testprincip

Fødevareekstrakter, der kan forårsage en intolerancereaktion, adsorberes på de indvendige overflader af brøndene i en mikrotiterplade. Prøver fra patientprøver af human oprindelse (serum eller eluat fra kapillærblod), standardsera, og kontrolsera afpipetteres i de relevante hulrum og inkuberes ved stuetemperatur. Under inkubation binder specifikke IgG-antistoffer sig til de tilsvarende adsorberede fødevareantigener. Ubundet materiale fjernes ved afvaskning. Derefter tilsættes et anti-human-IgG-antistof konjugeret med basisk fosfatase. Under en anden inkubationsfase binder dette antistofkonjugat sig til patientprøvens human-IgG-antistoffer. Alt ubundet konjugat fjernes ved afvaskning. Efter tilsætning defosforeres substratet til slut med basisk fosfatase og forvandles til et gulfarvet produkt. Gulfarvningens intensitet er proportional med mængden af antigenspecifikke antistoffer i serummet og kan måles ved fotometri ved 405 nm minus referencebølgelængdemålingen ved 620/630 nm. Standardkurven bruges til at kvantificere måleresultaterne. (Vigtigt: Plade A0301, A8921 og A8931 muliggør kun en kvalitativ evaluering).

4. Leverede reagenser

Tabel 1: Indhold af RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade, kundespecifik, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatrix), uden standardkurve, kvalitativ
-------	--------	---

Tabel 2: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Vaskebuffersalt til 5 liter vaskebuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standardserum 1, fortyndet humant serum. Koncentration: 2,5 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 2	30 ml	Standardserum 2, fortyndet humant serum. Koncentration: 10,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 3	30 ml	Standardserum 3, fortyndet humant serum. Koncentration: 40,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 4	30 ml	Standardserum 4, fortyndet humant serum. Koncentration: 200,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Control high	30 ml	Kontrolserum, fortyndet humant serum. Se certifikatet vedr. koncentration. I stabiliseret proteinopløsning
Conjugate IgG	1 l	Anti-human-IgG-konjugat (får). Klar til brug. Basisk fosfatase-konjugeret antistof i stabiliseret proteinopløsning
AllergySub	1 l	Substratopløsning, klar til brug, indeholder pNPP

AllergyStop R	1 l	Stopreagens, klar til brug
---------------	-----	----------------------------

Tabel 3: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Prøvefortyndingsbuffer, klar til brug
Wash buffer salt Tween	6 x	Vaskebuffersalt til 1 liter vaskebuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standardserum 1, fortyndet humant serum. Koncentration: 2,5 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 2	2 ml	Standardserum 2, fortyndet humant serum. Koncentration: 10,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 3	2 ml	Standardserum 3, fortyndet humant serum. Koncentration: 40,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Standard 4	2 ml	Standardserum 4, fortyndet humant serum. Koncentration: 200,0 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning
Control high	2 ml	Kontrolserum, fortyndet humant serum. Se certifikatet vedr. koncentration. I stabiliseret proteinopløsning
Conjugate	80 ml	Anti-human-IgG-konjugat (får). Klar til brug. Basisk fosfatase-konjugeret antistof i stabiliseret proteinopløsning
AllergySub	80 ml	Substratopløsning, klar til brug, indeholder pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stopreagens, klar til brug

Tabel 4: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade, kundespecifik, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabel 5: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplade 1, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabel 6: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplade 2, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabel 7: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplade 3, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabel 8: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplade 6, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabel 9: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade panel 1, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabel 10: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade panel 2, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabel 11: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade ES, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabel 12: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade GS, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabel 13: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade GB, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabel 14: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade GP1, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabel 15: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade GP2, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabel 16: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade GK, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabel 17: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplade VEG, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. standardkurve, kvantitativ
-----------	-----------------	---

Tabel 18: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade Prescreen 1, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. cut-off, kvalitativ
Cut-Off	5 ml	Cut-off-kontrol, fortyndet humant serum. Koncentration: 10 µg IgG/ml. I stabiliseret proteinopløsning

Tabel 19: Indhold af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplade Prescreen, kundespecifik, coatet med forskellige fødevareallergener (se medfølgende allergenmatriks), inkl. cut-off, kvalitativ
Cut-Off	5 ml	Cut-off-kontrol, fortyndet humant serum. I stabiliseret proteinopløsning

Farlige materialer er angivet i henhold til mærkningsforpligtelser. Yderligere oplysninger findes i sikkerhedsdatabladene (SDS) på www.r-biopharm.com.

5. Opbevaringsanvisninger

Testkittet skal opbevares ved temperaturer på 2-8 °C og kan anvendes indtil udløbsdatoen, der er angivet på etiketten. Den fortyndede vaskebuffer **Wash buffer salt Tween** har en maksimal holdbarhed på 4 uger, når den opbevares ved 2-8 °C. Mikrobiel kontaminering skal forebygges. Efter udløbsdatoen er kvalitetsgarantien ikke længere gyldig.

Kontaminering af substratopløsningen **AllergySub** med konjugatet **Conjugate** skal undgås, da dette vil medføre misfarvning af substratet **AllergySub**. Direkte eksponering af substratet **AllergySub** for lys skal ligeledes undgås for at forebygge nedbrydning eller misfarvning på grund af hydrolyse. Substratet **AllergySub** må ikke anvendes, hvis det har udviklet en intens gulfarvning. Se 10.3 "Kvalitetskontrol – angivelse af instabilitet eller udløb af reagenser".

5.1 Opbevaring af mikrotiterplader

Eftersom mikrotiterpladerne **Plate** er følsomme over for luftfugtighed, skal aluposerne forsegles forsvarligt igen, når det påkrævede antal plader **Plate** er fjernet. Posen med tørremiddel skal blive liggende i aluposen i hele opbevaringsperioden. Mikrotiterpladerne **Plate** kan opbevares i den korrekt forseglede alupose i den angivne opbevaringstid ved 2-8 °C.

6. Materialer, der er nødvendige, men som ikke leveres

6.1 Leverede reagenser

- Destilleret eller demineraliseret vand

6.2 Udstyr

- Fotometer til mikrotiterplader (med 405-nm og 620/630-nm filter), måleområde 0-3,5 OD
- Mikrotiterpladevasker til 8-96 brønde
- 12-kanals pipette
- Flertrinspipette
- Horisontal omryster (til eluering af kapillærblodprøver)

7. Advarsler og forsigtighedsregler for brugerne

- Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse
- Denne test må kun udføres af uddannet laboratoriepersonale. Retningslinjerne for arbejde på medicinske laboratorier skal overholdes. Brugsanvisningen for udførelse af denne test skal altid følges nøje.
- Prøver eller reagenser må ikke afpipetteres med munden. Undgå kontakt med skadet hud og skadede slimhinder. Brug engangshandsker ved håndtering af prøver, og vask hænder efter testen.
- Der må ikke ryges, spises eller drikkes i områder, hvor prøver eller testreagenser behandles.
- Standardsera i kittet blev testet for hiv- og HCV-antistoffer, HBsAg og syfilis i henhold til CFR 21.640 og var negative. Patientprøverne og alle materialer, du berører, skal ikke desto mindre behandles som potentielt smittefarlige. Følg de nationale sikkerhedsforskrifter for håndtering og bortskaffelse af potentielt smittefarligt materiale.
- Standardsera **Standard**, konjugat **Conjugate** og vaskebufferkoncentrat **Wash buffer salt Tween** indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Dette stof må ikke komme i kontakt med hverken hud eller slimhinder. Kontakt med bly- eller kobberør kan forårsage dannelse af eksplosive metalazider.
- Stopreagenset eller substratopløsningen må ikke komme i kontakt med hud, øjne eller tøj. Ved hudkontakt skal huden straks vaskes med vand og sæbe. Ved

øjeblikkelig skal øjnene straks skylles under rindende vand i 15 minutter med opspilede øjne. Søg øjenlæge. Ved indtagelse skal du drikke rigelige mængder vand, undgå opkastning og straks søge læge.

- Alle kittets komponenter skal bortskaffes korrekt af brugeren efter brug (se sikkerhedsdatabladene til kittets komponenter).
- Alle reagenser og materialer, der kommer i kontakt med potentielt smitsomme prøver, skal behandles med egnede desinfektionsmidler eller autoklaveres ved 121 °C i mindst én time.

8. Indsamling og opbevaring af prøver

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er udviklet til test af humant serum og kapillærblod.

Under indsamling af veneblod skal serummet separeres fra koaglet hurtigst muligt efter komplet koagulering for at forhindre hæmolyse. Serumprøverne skal opbevares nedkølet (2-8 °C) eller nedfrosset (-20 °C), indtil de testes. Undgå gentaget nedfrysning og optøning af serummet samt bakteriel kontaminering. Varme-inaktiverede, lipæmiske, hæmolytiske, ikteriske eller uklare sera kan give falske resultater.

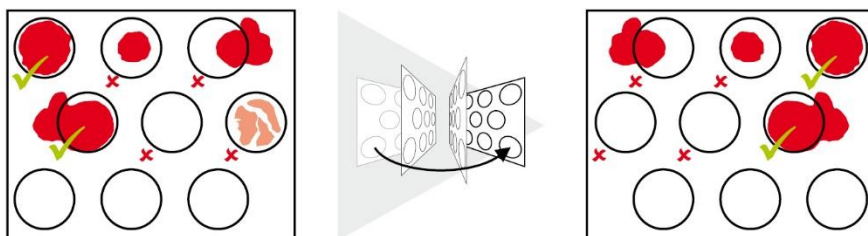
Ved brug af kapillærblodprøver i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test skal det rigtige udstyr bruges (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Det er kun dette udstyr, der er valideret til denne test. De tørrede kapillærblodprøver på Blood Collection Card (en komponent i A8025 og A8025-BCC) er stabile i maksimalt 3 uger, hvis de opbevares tørt ved stuetemperatur (20-25 °C). Kapillærblodprøver må ikke opbevares i køleskab.

Tabel 20: Prøvetypers stabilitet

Ufortyndet serum		Fortyndet serum	Tørret kapillærblodprøve	Eluat af kapillærblodprøve
2-8 °C	-20°C	20-25 °C	20-25 °C	20-25 °C
1 måned	> 3 måneder	Maks. 6 timer	3 uger	Maks. 6 timer

Vigtig bemærkning ved behandling af kapillærblodprøver:

Cirklerne på blodkortet skal fyldes helt ud med blod. Kontrollér også kortets bagside for at sikre, at cirklerne er blødt igennem.



9. Testprocedure

9.1 Generelle oplysninger

Alle reagenser, patientsera og mikrotiterpladen **Plate** skal have stuetemperatur før brug (dette er vigtigt). Bland reagenserne omhyggeligt umiddelbart før brug. Reagenskittet skal opbevares ved 2-8 °C efter brug.

De coatede mikrotiterplader **Plate** må kun bruges én gang. Reagenserne eller mikrotiterpladerne **Plate** må ikke bruges, hvis emballagen er beskadiget, eller beholderne ikke er tæt forsegledede.

De coatede mikrotiterplader **Plate kan bruges sammen med reagenserne fra forskellige kitlots.**

Enhver afvigelse fra de angivne inkubationstider og temperaturer vil betyde, at standardkurven flytter sig i forhold til certifikatet. Betydelige forskelle i standardkurvens værdier kan medføre ugyldige testresultater. Kunden skal f.eks. ændre (og validere) inkubationstiden og/eller temperaturen ved en fuldautomatisk behandling af testen.

Testen må ikke udføres i direkte sollys. Mikrotiterpladerne **Plate** bør overdækkes under inkubationsfasen.

9.2 Klargøring af vaskebufferen

Opløs indholdet af en pakke med vaskebuffersalt **Wash buffer salt Tween** i 1 liter destilleret vand. Brug kun den nødvendige mængde til hver analyse. Fortyndet vaskebuffer **Wash buffer salt Tween** har kun en begrænset maksimal holdbarhed på 4 uger (2-8 °C).

9.3 Klargøring af mikrotiterpladerne

De coatede mikrotiterplader **Plate** kan ikke bruges uden klargøring. Før afpipettering skal pladerne **Plate** mærkes med patientens navn eller nummer.

9.4 Fortynding af prøven

9.4.1 Fortynding af prøven, serumprøver

Fortynd serumprøven med prøvefortyndingsbuffer **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tabel 21: Anbefalet klargøring ved fortynding af prøven

Op til 50 bestemmelser		Op til 100 bestemmelser		Op til 200 bestemmelser		Op til 300 bestemmelser	
Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Eluering af prøven, kapillærblodprøver

Omryst den tørrede kapillærblodprøve med prøvefortyndingsbufferen **Sample Buffer IgG** i et passende hætteglas i 1 (til 14) time(er) ved 20-25 °C på en horizontal omryster. Tryk for hver analyse de tilhørende perforerede cirkler ud af **Card**. Brug engangshandsker, når de tørrede, blodfyldte cirkler trykkes ud af kortet **Card** med fingeren. Du kan også bruge en egnet steril genstand, f.eks. enden af pipettespidsen eller en laboratoriespatel, til at trykke cirklerne ud af **Card**.

Tabel 22: Anbefalet klargøring ved eluering af prøven

Op til 50 bestemmelser		Op til 100 bestemmelser		Op til 200 bestemmelser		Op til 300 bestemmelser	
Prøve	Buffer	Prøve	Buffer	Prøve	Buffer	Prøve	Buffer
2 cirkler	4,0 ml	4 cirkler	8,0 ml	6 cirkler	12,0 ml	8 cirkler	16,0 ml

Eluatet af kapillærblodprøven svarer allerede til den fortyndede patientprøve og afpipetteres til mikrotiterprøven **Plate** i henhold til anvisningerne.

9.5 Første inkubation (inkubation af prøven)

Afpipetter 50 µl af standardsera **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, kontrollen **Control high** eller **Cut-Off** og det fortyndede patientserum eller eluat af kapillærblodprøven til brøndene i mikrotiterpladen **Plate** i henhold til afpipetteringsplanen. Inkuber derefter pladerne **Plate** i 90 minutter ved 20-25 °C. Pladerne kan stables i afpipetteringsrækkefølgen. Dæk toppladen.

9.6 Afvaskning

Afvask brøndene tre gange i en mikropladevaskemaskine med 350 µl fortyndet vaskebuffer **Wash buffer salt Tween** til hver brønd. Den afsluttende tømning med hævert bør være kvantitativ, hvis det er muligt. Pladerne **Plate** kan bankes ud på sugende materiale efter afvaskning for at fjerne alle rester af vaskeopløsningen.

9.7 Anden inkubation (inkubation af konjugatet)

Afpipetter 50 µl konjugat **Conjugate** i hver brønd. Inkuber derefter pladerne **Plate** i 90 minutter ved 20-25 °C. Pladerne **Plate** kan stables i afpipetteringsrækkefølgen. Dæk toppladen **Plate**.

9.8 Afvaskning

Afvask som beskrevet i afsnit 9.6.

9.9 Tredje inkubation (inkubation af substratet)

Afpipetter 50 µl substratopløsning **AllergySub** i hver brønd. Inkuber derefter pladerne **Plate** i 60 minutter ved 20-25 °C. Beskyt de inkuberede plader **Plate** mod direkte sollys. Pladerne **Plate** kan stables i afpipetteringsrækkefølgen. Dæk toppladen **Plate**.

9.10 Stop reaktionen, og udfør målingen

Ved tilsætning af 50 µl stopreagens **AllergyStop R** til hver brønd stoppes reaktionen. Efter tilsætning af stopreagenset **AllergyStop R** skal der forsigtigt bankes på pladen **Plate** for at opnå grundig blanding i brøndene. Mål ekstinktionen ved 405 nm i forhold til referencebølgelængden på 620/630 nm. Pladerne **Plate** kan måles igen inden for 24 timer, hvis de tildækkes og opbevares i køleskab.

10. Kvalitetskontrol – angivelse af instabilitet eller udløb af reagenser

10.1 Evaluering af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Under hver testprocedure skal hver plade **Plate** indeholde standarderne **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** og kontrollen **Control high**. Testen er udført korrekt, hvis følgende kriterier er opfyldt (alle oplysninger er baseret på en differentiell måling på 405 nm til 620 nm (eller 630 nm) [$OD_{405/620}$]):

Standard 2	minus	Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	minus	Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	minus	Standard 3	$\geq 0,70$

Standard 4

> 1,0

10.2 Evaluering af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Under hver testprocedure skal hver plade **Plate** indeholde cut-off-kontrollen **Cut-Off**. Testen er udført korrekt, hvis følgende kriterier er opfyldt (oplysninger er baseret på en differentiell måling på 405 nm til 620 nm eller 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off

≥ 0,20

10.3 Angivelse af reagensers instabilitet eller forringelse

En afvigelse fra den forventede referenceværdi, turbiditet i reagenserne eller kraftig gulfarvning af substratet **AllergySub** før tilsætning til brøndene kan være tegn på, at reagentet er udløbet.

Hvis de angivne referenceværdier ikke opfyldes, skal følgende kontrolleres, før testen gentages:

- De anvendte reagensers udløbsdato
- Det anvendte udstyrs funktionelle ydelse (f.eks. kalibrering)
- Korrekt testprocedure
- Visuel inspektion af kittets komponenter for kontaminering eller lækager

Substratopløsningen **AllergySub** må ikke bruges, hvis den har en kraftig gulfarvning. Hvis de angivne værdier ikke opnås efter gentagelse af testen, skal du kontakte producenten.

11. Evaluering og fortolkning

11.1 Serum- og kapillærblodresultater

11.1.1 Beregningsgrundlag

Beregninger skal baseres på en standardkurve for den kvantitative evaluering og fortolkning af testen. Her skal standarderne køres på hver plade. Standardens ekstinktionsværdier plottes som funktion af de tilhørende koncentrationer (µg/ml) semilogaritmisk (y-ln-/x-log-graf) i en punkt-til-punkt graf for at generere standardkurven. Ved dubletanalyser af standarden bruges gennemsnitsekstinktionerne fra dubletanalyserne af standarderne til at generere standardkurven. Koncentrationerne af de specifikke IgG-antistoffer i µg/ml kan bestemmes på grundlag af standardkurven ud fra de målte OD-værdi og derefter omregnes til IgG-klasser (se tabel 23 og 24). Evalueringen kan også udføres ved hjælp af egnet software. Den kvalitative testevaluering og -fortolkning er forklaret i tabellen.

Standardkurven for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er kalibreret til et internationalt referencepræparat: 1. WHO IRP 67/86 til human IgG.

11.1.2 Koncentrationer, IgG-klasser og beregninger for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabel 23: Kvantitativ sammenhæng mellem de målte IgG-koncentrationer [ug/ml], IgG-klasser og patientens antigen-specifikke IgG-koncentration fra en serumprøve

IgG-koncentration [µg/ml]	IgG-klasse	Antigen-specifikt IgG-indhold	Alternativ IgG-klasse	Antigen-specifikt IgG-indhold
< 7,5	0	Negativ	0	Negativ
7,5 til < 12,5	1	Let	1	Forhøjet
12,5 til < 20,0	2	Forhøjet		
20,0 til < 50,0	3	Høj	2	Meget forhøjet
≥ 50,0	4	Meget høj		

Tabel 24: Kvantitativ sammenhæng mellem de målte koncentrationer [ug/ml], IgG-klasser og patientens antigen-specifikke IgG-koncentration fra en kapillærblodprøve

IgG-koncentration [µg/ml]	IgG-klasse	Antigen-specifikt IgG-indhold	Alternativ IgG-klasse	Antigen-specifikt IgG-indhold
< 8,0	0	Negativ	0	Negativ
8,0 til < 18,0	1	Let	1	Forhøjet
18,0 til < 40,0	2	Forhøjet	2	Meget forhøjet
≥ 40,0	3	Høj		

Disse værdier er kun omtrentlige retningslinjer. Der er ingen internationale standarder for specifikke IgG'er for fødevarer.

Tabel 25: Kvalitativ evaluering og fortolkning af RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) og RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) og Prescreen Customized Plate (A8931) fra en serum- eller kapillærblodprøve

Forhold	Evaluering	Fortolkning
$\leq 1,0$	-	Negativ
$> 1,0$ til $< 2,5$	+	Let
$\geq 2,5$ Til $< 5,0$	++	Forhøjet
$\leq 5,0$	+++	Høj

Forhold = $OD_{405/620}$ (prøve) $\div$ $OD_{405/620}$ (cut-off). Testen er gyldig, hvis $OD_{405/620}$ af cut-off er $\geq 0,20$.

12. Metodens begrænsninger

De IgG-koncentrationer, der bestemmes ved hjælp af dette testsystem, giver oplysninger om patientens sensibiliseringsniveau over for de undersøgte fødevareantigener eller blandinger.

Ud fra dette er det ikke muligt at udlede en korrelation mellem niveauet af en målt IgG-koncentration og forekomsten eller sværhedsgraden af kliniske symptomer. De resultater, der opnås, skal altid fortolkes sammen med alle kliniske symptomer.

Der kan forekomme falsk-positive testresultater på grund af krydsreaktiviteten af det testede antigen med epitoper af andre antigener.

Produktionen af fødevareekstrakter og coatingen på mikrotiterplader fjerner ikke altid antigene epitoper, hvilket kan medføre falsk-negative resultater. IgG-antistoffer mod fødevareantigener, der først viser sig under industriel fremstilling, tilberedning af fødevarer eller fordøjelse, kan ikke nødvendigvis detekteres, fordi de ikke findes i den oprindelige fødevare, som patienten testes for.

13. Ydelseskarakteristika

13.1. Præcision

Reproducerbarheden for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen blev bestemt ved hjælp af referenceprøver, der dækker hele måleområdet fra negativ til højt positiv. Gennemsnitsværdierne og variationskoefficienterne (CV) blev bestemt for tre reagenslots og for to mikrotiterplader. Ved bestemmelse af reproducerbarheden mellem analyser blev referenceprøver fra fem på hinanden følgende arbejdsdage analyseret i tre eksemplarer med to kørsler om dagen. Målingerne blev udført af to teknikere.

Tabel 26: Måling af præcision inden for analysen

Gennemsnitlig CV (%)	8,1
----------------------	-----

Tabel 27: Måling af præcision mellem analyser

Gennemsnitlig CV (%)	11,1
----------------------	------

Tabel 28: Måling af præcision mellem lots

Serumprøver	1	2	3
Antal reagenskitlots	3	3	3
Antal mikrotiterpladelots	2	2	2
Antal allergener	44	44	44
Antal målinger	264	264	264
Variationskoefficient (CV)	25,0 %	16,9 %	15,4 %
Gennemsnitlig variationskoefficient	19,1 %		

Målinger af præcisionen inden for analysen, mellem analyser og mellem lots tyder på, at RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen genererer nøjagtige og reproducerbare resultater over hele måleområdet under konstante og skiftende forhold og over flere kitlots.

13.2 Stabilitet

13.2.1 Transportstabilitet

Kitkomponenterne blev testet for stabilitet under temperaturudsving på grund af transport. To simulerede transportscenarier (TC 1 og TC 2) og én konkret oversøisk transport til Australien (TC 3) blev undersøgt. Temperaturudsvingene blev dokumenteret under hele transportperioden. Der blev registreret temperaturer på mellem 4,5 °C og 46 °C. Kitkomponenterne blev sammenlignet med referencekittet, der blev opbevaret ved den foreskrevne temperatur (2-8 °C).

Der blev ikke detekteret nogen indvirkning på resultaterne efter transport af kitkomponenterne i noget scenarie, hvilket betyder, at RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er stabil under transportforhold.

13.2.2 Kittets stabilitet efter åbning

Kitkomponenternes stabilitet blev testet efter åbning af de enkelte komponenter over en periode på 6 uger. Analysen blev udført med to positive sera, der efter 2, 4 og 6 uger blev sammenlignet med testresultaterne fra uge 0, svarende til 100 % (% af REF). Analysen blev desuden udført på en mikrotiterplade, der stod utildækket efter

6 uger kombineret med et nyligt åbnet reagenskit (Ref. Kit) og en nyligt åbnet mikrotiterplade kombineret med et reagenskit, der stod utildækket (Ref. Plate). Kittene blev opbevaret ved 2-8 °C.

Der blev ikke detekteret tab af stabilitet i reagenserne eller mikrotiterpladerne over en periode på mindst 6 uger. De testresultater, der blev opnået med disse kitkomponenter, viste heller ingen signifikante afvigelser sammenlignet med referencerne.

13.3 Analysefølsomhed

Analysefølsomhed er en måling af en tests nøjagtighed ved lave koncentrationer af analytten.

Den gennemsnitlige LOB af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er 2,8 ug/ml, og den gennemsnitlige LOD er 4,0 ug/ml.

13.4 Interferenter

Følgende potentielle stoffer blev testet: hæmoglobin, bilirubin, triglycerider, HSA.

Relativ indvirkning på testresultat af RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen blev ikke detekteret for nogen af de anførte stoffer.

Husk imidlertid, at kombinationer af stoffer ikke blev testet. Derfor skal et usandsynligt resultat for hæmolytiske, hæmoragiske eller lipæmiske patientprøver altid undersøges specifikt i forhold til patientens samlede kliniske billede.

14. Versionshistorik

Versionsnummer	Afsnit og betegnelse
2016-08-29	Foregående version
2020-02-04	Generel revision: Nyt layout
2020-02-04	1. Tilsigtet anvendelse 4. Leverede reagenser 8. Indsamling og opbevaring af prøver 9. Testprocedure 10. Kvalitetskontrol – angivelse af instabilitet eller udløb af reagenser 11. Evaluering og fortolkning 13. Ydelseskarakteristika Testspecifikke symboler
2020-11-10	13. Ydelseskarakteristika

15. Symbolforklaringer

Generelle symboler

	Til in vitro-diagnostisk anvendelse
	Brugsanvisningen skal overholdes
	Batchnummer
	Udløbsdato
	Opbevaringstemperatur
	Artikelnummer
	Antal tests
	Produktionsdato
	Producent

Testspecifikke symboler

AllergyStop R	Stopreagens
AllergySub	Substratopløsning, klar til brug
Card	Blodprøvetagningskort
Plate	Mikrotiterplade
Conjugate	Conjugate
Control high	Positiv kontrol
Sample Buffer IgG	Prøvefortyndingsbuffer
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Vaskebuffersalt

16. Referencer

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen es un inmunoensayo enzimático (EIA) cuantitativo o cualitativo para la determinación de anticuerpos IgG específicos contra alérgenos alimentarios. La prueba está diseñada para el procesamiento manual y es una combinación de reactivos y de las variantes de placa de microtitulación asociadas. Solo deberán combinarse entre sí los componentes del producto Foodscreen. La prueba es adecuada para el uso con muestras de suero humano y sangre capilar humana. La prueba es una ayuda diagnóstica en casos de sospecha de hipersensibilidad alimentaria mediada por IgG.

2. Resumen y descripción del ensayo

La intolerancia alimentaria puede identificarse por medio de la detección de anticuerpos IgG específicos. Las intolerancias alimentarias pueden ser el resultado de una mayor permeabilidad de la pared intestinal a un alimento específico. Como resultado de la penetración de los alimentos o sus ingredientes a través de la pared intestinal hacia el tejido circundante, pueden formarse complejos inmunitarios compuestos por anticuerpos IgG y alimentos, que pueden desencadenar respuestas inflamatorias y conducir a diferentes enfermedades.

La prueba es un EIA. Todas las placas de microtitulación enumeradas en el punto 4 "Reactivos suministrados" se validaron en combinación con el kit de reactivos A8020 de R-Biopharm AG. Los reactivos de la prueba RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen no pueden usarse en combinación con placas de microtitulación de otros fabricantes y las placas de microtitulación RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen no pueden usarse con reactivos de otros fabricantes.

3. Principio del ensayo

Los extractos de alimentos que pueden causar una reacción de intolerancia se adsorben en las superficies internas de los pocillos de una placa de microtitulación. Las muestras de pacientes humanos (suero o eluato de sangre capilar) y los sueros de estándar y de control se pipetea en las cavidades correspondientes y se incuban a temperatura ambiente. Durante la incubación los anticuerpos IgG específicos se unen a los antígenos alimentarios adsorbidos correspondientes. El material libre (no unido) se elimina por lavado. Se agrega luego un anticuerpo IgG antihumano conjugado con fosfatasa alcalina. Durante otra fase de incubación, este anticuerpo conjugado se une a los anticuerpos IgG humanos de la muestra del paciente. Todo el conjugado libre (no unido) se elimina por lavado. Finalmente, después de ser agregado, el sustrato es desfosforilado con fosfatasa alcalina y se convierte en un producto de color amarillo. La intensidad del color amarillo es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos para el antígeno presente en el suero y se puede medir por fotometría a 405 nm restando la medición a la longitud de onda de referencia de 620/630 nm. La curva estándar se utiliza para cuantificar los resultados de la medición. (Importante: las placas A0301, A8921 y A8931 solo permiten una evaluación cualitativa).

4. Reactivos suministrados

Tabla 1: Contenido de RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación, específica del cliente, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), sin curva estándar, cualitativa
-------	--------	---

Tabla 2: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Sales para preparar 5 litros de tampón de lavado, PBS 10 mM, 0,05 % de TWEEN20
Standard 1	30 ml	Suero de estándar 1, suero humano diluido; concentración: 2,5 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 2	30 ml	Suero de estándar 2, suero humano diluido; concentración: 10,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 3	30 ml	Suero de estándar 3, suero humano diluido; concentración: 40,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 4	30 ml	Suero de estándar 4, suero humano diluido; concentración: 200,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada

Control high	30 ml	Suero de control, suero humano diluido; consulte el certificado para ver la concentración; en solución de proteínas estabilizada
Conjugate IgG	1 l	Conjugado de IgG (de oveja) antihumana listo para su uso; anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina en solución de proteínas estabilizada
AllergySub	1 l	Solución de sustrato lista para su uso; contiene pNPP
AllergyStop R	1 l	Reactivo de detención listo para su uso

Tabla 3: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Tampón de dilución de muestras, listo para su uso
Wash buffer salt Tween	6 x	Sales para preparar 1 litro de tampón de lavado, PBS 10 mM, 0,05 % de TWEEN20
Standard 1	2 ml	Suero de estándar 1, suero humano diluido; concentración: 2,5 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 2	2 ml	Suero de estándar 2, suero humano diluido; concentración: 10,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 3	2 ml	Suero de estándar 3, suero humano diluido; concentración: 40,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Standard 4	2 ml	Suero de estándar 4, suero humano diluido; concentración: 200,0 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada
Control high	2 ml	Suero de control, suero humano diluido; consulte el certificado para ver la concentración; en solución de proteínas estabilizada
Conjugate	80 ml	Conjugado de IgG (de oveja) antihumana listo para su uso; anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina en solución de proteínas estabilizada
AllergySub	80 ml	Solución de sustrato lista para su uso; contiene pNPP
AllergyStop R	80 ml	Reactivo de detención listo para su uso

Tabla 4: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación, específica del cliente, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	---

Tabla 5: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulación 1, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
---------	-----------------	---

Tabla 6: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulación 2, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
---------	-----------------	---

Tabla 7: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulación 3, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
---------	-----------------	---

Tabla 8: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulación 6, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
---------	-----------------	---

Tabla 9: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación panel 1, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	---

Tabla 10: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación panel 2, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	---

Tabla 11: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación ES, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	--

Tabla 12: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación GS, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	--

Tabla 13: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación GB, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	--

Tabla 14: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación GP1, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	---

Tabla 15: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación GP2, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	---

Tabla 16: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación GK, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-------	--------	--

Tabla 17: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulación VEG, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), curva estándar incluida, cuantitativa
-----------	-----------------	---

Tabla 18: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación Prescreen 1, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), corte incluido, cualitativo
Cut-off	5 ml	Control de corte, suero humano diluido; concentración: 10 µg IgG/ml; en solución de proteínas estabilizada

Tabla 19: Contenido de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulación Prescreen, específica del cliente, recubierta con varios antígenos alimentarios (consulte la matriz de alérgenos adjunta), corte incluido, cualitativo
Cut-off	5 ml	Control de corte, suero humano diluido; en solución de proteínas estabilizada

Los materiales peligrosos se indican de acuerdo con las obligaciones de etiquetado. Para obtener información más detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

5. Instrucciones de almacenamiento

El kit de prueba debe almacenarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C y puede utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. El tampón de lavado diluido **Wash buffer salt Tween** tiene una caducidad máxima de 4 semanas si se almacena a una temperatura de 2 °C a 8 °C. Se debe evitar la contaminación

microbiana. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.

Debe evitarse la contaminación de la solución de sustrato [AllergySub] con el conjugado [Conjugate], ya que causará que el sustrato [AllergySub] se decolore. Asimismo, debe evitarse la exposición directa del sustrato [AllergySub] a la luz para evitar la degradación o decoloración por hidrólisis. No usar el sustrato [AllergySub] si este ha desarrollado una intensa coloración amarilla. Consulte el punto 10.3 "Control de calidad: indicación de inestabilidad o deterioro de los reactivos".

5.1 Almacenamiento de placas de microtitulación

Debido a que las placas de microtitulación [Plate] son susceptibles a la humedad del aire, las bolsas de aluminio deben volver a sellarse bien después de haberse retirado el número requerido de placas [Plate]. La bolsa de desecador debe permanecer en la bolsa de aluminio durante todo el período de almacenamiento. Las placas de microtitulación [Plate] se pueden almacenar en la bolsa de aluminio correctamente resellada hasta la fecha de caducidad especificada a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

6. Reactivos necesarios no suministrados

6.1 Reactivos suministrados

- Agua destilada o desionizada

6.2 Accesorios

- Fotómetro para placas de microtitulación (con filtros de 405 nm y 620/630 nm), intervalo de medición de 0 a 3,5 DO.
- Equipo de limpieza de placas de microtitulación de 8 a 96 pocillos
- Pipeta de 12 canales
- Pipeta de repetición
- Agitador horizontal (para la elución de muestras de sangre capilar)

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

- Exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Seguir siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba.

- No pipetear las muestras ni los reactivos con la boca, evitar el contacto con lesiones de la piel y con las mucosas. Usar guantes desechables cuando se manipulen las muestras y lavarse las manos después de realizar el ensayo.
- No fumar, comer ni beber en las áreas en las que se procesan las muestras o los reactivos del ensayo.
- Se obtuvieron resultados negativos en las pruebas para detectar la presencia de anticuerpos anti-VIH y anti-VHC, y de antígenos HbsAg y de sífilis conforme a CFR 21.640 en los sueros de los estándares del kit. Sin embargo, las muestras de pacientes y todos los materiales con los que usted entre en contacto deben tratarse como potencialmente infecciosos. Seguir las normas de seguridad nacionales para manipular y desechar material potencialmente infeccioso.
- Los sueros de los estándares **Standard**, el conjugado **Conjugate** y el concentrado de tampón de lavado **Wash buffer salt Tween** contienen azida de sodio como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas. Se pueden producir azidas metálicas explosivas por contacto con tuberías de plomo o cobre.
- No permitir que el reactivo de parada o la solución de sustrato entren en contacto con la piel, los ojos o la ropa. En caso de contacto con la piel, lavar con agua y jabón inmediatamente. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua corriente durante 15 minutos con los párpados abiertos. Consultar a un oftalmólogo. En caso de ingestión, beber abundante agua, evitar el vómito y buscar atención médica de inmediato.
- El usuario debe desechar todos los componentes del kit de manera apropiada después de su uso (consulte las hojas de datos de seguridad de los componentes del kit).
- Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados o esterilizarse en autoclave a 121 °C durante una hora como mínimo.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen se desarrolló para evaluar suero y sangre capilar humanos.

Durante la obtención de sangre venosa, debe separarse el suero del coágulo lo antes posible, después de la coagulación completa, para evitar la hemólisis. Las muestras de suero deben conservarse en frío (2 °C a 8 °C) o congeladas (-20 °C) hasta el momento de realizar la prueba. Se debe evitar la congelación y descongelación repetitiva del suero, así como la contaminación microbiana. El uso de sueros turbios, ictericos, hemolíticos, lipémicos o termoinactivados puede dar lugar a resultados falsos.

Cuando se usan muestras de sangre capilar con el ensayo RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen, se debe usar el equipo adecuado (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Estos son los únicos accesorios validados para

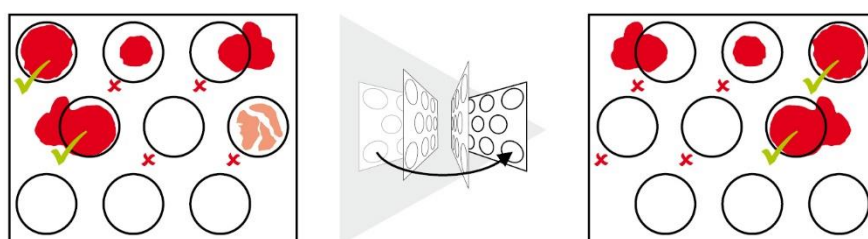
esta prueba. Las muestras de sangre capilar seca en la tarjeta de extracción de sangre (componente de A8025 y A8025-BCC) son estables durante un máximo de 3 semanas cuando se almacenan en un lugar seco a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C). No almacenar muestras de sangre capilar en el refrigerador.

Tabla 20: Estabilidad de los tipos de muestra

Suero sin diluir		Suero diluido	Muestra de sangre capilar seca	Eluato de la muestra de sangre capilar
2 °C a 8°C	-20 °C	20 °C a 25 °C	20 °C a 25 °C	20 °C a 25 °C
1 mes	>3 meses	Máx. 6 horas	3 semanas	Máx. 6 horas

Nota importante para procesar muestras de sangre capilar:

Los círculos en la tarjeta de sangre deben estar completamente llenos de sangre. Comprobar también el reverso de la tarjeta para asegurarse de que los círculos están bien empapados.



9. Ejecución de la prueba

9.1 Información general

Todos los reactivos, sueros de pacientes y placas de microtitulación **Plate** deben equilibrarse a la temperatura ambiente antes de usarlos (importante). Mezclar bien los reactivos inmediatamente antes de usarlos. Después de usarlo, el kit de reactivos debe almacenarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

Las placas de microtitulación recubiertas **Plate** no pueden utilizarse más de una vez. No utilizar los reactivos ni las placas de microtitulación **Plate** si el envase está dañado o los recipientes no están cerrados herméticamente.

Las placas de microtitulación recubiertas **Plate pueden usarse con reactivos de diferentes lotes de kits.**

Cualquier desviación de los períodos de incubación y temperaturas especificados hará que los valores de la curva estándar cambien en comparación con el certificado. Las diferencias importantes en los valores de

la curva estándar pueden llevar a resultados del ensayo no válidos. El cliente debe modificar (y validar) el período o temperatura de incubación, por ejemplo, para el procesamiento totalmente automatizado de la prueba.

No realizar el ensayo con luz solar directa. Se recomienda cubrir las placas de microtitulación **Plate** durante las fases de incubación.

9.2 Preparación del tampón de lavado

Disolver el contenido de un paquete de sal de tampón de lavado **Wash buffer salt Tween** en 1 litro de agua destilada. Usar solo la cantidad necesaria para cada ensayo. El tampón de lavado diluido **Wash buffer salt Tween** tiene una caducidad máxima limitada de 4 semanas (2 °C a 8 °C).

9.3 Preparación de las placas de microtitulación

Las placas de microtitulación recubiertas **Plate** no se pueden utilizar directamente. Antes de realizar el pipeteo, las placas **Plate** debe etiquetarse con el nombre o número del paciente.

9.4 Dilución de las muestras

9.4.1 Dilución de las muestras; muestras de suero

Diluir cada muestra de suero 1:100 con tampón de dilución de muestras **Sample Buffer IgG**.

Tabla 21: Preparaciones de dilución de muestra recomendadas

Hasta 50 determinaciones		Hasta 100 determinaciones		Hasta 200 determinaciones		Hasta 300 determinaciones	
Suero	Tampón	Suero	Tampón	Suero	Tampón	Suero	Tampón
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Elución de las muestras; muestras de sangre capilar

Agitar la muestra de sangre capilar seca con el tampón de dilución de muestras **Sample Buffer IgG** en un vial apropiado durante 1 (a 14) hora (s) a una temperatura de 20 °C a 25 °C en un agitador horizontal. Para cada ensayo, perforar los círculos correspondientes de la **Card**. Deben utilizarse guantes desechables para perforar los círculos de sangre seca de la **Card** con los dedos. También se puede usar un objeto estéril apropiado, como el extremo de una punta de pipeta o una espátula de laboratorio, para perforar los círculos de la **Card**.

Tabla 22: Preparaciones de elución de muestra recomendadas

Hasta 50 determinaciones		Hasta 100 determinaciones		Hasta 200 determinaciones		Hasta 300 determinaciones	
Muestra	Tampón	Muestra	Tampón	Muestra	Tampón	Muestra	Tampón
2 círculos	4,0 ml	4 círculos	8,0 ml	6 círculos	12,0 ml	8 círculos	16,0 ml

El eluato de la muestra de sangre capilar ya se corresponde con la muestra diluida del paciente y se pipetea sobre la placa de microtitulación [Plate] de acuerdo con las instrucciones.

9.5 Primera incubación (incubación de muestras)

Pipetear 50 µl del suero de estándar [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], el control [Control high] o [Cut-Off] y el suero del paciente diluido o el eluato de la muestra de sangre capilar en los pocillos de la placa de microtitulación [Plate] según el plan de pipeteo. A continuación, incubar las placas [Plate] durante 90 minutos a una temperatura de 20 °C a 25 °C. Las placas se pueden apilar en el orden de pipeteo; se debe cubrir la placa superior.

9.6 Lavado

Lavar cada pocillo tres veces en un equipo de limpieza de microplacas con 350 µl de tampón de lavado diluido [Wash buffer salt Tween]. La aspiración final debe ser cuantitativa, si es posible. Las placas [Plate] pueden volcarse sobre un material absorbente después del lavado para eliminar restos de solución de lavado.

9.7 Segunda incubación (incubación del conjugado)

Pipetear 50 µl de conjugado [Conjugate] en cada pocillo. A continuación, incubar las placas [Plate] durante 90 minutos a una temperatura de 20 °C a 25 °C. Las placas [Plate] se pueden apilar en el orden de pipeteo; se debe cubrir la [Plate] superior.

9.8 Lavado

Lavar según se describe en el punto 9.6.

9.9 Tercera incubación (incubación del sustrato)

Pipetear 50 µl de solución de sustrato [AllergySub] en cada pocillo. A continuación, incubar las placas [Plate] durante 60 minutos a una temperatura de 20 °C a 25 °C. Mantener las placas [Plate] incubadas al abrigo de la luz solar directa. Las placas [Plate] se pueden apilar en el orden de pipeteo; se debe cubrir la placa superior [Plate].

9.10 Detener la reacción y realizar la medición

Al agregar 50 µl de reactivo de parada **AllergyStop R** en cada pocillo se detendrá la reacción. Después de agregar el reactivo de parada **AllergyStop R**, "golpear" suavemente la placa **Plate** para lograr una mezcla homogénea en los pocillos. Medir la extinción a 405 nm contra una longitud de onda de referencia de 620/630 nm. Las placas **Plate** se pueden volver a medir dentro de las 24 horas siguientes si han estado cubiertas y refrigeradas.

10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

10.1 Evaluación de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Durante cada procedimiento de prueba, cada placa **Plate** debe contener los estándares **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** y el control **Control high**. La prueba se realizó correctamente si se cumplen los siguientes criterios (toda la información se basa en una medición diferencial de 405 nm a 620 nm (o 630 nm) [$DO_{405/620}$]):

Standard 2	menos	Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	menos	Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	menos	Standard 3	$\geq 0,70$
Standard 4			$> 1,0$

10.2 Evaluación de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Durante cada procedimiento de prueba, cada placa **Plate** debe contener el control de corte **Cut-Off**. La prueba se realizó correctamente si se cumple el siguiente criterio (información basada en una medición diferencial de 405 nm a 620 nm, o 630 nm [$DO_{405/620}$]):

Cut-off	$\geq 0,20$
----------------	-------------

10.3 Indicación de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Una desviación del valor de referencia esperado, la turbidez de los reactivos o una coloración amarilla intensa del sustrato **AllergySub** antes de añadirlo a los pocillos, pueden ser una indicación de un reactivo caducado.

Si no se cumplen los valores de referencia especificados, se deben verificar los siguientes puntos antes de repetir la prueba:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados

- Desempeño funcional de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- Ejecución correcta de la prueba
- Comprobación visual de contaminación o pérdidas en los componentes del kit.

No debe utilizarse la solución de sustrato **AllergySub** que tenga una coloración amarillenta intensa. Si no se obtienen los valores estipulados después de repetir la prueba, comuníquese con el fabricante.

11. Evaluación e interpretación

11.1 Resultados de suero y sangre capilar

11.1.1 Bases para los cálculos

Los cálculos deben basarse en una curva estándar para la evaluación e interpretación cuantitativa de la prueba. Para esto, los estándares deben analizarse en cada placa. Los valores de extinción del estándar se grafican semilogarítmicamente (gráfico y-ln-/x-log) en función de las concentraciones asociadas ($\mu\text{g/ml}$) en un gráfico punto a punto para obtener la curva estándar. En los análisis por duplicado del estándar, se utilizarán las extinciones medias de los análisis por duplicado de los estándares para generar la curva estándar. Las concentraciones de los anticuerpos IgG específicos en $\mu\text{g/ml}$ pueden determinarse sobre la base de la curva estándar a partir de los valores medidos de DO y se pueden convertir luego en clases de IgG (consulte las tablas 23 y 24). La evaluación también puede llevarse a cabo con un software apropiado. La evaluación e interpretación cualitativa de la prueba se explica en la tabla.

La curva estándar de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen se calibró contra una preparación de referencia internacional: 1.^a IRP 67/86 de la OMS para IgG humana.

11.1.2 Concentraciones, clases de IgG y cálculos para RIDASCREEN® Spec.

IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabla 23: Relación cuantitativa entre las concentraciones de IgG determinadas [$\mu\text{g/ml}$], las clases de IgG y la concentración de IgG específica del antígeno del paciente a partir de una muestra de suero

Concentración de IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Clase de IgG	Contenido de IgG específica del antígeno	Clase de IgG alternativa	Contenido de IgG específica del antígeno
<7,5	0	Negativo	0	Negativo
7,5 a <12,5	1	Débil	1	Elevado
12,5 a <20,0	2	Elevado		

Concentración de IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Clase de IgG	Contenido de IgG específica del antígeno	Clase de IgG alternativa	Contenido de IgG específica del antígeno
20,0 a <50,0	3	Alto	2	Altamente elevado
$\geq 50,0$	4	Muy alto		

Tabla 24: Relación cuantitativa entre las concentraciones determinadas [$\mu\text{g/ml}$], las clases de IgG y la concentración de IgG específica del antígeno del paciente a partir de una muestra de sangre capilar

Concentración de IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Clase de IgG	Contenido de IgG específica del antígeno	Clase de IgG alternativa	Contenido de IgG específica del antígeno
<8,0	0	Negativo	0	Negativo
8,0 a <18,0	1	Débil	1	Elevado
18,0 a <40,0	2	Elevado	2	Altamente elevado
$\geq 40,0$	3	Alto		

Estos valores son solo lineamientos aproximados. No existen estándares internacionales para IgG específicas contra alimentos.

Tabla 25: Evaluación e interpretación cualitativa de RIDASCREEN[®] Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) y RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) y Prescreen Customized Plate (A8931) a partir de una muestra de suero o sangre capilar

Proporción	Evaluación	Interpretación
$\leq 1,0$	-	Negativo
> 1,0 a <2,5	+	Débil
$\geq 2,5$ a <5,0	++	Elevado
$\geq 5,0$	+++	Alto

Proporción = $\text{DO}_{405/620}$ (muestra) $\div$ $\text{DO}_{405/620}$ (corte). La prueba es válida si la $\text{DO}_{405/620}$ del corte es $\geq 0,20$.

12. Limitaciones del método

Las concentraciones de IgG determinadas con este sistema de ensayo proporcionan información sobre el nivel de sensibilización del paciente en relación con los antígenos alimentarios o mezclas investigados.

No es posible deducir una correlación entre el nivel de una determinada concentración de IgG y la aparición o la intensidad de los síntomas clínicos a partir de esta información. Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro clínico completo.

Los resultados positivos falsos de la prueba pueden deberse a la reactividad cruzada del antígeno analizado con los epítomos de otros antígenos.

La fabricación de extractos alimenticios y el recubrimiento de las placas de microtitulación no siempre eliminan los epítomos antigénicos, lo que puede conducir a resultados negativos falsos. Es posible que los anticuerpos IgG contra antígenos alimentarios que no aparecen hasta el momento de la preparación industrial, de preparación de los alimentos o la digestión no puedan detectarse debido a que no estaban presentes en el alimento original con el que se realizaron las pruebas del paciente.

13. Características de rendimiento

13.1. Precisión

La reproducibilidad del ensayo RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen se determinó usando muestras de referencia que abarcan el intervalo de medición completo de negativo a alto positivo. Se determinaron los valores medios y los coeficientes de variación (CV) para tres lotes de reactivos y para dos placas de microtitulación. Para determinar la reproducibilidad interensayo, se analizaron muestras de referencia durante cinco días de trabajo seguidos por triplicado, con dos ensayos por día. Las mediciones fueron realizadas por dos técnicos.

Tabla 26: Precisión intraensayo

CV medio (%)	8.1
--------------	-----

Tabla 27: Medición de la precisión interensayo

CV medio (%)	11.1
--------------	------

Tabla 28: Medición de la precisión interlote

Muestras de suero	1	2	3
Número de lotes de kits de reactivos	3	3	3
Número de lotes de placas de microtitulación	2	2	2
Número de alérgenos	44	44	44
Numero de mediciones	264	264	264
Coeficiente de variación	25,0 %	16.9%	15,4 %
Coeficiente de variación medio	19,1 %		

Las mediciones de precisión intraensayo, interensayo e interlote sugieren que el ensayo RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen genera resultados precisos y reproducibles en el intervalo de medición completo en condiciones constantes y cambiantes y en varios lotes de kits.

13.2 Estabilidad

13.2.1 Estabilidad en el transporte

Se hicieron pruebas de la estabilidad de los componentes del kit con fluctuaciones de temperatura debidas al transporte. Se investigaron dos escenarios de transporte simulados (TC 1 y TC 2) y un transporte genuino al extranjero a Australia (TC 3). Las fluctuaciones de temperatura se documentaron durante todo el período de transporte. Se registraron temperaturas entre 4,5 °C y 46 °C. Los componentes del kit se compararon con el kit de referencia, que se almacenó a la temperatura prescrita (2 °C a 8 °C).

No se detectó ningún impacto en los resultados después del transporte de los componentes del kit en ningún escenario, lo que significa que RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen es estable en condiciones de transporte.

13.2.2 Estabilidad del kit después de abrir

Se probó la estabilidad de los componentes del kit después de abrir cada uno durante un período de 6 semanas. El análisis se realizó utilizando dos sueros

positivos, que, después de 2, 4 y 6 semanas, se compararon con los resultados del ensayo de la semana 0, que corresponden al 100 % (% de REF). También se analizó una placa de microtitulación que se dejó sin cubrir durante 6 semanas, combinada con un kit de reactivos abierto recientemente (Ref. Kit [kit de referencia]) y una placa de microtitulación recientemente abierta combinada con un kit de reactivos que se dejó sin cubrir (Ref. Plate [placa de referencia]). Los kits se almacenaron a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

No se detectaron pérdidas de estabilidad en los reactivos ni en las placas de microtitulación durante un período de al menos 6 semanas. Los resultados del ensayo obtenidos con estos componentes del kit tampoco mostraron desviaciones significativas en comparación con las referencias.

13.3. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es una medida de la precisión de un ensayo a bajas concentraciones del analito.

El LOB promedio de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen es de 2,8 µg/ml y el LOD promedio es de 4,0 µg/ml.

13.4 Interferencias

Se analizaron las siguientes sustancias potenciales: hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos, HSA.

No se detectaron impactos relativos en el resultado de la prueba de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen para ninguna de las sustancias enumeradas.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que no se evaluaron combinaciones de sustancias. Por lo tanto, siempre es importante investigar específicamente el cuadro clínico completo del paciente ante resultados inverosímiles en el caso de muestras de pacientes hemolíticos, hemorrágicos o lipémicos.

13.5.3 Comparación con producto de la competencia 1

La comparación se realizó con siete muestras de suero. Las pruebas se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las dos pruebas se evaluaron con respecto a su concordancia cualitativa.

14. Historial de versiones

Número de versión	Sección y designación
2016-08-29	Versión anterior
2020-02-04	Revisión general: Nuevo diseño
2020-02-04	1. Uso previsto 4. Reactivos suministrados 8. Obtención y almacenamiento de muestras 9. Ejecución de la prueba 10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos 11. Evaluación e interpretación 13. Características de rendimiento Símbolos específicos del ensayo
2020-11-10	13. Características de rendimiento

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Fecha de caducidad
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos del ensayo

AllergyStop R	Reactivo de parada
AllergySub	Solución de sustrato, lista para su uso
Card	Tarjeta de extracción de sangre
Plate	Placa de microtitulación
Conjugate	Conjugate
Control high	Control positivo
Sample Buffer IgG	Tampón de dilución de muestras
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Sal de tampón de lavado

16. Bibliografía

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Προβλεπόμενη χρήση

Για διαγνωστική *in vitro* χρήση. Η δοκιμή RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen είναι μια ποσοτική ή ποιοτική ανοσοενζυμική δοκιμασία (EIA) για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων αντισωμάτων IgG έναντι τροφικών αλλεργιογόνων. Η δοκιμή έχει σχεδιαστεί για μη αυτόματη επεξεργασία και αποτελεί συνδυασμό αντιδραστηρίων και των σχετικών παραλλαγών ογκομετρικής πλάκας. Μόνο τα εξαρτήματα των προϊόντων Foodscreen πρέπει να συνδυάζονται μεταξύ τους. Η δοκιμή είναι κατάλληλη για χρήση δειγμάτων ανθρώπινου ορού και ανθρώπινου τριχοειδικού αίματος. Η δοκιμή αποτελεί διαγνωστικό βοήθημα σε περιπτώσεις που υπάρχει υποψία για υπερευαισθησία σε τρόφιμα λόγω IgG.

2. Περίληψη και επεξήγηση της δοκιμής

Η δυσανεξία σε τρόφιμα μπορεί να εντοπιστεί μέσω της ανίχνευσης συγκεκριμένων αντισωμάτων IgG. Δυσανεξία σε τρόφιμα μπορεί να προκληθεί λόγω αυξημένης διαπερατότητας των εντερικών τοιχωμάτων όσον αφορά ένα συγκεκριμένο τρόφιμο. Μπορούν να αναπτυχθούν ανοσοσυμπλέγματα αποτελούμενα από αντισώματα IgG και τρόφιμα λόγω της διείσδυσης τροφίμων ή συστατικών τους μέσω των εντερικών τοιχωμάτων στους περιβάλλοντες ιστούς και αυτά τα συμπλέγματα μπορούν να προκαλέσουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε διάφορες ασθένειες.

Η δοκιμή είναι μια ανοσοενζυμική δοκιμασία (EIA). Όλες οι ογκομετρικές πλάκες που αναφέρονται στην ενότητα 4 «Παρεχόμενα αντιδραστήρια» έχουν εγκριθεί για χρήση σε συνδυασμό με το kit αντιδραστηρίων A8020 της R-Biopharm AG. Δεν επιτρέπεται η χρήση των αντιδραστηρίων RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen σε συνδυασμό με ογκομετρικές πλάκες άλλων κατασκευαστών και η χρήση των ογκομετρικών πλακών RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen με αντιδραστήρια άλλων κατασκευαστών.

3. Αρχές της δοκιμής

Εκχυλίσματα τροφίμων που μπορούν να προκαλέσουν αντίδραση δυσανεξίας προσροφώνται στις εσωτερικές επιφάνειες των κοιλοτήτων μιας ογκομετρικής πλάκας. Δείγματα ασθενών (ορός ή έκλουσμα από το τριχοειδικό αίμα), πρότυποι οροί και οροί ελέγχου χορηγούνται με πιπέτα στις κατάλληλες κοιλότητες και επωάζονται σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την επώαση, συγκεκριμένα αντισώματα IgG δεσμεύονται στα αντίστοιχα προσροφημένα αντιγόνα των τροφίμων. Το μη δεσμευμένο υλικό απομακρύνεται με έκπλυση. Στη συνέχεια προστίθεται αντιανθρώπινο αντίσωμα IgG, συζευγμένο με αλκαλική φωσφατάση. Κατά τη διάρκεια μιας άλλης φάσης επώασης, αυτό το σύμπλοκο αντισώματος δεσμεύεται στα ανθρώπινα αντισώματα IgG του δείγματος του ασθενούς. Οποιαδήποτε μη δεσμευμένα σύμπλοκα απομακρύνονται με έκπλυση. Τέλος, μετά την προσθήκη του, το υπόστρωμα αποφωσφορυλιώνεται με αλκαλική φωσφατάση και μετατρέπεται σε προϊόν κίτρινου χρώματος. Η ένταση του κίτρινου χρωματισμού είναι ανάλογη της ποσότητας των αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων στον ορό και μπορεί να μετρηθεί με φωτομετρική ανάγνωση στα 405 nm μείον τη μέτρηση του μήκους κύματος αναφοράς στα 620/630 nm. Η πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της μέτρησης. (Σημαντικό: Οι πλάκες A0301, A8921 και A8931 επιτρέπουν μόνο ποιοτική αξιολόγηση.)

4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Πίνακας 1: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα, συγκεκριμένη ανά πελάτη, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), χωρίς πρότυπη καμπύλη, ποιοτική αξιολόγηση
-------	--------	--

Πίνακας 2: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Άλας ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης για 5 λίτρα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	30 ml	Πρότυπος ορός 1, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 2,5 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Standard 2	30 ml	Πρότυπος ορός 2, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 10,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Standard 3	30 ml	Πρότυπος ορός 3, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 40,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών

Standard 4	30 ml	Πρότυπος ορός 4, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 200,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Control high	30 ml	Ορός ελέγχου, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: βλ. πιστοποιητικό· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Conjugate IgG	1 l	Αντιανθρώπινο σύμπλοκο IgG (πρόβατο)· έτοιμο για χρήση· αντίσωμα συζευγμένο με αλκαλική φωσφατάση σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
AllergySub	1 l	Διάλυμα υποστρώματος, έτοιμο για χρήση, περιέχει pNPP
AllergyStop R	1 l	Αντιδραστήριο Stop, έτοιμο για χρήση

Πίνακας 3: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης δείγματος, έτοιμο για χρήση
Wash buffer salt Tween	6 x	Άλας ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης για 1 λίτρα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	2 ml	Πρότυπος ορός 1, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 2,5 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Standard 2	2 ml	Πρότυπος ορός 2, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 10,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Standard 3	2 ml	Πρότυπος ορός 3, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 40,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Standard 4	2 ml	Πρότυπος ορός 4, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 200,0 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Control high	2 ml	Ορός ελέγχου, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: βλ. πιστοποιητικό· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
Conjugate	80 ml	Αντιανθρώπινο σύμπλοκο IgG (πρόβατο)· έτοιμο για χρήση· αντίσωμα συζευγμένο με αλκαλική φωσφατάση σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
AllergySub	80 ml	Διάλυμα υποστρώματος, έτοιμο για χρήση, περιέχει pNPP
AllergyStop R	80 ml	Αντιδραστήριο Stop, έτοιμο για χρήση

Πίνακας 4: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα, συγκεκριμένη ανά πελάτη, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Πίνακας 5: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Ογκομετρική πλάκα 1, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
---------	-----------------	--

Πίνακας 6: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Ογκομετρική πλάκα 2, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
---------	-----------------	--

Πίνακας 7: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Ογκομετρική πλάκα 3, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
---------	-----------------	--

Πίνακας 8: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Ογκομετρική πλάκα 6, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
---------	-----------------	--

Πίνακας 9: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα Panel 1, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	--

Πίνακας 10: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα Panel 2, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	--

Πίνακας 11: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα ES, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Πίνακας 12: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα GS, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Πίνακας 13: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα GB, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Πίνακας 14: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα GP1, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	--

Πίνακας 15: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα GP2, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	--

Πίνακας 16: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα GK, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Πίνακας 17: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Ογκομετρική πλάκα VEG, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με πρότυπη καμπύλη, ποσοτική αξιολόγηση
-----------	-----------------	--

Πίνακας 18: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα Prescreen 1, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με τιμή αποκοπής, ποιοτική αξιολόγηση
Cut-Off	5 ml	Έλεγχος αποκοπής, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· συγκέντρωση: 10 µg IgG/ml· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών

Πίνακας 19: Περιεχόμενα του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Ογκομετρική πλάκα Prescreen, συγκεκριμένη ανά πελάτη, επικαλυμμένη με διάφορα αντιγόνα τροφίμων (βλ. τον πίνακα αλλεργιογόνων που εσωκλείεται), με τιμή αποκοπής, ποιοτική αξιολόγηση
-------	--------	---

Cut-Off	5 ml	Έλεγχος αποκοπής, αραιωμένος ανθρώπινος ορός· σε σταθεροποιημένο διάλυμα πρωτεϊνών
---------	------	--

Τα επικίνδυνα υλικά υποδεικνύονται σύμφωνα με τις υποχρεώσεις επισήμανσης. Για περισσότερες λεπτομέρειες, ανατρέξτε στα δελτία δεδομένων ασφαλείας (SDS) στον δικτυακό τόπο www.r-biopharm.com.

5. Οδηγίες αποθήκευσης

Το κιτ δοκιμής πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2 έως 8°C και μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την ημερομηνία λήξης που είναι εκτυπωμένη στην ετικέτα. Το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης **Wash buffer salt Tween** έχει μέγιστη διάρκεια ζωής 4 εβδομάδων, εφόσον φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2 έως 8°C. Να αποφεύγεται η μικροβιακή μόλυνση. Μετά την ημερομηνία λήξης, η εγγύηση ποιότητας παύει να ισχύει.

Πρέπει να αποφεύγεται η επιμόλυνση του διαλύματος υποστρώματος **AllergySub** με το σύμπλοκο **Conjugate** καθώς αυτό θα προκαλέσει αποχρωματισμό του υποστρώματος **AllergySub**. Παρομοίως, πρέπει να αποφεύγεται η άμεση έκθεση του υποστρώματος **AllergySub** στο φως, ώστε να αποφευχθεί η αλλοίωση ή ο αποχρωματισμός μέσω υδρόλυσης. Μην χρησιμοποιείτε το υπόστρωμα **AllergySub** εάν έχει αποκτήσει έντονο κίτρινο χρώμα. Βλ. ενότητα 10.3 «Έλεγχος ποιότητας – ένδειξη αστάθειας ή λήξης των αντιδραστηρίων».

5.1 Αποθήκευση ογκομετρικών πλακών

Οι ογκομετρικές πλάκες **Plate** είναι ευαίσθητες στην υγρασία του αέρα, επομένως τα σακουλάκια αλουμινίου πρέπει να επανασφραγίζονται προσεκτικά μετά την αφαίρεση του απαιτούμενου αριθμού πλακών **Plate**. Το σακουλάκι με το αφυγραντικό πρέπει να παραμένει μέσα στο σακουλάκι αλουμινίου καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Οι ογκομετρικές πλάκες **Plate** μπορούν να φυλάσσονται στο σωστά επανασφραγισμένο σακουλάκι αλουμινίου για την προδιαγραφόμενη διάρκεια ζωής σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.

6. Απαιτούμενα αλλά μη παρεχόμενα αντιδραστήρια

6.1 Παρεχόμενα αντιδραστήρια

- Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό

6.2 Εξοπλισμός

- Φωτόμετρο για ογκομετρικές πλάκες (με φίλτρο 405 nm και 620/630 nm), εύρος μέτρησης 0 έως 3,5 OD
- Σύστημα έκπλυσης ογκομετρικών πλακών για 8 έως 96 κοιλότητες
- Πιπέτα 12 καναλιών
- Πιπέτα πολλαπλών βημάτων
- Οριζόντιος ανακινητήρας (για την έκλυση δειγμάτων τριχοειδικού αίματος)

7. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις για τους χρήστες

- Αποκλειστικά για διαγνωστική *in vitro* χρήση.
- Αυτή η δοκιμή πρέπει να διεξάγεται μόνο από καταρτισμένο προσωπικό εργαστηρίου. Τηρείτε τις οδηγίες σχετικά με την εργασία σε ιατρικά εργαστήρια. Τηρείτε πάντα αυστηρά τις οδηγίες χρήσης για τη διεξαγωγή αυτής της δοκιμής.
- Μην χρησιμοποιείτε το στόμα για τη χορήγηση δειγμάτων ή αντιδραστηρίων με πιπέτα· αποφύγετε την επαφή με τραυματισμένο δέρμα και τον βλεννογόνο. Κατά τον χειρισμό των δειγμάτων φοράτε γάντια μίας χρήσης και πλένετε τα χέρια σας μετά τη δοκιμή.
- Μην καπνίζετε, τρώτε ή πίνετε σε χώρους επεξεργασίας δειγμάτων ή αντιδραστηρίων της δοκιμής.
- Οι πρότυποι οροί στο kit έχουν ελεγχθεί για αντισώματα HIV και HCV, HBsAg και σύφιλη σύμφωνα με το CFR 21.640 και βρέθηκαν αρνητικοί. Ωστόσο, θα πρέπει να χειρίζεστε τα δείγματα των ασθενών και όλα τα υλικά που αγγίζετε ως δυνητικά μολυσματικά. Τηρείτε τους εθνικούς κανονισμούς ασφαλείας για τον χειρισμό και την απόρριψη δυνητικά μολυσματικού υλικού.
- Οι πρότυποι οροί **Standard**, το σύμπλοκο **Conjugate**, και το συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης **Wash buffer salt Tween** περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Αυτή η ουσία δεν θα πρέπει να έρχεται σε επαφή με το δέρμα ή το βλεννογόνο. Σε περίπτωση επαφής με σωλήνες μόλυβδου ή χαλκού ενδέχεται να σχηματιστούν εκρηκτικά αζίδια μετάλλου.
- Αποφύγετε την επαφή του αντιδραστηρίου Stop ή του υποστρώματος με το δέρμα, τα μάτια ή τα ρούχα σας. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, πλύντε αμέσως με σαπούνι και νερό. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύντε αμέσως με τρεχούμενο νερό για 15 λεπτά, κρατώντας τα βλέφαρά σας ανοικτά. Συμβουλευθείτε οφθαλμίατρο. Σε περίπτωση κατάποσης, πιείτε άφθονο νερό, αποφύγετε να κάνετε εμετό και ζητήστε αμέσως ιατρική βοήθεια.
- Όλα τα εξαρτήματα του kit πρέπει να απορρίπτονται κατάλληλα από τον χρήστη μετά τη χρήση (βλ. δελτία δεδομένων ασφαλείας για τα εξαρτήματα του kit).

- Όλα τα αντιδραστήρια και τα υλικά που έρχονται σε επαφή με δυνητικά μολυσματικά δείγματα πρέπει να απολυμαίνονται με κατάλληλα μέσα απολύμανσης ή να τοποθετούνται σε αυτόκλειστο στους 121°C για τουλάχιστον μία ώρα.

8. Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

Το RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen έχει αναπτυχθεί για τη δοκιμή ανθρώπινου ορού και τριχοειδικού αίματος.

Κατά τη συλλογή φλεβικού αίματος, ο ορός πρέπει να διαχωρίζεται από το πύγμα το συντομότερο δυνατόν μετά την ολοκλήρωση της πήξης του αίματος, ώστε να προλαμβάνεται η αιμόλυση. Τα δείγματα ορού πρέπει να φυλάσσονται παγωμένα (2 έως 8°C) ή κατεψυγμένα (-20°C) έως ότου να υποβληθούν σε δοκιμή. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη του ορού, καθώς και τη βακτηριακή μόλυνση.

Η χρήση λιπαιμικών, αιμολυτικών, ικτερικών ή θολών ορών ή ορών που έχουν αδρανοποιηθεί με θέρμανση μπορεί να οδηγήσει σε ψευδή αποτελέσματα.

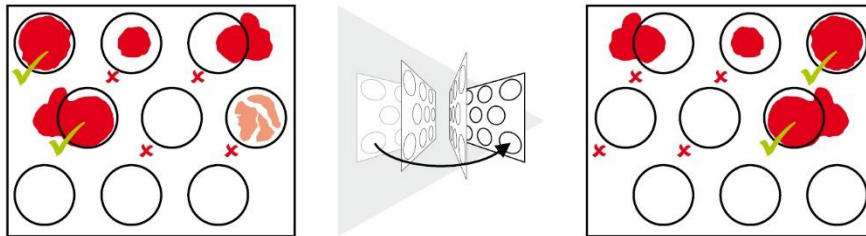
Όταν χρησιμοποιούνται δείγματα τριχοειδικού αίματος στη δοκιμή RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen, πρέπει να χρησιμοποιείται κατάλληλος εξοπλισμός (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Μόνο αυτός ο εξοπλισμός έχει εγκριθεί για αυτή τη δοκιμή. Τα αποξηραμένα δείγματα τριχοειδικού αίματος στην κάρτα συλλογής αίματος (εξάρτημα του kit A8025 και του kit A8025-BCC) είναι σταθερά για έως 3 εβδομάδες, εφόσον φυλάσσονται σε ξηρό μέρος, σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 25°C). Μην φυλάσσετε δείγματα τριχοειδικού αίματος στο ψυγείο.

Πίνακας 20: Σταθερότητα των τύπων δειγμάτων

Μη αραιωμένος ορός		Αραιωμένος ορός	Αποξηραμένο δείγμα τριχοειδικού αίματος	Έκλουσμα δείγματος τριχοειδικού αίματος
2 έως 8°C	-20°C	20 έως 25°C	20 έως 25°C	20 έως 25°C
1 μήνας	> 3 μήνες	Έως 6 ώρες	3 εβδομάδες	Έως 6 ώρες

Σημαντική σημείωση για την επεξεργασία δειγμάτων τριχοειδικού αίματος:

Οι κύκλοι στην κάρτα αίματος πρέπει να γεμίζονται πλήρως με αίμα. Ελέγξτε, επίσης, την πίσω πλευρά της κάρτας, για να βεβαιωθείτε ότι οι κύκλοι έχουν διαποτιστεί πλήρως.



9. Διεξαγωγή της δοκιμασίας

9.1 Γενικές πληροφορίες

Όλα τα αντιδραστήρια, οι οροί ασθενών και η ογκομετρική πλάκα **Plate** πρέπει να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου πριν χρησιμοποιηθούν (σημαντικό). Αναμείξτε καλά τα αντιδραστήρια αμέσως πριν από τη χρήση. Μετά τη χρήση, φυλάξτε το κιτ αντιδραστηρίων σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.

Μην χρησιμοποιείτε τις επικαλυμμένες ογκομετρικές πλάκες **Plate** πάνω από μία φορά. Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια ή τις ογκομετρικές πλάκες **Plate** εάν η συσκευασία έχει υποστεί φθορά ή οι περιέκτες δεν είναι καλά σφραγισμένοι.

Οι επικαλυμμένες ογκομετρικές πλάκες **Plate μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τα αντιδραστήρια διαφορετικών παρτίδων κιτ.**

Οποιαδήποτε απόκλιση από τους προδιαγραφόμενους χρόνους και θερμοκρασίες επώασης προκαλεί μετατόπιση της πρότυπης καμπύλης σε σύγκριση με το πιστοποιητικό. Οι σημαντικές διαφορές στις τιμές της πρότυπης καμπύλης μπορεί να οδηγήσουν σε άκυρα αποτελέσματα δοκιμής. Ο πελάτης πρέπει να τροποποιήσει (και να επικυρώσει) τον χρόνο και/ή τη θερμοκρασία επώασης, για παράδειγμα, για την πλήρως αυτοματοποιημένη επεξεργασία της δοκιμής.

Μην πραγματοποιείτε τη δοκιμή σε συνθήκες απευθείας έκθεσης στον ήλιο.

Συνιστάται να καλύπτετε τις ογκομετρικές πλάκες **Plate** κατά τη διάρκεια των φάσεων επώασης.

9.2 Προετοιμασία του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης

Διαλύστε το περιεχόμενο ενός πακέτου άλατος ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης **Wash buffer salt Tween** σε 1 λίτρο απεσταγμένου νερού. Χρησιμοποιήστε μόνο την ποσότητα που απαιτείται για κάθε δοκιμασία. Το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης **Wash buffer salt Tween** έχει περιορισμένη μέγιστη διάρκεια ζωής 4 εβδομάδων (2 έως 8°C).

9.3 Προετοιμασία των ογκομετρικών πλακών

Οι επικαλυμμένες ογκομετρικές πλάκες **Plate** δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας. Πριν πραγματοποιήσετε τη χορήγηση με πιπέτα, πρέπει να τοποθετήσετε στις πλάκες **Plate** ετικέτα με το όνομα ή τον αριθμό του ασθενούς.

9.4 Αραίωση δείγματος

9.4.1 Αραίωση δείγματος· δείγματα ορού

Αραιώστε το δείγμα ορού με ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης δείγματος **Sample Buffer IgG** σε αναλογία 1:100.

Πίνακας 21: Συνιστώμενα παρασκευάσματα αραίωσης δείγματος

Έως 50 προσδιορισμοί		Έως 100 προσδιορισμοί		Έως 200 προσδιορισμοί		Έως 300 προσδιορισμοί	
Ορός	Ρυθμιστικό διάλυμα	Ορός	Ρυθμιστικό διάλυμα	Ορός	Ρυθμιστικό διάλυμα	Ορός	Ρυθμιστικό διάλυμα
40 μl	4,0 ml	70 μl	7,0 ml	150 μl	15,0 ml	200 μl	20,0 ml

9.4.2 Έκλυση δείγματος· δείγματα τριχοειδικού αίματος

Ανακινήστε το αποξηραμένο δείγμα τριχοειδικού αίματος με το ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης δείγματος **Sample Buffer IgG** σε κατάλληλο φιαλίδιο για 1 (έως 14) ώρα(-ες) σε θερμοκρασία 20 έως 25°C σε οριζόντιο ανακινητήρα. Για κάθε δοκιμασία, τρυπήστε τους αντίστοιχους διάτρητους κύκλους **Card**. Πρέπει να φορέσετε γάντια μίας χρήσης για να τρυπήσετε τους αποξηραμένους, γεμάτους αίμα κύκλους **Card** χρησιμοποιώντας το δάχτυλό σας. Μπορείτε επίσης να χρησιμοποιήσετε κατάλληλο αποστειρωμένο αντικείμενο, όπως την άκρη ενός ρύγγχους πιπέτας ή μια σπάτουλα εργαστηρίου, για να τρυπήσετε τους κύκλους **Card**.

Πίνακας 22: Συνιστώμενα παρασκευάσματα έκλουσης δείγματος

Έως 50 προσδιορισμοί		Έως 100 προσδιορισμοί		Έως 200 προσδιορισμοί		Έως 300 προσδιορισμοί	
Δείγμα	Ρυθμιστικό διάλυμα	Δείγμα	Ρυθμιστικό διάλυμα	Δείγμα	Ρυθμιστικό διάλυμα	Δείγμα	Ρυθμιστικό διάλυμα
2 κύκλοι	4,0 ml	4 κύκλοι	8,0 ml	6 κύκλοι	12,0 ml	8 κύκλοι	16,0 ml

Το έκλουσμα του δείγματος τριχοειδικού αίματος αντιστοιχεί ήδη στο αραιωμένο δείγμα του ασθενούς και χορηγείται με πιπέτα στην ογκομετρική πλάκα [Plate] σύμφωνα με τις οδηγίες.

9.5 Πρώτη επώαση (επώαση δείγματος)

Χορηγήστε με πιπέτα 50 μl των πρότυπων ορών [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], του ελέγχου [Control high], ή του [Cut-Off] και του αραιωμένου ορού ασθενούς ή του εκλούσματος του δείγματος τριχοειδικού αίματος στις κοιλότητες της ογκομετρικής πλάκας [Plate] σύμφωνα με το σύστημα χορήγησης με πιπέτα. Στη συνέχεια, αφήστε τις πλάκες [Plate] να επωαχθούν για 90 λεπτά στους 20 έως 25°C. Μπορείτε να στοιβάξετε τις πλάκες σύμφωνα με τη σειρά χορήγησης των ορών· καλύψτε την επάνω πλάκα.

9.6 Πλύση

Πραγματοποιήστε πλύση στις κοιλότητες τρεις φορές σε σύστημα πλύσης ογκομετρικών πλακών χρησιμοποιώντας 350 μl αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης [Wash buffer salt Tween] για κάθε κοιλότητα. Η τελική παροχέτευση θα πρέπει να πραγματοποιείται ποσοτικά, εάν είναι δυνατόν. Μπορείτε να χτυπήσετε τις πλάκες [Plate] πάνω σε απορροφητικό υλικό μετά την πλύση για να απομακρύνετε τυχόν υπολείμματα του διαλύματος πλύσης.

9.7 Δεύτερη επώαση (επώαση συμπλόκου)

Χορηγήστε με πιπέτα 50 μl συμπλόκου [Conjugate] σε κάθε κοιλότητα. Στη συνέχεια, αφήστε τις πλάκες [Plate] να επωαχθούν για 90 λεπτά στους 20 έως 25°C. Μπορείτε να στοιβάξετε τις πλάκες [Plate] σύμφωνα με τη σειρά χορήγησης του συμπλόκου· καλύψτε την επάνω πλάκα [Plate].

9.8 Πλύση

Πραγματοποιήστε πλύση όπως περιγράφεται στο σημείο 9.6.

9.9 Τρίτη επώαση (επώαση υποστρώματος)

Χορηγήστε με πιπέτα 50 μl διαλύματος υποστρώματος [AllergySub] σε κάθε κοιλότητα. Στη συνέχεια, αφήστε τις πλάκες [Plate] να επωαχθούν για 60 λεπτά στους 20 έως 25°C. Κρατήστε τις επωασμένες πλάκες [Plate] μακριά από το ηλιακό

φως. Μπορείτε να στοιβάξετε τις πλάκες **Plate** σύμφωνα με τη σειρά χορήγησης του διαλύματος· καλύψτε την επάνω πλάκα **Plate**.

9.10 Διακοπή της αντίδρασης και πραγματοποίηση της μέτρησης

Η προσθήκη 50 μl αντιδραστήριου Stop **AllergyStop R** σε κάθε κοιλότητα σταματά την αντίδραση. Αφού προσθέσετε το αντιδραστήριο Stop **AllergyStop R**, «χτυπήστε» απαλά την πλάκα **Plate** για να επιτύχετε πλήρη ανάμειξη εντός των κοιλοτήτων. Μετρήστε την εξάλειψη στα 405 nm σε σχέση με το μήκος κύματος αναφοράς 620/630 nm. Μπορεί να πραγματοποιηθεί επαναμέτρηση των πλακών **Plate** εντός 24 ωρών, εφόσον καλυφθούν και ψυχθούν.

10. Έλεγχος ποιότητας – Ένδειξη αστάθειας ή λήξης των αντιδραστηρίων

10.1 Αξιολόγηση των προϊόντων RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Κατά τη διεξαγωγή της δοκιμασίας, κάθε πλάκα **Plate** θα πρέπει να περιέχει τους πρότυπους ορούς **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, και τον ορό ελέγχου **Control high**. Η δοκιμή έχει διεξαχθεί σωστά, εφόσον πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια (όλες οι πληροφορίες βασίζονται σε διαφορετική μέτρηση στα 405 nm σε σχέση με τα 620 nm (ή 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	μείον Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	μείον Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	μείον Standard 3	$\geq 0,70$
Standard 4		$> 1,0$

10.2 Αξιολόγηση των προϊόντων RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Κατά τη διεξαγωγή της δοκιμασίας, κάθε πλάκα **Plate** θα πρέπει να περιέχει τον ορό ελέγχου αποκοπής **Cut-Off**. Η δοκιμή έχει διεξαχθεί σωστά, εφόσον πληρούται το παρακάτω κριτήριο (οι πληροφορίες βασίζονται σε διαφορετική μέτρηση στα 405 nm σε σχέση με τα 620 nm ή τα 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off	$\geq 0,20$
----------------	-------------

10.3 Ένδειξη αστάθειας ή αλλοίωσης των αντιδραστηρίων

Μια απόκλιση από την αναμενόμενη τιμή αναφοράς, η θολότητα των αντιδραστηρίων, ο έντονος κίτρινος χρωματισμός του υποστρώματος **AllergySub** πριν από την προσθήκη του στα τοιχώματα μπορεί να αποτελούν ένδειξη ληγμένου αντιδραστήριου.

Εάν δεν τηρούνται οι προδιαγραφόμενες τιμές αναφοράς, πρέπει να ελεγχθούν τα ακόλουθα πριν επαναληφθεί η δοκιμή:

- Ημερομηνία λήξης των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων
- Λειτουργικές επιδόσεις του χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού (π.χ. βαθμονόμηση)
- Ορθή διεξαγωγή της δοκιμής
- Οπτικός έλεγχος των εξαρτημάτων του kit για τυχόν επιμόλυνση ή διαρροές

Μην χρησιμοποιείτε το διάλυμα υποστρώματος **AllergySub** εάν έχει έντονο κιτρινωπό χρωματισμό. Εάν δεν ληφθούν οι καθορισμένες τιμές μετά την επανάληψη της δοκιμής, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή.

11. Αξιολόγηση και ερμηνεία

11.1 Ευρήματα ορού και τριχοειδικού αίματος

11.1.1 Βάση υπολογισμών

Οι υπολογισμοί πρέπει να βασίζονται σε μια πρότυπη καμπύλη για την ποσοτική αξιολόγηση και ερμηνεία της δοκιμής. Επομένως, πρέπει να εκτελούνται τα πρότυπα σε κάθε πλάκα. Οι τιμές εξάλειψης του προτύπου απεικονίζονται ως συνάρτηση των σχετικών συγκεντρώσεων (g/ml) ημιλογαριθμικά (γράφημα $y-\ln/-x-\log$) σε ένα γράφημα από σημείο σε σημείο (point-to-point) για την παραγωγή της πρότυπης καμπύλης. Στην περίπτωση αναλύσεων του προτύπου εις διπλούν, οι μέσες τιμές εξάλειψης από τις αναλύσεις των προτύπων εις διπλούν θα χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή της πρότυπης καμπύλης. Οι συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων αντισωμάτων IgG σε $\mu\text{g/ml}$ μπορούν να προσδιοριστούν με βάση την πρότυπη καμπύλη από τις μετρούμενες τιμές OD και, έπειτα, να μετατραπούν σε κλάσεις IgG (βλ. πίνακες 23 και 24). Η αξιολόγηση μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού. Η αξιολόγηση και η ερμηνεία της ποιοτικής δοκιμής επεξηγούνται στον πίνακα.

Η πρότυπη καμπύλη του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen βαθμονομήθηκε με βάση ένα διεθνές παρασκεύασμα αναφοράς: το 1ο WHO IRP 67/86 για ανθρώπινο IgG.

11.1.2 Συγκεντρώσεις, κλάσεις IgG και υπολογισμοί για τα προϊόντα

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Πίνακας 23: Ποσοτική σχέση μεταξύ των προσδιορισμένων συγκεντρώσεων IgG [$\mu\text{g/ml}$], των κλάσεων IgG και της συγκέντρωσης IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου του ασθενούς από δείγμα ορού

Συγκέντρωση IgG [μg/ml]	Κλάση IgG	Περιεκτικότητα IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου	Εναλλακτική κλάση IgG	Περιεκτικότητα IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου
< 7,5	0	Αρνητική	0	Αρνητική
7,5 έως < 12,5	1	Ήπια	1	Αυξημένη
12,5 έως < 20,0	2	Αυξημένη		
20,0 έως < 50,0	3	Υψηλή	2	Ιδιαίτερα αυξημένη
≥ 50,0	4	Πολύ υψηλή		

Πίνακας 24: Ποσοτική σχέση μεταξύ των προσδιορισμένων συγκεντρώσεων [μg/ml], των κλάσεων IgG και της συγκέντρωσης IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου του ασθενούς από δείγμα τριχοειδικού αίματος

Συγκέντρωση IgG [μg/ml]	Κλάση IgG	Περιεκτικότητα IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου	Εναλλακτική κλάση IgG	Περιεκτικότητα IgG έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου
< 8,0	0	Αρνητική	0	Αρνητική
8,0 έως < 18,0	1	Ήπια	1	Αυξημένη
18,0 έως < 40,0	2	Αυξημένη	2	Ιδιαίτερα αυξημένη
≥ 40,0	3	Υψηλή		

Αυτές οι τιμές αποτελούν μόνο κατευθυντήριες γραμμές κατά προσέγγιση. Δεν υπάρχουν διεθνή πρότυπα για συγκεκριμένα IgG σε τρόφιμα.

Πίνακας 25: Ποιοτική αξιολόγηση και ερμηνεία των προϊόντων RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) και RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) και Prescreen Customized Plate (A8931) από δείγμα ορού ή τριχοειδικού αίματος

Αναλογία	Αξιολόγηση	Ερμηνεία
≤ 1,0	-	Αρνητική
> 1,0 έως < 2,5	+	Ήπια
≥ 2,5 έως < 5,0	++	Αυξημένη
≥ 5,0	+++	Υψηλή

Αναλογία = OD_{405/620} (δείγμα) ÷ OD_{405/620} (τιμή αποκοπής). Η δοκιμή είναι έγκυρη εάν η τιμή OD_{405/620} της τιμής αποκοπής είναι ≥ 0,20.

12. Περιορισμοί της μεθόδου

Οι συγκεντρώσεις IgG που προσδιορίζονται με το παρόν σύστημα δοκιμής παρέχουν πληροφορίες για τον βαθμό ευαισθησίας του ασθενούς αναφορικά με τα ερευνούμενα τροφικά αλλεργιογόνα ή μείγματα.

Δεν μπορεί να συναχθεί συσχέτιση μεταξύ του επιπέδου της προσδιορισμένης συγκέντρωσης IgG και της εμφάνισης ή της σοβαρότητας των κλινικών συμπτωμάτων από αυτήν τη μέθοδο. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τα πλήρη κλινικά συμπτώματα.

Τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στη διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του ελεγχόμενου αλλεργιογόνου με επίτοπους άλλων αντιγόνων. Η παραγωγή εκχυλισμάτων τροφίμων και η επικάλυψη των ογκομετρικών πλακών δεν εξασφαλίζουν πάντα την εξάλειψη των επιτόπων των αντιγόνων, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Αντισώματα IgG έναντι αντιγόνων τροφίμων που δεν εμφανίζονται πριν από τη βιομηχανική προετοιμασία, την προετοιμασία των τροφίμων ή την πέψη μπορεί να μην είναι ανιχνεύσιμα, καθώς δεν υπάρχουν στο αρχικό τρόφιμο για το οποίο ελέγχεται ο ασθενής.

13. Χαρακτηριστικά επιδόσεων

13.1. Ακρίβεια

Η δυνατότητα αναπαραγωγής της δοκιμής RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen προσδιορίστηκε με τη χρήση δειγμάτων αναφοράς που καλύπτουν το πλήρες εύρος μέτρησης, από τις αρνητικές έως τις εξαιρετικά θετικές τιμές. Προσδιορίστηκαν οι μέσες τιμές και οι συντελεστές διακύμανσης (ΣΔ) για τρεις παρτίδες αντιδραστηρίων και για δύο ογκομετρικές πλάκες. Για τον προσδιορισμό της δυνατότητας αναπαραγωγής μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών (inter assay), πραγματοποιήθηκε έλεγχος δειγμάτων αναφοράς από πέντε διαδοχικές εργάσιμες ημέρες εις τριπλούν, με δύο αναλύσεις ανά ημέρα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από δύο τεχνικούς.

Πίνακας 26: Μέτρηση ακρίβειας εντός της ίδιας δοκιμασίας (intra-assay)

Μέσος ΣΔ (%)	8,1
--------------	-----

Πίνακας 27: Μέτρηση ακρίβειας μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών (inter-assay)

Μέσος ΣΔ (%)	11,1
--------------	------

Πίνακας 28: Μέτρηση ακρίβειας μεταξύ παρτίδων (Inter-Lot)

Δείγματα ορού	1	2	3
Αριθμός παρτίδων κιτ αντιδραστηρίων	3	3	3
Αριθμός παρτίδων ογκομετρικών πλακών	2	2	2
Αριθμός αλλεργιογόνων	44	44	44
Αριθμός μετρήσεων	264	264	264
Συντελεστής διακύμανσης	25,0%	16,9%	15,4%
Μέσος συντελεστής διακύμανσης	19,1%		

Οι μετρήσεις ακριβείας εντός της ίδιας δοκιμασίας (intra-assay), μεταξύ διαφορετικών δοκιμασιών (inter-assay) και μεταξύ διαφορετικών παρτίδων (inter-lot) υποδεικνύουν ότι η δοκιμή RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen παράγει ακριβή και αναπαραγόμενα αποτελέσματα στο πλήρες εύρος μετρήσεων υπό σταθερές, καθώς και υπό μεταβαλλόμενες, συνθήκες και σε διάφορες παρτίδες κιτ.

13.2 Σταθερότητα

13.2.1 Σταθερότητα κατά τη μεταφορά

Ελέγχθηκε η σταθερότητα των εξαρτημάτων του κιτ σε συνθήκες διακύμανσης της θερμοκρασίας λόγω μεταφοράς. Ερευνήθηκαν δύο σενάρια προσομοιωμένης μεταφοράς (TC 1 και TC 2) και μια πραγματική υπερπόντια μεταφορά στην Αυστραλία (TC 3). Οι διακυμάνσεις θερμοκρασίας τεκμηριώθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου μεταφοράς. Καταγράφηκαν θερμοκρασίες μεταξύ 4,5°C και 46°C. Πραγματοποιήθηκε σύγκριση των εξαρτημάτων του κιτ με το κιτ αναφοράς, το οποίο ήταν αποθηκευμένο στην προδιαγραφόμενη θερμοκρασία (2 έως 8°C).

Δεν εντοπίστηκαν επιπτώσεις στα αποτελέσματα μετά τη μεταφορά των εξαρτημάτων του κιτ σε οποιοδήποτε σενάριο, γεγονός που σημαίνει ότι το RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen είναι σταθερό σε συνθήκες μεταφοράς.

13.2.2 Σταθερότητα του kit μετά το άνοιγμα

Ελέγχθηκε η σταθερότητα των εξαρτημάτων του kit μετά το άνοιγμα των επιμέρους εξαρτημάτων για μια περίοδο 6 εβδομάδων. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση δύο θετικών ορών, οι οποίοι, μετά την πάροδο 2, 4 και 6 εβδομάδων, συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα δοκιμής της εβδομάδας 0 τα οποία αντιστοιχούν στο 100% (% του REF). Πραγματοποιήθηκε επίσης ανάλυση σε ογκομετρική πλάκα που είχε παραμείνει ακάλυπτη μετά από 6 εβδομάδες, σε συνδυασμό με ένα πρόσφατα ανοιγμένο kit αντιδραστηρίων (Ref. Kit), και σε πρόσφατα ανοιγμένη ογκομετρική πλάκα, σε συνδυασμό με ένα kit αντιδραστηρίων που είχε παραμείνει ακάλυπτο (Ref. Plate). Τα kit φυλάσσονταν σε θερμοκρασία 2 έως 8°C.

Δεν εντοπίστηκε μείωση της σταθερότητας των αντιδραστηρίων ή των ογκομετρικών πλακών κατά τη διάρκεια μιας περιόδου τουλάχιστον 6 εβδομάδων. Επίσης τα αποτελέσματα δοκιμών που ελήφθησαν με αυτά τα εξαρτήματα kit δεν κατέδειξαν σημαντικές αποκλίσεις σε σύγκριση με τα εξαρτήματα αναφοράς.

13.3 Αναλυτική ευαισθησία

Η αναλυτική ευαισθησία αποτελεί μέτρηση της ακρίβειας μιας δοκιμής σε χαμηλές συγκεντρώσεις του αναλύτη.

Η μέση τιμή LOB του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen είναι 2,8 µg/ml και η μέση τιμή LOD είναι 4,0 µg/ml.

13.4 Ουσίες παρεμβολής

Ελέγχθηκαν οι ακόλουθες πιθανές ουσίες: αιμοσφαιρίνη, χολερυθρίνη, τριγλυκερίδια, HSA.

Δεν εντοπίστηκαν σχετικές επιπτώσεις στο αποτέλεσμα δοκιμής του RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen για οποιαδήποτε από τις αναφερόμενες ουσίες.

Επισημαίνεται, ωστόσο, ότι δεν ελέγχθηκαν συνδυασμοί των ουσιών. Επομένως, εάν προκύψει κάποιο παράλογο αποτέλεσμα στην περίπτωση αιμολυτικών, αιμορραγικών ή λιπαιμικών δειγμάτων ασθενούς, θα πρέπει να διενεργείται συγκεκριμένα έρευνα σε σχέση με τη συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς.

14. Ιστορικό εκδόσεων

Αριθμός έκδοσης	Ενότητα και ονομασία
2016-08-29	Προηγούμενη έκδοση
2020-02-04	Γενική αναθεώρηση: Νέα διάταξη
2020-02-04	1. Προβλεπόμενη χρήση 4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια 8. Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων 9. Διεξαγωγή της δοκιμασίας 10. Έλεγχος ποιότητας – Ένδειξη αστάθειας ή λήξης των αντιδραστηρίων 11. Αξιολόγηση και ερμηνεία 13. Χαρακτηριστικά επιδόσεων Ειδικά σύμβολα της δοκιμής
2020-11-10	13. Χαρακτηριστικά επιδόσεων

15. Επεξήγηση συμβόλων

Γενικά σύμβολα

	Για διαγνωστική in vitro χρήση
	Προσοχή στις οδηγίες χρήσης
	Αριθμός παρτίδας
	Χρήση πριν από
	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Αριθμός είδους
	Αριθμός δοκιμών
	Ημερομηνία παραγωγής
	Κατασκευαστής

Ειδικά σύμβολα της δοκιμής

AllergyStop R	Αντιδραστήριο διακοπής
AllergySub	Διάλυμα υποστρώματος, έτοιμο για χρήση
Card	Κάρτα συλλογής αίματος
Plate	Ογκομετρική πλάκα
Conjugate	Σύμπλοκο
Control high	Θετικός έλεγχος
Sample Buffer IgG	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης δείγματος
Standard 1	Πρότυπος ορός 1
Standard 2	Πρότυπος ορός 2
Standard 3	Πρότυπος ορός 3
Standard 4	Πρότυπος ορός 4
Wash buffer salt Tween	Άλας ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης

16. Παραπομπές

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen est un test immunoenzymatique (TIE) quantitatif ou qualitatif pour la détermination d'anticorps IgG spécifiques contre les allergènes alimentaires. Le test est conçu pour un traitement manuel et consiste en une combinaison de réactifs et des variantes de plaques de microtitration associées. Seuls les composants du produit Foodscreen doivent être combinés les uns avec les autres. Le test est adapté à l'utilisation d'échantillons de sérum et de sang capillaire humains. Le test facilite le diagnostic en cas de suspicion d'hypersensibilité alimentaire IgG médiée.

2. Résumé et explication du test

L'intolérance alimentaire peut être identifiée par la détection d'anticorps IgG spécifiques. Les intolérances alimentaires peuvent être le résultat d'une perméabilité accrue de la paroi intestinale vis-à-vis d'un aliment spécifique. Des complexes immuns composés d'anticorps IgG et d'aliments peuvent se former à la suite de la pénétration d'aliments ou de leurs ingrédients dans les tissus environnants à travers la paroi intestinale, et ces complexes peuvent déclencher des réponses inflammatoires pouvant entraîner différentes maladies.

Il s'agit d'un TIE. Toutes les plaques de microtitration répertoriées sous 4 « Contenu du paquet » ont été validées en combinaison avec le kit de réactifs A8020 de R-Biopharm AG. Les réactifs RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ne peuvent pas être utilisés en combinaison avec des plaques de microtitration d'autres fabricants, et les plaques de microtitration RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ne peuvent pas être utilisées avec des réactifs d'autres fabricants.

3. Principe du test

Les extraits alimentaires qui peuvent provoquer une réaction d'intolérance sont adsorbés sur les surfaces internes des puits d'une plaque de microtitration. Des échantillons de patients humains (sérum ou éluat de sang capillaire), des sérums standards et des sérums témoins sont pipetés dans les cavités appropriées et incubés à température ambiante. Pendant l'incubation, les anticorps IgG spécifiques se lient aux antigènes alimentaires adsorbés correspondants. Les éléments non fixés de l'échantillon sont éliminés par lavage. Un anticorps anti-IgG humain conjugué à de la phosphatase alcaline est ensuite ajouté. Au cours d'une autre phase d'incubation, ce conjugué d'anticorps se lie aux anticorps anti-IgG humains de l'échantillon de patient. Tout conjugué non fixé est éliminé par lavage. Enfin, après avoir été ajouté, le substrat est déphosphorylé par la phosphatase alcaline et devient un produit de couleur jaune. L'intensité de la coloration jaune est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques aux antigènes dans le sérum et peut être mesurée par photométrie à 405 nm moins la mesure de la longueur d'onde de référence à 620/630 nm. La courbe standard est utilisée pour quantifier les résultats de la mesure. (Important : les plaques A0301, A8921 et A8931 ne permettent qu'une évaluation qualitative.)

4. Contenu du paquet

Tableau 1 : Contenu du kit RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration, spécifique au client, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), sans courbe standard, qualitative
-------	--------	---

Tableau 2 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Sel de tampon de lavage pour 5 litres de tampon de lavage, PBS 10 mM, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Sérum standard 1, sérum humain dilué ; concentration : 2,5 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 2	30 ml	Sérum standard 2, sérum humain dilué ; Concentration : 10,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 3	30 ml	Sérum standard 3, sérum humain dilué ; Concentration : 40,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 4	30 ml	Sérum standard 4, sérum humain dilué ; Concentration : 200,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée

Control high	30 ml	Sérum de contrôle, sérum humain dilué ; voir le certificat pour la concentration ; dans une solution protéique stabilisée
Conjugate IgG	1 l	Conjugué anti-IgG humaine (mouton) ; prêt à l'emploi ; anticorps conjugué à de la phosphatase alcaline dans une solution protéique stabilisée
AllergySub	1 l	La solution de substrat, prête à l'emploi, contient du pNPP
AllergyStop R	1 l	Réactif d'arrêt, prêt à l'emploi

Tableau 3 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Tampon de dilution de l'échantillon, prêt à l'emploi
Wash buffer salt Tween	6 x	Sel de tampon de lavage pour 1 litre de tampon de lavage, PBS 10 mM, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Sérum standard 1, sérum humain dilué ; Concentration : 2,5 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 2	2 ml	Sérum standard 2, sérum humain dilué ; Concentration : 10,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 3	2 ml	Sérum standard 3, sérum humain dilué ; Concentration : 40,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Standard 4	2 ml	Sérum standard 4, sérum humain dilué ; Concentration : 200,0 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée
Control high	2 ml	Sérum de contrôle, sérum humain dilué ; voir le certificat pour la concentration ; dans une solution protéique stabilisée
Conjugate	80 ml	Conjugué anti-IgG humaine (mouton) ; prêt à l'emploi ; anticorps conjugué à de la phosphatase alcaline dans une solution protéique stabilisée
AllergySub	80 ml	La solution de substrat, prête à l'emploi, contient du pNPP
AllergyStop R	80 ml	Réactif d'arrêt, prêt à l'emploi

Tableau 4 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration, spécifique au client, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), sans courbe standard, quantitative
-------	--------	--

Tableau 5 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Plaque de microtitration 1, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
---------	-----------------	--

Tableau 6 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Plaque de microtitration 2, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
---------	-----------------	--

Tableau 7 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Plaque de microtitration 3, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
---------	-----------------	--

Tableau 8 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. Plaque 6 IgG Foodscreen (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Plaque de microtitration 6, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
---------	-----------------	--

Tableau 9 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration panel 1, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	--

Tableau 10 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration panel 2, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	--

Tableau 11 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration ES, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	---

Tableau 12 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration GS, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	---

Tableau 13 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration GB, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	---

Tableau 14 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration GP1, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	--

Tableau 15 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration GP2, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	--

Tableau 16 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration GK, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-------	--------	---

Tableau 17 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Plaque de microtitration VEG, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec courbe standard, quantitative
-----------	-----------------	--

Tableau 18 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration Prescreen 1, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec valeur seuil, quantitative
Cut-Off	5 ml	Contrôle de valeur seuil, sérum humain dilué ; concentration : 10 µg IgG/ml ; dans une solution protéique stabilisée

Tableau 19 : Contenu du kit RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Plaque de microtitration Prescreen, spécifique au client, recouverte de divers antigènes alimentaires (voir matrice des allergènes jointe), avec valeur seuil, qualitative
Cut-Off	5 ml	Contrôle de valeur seuil, sérum humain dilué ; dans une solution protéique stabilisée

Les matières dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Ce kit de test doit être conservé entre 2 et 8 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué **Wash buffer salt Tween** a une durée de conservation maximale de 4 semaines lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C. Toute contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie. La contamination de la solution de substrat **AllergySub** par le conjugué **Conjugate** doit être évitée car cela entraînera la décoloration du substrat **AllergySub**. De même, l'exposition directe du substrat **AllergySub** à la lumière doit être évitée pour éviter la dégradation ou la décoloration par hydrolyse. Ne pas utiliser le substrat **AllergySub** s'il a pris une coloration jaune intense. Voir la section 10.3 « Contrôle qualité - signes d'instabilité ou de péremption des réactifs ».

5.1 Stockage des plaques de microtitration

Étant donné que les plaques de microtitration **Plate** sont sensibles à l'humidité de l'air, les sachets en aluminium doivent être refermés en toute sécurité après le retrait du nombre requis de plaques **Plate**. Le sachet déshydratant doit rester dans le sachet en aluminium pendant toute la période de stockage. Les plaques de microtitration **Plate** peuvent être conservées dans le sachet en aluminium correctement refermé pendant la durée de conservation spécifiée entre 2 et 8 °C.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Contenu du paquet

- Eau distillée ou désionisée

6.2 Équipement

- Photomètre pour plaques de microtitration (avec filtre 405 nm et 620/630 nm), plage de mesure DO de 0 à 3,5
- Laveur de plaques de microtitration pour 8 à 96 puits
- Pipette à 12 canaux
- Pipette à étapes multiples
- Agitateur horizontal (pour l'élution d'échantillons de sang capillaire)

7. Mesures de précaution

- Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*
- Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.
- Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche ; éviter tout contact avec la peau lésée et les muqueuses. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et se laver les mains après le test.
- Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs de test sont manipulés.
- Les sérums standards du kit ont été testés pour les anticorps contre le VIH et le VHC, le HBsAg et la syphilis selon la norme CFR 21.640 et étaient négatifs. Néanmoins, les échantillons de patients et tous les matériaux touchés doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux. Suivre les réglementations nationales de sécurité pour la manipulation et l'élimination des matières potentiellement infectieuses.
- Les sérums standards **Standard**, le conjugué **Conjugate** et le concentré de tampon de lavage **Wash buffer salt Tween** contiennent de l'azoture de sodium à titre de conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses. Le contact avec des tuyaux en plomb ou en cuivre peut provoquer la formation d'azotures métalliques explosifs.
- Ne pas laisser le réactif d'arrêt ou la solution de substrat entrer en contact avec la peau, les yeux ou les vêtements. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement à l'eau et au savon. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement à l'eau du robinet pendant 15 minutes en maintenant les paupières ouvertes. Consulter un ophtalmologue. En cas d'ingestion, boire beaucoup d'eau, éviter de vomir et consulter immédiatement un médecin.
- Après utilisation, tous les composants du kit doivent être éliminés de façon appropriée par l'utilisateur (voir les fiches techniques de sécurité des composants du kit).
- Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Le test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen a été développé pour tester le sérum humain et le sang capillaire.

Lors du prélèvement de sang veineux, le sérum doit être séparé du caillot le plus rapidement possible après une coagulation complète pour éviter l'hémolyse. Les échantillons sériques doivent être conservés dans un endroit frais (2 à 8 °C) ou congelés (-20 °C) jusqu'à ce qu'ils soient soumis à un test. Éviter des cycles répétés de congélation/décongélation du sérum ainsi que toute contamination bactérienne.

L'utilisation de sérums inactivés par la chaleur, lipémiques, hémolytiques, ictériques ou troubles peut donner lieu à des résultats erronés.

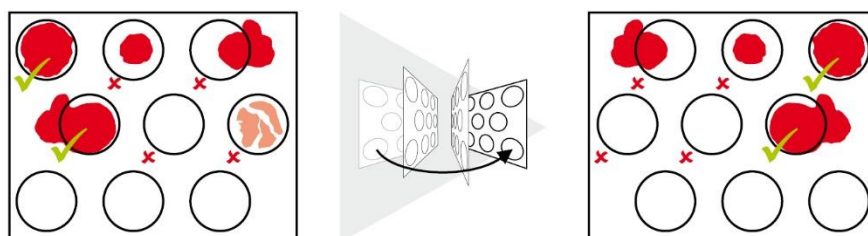
Lorsque des échantillons de sang capillaire sont utilisés dans le test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen, il est important d'utiliser l'équipement approprié (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Seul cet équipement a été validé pour ce test. Les échantillons de sang capillaire séché sur la carte de prélèvement de sang (composant des kits A8025 et A8025-BCC) sont stables pendant un maximum de 3 semaines lorsqu'ils sont conservés dans un endroit sec à température ambiante (20 à 25 °C). Ne pas conserver les échantillons de sang capillaire au réfrigérateur.

Tableau 20 : Stabilité des types d'échantillons

Sérum non dilué		Sérum dilué	Échantillon de sang capillaire séché	Éluat d'échantillon de sang capillaire
2 à 8 °C	-20 °C	20 à 25 °C	20 à 25 °C	20 à 25 °C
1 mois	> 3 mois	6 heures max.	3 semaines	6 heures max.

Remarque importante pour le traitement des échantillons de sang capillaire :

Les cercles sur la carte de prélèvement de sang doivent être complètement remplis de sang. Vérifiez également que les cercles sont bien humectés à l'arrière de la carte.



9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Tous les réactifs, les sérums du patient et la plaque de microtitration [Plate] doivent être amenés à température ambiante avant utilisation (important). Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation. Après utilisation, le kit de réactifs doit être conservé entre 2 et 8 °C.

Les plaques de microtitration enduites [Plate] ne peuvent pas être utilisées plusieurs fois. Ne pas utiliser les réactifs ou les plaques de microtitration [Plate] si

l'emballage est endommagé ou si les contenants ne sont pas hermétiquement fermés.

Les plaques de microtitration enduites [Plate] peuvent être utilisées avec les réactifs de différents lots de kits.

Tout écart par rapport aux durées et températures d'incubation spécifiées entraînera un décalage de la courbe standard par rapport au certificat.

D'importantes différences entre les valeurs des courbes standard peuvent donner lieu à des résultats de test non valides. Le client doit modifier (et valider) la durée d'incubation et/ou la température, par exemple, pour un traitement entièrement automatisé du test.

Ne pas réaliser le test à la lumière directe du soleil. Il est recommandé de recouvrir les plaques de microtitration [Plate] pendant les phases d'incubation.

9.2 Préparation du tampon de lavage

Dissoudre le contenu d'un paquet de sel de tampon de lavage [Wash buffer salt Tween] dans 1 litre d'eau distillée. Utiliser uniquement la quantité nécessaire pour chaque test. Le tampon de lavage dilué [Wash buffer salt Tween] n'a qu'une durée de conservation maximale limitée de 4 semaines (2 à 8 °C).

9.3 Préparation des plaques de microtitration

Les plaques de microtitration enduites [Plate] ne peuvent pas être utilisées directement. Avant le pipetage, les plaques [Plate] doivent être étiquetées avec le nom ou le numéro du patient.

9.4 Dilution de l'échantillon

9.4.1 Dilution de l'échantillon ; échantillons de sérum

Diluer l'échantillon de sérum avec le tampon de dilution de l'échantillon [Sample Buffer IgG] selon un rapport 1/100.

Tableau 21 : Préparations recommandées pour la dilution des échantillons

Jusqu'à 50 déterminations		Jusqu'à 100 déterminations		Jusqu'à 200 déterminations		Jusqu'à 300 déterminations	
Sérum	Tampon	Sérum	Tampon	Sérum	Tampon	Sérum	Tampon
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Éluat de l'échantillon ; échantillons de sang capillaire

Agiter l'échantillon de sang capillaire séché avec le tampon de dilution de l'échantillon [Sample Buffer IgG] dans un flacon approprié pendant 1 (à 14) heure(s) entre 20 et 25 °C, sur un agitateur horizontal. Pour chaque test, sortir les cercles perforés correspondants de la carte [Card]. Des gants jetables doivent être portés pour sortir les cercles remplis de sang séché de la carte [Card] avec le doigt. Il est également possible d'utiliser un objet stérile approprié, comme l'extrémité d'une pointe de pipette ou d'une spatule de laboratoire, pour sortir les cercles de la carte [Card].

Tableau 22 : Préparations d'éluat d'échantillon recommandées

Jusqu'à 50 déterminations		Jusqu'à 100 déterminations		Jusqu'à 200 déterminations		Jusqu'à 300 déterminations	
Échantillon	Tampon	Échantillon	Tampon	Échantillon	Tampon	Échantillon	Tampon
2 cercles	4,0 ml	4 cercles	8,0 ml	6 cercles	12,0 ml	8 cercles	16,0 ml

L'éluat de l'échantillon de sang capillaire correspond déjà à l'échantillon de patient dilué et est pipeté sur la plaque de microtitration [Plate] conformément aux instructions.

9.5 Première incubation (de l'échantillon)

Pipeter 50 µl de sérums standards [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], du contrôle [Control] high ou du contrôle de valeur seuil [Cut-Off] et le sérum de patient dilué ou l'éluat de l'échantillon de sang capillaire dans les puits de la plaque de microtitration [Plate] conformément au procédé de pipetage. Ensuite, incuber les plaques [Plate] pendant 90 minutes entre 20 et 25 °C. Les plaques peuvent être empilées dans l'ordre du pipetage ; veiller à couvrir la plaque supérieure.

9.6. Lavage

Laver les puits trois fois dans un laveur de microplaques en utilisant 350 µl de tampon de lavage dilué [Wash buffer salt Tween] pour chaque puits. Le siphonnage final doit être quantitatif, si possible. Les plaques [Plate] peuvent être tapotées sur un matériau absorbable après lavage pour éliminer toute solution de lavage résiduelle.

9.7 Deuxième incubation (du conjugué)

Pipeter 50 µl de conjugué [Conjugate] dans chaque puits. Ensuite, incuber les plaques [Plate] pendant 90 minutes entre 20 et 25 °C. Les plaques [Plate] peuvent être empilées dans l'ordre du pipetage ; veiller à couvrir la plaque [Plate] supérieure.

9.8. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.6.

9.9 Troisième incubation (du substrat)

Pipeter 50 µl de solution de substrat [AllergySub] dans chaque puits. Ensuite, incuber les plaques [Plate] pendant 60 minutes entre 20 et 25 °C. Maintenir les plaques incubées [Plate] à l'abri du soleil direct. Les plaques [Plate] peuvent être empilées dans l'ordre de pipetage ; veiller à couvrir la plaque [Plate] supérieure.

9.10 Arrêt de la réaction et exécution de la mesure

L'ajout de 50 µl de réactif d'arrêt [AllergyStop R] dans chaque puits arrête la réaction. Après avoir ajouté le réactif d'arrêt [AllergyStop R], « tapoter » doucement la plaque [Plate] pour obtenir un mélange complet dans les puits. Mesurer l'extinction à 405 nm par rapport à la longueur d'onde de référence de 620/630 nm. Les plaques [Plate] peuvent être à nouveau mesurées dans les 24 heures si elles sont recouvertes et réfrigérées.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de péremption des réactifs

10.1 Évaluation de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen : A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Pendant chaque procédure de test, chaque plaque [Plate] doit contenir les standards [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], et le contrôle [Control high]. Le test a été effectué correctement si les critères suivants sont remplis (toutes les informations sont basées sur une mesure différentielle de 405 nm à 620 nm (ou 630 nm) [DO_{405/620}]) :

[Standard 2]	moins	[Standard 1]	≥ 0,08
[Standard 3]	moins	[Standard 2]	≥ 0,30
[Standard 4]	moins	[Standard 3]	≥ 0,70
[Standard 4]			> 1,0

10.2 Évaluation de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen : A0301, A8921, A8931

Pendant chaque procédure de test, chaque plaque [Plate] doit contenir le contrôle de valeur seuil [Cut-Off]. Le test a été effectué correctement si le critère suivant est respecté (informations basées sur une mesure différentielle de 405 nm à 620 nm ou 630 nm [DO_{405/620}]) :

[Cut-Off]	≥ 0,20
-----------	--------

10.3 Signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Un écart par rapport à la valeur de référence attendue, une turbidité des réactifs ou une coloration jaune intense du substrat **AllergySub** avant remplissage des puits peut indiquer une expiration des réactifs.

Si les valeurs de référence spécifiées ne sont pas respectées, les éléments suivants doivent être vérifiés avant de répéter le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test
- Inspection visuelle des composants du kit à la recherche d'une contamination ou de fuites

Ne pas utiliser de solution de substrat **AllergySub** dont la coloration jaunâtre intense. Si les valeurs indiquées ne sont pas obtenues après avoir recommencé le test, contacter le fabricant.

11. Évaluation et interprétation

11.1 Résultats sanguins sériques et capillaires

11.1.1 Base des calculs

Les calculs doivent être basés sur une courbe standard pour l'évaluation quantitative et l'interprétation du test. Pour cela, les standards doivent être exécutés sur chaque plaque. Les valeurs d'extinction du standard sont tracées en fonction des concentrations associées ($\mu\text{g/ml}$) semi-logarithmiquement (graphique $y\text{-ln}/x\text{-log}$) dans un graphique de point à point pour générer la courbe standard. Dans les analyses en double du standard, les extinctions moyennes des analyses en double des standards seront utilisées pour générer la courbe standard. Les concentrations d'anticorps anti-IgG spécifiques en $\mu\text{g/ml}$ peuvent être déterminées en fonction de la courbe standard à partir des valeurs de DO mesurées, puis converties en classes d'IgG (voir tableaux 23 et 24). L'évaluation peut également être effectuée à l'aide d'un logiciel approprié. L'évaluation et l'interprétation des tests qualitatifs sont expliquées dans le tableau.

La courbe standard de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen a été étalonnée pour une préparation de référence internationale : 1^e Préparation internationale de référence (IRP) 67/86 de l'OMS pour les IgG humaines.

11.1.2 Concentrations, classes d'IgG et calculs pour RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen : A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tableau 23 : Relation quantitative entre les concentrations d'IgG déterminées [$\mu\text{g/ml}$], les classes d'IgG et la concentration d'IgG spécifique de l'antigène du patient à partir d'un échantillon de sérum

Concentration d'IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Classe d'IgG	Teneur en IgG spécifiques aux antigènes	Classe d'IgG alternative	Teneur en IgG spécifiques aux antigènes
< 7,5	0	Négatif	0	Négatif
7,5 à < 12,5	1	Modérée	1	Élevée
12,5 à < 20,0	2	Élevée		
20,0 à < 50,0	3	Élevée	2	Très élevée
$\geq 50,0$	4	Très élevée		

Tableau 24 : Relation quantitative entre les concentrations déterminées [$\mu\text{g/ml}$], les classes d'IgG et la concentration d'IgG spécifique de l'antigène du patient à partir d'un échantillon de sang capillaire

Concentration d'IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Classe d'IgG	Teneur en IgG spécifiques aux antigènes	Classe d'IgG alternative	Teneur en IgG spécifiques aux antigènes
< 8,0	0	Négatif	0	Négatif
8,0 à < 18,0	1	Modérée	1	Élevée
18,0 à < 40,0	2	Élevée	2	Très élevée
$\geq 40,0$	3	Élevée		

Ces valeurs sont données à titre indicatif. Il n'existe pas de standards internationaux pour les IgG spécifiques aux aliments.

Tableau 25 : Évaluation qualitative et interprétation de RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) et de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) et Prescreen Customized Plate (A8931) à partir d'un échantillon de sérum ou de sang capillaire

Rapport	Évaluation	Interprétation
$\leq 1,0$	-	Négatif
$> 1,0 \text{ à } < 2,5$	+	Modérée
$\geq 2,5 \text{ à } < 5,0$	++	Élevée
$\geq 5,0$	+++	Élevée

Rapport = $DO_{405/620}$ (échantillon) $\div$ $DO_{405/620}$ (valeur seuil). Le test est valide si la valeur $DO_{405/620}$ de la valeur seuil est $\geq 0,20$.

12. Limites de la méthode

Les concentrations d'IgG déterminées à l'aide de ce système de test fournissent des informations concernant le niveau de sensibilisation du patient aux antigènes ou mélanges d'antigènes alimentaires étudiés.

Il n'est pas possible d'en déduire une corrélation entre le niveau d'une concentration d'IgG déterminée et l'apparition ou la gravité de symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés au regard des symptômes cliniques dans leur ensemble.

Des résultats de test faux-positifs peuvent être générés à la suite d'une réactivité croisée de l'antigène testé avec les épitopes d'autres antigènes.

La fabrication d'extraits alimentaires et le revêtement de plaques de microtitration n'éliminent pas toujours les épitopes antigéniques, ce qui peut conduire à des résultats faussement négatifs. Les anticorps IgG contre les antigènes alimentaires, qui se forment uniquement pendant la préparation industrielle, la préparation alimentaire ou la digestion, peuvent ne pas être détectables car non présents dans l'aliment d'origine pour lequel le patient est testé.

13. Performances

13.1. Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen test a été déterminée à l'aide d'échantillons de référence couvrant l'ensemble de la plage de mesure depuis le négatif jusqu'au positif élevé. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots de réactifs et deux plaques de microtitration. Concernant la détermination de la reproductibilité inter-essais, des échantillons de référence de cinq jours de travail consécutifs ont été analysés en triple, avec deux passages par jour. Chaque mesure a été effectuée par deux techniciens.

Tableau 26 : Mesure de la précision intra-essai

CV moyen (%)	8,1
--------------	-----

Tableau 27 : Mesure de la précision inter-essais

CV moyen (%)	11,1
--------------	------

Tableau 28 : Mesure de la précision inter-lots

Échantillons de sérum	1	2	3
Nombre de lots de kits de réactifs	3	3	3
Nombre de lots de plaques de microtitration	2	2	2
Nombre d'allergènes	44	44	44
Nombre de mesures	264	264	264
Coefficient de variation	25,0 %	16,9 %	15,4 %
Coefficient de variation moyen	19,1 %		

Les mesures de précision intra-essai, inter-essais et inter-lots laissent à penser que le test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen génère des résultats précis et reproductibles dans l'ensemble de la plage de mesure dans des conditions constantes et changeantes et avec plusieurs lots de kits.

13.2 Stabilité

13.2.1 Stabilité pendant le transport

La stabilité des composants du kit en conditions de variations de température induites par le transport a été testée. Deux scénarios de transport simulé (TC 1 et TC 2) et un véritable transport outre-mer vers l'Australie (TC 3) ont été étudiés. Les fluctuations de température ont été documentées tout au long de la période de transport. Des températures entre 4,5 et

46 °C ont été enregistrées. Les composants du kit ont été comparés à ceux du kit de référence qui a été conservé à la température prescrite (2 à 8 °C).

Aucun impact sur les résultats après le transport des composants du kit n'a été détecté dans aucun des scénarios, ce qui signifie que RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen reste stable dans les conditions de transport.

13.2.2 Stabilité du kit après ouverture

La stabilité des composants du kit a été testée après ouverture de chaque composant pendant une période de 6 semaines. L'analyse a été réalisée en utilisant deux sérums positifs qui, après 2,4 et 6 semaines, ont été comparés aux résultats des tests de la semaine 0, qui correspondent à 100 % (% de REF). L'analyse a également été effectuée sur une plaque de microtitration laissée découverte après 6 semaines combinée avec un kit de réactifs récemment ouvert (Ref. Kit) et une plaque de microtitration récemment ouverte combinée avec un kit de réactifs laissé découvert (Ref. Plate). Les kits ont été conservés entre 2 et 8 °C.

Aucune perte de stabilité n'a été détectée dans les réactifs ou les plaques de microtitration sur une période d'au moins 6 semaines. Les résultats des tests obtenus avec ces composants du kit n'ont pas montré d'écart significatif non plus par rapport aux références.

13.3 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique est une mesure de la précision d'un test à de faibles concentrations de l'analyte.

La valeur LOB moyenne de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen est de 2,8 µg/ml et la valeur LOD moyenne est de 4,0 µg/ml.

13.4. Substances interférentes

Les substances interférentes potentielles suivantes ont été testées : hémoglobine, bilirubine, triglycérides, HSA.

Aucun impact relatif sur le résultat de test de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen n'a été détecté pour l'une quelconque des substances indiquées.

Il est à noter cependant que les combinaisons de substances n'ont pas été testées. Par conséquent, un résultat invraisemblable en cas d'échantillons de patients hémolytiques, hémorragiques ou lipémiques doit toujours être étudié spécifiquement au regard du tableau clinique global du patient.

14. Historique des versions

Numéro de version	Section et désignation
29/08/2016	Version précédente
04/02/2020	Révision générale : Nouvelle configuration
04/02/2020	1. Application 4. Contenu du paquet 8. Prélèvement et conservation des échantillons 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité – signes d’instabilité ou de péremption des réactifs 11. Évaluation et interprétation 13. Performances Symboles spécifiques des tests
10/11/2020	13. Performances

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d’emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de conservation
	Numéro d’article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques des tests

AllergyStop R	Réactif d'arrêt
AllergySub	Solution de substrat, prête à l'emploi
Card	Carte de prélèvement de sang
Plate	Plaque de microtitration
Conjugate	Conjugué
Control high	Contrôle positif
Sample Buffer IgG	Tampon de dilution d'échantillon
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Sel de tampon de lavage

16. Bibliographie

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. Il test RIDASCREEN® Spec. IgG è un dosaggio immunoenzimatico quantitativo o qualitativo (EIA) per la determinazione di anticorpi IgG specifici contro allergeni alimentari. Il test è progettato per la processazione manuale ed è una combinazione di reagenti e piastre da microtitolazione associate. Combinare fra loro solo componenti della linea Foodscreen. Il test utilizza siero umano e sangue capillare umano. È un aiuto diagnostico in caso di sospetta ipersensibilità alimentare mediata da IgG.

2. Sintesi e spiegazione del test

L'intolleranza alimentare può essere individuata rivelando anticorpi IgG specifici. Le intolleranze alimentari possono essere il risultato di una maggiore permeabilità della parete intestinale verso alimento specifico. Immunocomplessi costituiti da anticorpi IgG e alimenti possono formarsi a seguito della diffusione degli alimenti o dei loro ingredienti attraverso la parete intestinale nel tessuto circostante; questi complessi possono innescare risposte infiammatorie che possono portare a diverse malattie. Questo è un test di tipo EIA. Tutte le piastre da microtitolazione elencate al punto 4, "Reagenti forniti" sono state validate in combinazione con il kit di reagenti A8020 di R-Biopharm AG. I reagenti RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen non devono essere utilizzati in combinazione con piastre da microtitolazione di altri produttori e le piastre da microtitolazione RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen non devono essere utilizzate con reagenti di altri produttori.

3. Principio del test

Gli estratti alimentari che possono causare una reazione di intolleranza vengono adsorbiti sulle superfici interne dei pozzetti di una piastra da microtitolazione. Campioni di pazienti umani (siero o eluato da sangue capillare), sieri standard e sieri di controllo vengono pipettati nelle cavità appropriate e incubati a temperatura ambiente. Durante l'incubazione, gli anticorpi IgG specifici si legano ai corrispondenti antigeni alimentari adsorbiti. Il materiale non legato viene rimosso mediante lavaggio. Viene quindi aggiunto un anticorpo contro le IgG umane coniugato con fosfatasi alcalina. Durante un'ulteriore incubazione, questo coniugato anticorpale si lega agli anticorpi IgG umani del campione del paziente. Il coniugato non legato viene rimosso mediante lavaggio. Infine, dopo essere stato aggiunto, il substrato viene defosforilato dalla fosfatasi alcalina e si trasforma in un prodotto di colore giallo. L'intensità della colorazione gialla è proporzionale alla quantità di anticorpi specifici dell'antigene nel siero e può essere misurata mediante fotometria a 405 nm, sottraendo la misurazione alla lunghezza d'onda di riferimento di 620/630 nm. La curva standard viene utilizzata per quantificare i risultati della misurazione. (Importante: le piastre A0301, A8921 e A8931 consentono solo una valutazione qualitativa).

4. Contenuto della confezione

Tabella 1: Contenuto di RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione, personalizzata, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), senza curva standard, qualitativa
-------	--------	---

Tabella 2: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5	Sale per 5 litri di tampone di lavaggio, 10 mM di PBS, 0,05% di TWEEN20
Standard 1	30 ml	Siero standard 1, siero umano diluito; concentrazione: 2,5 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 2	30 ml	Siero standard 2, siero umano diluito; concentrazione: 10,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 3	30 ml	Siero standard 3, siero umano diluito; concentrazione: 40,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 4	30 ml	Siero standard 4, siero umano diluito; concentrazione: 200,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Control high	30 ml	Siero di controllo, siero umano diluito; per la concentrazione vedere il certificato; in soluzione proteica stabilizzata
Conjugate IgG	1 l	Coniugato di IgG anti umane (capra), pronto all'uso; anticorpi coniugati con fosfatasi alcalina in soluzione proteica stabilizzata

AllergySub	1 l	Soluzione di substrato, pronta all'uso, contiene pNPP
AllergyStop R	1 l	Reagente bloccante, pronto all'uso

Tabella 3: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Tampone di diluizione, pronto all'uso
Wash buffer salt Tween	6	Sale per 1 litri di tampone di lavaggio, 10 mM di PBS, 0,05% di TWEEN20
Standard 1	2 ml	Siero standard 1, siero umano diluito; concentrazione: 2,5 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 2	2 ml	Siero standard 2, siero umano diluito; concentrazione: 10,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 3	2 ml	Siero standard 3, siero umano diluito; concentrazione: 40,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Standard 4	2 ml	Siero standard 4, siero umano diluito; concentrazione: 200,0 µg di IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata
Control high	2 ml	Siero di controllo, siero umano diluito; per la concentrazione vedere il certificato; in soluzione proteica stabilizzata
Conjugate	80 ml	Coniugato di IgG anti umane (capra), pronto all'uso; anticorpi coniugati con fosfatasi alcalina in soluzione proteica stabilizzata
AllergySub	80 ml	Soluzione di substrato, pronta all'uso, contiene pNPP
AllergyStop R	80 ml	Reagente bloccante, pronto all'uso

Tabella 4: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione, personalizzata, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	--

Tabella 5: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Piastra da microtitolazione 1, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabella 6: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Piastra da microtitolazione 2, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabella 7: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Piastra da microtitolazione 3, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabella 8: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Piastra da microtitolazione 6, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabella 9: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione Panel 1, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	--

Tabella 10: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione Panel 2, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	--

Tabella 11: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione ES, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	---

Tabella 12: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione GS rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	--

Tabella 13: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione GB, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	---

Tabella 14: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione GP1 rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	---

Tabella 15: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione GP2 rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	---

Tabella 16: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione GK, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-------	--------	---

Tabella 17: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Piastra da microtitolazione VEG, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), inclusa curva standard, quantitativa
-----------	-----------------	--

Tabella 18: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione Prescreen 1, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), incluso cut-off, qualitativo
Cut-off	5 ml	Controllo di cut-off, siero umano diluito; concentrazione: 10 µg IgG/ml; in soluzione proteica stabilizzata

Tabella 19: Contenuto di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Piastra da microtitolazione Prescreen, personalizzata, rivestita con vari antigeni alimentari (vedere tabella degli allergeni acclusa), incluso cut-off, qualitativo
Cut-off	5 ml	Controllo di cut-off, siero umano diluito; in soluzione proteica stabilizzata

I materiali pericolosi sono indicati in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dati di sicurezza (SDS) all'indirizzo www.r-biopharm.com.

5. Istruzioni di conservazione

Il kit del test deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C e può essere utilizzato fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito **Wash buffer salt Tween** ha una durata massima di 4 settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. La contaminazione microbica deve essere evitata. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida. Evitare di contaminare la soluzione di substrato **AllergySub** con il coniugato **Conjugate** perché il substrato **AllergySub** potrebbe scolorire. Allo stesso modo, l'esposizione diretta del substrato **AllergySub** alla luce deve essere evitata per prevenire il degrado o lo scolorimento per idrolisi. Non utilizzare il

substrato **AllergySub** se ha sviluppato un'intensa colorazione gialla. Vedere 10.3 "Controllo di qualità – Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti"

5.1 Conservazione delle piastre da microtitolazione

Dal momento che le piastre da microtitolazione **Plate** sono sensibili all'umidità dell'aria, i sacchetti di alluminio devono essere richiusi accuratamente dopo aver prelevato il numero richiesto di piastre **Plate**. Il sacchetto di materiale igroscopico deve rimanere nel sacchetto di alluminio per tutto il periodo di conservazione. La piastra da microtitolazione **Plate** può essere conservata nel sacchetto di alluminio correttamente sigillato, per la durata di conservazione specificata, tra 2 e 8 °C.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Contenuto della confezione

- Acqua distillata o deionizzata

6.2 Attrezzatura

- Fotometro per piastre da microtitolazione (con filtro da 405 nm e 620/630 nm), campo di misura da 0 a 3,5 OD
- Dispositivo di lavaggio per piastra da microtitolazione da 8 a 96 pozzetti
- Pipetta a 12 canali
- Pipetta multi-step
- Agitatore orizzontale (per l'eluizione di campioni di sangue capillare)

7. Avvertenze e misure precauzionali

- Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*
- Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso.
- Non pipettare campioni o reagenti con la bocca; evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test.
- Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni o con i reagenti del test.
- I sieri standard contenuti nel kit sono stati testati per la presenza di anticorpi HIV e HCV, HBsAg e sifilide secondo CFR 21.640 e sono risultati negativi. Tuttavia, i campioni provenienti dai pazienti e tutti i materiali con cui gli operatori entrano in contatto devono essere trattati come potenzialmente infettivi. Seguire le norme di sicurezza nazionali per la manipolazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infettivo.

- I sieri standard **Standard**, il coniugato **Conjugate** e il tampone di lavaggio concentrato **Wash buffer salt Tween** contengono sodio azide come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose. Il contatto con tubi di piombo o rame può causare la formazione di azoturi metallici esplosivi.
- Evitare che il reagente bloccante o la soluzione di substrato vengano a contatto con pelle, occhi o indumenti. In caso di contatto con la pelle, lavare immediatamente con acqua e sapone. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente sotto l'acqua corrente per 15 minuti tenendo le palpebre aperte. Consultare un oculista. In caso di ingestione bere molta acqua, evitare il vomito e consultare immediatamente un medico.
- Tutti i componenti del kit devono essere correttamente smaltiti dopo l'uso (consultare le schede di sicurezza per i componenti nel kit).
- Tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguati disinfettanti o messi in autoclave per almeno un'ora a 121 °C.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è stato sviluppato per testare siero e sangue capillare umano.

Dopo il prelievo di sangue venoso, il siero deve essere separato dal coagulo il più rapidamente possibile, dopo coagulazione completa, per evitare l'emolisi. I campioni di siero devono essere refrigerati (da 2 a 8 °C) o congelati (-20 °C) fino al momento di eseguire il test. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente il siero; evitare la contaminazione batterica. L'uso di sieri inattivati dal calore, lipemici, emolitici, itterici o torbidi può produrre risultati errati.

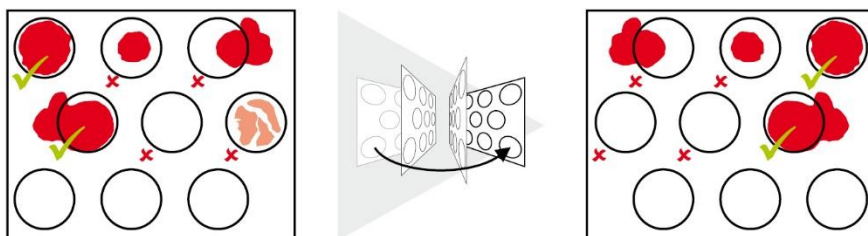
Quando vengono utilizzati campioni di sangue capillare nel test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è necessario utilizzare dispositivi adeguati (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Solo questi dispositivi sono stati validati per questo test. I campioni di sangue capillare essiccato sulla Blood Collection Card (componente dei kit A8025 e A8025-BCC) sono stabili per un massimo di 3 settimane se conservati in un luogo asciutto a temperatura ambiente (da 20 a 25 °C). Non conservare i campioni di sangue capillare in frigorifero.

Tabella 20: Stabilità dei tipi di campione

Siero non diluito		Siero diluito	Campioni di sangue capillare essiccato	Eluato del campione di sangue capillare
da +2 a 8°C	-20°C	20-25 °C	20-25 °C	20-25 °C
1 mese	> 3 mesi	Max. 6 ore	3 settimane	Max. 6 ore

Nota importante per la processazione dei campioni di sangue capillare:

i cerchi sulla card devono essere ben intrisi di sangue. Controllare anche il retro della card per verificare che il sangue nei cerchi sia passato dall'altra parte.



9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti, i sieri dei pazienti e la piastra da microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso (importante). Mescolare bene i reagenti immediatamente prima dell'uso. Dopo l'uso, il kit di reagenti deve essere conservato tra 2 e 8 °C.

Le piastre da microtitolazione rivestite **Plate** sono monouso. Non utilizzare reagenti o piastre da microtitolazione **Plate** se la confezione è danneggiata o i contenitori non sono sigillati ermeticamente.

Le piastre da microtitolazione rivestite **Plate possono essere utilizzate con i reagenti di lotti di kit diversi.**

Qualsiasi deviazione dai tempi e dalle temperature di incubazione specificati causerà lo spostamento della curva standard rispetto al certificato. Differenze significative nei valori della curva standard possono portare a risultati non validi. È compito del cliente modificare (e convalidare) il tempo e/o la temperatura di incubazione, ad esempio, per la processazione completamente automatizzata del test.

Non eseguire il test alla luce solare diretta. Si raccomanda di coprire le piastre da microtitolazione **Plates** durante le fasi di incubazione.

9.2 Preparazione del tampone di lavaggio

Sciogliere il contenuto di una confezione di sale per tampone di lavaggio **Wash buffer salt Tween** in 1 litro di acqua distillata. Utilizzare solo la quantità necessaria per ciascun test. Il tampone di lavaggio diluito **Wash buffer salt Tween** ha una durata di conservazione limitata a max. 4 settimane (da 2 a 8 °C).

9.3 Preparazione delle piastre da microtitolazione

Le piastre da microtitolazione rivestite **Plate** non possono essere utilizzate direttamente. Prima del pipettaggio, le piastre **Plate** devono essere etichettate con il nome o il numero del paziente.

9.4 Diluizione del campione

9.4.1 Diluizione del campione; campioni di siero

Diluire il campione di siero con il tampone di diluizione **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tabella 21: Preparazioni delle diluizioni del campione raccomandate

Fino a 50 determinazioni		Fino a 100 determinazioni		Fino a 200 determinazioni		Fino a 300 determinazioni	
Siero	Tampone	Siero	Tampone	Siero	Tampone	Siero	Tampone
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Eluizione del campione; campioni di sangue capillare

Agitare il campione di sangue capillare essiccato con il tampone di diluizione **Sample Buffer IgG** in una cuvetta adeguata da 1 a 14 ore a 20-25 °C su un agitatore orizzontale. Perforare i cerchi della **Card** corrispondenti a ogni test. Indossare guanti monouso e aiutandosi con un dito perforare i cerchi intrisi di sangue secco della **Card**. Per perforare i cerchi della **Card** è inoltre possibile utilizzare un oggetto sterile appropriato, come l'estremità del puntale di una pipetta o una spatola da laboratorio.

Tabella 22: Preparazione delle eluizioni del campione raccomandate

Fino a 50 determinazioni		Fino a 100 determinazioni		Fino a 200 determinazioni		Fino a 300 determinazioni	
Campione	Tampone	Campione	Tampone	Campione	Tampone	Campione	Tampone
2 cerchi	4,0 ml	4 cerchi	8,0 ml	6 cerchi	12,0 ml	8 cerchi	16,0 ml

L'eluato del campione di sangue capillare corrisponde già al campione diluito del paziente e viene pipettato nella piastra da microtitolazione **Plate** secondo le istruzioni.

9.5 Prima incubazione (incubazione del campione)

Pipettare 50 µl di sieri standard **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, controllo **Control high** o **Cut-Off** e il siero del paziente diluito o l'eluato del campione di sangue capillare nei pozzetti della piastra da microtitolazione **Plate** secondo lo schema di pipettaggio. Quindi, incubare le piastre **Plate** per 90 minuti a

20-25 °C. Le piastre possono essere impilate nell'ordine di pipettaggio; coprire la piastra superiore.

9.6. Lavaggio

Lavare i pozzetti tre volte in un dispositivo di lavaggio per micropiastre usando 350 µl di tampone di lavaggio diluito **Wash buffer salt Tween** per ciascun pozzetto. Se possibile, il sifonamento finale dovrebbe essere quantitativo. Le piastre **Plate** si possono picchiettare su materiale assorbente dopo il lavaggio per rimuovere l'eventuale residuo di soluzione di lavaggio.

9.7 Seconda incubazione (incubazione del coniugato)

Pipettare 50 µl di coniugato **Conjugate** in ogni pozzetto. Quindi, incubare le piastre **Plate** per 90 minuti a 20-25 °C. Le piastre **Plate** si possono impilare nell'ordine di pipettaggio; coprire la piastra **Plate** superiore.

9.8. Lavaggio

Lavare come descritto al punto 9.6.

9.9 Terza incubazione (incubazione del substrato)

Pipettare 50 µl di soluzione di substrato **AllergySub** in ogni pozzetto. Successivamente incubare le piastre **Plate** per 60 minuti a 20-25 °C. Tenere le piastre incubate **Plate** al riparo della luce solare diretta. Le piastre **Plate** possono essere impilate nell'ordine di pipettaggio; coprire la piastra **Plate** superiore.

9.10 Interruzione della reazione ed esecuzione della misurazione

Aggiungere 50 µl di reagente bloccante **AllergyStop R** in ciascun pozzetto per interrompere la reazione. Dopo l'aggiunta del reagente bloccante **AllergyStop R** picchiettare delicatamente la piastra **Plate** per ottenere una miscelazione accurata all'interno dei pozzetti. Misurare l'estinzione a 405 nm rispetto alla lunghezza d'onda di riferimento di 620/630 nm. Le piastre **Plate** possono essere sottoposte a una nuova misurazione entro 24 ore se sono coperte e refrigerate.

10. Controllo qualità – Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

10.1 Valutazione di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Durante l'esecuzione del test, ogni piastra **Plate** deve contenere gli standard **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** e il controllo **Control high**. Il test si ritiene eseguito correttamente se sono soddisfatti i

seguenti criteri (tutte le informazioni si basano su una misurazione differenziale da 405 nm a 620 nm (o 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	meno	Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	meno	Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	meno	Standard 3	$\geq 0,70$
Standard 4			$> 1,0$

10.2 Valutazione di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Durante l'esecuzione del test, ogni piastra [Plate] deve contenere il controllo di cut-off [Cut-Off]. Il test si ritiene eseguito correttamente se è soddisfatto il seguente criterio (informazioni basate su una misurazione differenziale da 405 nm a 620 nm o 630 nm [OD_{405/620}]):

[Cut-Off]	$\geq 0,20$
-----------	-------------

10.3 Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Una deviazione dai valori di riferimento attesi, la torbidità dei reagenti o una intensa colorazione gialla del substrato [AllergySub] prima dell'aggiunta ai pozzetti possono indicare che il reagente è scaduto.

Se i valori di riferimento fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Prestazioni funzionali dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Ispezione visiva dei componenti del kit per escludere contaminazione o perdite.

Non utilizzare la soluzione di substrato [AllergySub] se presenta un'intensa colorazione giallastra. Se dopo aver ripetuto il test non si ottengono i valori indicati contattare il produttore.

11. Valutazione e interpretazione

11.1 Risultati del siero e del sangue capillare

11.1.1 Base per il calcolo

Per la valutazione quantitativa e l'interpretazione del test i calcoli devono basarsi su una curva standard. Per tale motivo, gli standard devono essere eseguiti su ogni piastra. Per generare la curva standard, i valori di estinzione dello standard sono tracciati semi-logaritmicamente (grafico y-ln-/x-log) in funzione delle relative concentrazioni (µg/ml) in un grafico punto-punto. Nelle analisi in duplicato dello standard, per generare la curva standard vengono utilizzate le estinzioni medie delle

analisi. Le concentrazioni degli anticorpi IgG specifici in µg/ml sono determinate sulla base della curva standard dai valori OD misurati e quindi convertite in classi IgG (vedere Tabelle 23 e 24). La valutazione può anche essere effettuata utilizzando un software appropriato. La valutazione e l'interpretazione del test qualitativo sono spiegate nella tabella.

La curva standard di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è stata calibrata su una preparazione di riferimento internazionale: 1° IRP 67/86 dell'OMS per le IgG umane.

11.1.2 Concentrazioni, classi IgG e calcoli per RIDASCREEN® Spec. IgG

Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabella 23: Relazione quantitativa tra le concentrazioni di IgG determinate [µg/ml], le classi IgG e la concentrazione di IgG specifiche dell'antigene del paziente in un campione di siero

Concentrazione di IgG [µg/ml]	Classe IgG	Contenuto di IgG specifiche dell'antigene	Classe IgG alternativa	Contenuto di IgG specifiche dell'antigene
< 7,5	0	Negativo	0	Negativo
da 7,5 a < 12,5	1	Leggero	1	Aumentato
da 12,5 a < 20,0	2	Aumentato		
da 20,0 a < 50,0	3	Alto	2	Molto aumentato
> 50,0	4	Molto alto		

Tabella 24: Relazione quantitativa tra le concentrazioni determinate [µg/ml], le classi IgG e la concentrazione di IgG specifiche dell'antigene del paziente in un campione di sangue capillare

Concentrazione di IgG [µg/ml]	Classe IgG	Contenuto di IgG specifiche dell'antigene	Classe IgG alternativa	Contenuto di IgG specifiche dell'antigene
< 8,0	0	Negativo	0	Negativo
da 8,0 a < 18,0	1	Leggero	1	Aumentato
da 18,0 a < 40,0	2	Aumentato	2	Molto aumentato
> 40,0	3	Alto		

Questi valori sono solo indicativi. Non esistono standard internazionali per le IgG specifiche per gli alimenti.

Tabella 25: Valutazione qualitativa e interpretazione di RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) e RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) e Prescreen Customized Plate (A8931) da un campione di siero o sangue capillare

Rapporto	Valutazione	Interpretazione
$\leq 1,0$	-	Negativo
da $> 1,0$ a $< 2,5$	+	Leggero
da $\geq 2,5$ a $< 5,0$	++	Aumentato
$> 5,0$	+++	Alto

Rapporto = $OD_{405/620}$ (campione) $\div$ $OD_{405/620}$ (cut-off). Il test è valido se $OD_{405/620}$ del cut-off è $\geq 0,20$.

12. Limiti del metodo

Le concentrazioni di IgG determinate con questo sistema analitico forniscono informazioni sul livello di sensibilizzazione del paziente per quanto riguarda gli antigeni alimentari o i mix esaminati.

Su questa base non è possibile dedurre una correlazione tra il livello di una determinata concentrazione di IgG e la comparsa o la gravità dei sintomi clinici. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati in combinazione con la sintomatologia clinica nel suo complesso.

Data la cross-reattività dell'antigene testato con gli epitopi di altri antigeni, il test potrebbe produrre risultati falsi positivi.

La preparazione degli estratti di alimenti e il rivestimento delle piastre da microtitolazione non sempre eliminano gli epitopi antigenici; questo può portare a risultati falsi negativi. Gli anticorpi IgG contro gli antigeni alimentari che compaiono solo durante la preparazione industriale, la preparazione dell'alimento o la digestione potrebbero non essere rivelabili perché non sono presenti negli alimenti originali per i quali il paziente effettua il test.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Precisione

La riproducibilità del test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è stata determinata utilizzando campioni di riferimento che coprono l'intero intervallo di misurazione da

negativo ad alto positivo. Sono stati determinati i valori medi e il coefficiente di variazione (CV) per tre lotti di reagenti e due piastre da microtitolazione. Per la determinazione della riproducibilità inter-test, i campioni di riferimento di cinque giorni lavorativi consecutivi sono stati analizzati in triplicato con due serie al giorno. Le misurazioni sono state eseguite da due operatori.

Tabella 26: Misurazione della precisione intra-test

CV medio (%)	8,1
--------------	-----

Tabella 27: Misurazione della precisione inter-test

CV medio (%)	11,1
--------------	------

Tabella 28: Misurazione della precisione inter-lotto

Campioni di siero	1	2	3
Numero di lotti dei kit di reagenti	3	3	3
Numero di lotti delle piastre da microtitolazione	2	2	2
Numero di allergeni	44	44	44
Numero di misurazioni	264	264	264
Coefficiente di variazione	25,0%	16,9%	15,4%
Coefficiente di variazione medio	19,1%		

Le misurazioni della precisione intra-test, inter-test e inter-lotto suggeriscono che i test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen generano risultati accurati e riproducibili nell'intero campo di misura in condizioni costanti e variabili e su diversi lotti di kit.

13.2 Stabilità

13.2.1 Stabilità di trasporto

I componenti del kit sono stati testati per controllarne la stabilità in presenza di sbalzi di temperatura dovuti al trasporto. Sono stati studiati due scenari di trasporto simulato (TC 1 e TC 2) e un vero trasporto via mare diretto in Australia (TC 3). Gli sbalzi termici sono stati documentati durante l'intera durata del trasporto. Sono state registrate temperature fra 4,5 °C e 46 °C. I componenti del kit sono stati confrontati con il kit di riferimento, che è stato conservato alla temperatura prescritta (da 2 a 8 °C).

Nessuno degli scenari ha evidenziato conseguenze sui risultati dopo il trasporto dei componenti del kit; questo significa che RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è stabile in condizioni di trasporto.

13.2.2 Stabilità del kit dopo l'apertura

La stabilità dei singoli componenti del kit dopo l'apertura è stata testata per un periodo di 6 settimane. L'analisi è stata condotta utilizzando due sieri positivi, che dopo 2, 4 e 6 settimane sono stati confrontati con i risultati del test della settimana 0, corrispondenti al 100% (% di RIF). L'analisi è stata condotta anche su una piastra da microtitolazione lasciata scoperta per 6 settimane, combinata con un kit reagenti appena aperto (kit rif.) e su una piastra da microtitolazione appena aperta abbinata a un kit di reagenti lasciato aperto (piastra rif.). I kit sono stati conservati tra 2 e 8 °C.

Non sono state rilevate perdite di stabilità nei reagenti o nelle piastre da microtitolazione per un periodo di almeno 6 settimane. I risultati dei test ottenuti con questi componenti non hanno mostrato deviazioni significative rispetto ai prodotti di riferimento.

13.3 Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è una misura dell'accuratezza di un test a basse concentrazioni dell'analita.

Il LOB medio di RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen è 2,8 µg/ml; il LOD medio è 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenti

Sono state testate le seguenti sostanze: emoglobina, bilirubina, trigliceridi, HSA.

I risultati del test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen non hanno mostrato interferenze per nessuna delle sostanze elencate.

Ricordiamo che tuttavia le sostanze non sono state testate in combinazione. Pertanto, un risultato non plausibile in caso di campioni emolitici, emorragici o lipemici deve essere sempre analizzato in dettaglio rispetto al quadro clinico generale del paziente.

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Sezione e denominazione
2016-08-29	Versione precedente
2020-02-04	Revisione generale: Nuovo layout
2020-02-04	1. Campo di applicazione 4. Contenuto della confezione 8. Raccolta e conservazione dei campioni 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità – Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti 11. Valutazione e interpretazione 13. Prestazioni e caratteristiche Simboli specifici del test
2020-11-10	13. Prestazioni e caratteristiche

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere le istruzioni per l'uso
	Numero di lotto
	Data di scadenza
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

AllergyStop R	Reagente bloccante
AllergySub	Soluzione per substrato, pronta all'uso
Card	Card per la raccolta del sangue
Plate	Piastra da microtitolazione
Conjugate	Coniugato
Control high	Controllo positivo
Sample Buffer IgG	Tampone di diluizione
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Sale per tampone di lavaggio Tween

16. Bibliografia

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Beoogd gebruik

Voor *in-vitro*-diagnostisch gebruik. De RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test is een kwantitatief of kwalitatief enzym-immunoassay (EIA) voor de bepaling van specifieke IgG-antilichamen tegen voedselallergenen. De test is ontworpen voor handmatige verwerking en is een combinatie van reagentia en de bijbehorende microtiterplaatvarianten. Alleen de Foodscreen-productcomponenten mogen met elkaar worden gecombineerd. De test is geschikt voor gebruik van humaan serum en humane capillairbloedmonsters. De test is een diagnostisch hulpmiddel in gevallen van vermoede IgG-gemedieerde overgevoeligheden voor voedsel.

2. Samenvatting en uitleg van de test

Voedselintolerantie kan worden geïdentificeerd door de detectie van specifieke IgG-antilichamen. Voedselintoleranties kunnen het gevolg zijn van een toegenomen doorlaatbaarheid van de darmwand voor een specifiek soort voedsel. De vorming van immuuncomplexen die bestaan uit IgG-antilichamen en voedsel kunnen het gevolg zijn van voedsel of de ingrediënten ervan die door de darmwand in het omringende weefsel dringen. Deze complexen kunnen ontstekingsreacties teweegbrengen die tot verschillende ziekten kunnen leiden.

De test is een EIA. Alle microtiterplaten die onder 4 “Verstreckte reagentia” zijn opgesomd, zijn gevalideerd in combinatie met de A8020 reagent kit van R-Biopharm AG. De RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen reagents mogen niet worden gebruikt in combinatie met microtiterplaten van andere fabrikanten, en de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen microtiter plates mogen niet worden gebruikt met reagentia van andere fabrikanten.

3. Testprincipe

Voedselextracten die een intolerantiereactie kunnen veroorzaken, zijn aan de binnenoppervlakken van de wells van een microtiterplaat geadsorbeerd. Humane patiëntmonsters (serum of eluaat van capillair bloed), standaardsera en controlesera worden in de betreffende holtes gepipetteerd en bij kamertemperatuur geïncubeerd. Tijdens de incubatie binden specifieke IgG-antilichamen aan de overeenkomstige geadsorbeerde voedselantigenen. Ongebonden materiaal wordt door wassen verwijderd. Dan wordt een anti-humaan-IgG-antilichaam geconjugeerd aan alkalische fosfatase toegevoegd. Tijdens nog een incubatiefase bindt dit antilichaamconjugaat aan de humane IgG-antilichamen van het patiëntmonster. Al het ongebonden conjugaat wordt door wassen verwijderd. Ten slotte wordt het substraat, nadat het is toegevoegd, gedefosforyleerd door alkalisch fosfatase en verandert dit in een geelkleurig product. De intensiteit van de geelkleuring is proportioneel aan de hoeveelheid antigen-specifieke antilichamen in het serum en kan met fotometrie worden gemeten bij 405 nm minus de referentiegolflengtemeting bij 620/630 nm. De standaardkromme wordt gebruikt om de meetresultaten te kwantificeren. (Belangrijk: Platen A0301, A8921 en A8931 staan alleen een kwalitatieve evaluatie toe.)

4. Verstrekte reagentia

Tabel 1: Inhoud van RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat, klantspecifiek, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), zonder standaardkromme, kwalitatief
-------	--------	--

Tabel 2: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Wasbufferzout voor 5 liter wasbuffer, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standaardserum 1, verdund humaan serum; concentratie: 2,5 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 2	30 ml	Standaardserum 2, verdund humaan serum; concentratie: 10,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 3	30 ml	Standaardserum 3, verdund humaan serum; concentratie: 40,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 4	30 ml	Standaardserum 4, verdund humaan serum; concentratie: 200,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Control high	30 ml	Controleserum, verdund humaan serum; zie attest voor concentratie; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Conjugate IgG	1 l	Anti-humaan-IgG-conjugaat (schapen); klaar voor gebruik; alkalisch-fosfatase-geconjugeerd antilichaam in gestabiliseerde eiwitoplossing

AllergySub	1 l	Substraatoplossing, klaar voor gebruik, bevat pNPP
AllergyStop R	1 l	Stopreagens, klaar voor gebruik

Tabel 3: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Monsterverdunningsbuffer, klaar voor gebruik
Wash buffer salt Tween	6 x	Wasbufferzout voor 1 liter wasbuffer, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standaardserum 1, verdund humaan serum; concentratie: 2,5 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 2	2 ml	Standaardserum 2, verdund humaan serum; concentratie: 10,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 3	2 ml	Standaardserum 3, verdund humaan serum; concentratie: 40,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Standard 4	2 ml	Standaardserum 4, verdund humaan serum; concentratie: 200,0 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Control high	2 ml	Controleserum, verdund humaan serum; zie attest voor concentratie; in gestabiliseerde eiwitoplossing
Conjugate	80 ml	Anti-humaan-IgG-conjugaat (schapen); klaar voor gebruik; alkalisch-fosfatase-geconjugeerd antilichaam in gestabiliseerde eiwitoplossing
AllergySub	80 ml	Substraatoplossing, klaar voor gebruik, bevat pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stopreagens, klaar voor gebruik

Tabel 4: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat, klantspecifiek, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	--

Tabel 5: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Microtiterplaat 1, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
---------	-----------------	--

Tabel 6: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Microtiterplaat 2, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
---------	-----------------	--

Tabel 7: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Microtiterplaat 3, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
---------	-----------------	--

Tabel 8: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Microtiterplaat 6, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
---------	-----------------	--

Tabel 9: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Microtiterplaatpaneel 1, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	--

Tabel 10: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Microtiterplaatpaneel 2, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	--

Tabel 11: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat ES, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	---

Tabel 12: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat GS, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	---

Tabel 13: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat GB, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	---

Tabel 14: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat GP1, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	--

Tabel 15: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat GP2, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	--

Tabel 16: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat GK, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-------	--------	---

Tabel 17: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Microtiterplaat VEG, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat standaardkromme, kwantitatief
-----------	-----------------	--

Tabel 18: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat Prescreen 1, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat cut-off (grens), kwalitatief
Cut-Off	5 ml	Cut-off-controle, verdund humaan serum; concentratie: 10 µg IgG/ml; in gestabiliseerde eiwitoplossing

Tabel 19: Inhoud van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Microtiterplaat Prescreen, klantspecifiek, gecoat met diverse voedselantigenen (zie bijgesloten allergenenmatrix), bevat cut-off (grens), kwalitatief
Cut-Off	5 ml	Cut-off-controle, verdund humaan serum; in gestabiliseerde eiwitoplossing

Gevaarlijke materialen worden aangegeven in overeenstemming met de etiketteringsverplichtingen. Zie voor verdere details de veiligheidsinformatiebladen (SDS's) op www.r-biopharm.com.

5. Opslaginstructies

De testkit moet worden bewaard bij 2 tot 8 °C en kan worden gebruikt tot de uiterste gebruiksdatum die op het etiket is gedrukt. De verdunde wasbuffer **Wash buffer salt Tween** heeft een maximale houdbaarheidsperiode van 4 weken wanneer deze bij 2 tot 8 °C wordt bewaard. Microbiële besmetting moet worden voorkomen. Na de uiterste houdbaarheidsdatum is de kwaliteitsgarantie niet langer geldig. Contaminatie van de substraatoplossing **AllergySub** met het conjugaat **Conjugate** moet worden voorkomen omdat dit ervoor zorgt dat het substraat **AllergySub** verkleurt. Tevens moet directe blootstelling van het substraat **AllergySub** aan licht worden vermeden om degradatie of verkleuring

door hydrolyse te voorkomen. Gebruik het substraat **AllergySub** niet als het een intense gele kleuring heeft ontwikkeld. Zie 10.3 “Kwaliteitscontrole – indicatie van instabiliteit of verval tijd van reagentia.”

5.1 Opslag van microtiterplaten

Aangezien de microtiterplaten **Plate** gevoelig zijn voor luchtvochtigheid, moeten de aluminium zakken weer zorgvuldig worden dichtgemaakt nadat het vereiste aantal platen **Plate** eruit is gehaald. Het zakje droogmiddel moet gedurende de hele opslagperiode in de aluminium zak blijven. De microtiterplaten **Plate** kunnen gedurende de gespecificeerde houdbaarheidsperiode in de correct opnieuw afgedichte aluminium zak bij 2 tot 8 °C worden bewaard.

6. Vereiste, maar niet geleverde reagentia

6.1 Verstreckte reagentia

- Gedistilleerd of gedeïoniseerd water

6.2 Apparatuur

- Fotometer voor microtiterplaten (met filter van 405 nm en 620/630 nm) die in het bereik van 0 tot 3,5 OD meet
- Microtiterplaatwasser voor 8 tot 96 wells
- 12-kanaals pipet
- Meerstapspipet
- Horizontale shaker (voor de elutie van capillairbloedmonsters)

7. Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen voor de gebruikers

- Alleen voor *in-vitro*-diagnostisch gebruik.
- Deze test mag alleen door getraind laboratoriumpersoneel worden uitgevoerd. De richtlijnen voor het werken in medische laboratoria moeten worden gevolgd. Houd u altijd strikt aan de gebruikersinstructies voor het uitvoeren van deze test.
- Pipetteer geen monsters of reagentia met de mond; vermijd contact met verwonde huid en slijmvlies. Draag wegwerphandschoenen wanneer u monsters hanteert en was uw handen na de test.
- Rook, eet of drink niet in ruimten waar monsters of testreagentia worden verwerkt.
- De standaardsera in de kit werden getest op hiv- en HCV-antilichamen, HBsAg en syfilis volgens CFR 21.640, en waren negatief. Desondanks moeten de patiëntmonsters en alle materialen die u aanraakt, worden behandeld als mogelijk infectieus. Volg de nationale veiligheidsregelgeving voor de hantering en het wegdoen van mogelijk infectieus materiaal.

- Standaardsera **Standard**, conjugaat **Conjugate** en wasbufferconcentraat **Wash buffer salt Tween** bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Deze stof mag zeker niet in contact komen met de huid of slijmvliesen. Contact met loden of koperen pijpen kan de vorming van explosieve metaalaziden veroorzaken.
- Laat het stopreagens of de substraatoplossing zeker niet in contact komen met de huid, ogen of kleding. In geval van huidcontact wast u deze onmiddellijk met water en zeep. In geval van oogcontact spoelt u onmiddellijk gedurende 15 minuten onder stromend water met de oogleden open. Raadpleeg een oogspecialist. Indien ingeslikt, drinkt u overvloedig veel water, vermijdt braken en roept onmiddellijk medische hulp in.
- Alle componenten van de kit moeten na gebruik op de juiste wijze worden weggedaan door de gebruiker (zie de veiligheidsinformatiebladen voor de componenten in de kit).
- Alle reagentia en materialen die in contact komen met mogelijk infectueuze monsters moeten worden behandeld met geschikte desinfectiemiddelen of ten minste gedurende een uur worden geautoclaveerd bij 121 °C.

8. Afname en opslag van monsters

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen werd ontwikkeld voor het testen van humaan serum en capillair bloed.

Tijdens de afname van veneus bloed moet het serum na volledige coagulatie zo snel mogelijk worden gescheiden van het stolsel om hemolyse te voorkomen. De serummonsters moeten koud worden bewaard (2 tot 8 °C) of worden ingevroren (–20 °C) totdat ze worden getest. Vermijd herhaaldelijk invriezen en ontdooien van het serum evenals bacteriële contaminatie. Het gebruik van warmte-geïnactiveerde, lipemische, hemolytische, icterische of troebele sera kan tot verkeerde resultaten leiden.

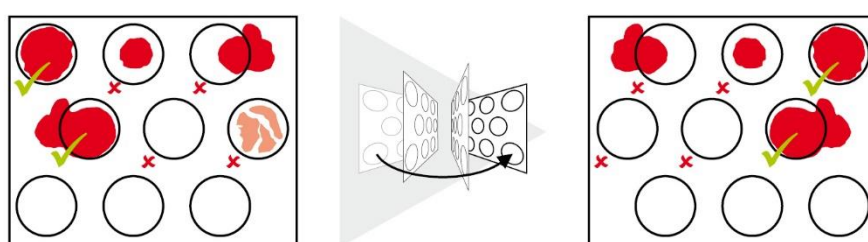
Wanneer er capillairbloedmonsters in de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test worden gebruikt, moet de juiste uitrusting worden gebruikt (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Alleen deze uitrusting werd voor deze test gevalideerd. De gedroogde capillairbloedmonsters op de Blood Collection Card (component van A8025 en A8025-BCC) zijn maximaal 3 weken stabiel wanneer ze op een droge locatie bij kamertemperatuur (20 tot 25 °C) worden bewaard. Bewaar geen capillairbloedmonsters in de koelkast.

Tabel 20: Stabiliteit van monstertypen

Onverdund serum		Verdund serum	Gedroogd capillairbloedmonster	Eluaat van capillairbloedmonster
2 tot 8 °C	-20 °C	20 tot 25 °C	20 tot 25 °C	20 tot 25 °C
1 maand	> 3 maanden	Max. 6 uur	3 weken	Max. 6 uur

Belangrijke opmerking voor de verwerking van capillairbloedmonsters:

De cirkels op de bloedkaart moeten volledig gevuld zijn met bloed. Controleer ook de achterkant van de kaart om ervoor te zorgen dat de cirkels doortrokken zijn.



9. Testprocedure

9.1 Algemene informatie

Alle reagentia, patiëntsera en de microtiterplaat **Plate** moeten vóór gebruik op kamertemperatuur worden gebracht (belangrijk). Meng de reagentia onmiddellijk voor gebruik goed. Na gebruik moet de reagentskit worden bewaard bij 2 tot 8 °C.

De gecoate microtiterplaten **Plate** mogen niet meer dan een keer worden gebruikt. Gebruik geen reagentia of de microtiterplaten **Plate** als de verpakking beschadigd is of de containers niet secuur zijn afgedicht.

De gecoate microtiterplaten **Plate kunnen met de reagentia van verschillende kit-lots worden gebruikt.**

Elke afwijking van de gespecificeerde incubatietijden en -temperaturen zorgt ervoor dat de standaardkromme verschuift in vergelijking met het attest.

Significante verschillen in de waarden van de standaardkromme kunnen leiden tot ongeldige testresultaten. De klant dient de incubatietijd en/of -temperatuur aan te passen (en te valideren), bijvoorbeeld, om de test volledig geautomatiseerd te verwerken.

Voer de test niet in direct zonlicht uit. Aanbevolen wordt de microtiterplaten **Plate** tijdens de incubatiefasen te bedekken.

9.2 Bereiding van de wasbuffer

Los de inhoud van een verpakking wasbufferzout **Wash buffer salt Tween** op in 1 liter gedistilleerd water. Gebruik alleen de hoeveelheid die voor elke analyse nodig is. Verdunde wasbuffer **Wash buffer salt Tween** heeft maar een beperkte maximale houdbaarheidsperiode van 4 weken (2 tot 8 °C).

9.3 Voorbereiding van de microtiterplaten

De gecoate microtiterplaten **Plate** kunnen niet direct worden gebruikt. Voordat de pipettering plaatsvindt, moeten de platen **Plate** worden geëtiketteerd met de naam of het nummer van de patiënt.

9.4 Monsterverdunning

9.4.1 Monsterverdunning; serummonsters

Verdun het serummonster met monsterverdunningsbuffer **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tabel 21: Aanbevolen monsterverdunningsbereidingen

Tot 50 bepalingen		Tot 100 bepalingen		Tot 200 bepalingen		Tot 300 bepalingen	
Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Monsterelutie; capillairbloedmonsters

Schud het gedroogde capillairbloedmonster in een geschikt flesje met de monsterverdunningsbuffer **Sample Buffer IgG** gedurende 1 (tot 14) uur bij 20 tot 25 °C op een horizontale shaker. Voor elke analyse drukt u er de overeenkomstige geperforeerde cirkels uit **Card**. Er moeten wegwerphandschoenen worden gedragen om de gedroogde, met bloed gevulde cirkels **Card** er met uw vinger uit te drukken. U kunt ook een geschikt steriel voorwerp gebruiken, zoals het uiteinde van een pipetpunt of een laboratoriumspatel, om de cirkels **Card** eruit te drukken.

Tabel 22: Aanbevolen monsterelutiebereidingen

Tot 50 bepalingen		Tot 100 bepalingen		Tot 200 bepalingen		Tot 300 bepalingen	
Monster	Buffer	Monster	Buffer	Monster	Buffer	Monster	Buffer
2 cirkels	4,0 ml	4 cirkels	8,0 ml	6 cirkels	12,0 ml	8 cirkels	16,0 ml

Het eluaat van het capillairbloedmonster correpondeert al met het verdunde patiëntmonster en wordt op de microtiterplaat **Plate** gepipetteerd, overeenkomstig de instructies.

9.5 Eerste incubatie (monsterincubatie)

Pipetteer 50 µl van de standaardsera [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], de controle [Control high], of [Cut-Off] en het verdunde patiëntserum of eluaat van het capillairbloedmonster in de wells van de microtiterplaat [Plate] overeenkomstig het pipetteringschema. Incubeer vervolgens de platen [Plate] gedurende 90 minuten bij 20 tot 25 °C. De platen kunnen op volgorde van pipettering worden gestapeld; dek de bovenste plaat af.

9.6 Wassen

Was de wells drie keer in een microplaatwasser. Gebruik daarbij 350 µl verdunde wasbuffer [Wash buffer salt Tween] voor elke well. De laatste overheveling moet kwantitatief zijn, indien mogelijk. De platen [Plate] kunnen na het wassen worden uitgetikt op absorbeerbaar materiaal om eventueel achterblijvende wasoplossing te verwijderen.

9.7 Tweede incubatie (conjugaatincubatie)

Pipetteer 50 µl conjugaat [Conjugate] in elke well. Incubeer vervolgens de platen [Plate] gedurende 90 minuten bij 20 tot 25 °C. De platen [Plate] kunnen op volgorde van pipettering worden gestapeld; dek de bovenste [Plate] af.

9.8 Wassen

Was zoals beschreven in paragraaf 9.6.

9.9 Derde incubatie (substraatincubatie)

Pipetteer 50 µl substraatoplossing [AllergySub] in elke well. Incubeer vervolgens de platen [Plate] gedurende 60 minuten bij 20 tot 25 °C. Houd de geïncubeerde platen [Plate] uit direct zonlicht. De platen [Plate] kunnen op volgorde van pipettering worden gestapeld; dek de bovenste plaat [Plate] af.

9.10 De reactie stoppen en de meting uitvoeren

Door toevoeging van 50 µl stopreagens [AllergyStop R] in elke well stopt de reactie. Nadat het stopreagens [AllergyStop R] is toegevoegd, “tikt” u voorzichtig tegen de plaat [Plate] om een grondige menging in de wells te bereiken. Meet de extinctie bij 405 nm tegen de referentiegolflengte van 620/630 nm. De platen [Plate] kunnen binnen 24 uur opnieuw worden gemeten als ze bedekt en gekoeld worden.

10. Kwaliteitscontrole – indicatie van instabiliteit of vervaltijd van reagentia

10.1 Evaluatie van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Tijdens elke testprocedure moet iedere plaat **Plate** de standaards **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, en de controle **Control high** bevatten. De test werd correct uitgevoerd als voldaan is aan de volgende criteria (alle informatie is gebaseerd op een differentiële meting van 405 nm tot 620 nm (of 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	minus	Standard 1	≥ 0,08
Standard 3	minus	Standard 2	≥ 0,30
Standard 4	minus	Standard 3	≥ 0,70
Standard 4			> 1,0

10.2 Evaluatie van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Tijdens elke testprocedure moet elke plaat **Plate** de cut-off-controle **Cut-Off** bevatten. De test werd correct uitgevoerd als voldaan is aan het volgende criterium (informatie is gebaseerd op een differentiële meting van 405 nm tot 620 nm, of 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off	≥ 0,20
----------------	--------

10.3 Indicatie van instabiliteit of achteruitgang van reagentia

Een afwijking van de verwachte referentiewaarde, troebelheid van de reagentia, of een intens gele kleuring van het substraat **AllergySub** vóór toevoeging aan de wells kan een indicatie van een vervallen reagens zijn.

Als niet voldaan wordt aan de gespecificeerde referentiewaarden, moeten de volgende aspecten worden gecontroleerd voordat de test wordt herhaald:

- Vervaldatum van de gebruikte reagentia
- Functionele prestatie van de gebruikte uitrusting (bijv. kalibratie)
- Correcte testprocedure
- Visuele inspectie van de kitcomponenten op contaminatie of lekken

Gebruik geen substraatoplossing **AllergySub** die een intense geelachtige kleuring heeft. Als de vastgelegde waarden na herhaling van de test niet worden verkregen, neemt u contact op met de fabrikant.

11. Beoordeling en interpretatie

11.1 Serum en capillairbloedresultaten

11.1.1 Basis voor de berekeningen

De berekeningen moeten worden gebaseerd op een standaardkromme voor de kwantitatieve beoordeling en interpretatie van de test. Daarvoor moeten de standaards op elke plaat worden uitgevoerd. De extinctiewaarden van de standaard worden semi-logaritmisch (y-ln-/x-log-grafiek) uitgezet als een functie van de gerelateerde concentraties ($\mu\text{g/ml}$) in een punt-tot-puntgrafiek om de standaardkromme te genereren. In duplicaatanalyses van de standaard worden de gemiddelde extincties van de duplicaatanalyses van de standaards gebruikt om de standaardkromme te genereren. De concentraties van de specifieke IgG-antilichamen in $\mu\text{g/ml}$ kunnen worden bepaald op basis van de standaardkromme van de gemeten OD-waarden en dan worden omgezet in IgG-klassen (zie tabel 23 en 24). De evaluatie kan ook worden gedaan met behulp van geschikte software. De kwalitatieve testbeoordeling en -interpretatie wordt uitgelegd in de tabel. De standaardkromme van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen werd gekalibreerd aan een internationaal referentiepreparaat: 1st WHO IRP 67/86 for human IgG (1^e WGO IRP 67/86 voor humaan IgG).

11.1.2 Concentraties, IgG-klassen en berekeningen voor RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabel 23: Kwantitatieve relatie tussen de bepaalde IgG-concentraties [$\mu\text{g/ml}$], IgG-klassen, en de antigenspecifieke IgG-concentratie van de patiënt van een serummonster

IgG-concentratie [$\mu\text{g/ml}$]	IgG-klasse	Antigenspecifieke IgG-inhoud	Alternatieve IgG-klasse	Antigenspecifieke IgG-inhoud
< 7,5	0	Negatief	0	Negatief
7,5 tot < 12,5	1	Mild	1	Verhoogd
12,5 tot < 20,0	2	Verhoogd		
20,0 tot < 50,0	3	Hoog	2	Sterk verhoogd
$\geq 50,0$	4	Zeer hoog		

Tabel 24: Kwantitatieve relatie tussen de bepaalde concentraties [$\mu\text{g/ml}$], IgG-klassen, en de antigenspecifieke IgG-concentratie van de patiënt van een capillairbloedmonster

IgG-concentratie [µg/ml]	IgG-klasse	Antigenspecifieke IgG-inhoud	Alternatieve IgG-klasse	Antigenspecifieke IgG-inhoud
< 8,0	0	Negatief	0	Negatief
8,0 tot < 18,0	1	Mild	1	Verhoogd
18,0 tot < 40,0	2	Verhoogd	2	Sterk verhoogd
≥ 40,0	3	Hoog		

Deze waarden zijn slechts grove richtlijnen. Er bestaan geen internationale standaards voor specifieke IgG's voor voedingsmiddelen.

Tabel 25: Kwalitatieve beoordeling en interpretatie van RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) en RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) en Prescreen Customized Plate (A8931) van een serum- of capillairbloedmonster

Verhouding	Evaluatie	Interpretatie
≤ 1,0	-	Negatief
> 1,0 tot < 2,5	+	Mild
≥ 2,5 tot < 5,0	++	Verhoogd
≥ 5,0	+++	Hoog

Verhouding = OD_{405/620} (monster) ÷ OD_{405/620} (cut-off). De test is geldig als OD_{405/620} van de cut-off ≥ 0,20 is.

12. Beperkingen van de methode

De met dit testsysteem bepaalde IgG-concentraties leveren informatie over het sensibilisatieniveau van de patiënt met betrekking tot de onderzochte voedselantigenen of mengsels.

Hieruit kan geen correlatie worden gededuceerd tussen het niveau van een bepaalde IgG-concentratie en het optreden of de ernst van klinische symptomen. De resultaten die verkregen werden, moeten altijd worden geïnterpreteerd in combinatie met de volledige klinische symptomen.

Er kunnen fout-positieve testresultaten optreden als gevolg van kruisreactiviteit van het geteste antigeen met epitopen van andere antigenen.

De fabricage van voedselextracten en de coating van microtiterplaten elimineren niet altijd antigenepitopen, wat kan leiden tot fout-negatieve resultaten. IgG-antilichamen tegen voedselantigenen die pas verschijnen na industriële bereiding,

voedselbereiding of digestie zijn misschien niet detecteerbaar omdat ze niet aanwezig zijn in het oorspronkelijke voedsel waarop de patiënt wordt getest.

13. Prestatiekarakteristieken

13.1. Nauwkeurigheid

De reproduceerbaarheid van de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test werd bepaald met behulp van referentiemonsters die het hele meetbereik van negatief tot sterk positief bestrijken. De gemiddelde waarden en de variatiecoëfficiënten (CV) werden vastgesteld voor drie reagens-lots en voor twee microtiterplaten. Voor de bepaling van de inter-assay-reproduceerbaarheid, werden referentiemonsters van vijf opeenvolgende werkdagen geanalyseerd in drievoud, met twee runs per dag. De metingen werden door twee technici uitgevoerd.

Tabel 26: Intra-assay-nauwkeurigheidsmeting

Gemiddelde CV (%)	8,1
-------------------	-----

Tabel 27: Inter-assay-nauwkeurigheidsmeting

Gemiddelde CV (%)	11,1
-------------------	------

Tabel 28: Inter-lot-nauwkeurigheidsmeting

Serummonsters	1	2	3
Aantal reagenskit-lots	3	3	3
Aantal microtiterplaat-lots	2	2	2
Aantal allergenen	44	44	44
Aantal metingen	264	264	264
Variatiecoëfficiënt	25,0%	16,9%	15,4%
Gemiddelde variatiecoëfficiënt	19,1%		

De intra-assay-, inter-assay- en inter-lotnauwkeurigheidsmetingen suggereren dat de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-test in het volledige meetbereik accurate en reproduceerbare resultaten genereert onder constante en tevens onder wisselende condities en over verscheidene kit-lots.

13.2 Stabiliteit

13.2.1 Transportstabiliteit

De kitcomponenten werden getest op stabiliteit onder temperatuurschommelingen als gevolg van transport. Er werden twee gesimuleerde transportsenario's (TC 1 en TC 2) en een echt overzees transport naar Australië (TC 3) onderzocht. De temperatuurschommelingen werden gedocumenteerd tijdens de hele transportperiode. Er werden temperaturen tussen 4,5 °C en 46 °C geregistreerd. De kitcomponenten werden vergeleken met de referentiekit, die werd opgeslagen op de voorgeschreven temperatuur (2 tot 8 °C).

Er werd geen invloed op de resultaten na transport van de kitcomponenten gedetecteerd, in geen enkele scenario, wat betekent dat RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen stabiel is onder transportcondities.

13.2.2 Kitstabiliteit na opening

De kitcomponenten werden gedurende een periode van 6 weken getest op hun stabiliteit na opening van de individuele componenten. De analyse werd gedaan met gebruik van twee positieve sera, die, na 2, 4 en 6 weken werden vergeleken met de testresultaten van week 0, wat overeenkomt met 100% (% van REF). De analyse werd ook gedaan op een microtiterplaat die onbedekt werd gelaten, na 6 weken gecombineerd met een recent geopende reagenskit (Ref. Kit) en een recent geopende microtiterplaat gecombineerd met een reagenskit die onbedekt werd gelaten (Ref. Plate). De kits werden opgeslagen bij 2 tot 8 °C.

Er werden gedurende een periode van ten minste 6 weken geen verliezen van de stabiliteit gedetecteerd in de reagentia van microtiterplaten. De testresultaten verkregen met deze kitcomponenten vertoonden ook geen significante afwijkingen vergeleken met de referenties.

13.3 Analytische gevoeligheid

Analytische gevoeligheid is een meting van de nauwkeurigheid van een test bij lage concentraties van de analyt.

De gemiddelde LOB van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen is 2,8 µg/ml en de gemiddelde LOD is 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenten

De volgende potentiële stoffen werden getest: hemoglobine, bilirubine, triglyceriden, HSA.

Er werden geen relatieve invloeden op het testresultaat van RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen gedetecteerd voor ook maar een van de genoemde stoffen.

Houd echter in gedachten dat er geen combinaties van stoffen werden getest. Daarom moet een onwaarschijnlijk resultaat in het geval van hemolytische, hemorragische of lipemische patiëntmonsters altijd specifiek in verband met het totale klinische plaatje van de patiënt worden onderzocht.

14. Versiegeschiedenis

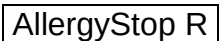
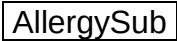
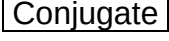
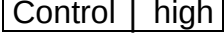
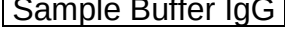
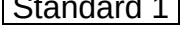
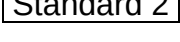
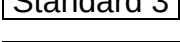
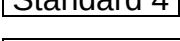
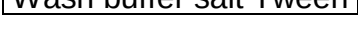
Versienummer	Paragraaf en naam
2016-08-29	Voorgaande versie
2020-02-04	Algemene revisie: Nieuwe lay-out
2020-02-04	1. Beoogd gebruik 4. Verstrekte reagentia 8. Afname en opslag van monsters 9. Testprocedure 10. Kwaliteitscontrole – indicatie van instabiliteit of vervaltijd van reagentia 11. Beoordeling en interpretatie 13. Prestatiekarakteristieken Testspecifieke symbolen
2020-11-10	13. Prestatiekarakteristieken

15. Verklaring van symbolen

Algemene symbolen

	Voor in-vitro-diagnostisch gebruik
	Raadpleeg de gebruiksinstructies
	Batchnummer
	Vervaldatum
	Opslagtemperatuur
	Artikelnummer
	Aantal tests
	Productiedatum
	Producent

Testspecifieke symbolen

	Stopreagens
	Substraatoplossing, klaar voor gebruik
	Bloedafnamekaart
	Microtiterplaat
	Conjugaat
	Positieve controle
	Monsterverdunningsbuffer
	Standaard 1
	Standaard 2
	Standaard 3
	Standaard 4
	Wasbufferzout

16. Referenties

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Tiltenkt bruk

Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen er en kvantitativ eller kvalitativ enzymimmunanalyse (EIA) for bestemmelsen av spesifikke IgG-antistoffer mot matallergener. Testen er beregnet for manuell behandling og er en kombinasjon av reagenser og de tilknyttede mikrotiterplatevariantene. Foodscreen-produktkomponentene skal kun kombineres med hverandre. Testen er egnet for bruk med humane serum- og kapillærblodprøver. Testen er et diagnostisk verktøy for kasus med mistenkt IgG-mediert matoverfølsomhet.

2. Sammendrag og forklaring av testen

Matintoleranse kan identifiseres ved deteksjon av spesifikke IgG-antistoffer. Matintoleranser kan skyldes økt gjennomtrengelighet i tarmveggen overfor spesifikke matvarer. Immunkomplekser som består av IgG-antistoffer og mat, kan dannes som følge av at mat eller innholdsstoffer trenger gjennom tarmveggen og inn i vevet rundt. Disse kompleksene kan utløse betennelsesresponsen som kan føre til ulike sykdommer. Testen er en EIA. Alle mikrotiterplater oppført under 4 «Reagenser som medfølger», ble validert i kombinasjon med R-Biopharm AGs A8020-reagenskit. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-reagensene kan ikke brukes i kombinasjon med mikrotiterplater fra andre produsenter, og RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-mikrotiterplatene kan ikke brukes med reagenser fra andre produsenter.

3. Testprinsipp

Ekstrakter fra mat som kan gi intoleransereaksjoner, adsorberes på de innvendige overflatene av brønnene på mikrotiterplaten. Humane pasientprøver (serum eller eluat fra kapillærblod), standardsera og kontrollsera pipetteres inn i de egnede hulrommene og inkuberes ved romtemperatur. Under inkubasjon bindes spesifikke IgG-antistoffer til de tilsvarende, adsorberte matantigenene. Ikke-bundet materiale fjernes ved vasking. Et anti-humant IgG-antistoff konjugert med alkalisk fosfatase, blir deretter tilsatt. Under en annen inkubasjonsfase bindes dette antistoffkonjugatet til de humane IgG-antistoffene i pasientprøven. Alt ubundet konjugat fjernes ved vasking. Til sist, etter tilsetning, blir substratet defosforylert av alkalisk fosfatase og forvandles til et gulfarget produkt. Hvor sterk gulfargen er, er proporsjonal med mengden av antigenspesifikke antistoffer i serum, og kan måles ved hjelp av fotometri ved 405 nm minus referansebølgelengdemålingen ved 620/630 nm. Standardkurven brukes for å kvantifisere målingsresultatene. (Viktig: Plate A0301, A8921 og A8931 tillater kun kvalitativ evaluering.)

4. Reagenser som medfølger

Tabell 1: Innholdet i RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate, kundespesifikk, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), uten standardkurve, kvalitativ
-------	--------	---

Tabell 2: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Vaskebuffersalt for 5 liter vaskebuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standardserum 1, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 2,5 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 2	30 ml	Standardserum 2, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 10,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 3	30 ml	Standardserum 3, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 40,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 4	30 ml	Standardserum 4, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 200,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Control high	30 ml	Kontrollserum, fortynnet humant serum; se sertifikat for konsentrasjon; i stabilisert proteinløsning
Conjugate IgG	1 l	Anti-humant IgG-konjugat (sau); bruksklart, alkalisk fosfatase-konjugert antistoff i stabilisert proteinløsning
AllergySub	1 l	Substratløsning, bruksklar, inneholder pNPP
AllergyStop R	1 l	Stoppreagens, bruksklar

Tabell 3: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Prøvefortynningsbuffer, bruksklar
Wash buffer salt Tween	6 x	Vaskebuffersalt for 1 liter vaskebuffer, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standardserum 1, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 2,5 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 2	2 ml	Standardserum 2, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 10,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 3	2 ml	Standardserum 3, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 40,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Standard 4	2 ml	Standardserum 4, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 200,0 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning
Control high	2 ml	Kontrollserum, fortynnet humant serum; se sertifikat for konsentrasjon; i stabilisert proteinløsning
Conjugate	80 ml	Anti-humant IgG-konjugat (sau); bruksklart, alkalisk fosfatase-konjugert antistoff i stabilisert proteinløsning
AllergySub	80 ml	Substratløsning, bruksklar, inneholder pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stoppreagens, bruksklar

Tabell 4: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate, kundespesifikk, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 5: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplate 1, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabell 6: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplate 2, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabell 7: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplate 3, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabell 8: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplate 6, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
---------	-----------------	---

Tabell 9: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate panel 1, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 10: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate panel 2, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 11: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate ES, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 12: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate GS, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 13: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate GB, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 14: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate GP1, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 15: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate GP2, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 16: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate GK, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 17: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplate VEG, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert standardkurve, kvantitativ
-----------	-----------------	---

Tabell 18: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate Prescreen 1, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert cut-off, kvalitativ
Cut-off	5 ml	Cut-off-kontroll, fortynnet humant serum; konsentrasjon: 10 µg IgG/ml; i stabilisert proteinløsning

Tabell 19: Innhold i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplate Prescreen, kundespesifikk, belagt med ulike matantigener (se vedlagt allergenmatrise), inkludert cut-off, kvalitativ
Cut-off	5 ml	Cut-off-kontroll, fortynnet humant serum; i stabilisert proteinløsning

Farlige materialer er angitt i samsvar med kravene til merking. Se sikkerhetsdatabladene på www.r-biopharm.com for mer informasjon.

5. Oppbevaringsinstruksjoner

Testkitet må oppbevares ved 2 til 8 °C og kan brukes frem til utløpsdatoen som er angitt på etiketten. Den fortynnede vaskebufferen **Wash buffer salt Tween** har en maksimal holdbarhetstid på 4 uker ved oppbevaring ved 2 til 8 °C. Mikrobiell forurensing må forhindres. Etter utløpsdatoen er ikke kvalitetsgarantien gyldig lenger. Forurensing av substratløsningen **AllergySub** med konjugatet **Conjugate** må unngås, ettersom det vil føre til misfarging av substratet **AllergySub**. På samme måte må ikke substratet **AllergySub** utsettes for lys, for å forhindre nedbrytning eller misfarging via hydrolyse. Bruk ikke substratet **AllergySub** hvis det har utviklet en intens gulfarge. Se 10.3 «Kvalitetskontroll – indikasjon på instabilitet eller utløp av reagenser».

5.1 Oppbevaring av mikrotiterplater

Siden mikrotiterplatene **Plate** er følsomme for luftfuktighet, bør aluminiumsposene forsegles godt igjen etter at det nødvendige antallet plater **Plate** har blitt fjernet. Tørkemiddelposene må bli værende i aluminiumsposen i hele oppbevaringsperioden.

Mikrotiterplatene [Plate] kan oppbevares i riktig gjenforseglet aluminiumspose i den angitte holdbarhetstiden ved 2 til 8 °C.

6. Nødvendige reagenser som ikke medfølger

6.1 Reagenser som medfølger

- Destillert eller avionisert vann

6.2 Utstyr

- Fotometer for mikrotiterplater (med 405 nm og 620/630 nm filter), måleområde 0 til 3,5 OD
- Mikrotiterplatevasker for 8 til 96 brønner
- 12-kanals pipette
- Multitrinnspipette
- Horisontal risteenhet (til eluering av kapillærblodprøver)

7. Advarsler og forsiktighetsregler for brukerne

- Kun til bruk ved *in vitro*-diagnostikk
- Denne testen må kun utføres av laboratoriepersonell med nødvendig opplæring. Retningslinjene for arbeid i medisinske laboratorier må følges. Bruksanvisningen må alltid følges nøye ved utførelse av denne testen.
- Prøver eller reagenser skal ikke pipetteres via munnen. Unngå kontakt med skadet hud og skadede slimhinner. Bruk engangshansker ved håndtering av prøvene, og vask hendene etter testing.
- Ikke røyk, spis eller drikk i områder der prøver eller testreagenser behandles.
- Standardsera i kitet ble testet for hiv- og HCV-antistoffer, HBsAg og syfilis, i henhold til CFR 21.640, og var negative. Alle pasientprøver og materialer du berører, bør imidlertid behandles som potensielt smittefarlige. Følg nasjonale sikkerhetsregler for håndtering og kassering av potensielt smittefarlig materiale.
- Standardsera [Standard], konjugat [Conjugate], og vaskebufferkonsentrat [Wash buffer salt Tween] inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Dette stoffet må ikke komme i kontakt med hud eller slimhinner. Kontakt med bly- eller kopperrør kan føre til utvikling av eksplosive metallazider.
- Stoppreagensen eller substratløsningen må ikke komme i kontakt med hud, øyne eller klær. Ved hudkontakt må du vaske med såpe og vann umiddelbart. Ved øyekontakt må du umiddelbart skylle under rennende vann i 15 minutter med åpne øyne. Rådfør deg med øyespesialist. Ved svelging må du drikke rikelig med vann, unngå brekninger og oppsøke legehjelp øyeblikkelig.
- Alle komponenter i kitet må kasseres hensiktsmessig av brukeren etter bruk (se sikkerhetsdatabladene for komponentene i kitet).

- Alle reagenser og materialer som kommer i kontakt med potensielt smittefarlige prøver, må behandles med egnede desinfeksjonsmidler eller autoklaveres ved 121 °C i minst én time.

8. Innsamling og oppbevaring av prøver

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ble utviklet for testing av humant serum og kapillærblod.

Under venøs blodtaking bør serumet separeres fra koagelet så raskt som mulig etter fullstendig koagulasjon, for å forhindre hemolyse. Serumprøvene må oppbevares kjølig (2 til 8 °C) eller nedfrost (-20 °C) til de er testet. Unngå gjentatt frysing og tining av serumet samt bakteriell forurensing. Bruken av varmeinaktiverte, lipemiske, hemolytiske, ikteriske eller uklare sera kan føre til falske resultater.

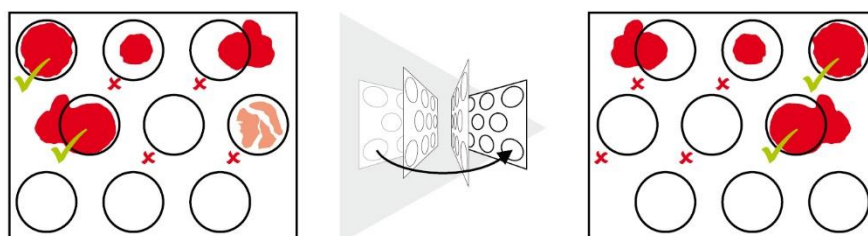
Når kapillærblodprøver brukes i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen, må riktig utstyr brukes (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Kun dette utstyret er validert for denne testen. De tørkede kapillærblodprøvene på Blood Collection Card (komponent i A8025 og A8025-BCC) er stabile i høyst 3 uker når de oppbevares på et tørt sted i romtemperatur (20 til 25 °C). Kapillærblodprøver må ikke oppbevares i kjøleskapet.

Tabell 20: Stabilitet av prøvetyper

Ufortynnet serum		Fortynnet serum	Tørket kapillærblodprøve	Eluat fra kapillærblodprøve
2 til 8 °C	-20°C	20 til 25 °C	20 til 25 °C	20 til 25 °C
1 måned	> 3 måneder	Maks. 6 timer	3 uker	Maks. 6 timer

Viktig merknad for behandling av blodprøver:

Sirklene på blodkortet må fylles fullstendig med blod. Sjekk også baksiden av kortet for å sikre at sirklene er gjennomvåte.



9. Testprosedyre

9.1 Generell informasjon

Alle reagenser, pasientsera og mikrotiterplaten **Plate** må romtempereres før bruk (viktig). Bland reagensene godt umiddelbart før bruk. Etter bruk må reagenskitet oppbevares ved 2 til 8 °C.

De belagte mikrotiterplatene **Plate** kan bare brukes én gang. Bruk ikke reagensene eller mikroplatene **Plate** hvis pakningen er skadet eller beholderne ikke er riktig forseglet.

De belagte mikrotiterplatene **Plate kan brukes med reagenser fra ulike kitpartier.**

Alle avvik fra de angitte inkubasjonstidene og -temperaturene vil gjøre at standardkurven endres i forhold til sertifikatet. Betydelige forskjeller i verdiene til standardkurven kan føre til ugyldige testresultater. Kunden er nødt til å endre (og validere) inkubasjonstiden og/eller -temperaturen for eksempel ved helautomatisert testbehandling.

Testen skal ikke utføres i direkte sollys. Det er anbefalt å dekke mikrotiterplatene **Plate** under inkubasjonsfasene.

9.2 Klargjøre vaskebufferen

Løs opp innholdet i én pakning med vaskebuffersalt **Wash buffer salt Tween** i 1 liter destillert vann. Bruk kun mengden som er nødvendig for hver analyse. Den fortynnede vaskebufferen **Wash buffer salt Tween** har kun en begrenset maksimum holdbarhet på 4 uker (2 til 8 °C).

9.3 Klargjøre mikrotiterplatene

De belagte mikrotiterplatene **Plate** kan ikke brukes direkte. Før pipettering utføres, må platene **Plate** merkes med pasientens navn eller nummer.

9.4 Prøvefortynning

9.4.1 Prøvefortynning; serumprøver

Fortynn serumprøven med prøvefortynningsbuffer **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tabell 21: Anbefalte tilberedninger av prøvefortynning

Opptil 50 bestemmelser		Opptil 100 bestemmelser		Opptil 200 bestemmelser		Opptil 300 bestemmelser	
Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer	Serum	Buffer
40 µl	4.0 ml	70 µl	7.0 ml	150 µl	15.0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Prøveeluering; kapillærblodprøver

Rist den tørkede kapillærblodprøven med prøvefortynningsbufferen

Sample Buffer IgG i en egnet ampulle i 1 (til 14) time(r) ved 20 til 25 °C på en horisontal risteenhed. For hver analyse må du trykke ut de tilsvarende perforerte sirklene **Card**. Engangshansker skal brukes for å trykke ut de tørkede, blodfylte sirklene **Card** med fingeren. Du kan også bruke et egnet sterilt objekt, for eksempel enden av en pipettespiss eller en laboratoriespatel, for å trykke ut sirklene **Card**.

Tabell 22: Anbefalte tilberedninger av prøveeluering

Opptil 50 bestemmelser		Opptil 100 bestemmelser		Opptil 200 bestemmelser		Opptil 300 bestemmelser	
Prøve	Buffer	Prøve	Buffer	Prøve	Buffer	Prøve	Buffer
2 sirkler	4.0 ml	4 sirkler	8.0 ml	6 sirkler	12.0 ml	8 sirkler	16.0 ml

Eluatet fra kapillærblodprøven tilsvarer allerede den fortynnede pasientprøven og pipetteres på mikrotiterplaten **Plate** i samsvar med instruksjonene.

9.5 Første inkubasjon (prøveinkubasjon)

Pipetter 50 µl standardsera **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, kontrollen **Control high**, eller **Cut-Off** og det fortynnede pasientserumet eller eluatet fra kapillærblodprøven inn i brønnene på mikrotiterplaten **Plate** i samsvar med pipetteringsplanen. Inkuber deretter platene **Plate** i 90 minutter ved 20 til 25 °C. Platene kan stables i pipetteringsrekkefølgen; dekk til den øvre platen.

9.6 Vasking

Vask brønnene tre ganger i en mikroplatevasker ved bruk av 350 µl fortynnet vaskebuffer **Wash buffer salt Tween** for hver brønn. Den endelige oppsugingen skal være kvantitativ, om mulig. Platene **Plate** kan tappes ut på absorberbart materiale etter vasking for å fjerne rester av vaskeløsningen.

9.7 Andre inkubasjon (konjugatinkubasjon)

Pipetter 50 µl konjugat [Conjugate] inn i hver brønn. Inkuber deretter platene [Plate] i 90 minutter ved 20 til 25 °C. Platene [Plate] kan stables i pipetteringsrekkefølgen; dekk til den øvre platen [Plate].

9.8 Vasking

Vask som beskrevet i avsnitt 9.6.

9.9 Tredje inkubasjon (substratinkubasjon)

Pipetter 50 µl substratløsning [AllergySub] inn i hver brønn. Inkuber deretter platene [Plate] i 60 minutter ved 20 til 25 °C. De inkuberte platene [Plate] må holdes unna direkte sollys. Platene [Plate] kan stables i pipetteringsrekkefølgen; dekk til den øvre platen [Plate].

9.10 Stanse reaksjonen og utføre målingen

Hvis 50 µl stoppreagens [AllergyStop R] tilsettes i hver brønn, stanses reaksjonen. Etter tilsetning av [AllergyStop R] «tapper» du på platen forsiktig [Plate] for å blande grundig i brønnene. Mål ekstinksjonen ved 405 nm mot referansebølgelengden på 620/630 nm. Platene [Plate] kan måles på nytt innen 24 timer hvis de er tildekt og nedkjølt.

10. Kvalitetskontroll – indikasjon på instabilitet eller utløp av reagenser

10.1 Evaluering av RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Under hver testprosedyre skal hver plate [Plate] inneholde standardene [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], og kontrollen [Control] high. Testen ble korrekt utført hvis følgende kriterier er oppfylt (all informasjon er basert på en differensialmåling på 405 nm til 620 nm (eller 630 nm) [OD_{405/620}]):

[Standard 2]	minus	[Standard 1]	≥ 0,08
[Standard 3]	minus	[Standard 2]	≥ 0,30
[Standard 4]	minus	[Standard 3]	≥ 0,70
[Standard 4]			> 1,0

10.2 Evaluering av RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Under hver testprosedyre skal hver plate [Plate] inneholde cut-off-kontrollen [Cut-Off]. Testen ble korrekt utført hvis følgende kriterium er oppfylt (informasjonen er basert på en differensialmåling på 405 nm til 620 nm, eller 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off

$\geq 0,20$

10.3 Indikasjon på instabilitet eller nedbrytning av reagenser

Et avvik fra den forventede referanseverdien, uklarhet i reagensene eller en intens gulfarge i substratet **AllergySub** før tilsetning i brønnene, kan være en indikasjon på en utløpt reagens.

Hvis de angitte referanseverdiene ikke er oppfylt, må følgende kontrolleres før testen gjentas:

- utløpsdatoen for de anvendte reagensene
- den funksjonelle ytelsen til det anvendte utstyret (f.eks. kalibrering)
- Riktig testprosedyre
- visuell inspeksjon av komponentene i kitet mht. forurensing eller lekkasjer

Bruk ikke substratløsningen **AllergySub** dersom den har en intens gulfarge. Hvis de angitte verdiene ikke oppnås etter gjentakelse av testen, må du kontakte produsenten.

11. Evaluering og tolking

11.1 Funn i serum- og kapillærblod

11.1.1 Grunnlag for beregningene

Beregningene skal være basert på en standardkurve for den kvantitative evalueringen og tolkingen av testen. Til dette må standardene kjøres på hver av platene. Ekstinkjonsverdiene blir lagt inn som en funksjon av de tilhørende konsentrasjonene ($\mu\text{g/ml}$) semilogarytmisk ($y\text{-ln-}/x\text{-log-graf}$) i et linjediagram, for å generere standardkurven. I dupliserte standardanalyser vil de gjennomsnittlige ekstinkjonsverdiene fra de dupliserte standardanalysene bli brukt for å generere standardkurven. Konsentrasjonene av de spesifikke IgG-antistoffene i $\mu\text{g/ml}$ kan bestemmes på grunnlag av standardkurven fra de målte OD-verdiene og deretter konverteres til IgG-klasser (se tabell 23 og 24). Evalueringen kan også utføres ved bruk av den relevante programvaren. Den kvalitative testevalueringen og -tolkingen er forklart i tabellen.

Standardkurve for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ble kalibrert til en internasjonal referansetilberedning: Første WHO IRP 67/86 for humant IgG.

11.1.2 Konsentrasjon, IgG-klasser og beregninger for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabell 23: Kvantitativt forhold mellom de bestemte IgG-konsentrasjonene [$\mu\text{g/ml}$], IgG-klasser og pasientens antigenspesifikke IgG-konsentrasjon fra en serumprøve

IgG-konsentrasjon [$\mu\text{g/ml}$]	IgG-klasse	Antigenspesifikt IgG-innhold	Alternativ IgG-klasse	Antigenspesifikt IgG-innhold
< 7,5	0	Negativt	0	Negativt
7,5 til < 12,5	1	Lett	1	Forhøyet
12,5 til < 20,0	2	Forhøyet		
20,0 til < 50,0	3	Høyt	2	Sterkt forhøyet
$\geq 50,0$	4	Svært høyt		

Tabell 24: Kvantitativt forhold mellom de bestemte konsentrasjonene [$\mu\text{g/ml}$], IgG-klasser og pasientens antigenspesifikke IgG-konsentrasjon fra en kapillærblodprøve

IgG-konsentrasjon [$\mu\text{g/ml}$]	IgG-klasse	Antigenspesifikt IgG-innhold	Alternativ IgG-klasse	Antigenspesifikt IgG-innhold
< 8,0	0	Negativt	0	Negativt
8,0 til < 18,0	1	Lett	1	Forhøyet
18,0 til < 40,0	2	Forhøyet	2	Sterkt forhøyet
$\geq 40,0$	3	Høyt		

Disse verdiene er kun omtrentlige retningslinjer. Det finnes ingen internasjonale standarder for spesifikke IgG-antistoffer mot matvarer.

Tabell 25: Kvalitativ evaluering og tolking av RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) og RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921), og Prescreen Customized Plate (A8931) fra en serum- eller kapillærblodprøve

Forhold	Evaluering	Tolking
$\leq 1,0$	-	Negativt
$> 1,0$ til $< 2,5$	+	Lett
$\geq 2,5$ til $< 5,0$	++	Forhøyet
$\geq 5,0$	+++	Høyt

Forhold = $OD_{405/620}$ (prøve) $\div$ $OD_{405/620}$ (cut-off). Testen er gyldig hvis $OD_{405/620}$ for cut-off er $\geq 0,20$.

12. Metodebegrensninger

IgG-konsentrasjoner som bestemmes ved bruk av dette testsystemet gir informasjon om pasientens sensibiliseringsnivå med hensyn til de undersøkte matantigenene eller blandingene.

En sammenheng mellom nivået av en bestemt IgG-konsentrasjon og forekomsten eller alvorlighetsgraden av kliniske symptomer kan ikke utledes fra dette. Resultatene må alltid tolkes i kombinasjon med de fullstendige kliniske symptomene.

Falskt positive testresultater kan forekomme grunnet kryssreaktivitet mellom det testede antigenet og epitoper på andre antigener.

Produksjon av matekstrakter og belegging av mikrotiterplater eliminerer ikke alltid antigenepitoper, hvilket kan føre til falskt negative resultater. IgG-antistoffer mot matantigener som ikke vises før under industriell tilberedning, tilberedning av mat eller fordøyelse, kan være upåviselige, ettersom de ikke finnes i den opprinnelige maten som pasienten testes for.

13. Ytelsesegenskaper

13.1. Presisjon

Reproduserbarheten til RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen ble fastslått ved bruk av referanseprøver som dekket hele måleområdet, fra negative til høyt positive. Gjennomsnittsverdier og variasjonskoeffisient (CV) ble bestemt for tre reagenspartier og for to mikrotiterplater. For å bestemme reproduserbarhet mellom analyser ble referanseprøver fra fem etterfølgende arbeidsdager analysert i triplikat, med to kjøring per daglig. Målingene ble utført av to teknikere.

Tabell 26: Presisjonsmåling innen analyser

Gj.sn. CV (%)	8,1
---------------	-----

Tabell 27: Presisjonsmåling mellom analyser

Gj.sn. CV (%)	11.1
---------------	------

Tabell 28: Presisjonsmåling mellom partier

Serumprøver	1	2	3
Antall reagenskitpartier	3	3	3
Antall mikrotiterplatepartier	2	2	2
Antall allergener	44	44	44
Antall målinger	264	264	264
Variasjonskoeffisient	25.0 %	16.9 %	15.4 %
Gj.sn. variasjonskoeffisient	19,1%		

Presisjonsmålinger innen analyser, mellom analyser og mellom partier antyder at RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testen genererer nøyaktige og reproducerbare resultater i det komplette måleområdet under både konstante og skiftende forhold og over flere kitpartier.

13.2 Stabilitet

13.2.1 Transportstabilitet

Komponentene i kitet ble testet for stabilitet under temperatursvingninger grunnet transport. To simulerte transportscenarier (TC 1 og TC 2) og én faktisk sjøtransport til Australia (TC 3) ble undersøkt. Temperatursvingningene ble dokumentert gjennom hele transportperioden. Temperaturer mellom 4,5 °C og 46 °C ble registrert. Komponentene i kitet ble sammenlignet med referansekitet, som ble oppbevart ved den angitte temperaturen (2 til 8 °C).

Det ble ikke vist effekter på resultatene etter transport av komponentene i kitet i noen av scenariene, hvilket betyr at RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er stabil under transportforhold.

13.2.2 Kitstabilitet etter åpning

Komponentene i kitet ble testet mht. stabilitet etter åpning av de enkelte komponentene i en periode på 6 uker. Analysen ble utført ved bruk av to positive sera som, etter 2, 4 og 6 uker, ble sammenlignet med testresultatene fra uke 0,

hvilket tilsvarer 100 % (% av REF). Analysen ble også utført på en mikrotiterplate som ikke hadde vært tildekket etter 6 uker kombinert med et nyåpnet reagenskit (Ref. Kit) og en nyåpnet mikrotiterplate kombinert med et reagenskit som ikke hadde vært tildekket (Ref. Plate). Kitene ble oppbevart ved 2 til 8 °C.

Ingen tap av stabilitet ble påvist i reagensene eller mikrotiterplatene i løpet av en periode på minst 6 uker. Testresultatene som ble oppnådd med disse kitkomponentene, viste heller ingen betydelige avvik sammenlignet med referansene.

13.3 Analytisk følsomhet

Analytisk følsomhet er en målestokk for nøyaktigheten av en test ved lave konsentrasjoner av analyttet.

Gjennomsnittlig LOB for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen er 2,8 µg/ml og gjennomsnittlig LOD er 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenter

Følgende potensielle stoffer ble testet: hemoglobin, bilirubin, triglyserider, HSA.

Relative effekter på testresultatet for RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ble ikke påvist for noen av de oppførte stoffene.

Du bør imidlertid være klar over at kombinasjonene av stoffene ikke ble testet. Et urimelig resultat for hemolytiske, hemoragiske eller lipemiske pasientprøver må derfor alltid undersøkes, spesielt med hensyn til pasientens totale kliniske bilde.

14. Versjonshistorikk

Versjonsummer	Avsnitt og benevnelse
2016-08-29	Tidligere versjon
2020-02-04	Generell revisjon: Ny layout
2020-02-04	1. Tiltentkt bruk 4. Reagenser som medfølger 8. Innsamling og oppbevaring av prøver 9. Testprosedyre 10. Kvalitetskontroll – indikasjon på instabilitet eller utløp av reagenser 11. Evaluering og tolking 13. Ytelsesegenskaper Testspesifikke symboler
2020-11-10	13. Ytelsesegenskaper

15. Symbolforklaring

Generelle symboler

	Til bruk ved in vitro-diagnostikk
	Se bruksanvisningen
	Batchnummer
	Brukes innen
	Oppbevaringstemperatur
	Artikkelnummer
	Antall tester
	Produksjonsdato
	Produsent

Testspesifikke symboler

AllergyStop R	Stoppreagens
AllergySub	Subtratløsning, bruksklar
Card	Blodinnsamlingskort
Plate	Mikrotiterplate
Conjugate	Conjugate
Control high	Positiv kontroll
Sample Buffer IgG	Prøvefortynningsbuffer
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Vaskebuffersalt

16. Referanser

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Przeznaczenie

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*. Test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen to ilościowy lub jakościowy test immunoenzymatyczny (EIA) mający na celu wykrycie swoistych przeciwciał IgG przeciwko alergenom pokarmowym. Test jest przeznaczony do wykonywania ręcznie i stanowi połączenie odczynników i powiązanych wariantów płytek mikrotitracyjnych. Można ze sobą łączyć tylko elementy produktu Foodscreen. Do testu należy użyć próbek ludzkiej surowicy krwi lub krwi włośniczkowej. Test stanowi pomoc diagnostyczną w przypadkach podejrzenia IgG-zależnej nadwrażliwości pokarmowej.

2. Podsumowanie i wyjaśnienie testu

Nietolerancję pokarmową można rozpoznać poprzez wykrycie swoistych przeciwciał IgG. Nietolerancje pokarmowe mogą wynikać ze zwiększonej przepuszczalności ściany jelita dla określonego pokarmu. Kompleksy immunologiczne składające się z przeciwciał IgG i pokarmu mogą powstawać na skutek tego, że pokarm lub jego składniki przenikają ścianę jelita, trafiając do otaczających tkanek. Kompleksy te mogą wywoływać reakcję w postaci stanu zapalnego prowadzącą do różnych chorób.

Jest to test EIA. Wszystkie płytki mikrotitracyjne wymienione w punkcie 4 „Dostarczane odczynniki” zostały poddane walidacji w połączeniu z zestawem odczynników R-Biopharm AG A8020. Odczynników RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen nie można używać w połączeniu z płytkami mikrotitracyjnymi innych producentów, a płytek mikrotitracyjnych RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen nie można używać w połączeniu z odczynnikami innych producentów.

3. Zasada testu

Ekstrakty z pokarmu, który może wywoływać reakcję nietolerancji, są adsorbowane na wewnętrznych powierzchniach studzienek płytki mikrotitracyjnej. Próbkę pobraną od ludzi (surowica krwi lub eluat z krwi włośniczkowej), surowice wzorcowe i surowice kontrolne są pipetowane do odpowiednich zagłębień i inkubowane w temperaturze pokojowej. Podczas inkubacji swoiste przeciwciała IgG wiążą się z odpowiednimi zaadsorbowanymi antygenami pokarmowymi. Niezwiązany materiał jest usuwany przez płukanie. Następnie dodaje się przeciwciało przeciwko ludzkiemu IgG sprzężone z fosfatazą alkaliczną. Podczas kolejnej fazy inkubacji koniugat zawierający przeciwciało wiąże się z przeciwciałami IgG znajdującymi się w próbce pobranej od pacjenta. Wszelkie niezwiązane koniugaty są usuwane przez płukanie. Na koniec substrat jest po dodaniu defosforylowany przez fosfatazę alkaliczną i powstaje produkt o żółtym zabarwieniu. Intensywność żółtego koloru jest proporcjonalna do ilości przeciwciał swoistych dla antygenów obecnych w surowicy krwi i można ją zmierzyć fotometrycznie przy długości fali 405 nm minus pomiar referencyjny przy długości fali 620/630 nm. Do oznaczenia ilościowego wyników pomiaru wykorzystuje się krzywą standardową. (Ważne: płytki A0301, A8921 i A8931 umożliwiają jedynie oznaczenie jakościowe).

4. Dostarczane odczynniki

Tabela 1: Zawartość RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna, indywidualna dla klienta, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), bez krzywej standardowej, test jakościowy
-------	--------	---

Tabela 2: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Sól do buforu do płukania na 5 litrów buforu do płukania, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	30 ml	Surowica wzorcowa 1, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 2,5 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 2	30 ml	Surowica wzorcowa 2, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 10,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 3	30 ml	Surowica wzorcowa 3, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 40,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 4	30 ml	Surowica wzorcowa 4, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 200,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Control high	30 ml	Surowica kontrolna, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie podane w certyfikacie; w stabilizowanym roztworze białkowym

Conjugate IgG	1 l	Koniugat przeciwciała przeciwko ludzkiemu IgG (owczego); gotowe do użycia przeciwciała sprzężone z fosfatazą alkaliczną w stabilizowanym roztworze białkowym
AllergySub	1 l	Roztwór substratu, gotowy do użycia, zawiera pNPP
AllergyStop R	1 l	Odczynnik zatrzymujący reakcję, gotowy do użycia

Tabela 3: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Bufor do rozcieńczania próbek, gotowy do użycia
Wash buffer salt Tween	6 x	Sól do buforu do płukania na 1 litr buforu do płukania, 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	2 ml	Surowica wzorcowa 1, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 2,5 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 2	2 ml	Surowica wzorcowa 2, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 10,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 3	2 ml	Surowica wzorcowa 3, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 40,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Standard 4	2 ml	Surowica wzorcowa 4, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie: 200,0 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym
Control high	2 ml	Surowica kontrolna, rozcieńczona surowica ludzka; stężenie podano w certyfikacie; w stabilizowanym roztworze białkowym
Conjugate	80 ml	Koniugat przeciwciała przeciwko ludzkiemu IgG (owczego); gotowe do użycia przeciwciała sprzężone z fosfatazą alkaliczną w stabilizowanym roztworze białkowym
AllergySub	80 ml	Roztwór substratu, gotowy do użycia, zawiera pNPP
AllergyStop R	80 ml	Odczynnik zatrzymujący reakcję, gotowy do użycia

Tabela 4: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną, indywidualną dla klienta, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	--

Tabela 5: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Płytką mikrotitracyjną 1, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
---------	-----------------	--

Tabela 6: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Płytki mikrotitracyjna 2, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
---------	-----------------	--

Tabela 7: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Płytki mikrotitracyjna 3, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
---------	-----------------	--

Tabela 8: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Płytki mikrotitracyjna 6, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
---------	-----------------	--

Tabela 9: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna panelu 1, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 10: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna panelu 2, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 11: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna ES, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 12: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna GS, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 13: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Płytki mikrotitracyjna GB, pokryta różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 14: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną GP1, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	--

Tabela 15: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną GP2, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	--

Tabela 16: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną GK, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-------	--------	---

Tabela 17: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Płytką mikrotitracyjną VEG, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), z krzywą standardową, test ilościowy
-----------	-----------------	--

Tabela 18: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną Prescreen 1, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), w tym cut-off, test jakościowy
Cut-Off	5 ml	Kontrola cut-off, rozcieńczona surowica ludzka, stężenie: 10 µg IgG/ml; w stabilizowanym roztworze białkowym

Tabela 19: Zawartość RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Płytką mikrotitracyjną Prescreen, indywidualna dla klienta, pokrytą różnymi antygenami pokarmowymi (patrz załączona macierz alergenów), w tym cut-off, test jakościowy
Cut-Off	5 ml	Kontrola cut-off, rozcieńczona surowica ludzka, w stabilizowanym roztworze białkowym

Materiały niebezpieczne oznaczono zgodnie z wymogami dotyczącymi etykietowania. Więcej informacji można znaleźć w kartach charakterystyki substancji (SDS) na stronie www.r-biopharm.com.

5. Instrukcje dotyczące przechowywania

Zestaw testowy należy przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C i zużyć przed upływem terminu ważności podanego na etykiecie. Okres przechowywania rozcieńczonego buforu do płukania **Wash buffer salt Tween** wynosi maksymalnie

4 tygodnie w temperaturze od 2 do 8°C. Unikać skażenia mikrobiologicznego. Po upływie terminu ważności nie można dłużej zagwarantować jakości.

Należy unikać skażenia roztworu substratu [AllergySub] koniugatem [Conjugate] , ponieważ spowoduje to odbarwienie się substratu [AllergySub]. Podobnie należy unikać ekspozycji substratu [AllergySub] na światło, aby zapobiec degradacji lub odbarwieniu przez hydrolizę. Nie używać substratu [AllergySub], jeśli nabrał intensywnie żółtego zabarwienia. Patrz rozdział 10.3 „Kontrola jakości - oznaki niestabilności lub upływu terminu ważności odczynników”.

5.1 Przechowywanie płytek mikrotitracyjnych

Ponieważ płytki mikrotitracyjne [Plate] są wrażliwe na działanie wilgotności w powietrzu, po wyjęciu żądanej liczby płytek [Plate] należy szczelnie zamknąć aluminiowe woreczki. Torebka ze środkiem osuszającym powinna pozostawać w woreczku aluminiowym przez cały okres przechowywania. Płytki mikrotitracyjne [Plate] mogą być przechowywane w prawidłowo zamkniętym woreczku aluminiowym przez podany okres przechowywania w temperaturze od 2 do 8°C.

6. Odczynniki wymagane, ale niedostarczane

6.1 Dostarczane odczynniki

- Woda destylowana lub dejonizowana

6.2 Sprzęt

- Fotometr do płytek mikrotitracyjnych (z filtrem 405 nm i 620/630 nm), zakres pomiaru dla OD od 0 do 3,5
- Myjka do płytek mikrotitracyjnych do 8-96 studzienek
- Pipeta 12-kanalowa
- Pipeta wieloetapowa
- Wstrząsarka pozioma (do wmywania próbek krwi włośniczkowej)

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności dla użytkowników

- Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*
- Ten test może być wykonywany wyłącznie przez przeszkolony personel laboratoryjny. Należy przestrzegać wytycznych dotyczących pracy w laboratoriach medycznych. Zawsze należy ściśle przestrzegać instrukcji dla użytkownika dotyczących wykonywania tego testu.

- Próbek ani odczynników nie wolno pipetować ustami; unikać kontaktu z uszkodzoną skórą i błonami śluzowymi. W trakcie pracy z próbkami należy nosić jednorazowe rękawiczki, a po zakończeniu testu umyć ręce.
- W miejscu, w którym przetwarzane są próbki lub odczynniki testowe, nie wolno palić, jeść ani pić.
- Surowice wzorcowe w zestawie zostały przetestowane na obecność przeciwciał przeciwko HIV i HCV, antygeny HBs oraz kiły zgodnie z wymogami CFR 21.640 i uzyskano wynik ujemny. Mimo to próbki pobrane od pacjentów i wszelkie dotykane materiały należy traktować jako potencjalne źródło zakażenia. Podczas pracy z materiałem stanowiącym potencjalne źródło zakażenia oraz jego utylizacji należy przestrzegać krajowych przepisów dotyczących bezpieczeństwa.
- Surowice wzorcowe **Standard**, koniugat **Conjugate** i koncentrat buforu do płukania **Wash buffer salt Tween** zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie wolno dopuszczać do zetknięcia się tej substancji ze skórą oraz błonami śluzowymi. Kontakt z rurami wykonanymi z ołowiu lub miedzi może spowodować powstanie wybuchowych azydów metali.
- Nie wolno dopuścić do kontaktu odczynnika zatrzymującego reakcję lub roztworu substratu ze skórą, oczami lub odzieżą. W przypadku kontaktu ze skórą natychmiast umyć wodą z mydłem. W przypadku kontaktu z oczami natychmiast płukać pod bieżącą wodą przez 15 minut z otwartymi oczami. Zasięgnąć porady okulisty. W przypadku połknięcia wypić dużą ilość wody, unikać wymiotów i niezwłocznie udać się do lekarza.
- Po użyciu wszystkie elementy zestawu muszą zostać prawidłowo zutylizowane przez użytkownika (patrz karty charakterystyki bezpieczeństwa dla elementów zestawu).
- Wszystkie odczynniki i materiały, które mają kontakt z potencjalnie zakaźnymi próbkami, muszą być poddane działaniu odpowiednich środków dezynfekcyjnych lub sterylizowane w autoklawie w temperaturze 121°C przez co najmniej jedną godzinę.

8. Pobieranie i przechowywanie próbek

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen służy do badania surowicy ludzkiej i krwi wąsowniczkowej.

Podczas pobierania krwi żyłnej surowica powinna zostać jak najszybciej oddzielona od skrzepu po całkowitej koagulacji, aby uniknąć hemolizy. próbki surowicy muszą być przechowywane w niskiej temperaturze (2-8°C) lub zamrożone (-20°C) do momentu przeprowadzenia testu. Unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania surowicy oraz skażenia bakteryjnego. Stosowanie surowic unieczynnionych termicznie, lipemicznych, hemolitycznych, zażółconych lub mętnych może prowadzić do uzyskania fałszywych wyników.

W przypadku stosowania próbek krwi wąsowniczkowej w RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen należy używać odpowiedniego sprzętu (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN®

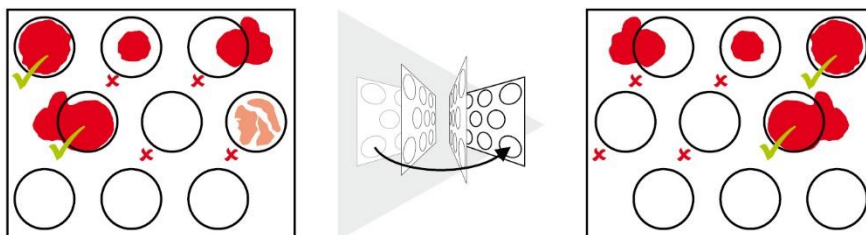
Foodscreen Blood Collection Card). Wyłącznie ten sprzęt został zatwierdzony do tego testu. Wysuszone próbki krwi wąsniczkowej na karcie Blood Collection Card (element A8025 i A8025-BCC) są stabilne przez maksymalnie 3 tygodnie w przypadku przechowywania w suchym miejscu w temperaturze pokojowej (20-25°C). Nie przechowywać próbek krwi wąsniczkowej w chłodziarce.

Tabela 20: Stabilność typów próbek

Surowica nierozcieńczona		Surowica rozcieńczona	Wysuszona próbka krwi wąsniczkowej	Eluat próbki krwi wąsniczkowej
2-8°C	-20°C	20-25°C	20-25°C	20-25°C
1 miesiąc	> 3 miesiące	Maks. 6 godzin	3 tygodnie	Maks. 6 godzin

Ważna informacja dotycząca przetwarzania próbek krwi wąsniczkowej:

Kręgi na karcie do pobierania krwi muszą być całkowicie wypełnione krwią. Sprawdzić także drugą stronę karty w celu upewnienia się, że okrągłe pola są nasączone na wylot.



9. Procedura testu

9.1 Informacje ogólne

Wszystkie odczynniki, próbki surowicy pobranej od pacjentów i płytki mikrotitracyjne [Plate] należy przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej (ważne). Odczynniki dobrze wymieszać bezpośrednio przed użyciem. Po użyciu zestaw odczynników musi być przechowywany w temperaturze 2-8°C.

Pokrywanych płytek mikrotitracyjnych [Plate] nie wolno używać więcej niż raz. Nie używać odczynników ani płytek mikrotitracyjnych [Plate], jeśli opakowanie jest uszkodzone lub pojemniki nie zostały szczelnie zamknięte.

Pokrywane płytki mikrotitracyjne [Plate] mogą być używane z odczynnikami z różnych partii zestawów.

Wszelkie odstępstwa od podanych czasów i temperatur inkubacji spowodują przesunięcie krzywej standardowej w stosunku do krzywej z certyfikatu. Istotne różnice w wartościach krzywej standardowej mogą prowadzić do nieprawidłowych wyników testu. Klient musi zmodyfikować (i zatwierdzić) czas inkubacji lub temperaturę, na przykład w celu w pełni automatycznego przetworzenia testu.

Nie wolno przeprowadzać testu w miejscu, gdzie pada bezpośrednie światło słoneczne. Zaleca się zakrywanie płytek mikrotitracyjnych **Plate** podczas fazy inkubacji.

9.2 Przygotowanie buforu do płukania

Rozpuścić zawartość opakowania soli buforu do płukania **Wash buffer salt Tween** w 1 l wody destylowanej. Użyć wyłącznie ilości niezbędnej dla każdego oznaczenia. Rozcieńczony bufor do płukania **Wash buffer salt Tween** ma jedynie ograniczony maksymalny okres ważności 4 tygodnie (2-8°C).

9.3 Przygotowanie płytek mikrotitracyjnych

Pokrywane płytki mikrotitracyjne **Plate** nie mogą być stosowane bezpośrednio. Przed wykonaniem pipetowania płytki **Plate** należy oznaczyć nazwiskiem lub numerem pacjenta.

9.4 Rozcieńczenie próbki

9.4.1 Rozcieńczenie próbki; próbki surowicy

Rozcieńczyć próbkę surowicy buforem do rozcieńczania próbek **Sample Buffer IgG** w stosunku 1:100.

Tabela 21: Zalecane przygotowanie rozcieńczenia próbki

Do 50 oznaczeń		Do 100 oznaczeń		Do 200 oznaczeń		Do 300 oznaczeń	
Surowica	Bufor	Surowica	Bufor	Surowica	Bufor	Surowica	Bufor
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Wymywanie próbki; próbki krwi włośniczkowej

Potrząsać próbką krwi włośniczkowej z buforem do rozcieńczania próbek **Sample Buffer IgG** w odpowiedniej fiolce przed jedną godzinę (do 14 godzin) w temperaturze 20-25°C we wstrząsarce poziomej. Dla każdego oznaczania przedziurkować kartę **Card** z odpowiednimi kręgami perforowanymi. Dziurkowanie wysuszonych, wypełnionych krwią okręgów na karcie **Card** należy wykonywać palcem w rękawiczce jednorazowej. Do dziurkowania kręgów na

karcie [Card] można także użyć odpowiedniego jałowego przedmiotu, na przykład końcówki pipety albo szpatułki laboratoryjnej.

Tabela 22: Zalecane przygotowanie wymywania próbki

Do 50 oznaczeń		Do 100 oznaczeń		Do 200 oznaczeń		Do 300 oznaczeń	
Próbka	Bufor	Próbka	Bufor	Próbka	Bufor	Próbka	Bufor
2 kręgi	4,0 ml	4 kręgi	8,0 ml	6 kręgów	12,0 ml	8 kręgów	16,0 ml

Eluat próbki krwi włósniczkowej już odpowiada rozcieńczonej próbce pobranej od pacjenta i jest pipetowany na płytkę mikrotitracyjną [Plate] zgodnie z instrukcją.

9.5 Pierwsza inkubacja (inkubacja próbki)

Przy użyciu pipety wprowadzić 50 µl surowic wzorcowych [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], próbki kontrolnej [Control high] lub [Cut-Off] i rozcieńczonej surowicy pobranej od pacjenta lub eluatu próbki krwi włósniczkowej do studzienek płytki mikrotitracyjnej [Plate] zgodnie ze schematem pipetowania. Następnie inkubować płytki [Plate] przez 90 minut w temperaturze 20-25°C. Płytki można nakładać jedna na drugiej w kolejności pipetowania; nakryć górną część płytki.

9.6 Płukanie

Wyplukać płytki trzykrotnie w buforze do płukania przy użyciu 350 µl rozcieńczonego bufora do płukania [Wash buffer salt Tween] dla każdej studzienki. Dekantacja końcowa powinno być w miarę możliwości ilościowa. Po płukaniu płytki [Plate] można odsączyć na materiał chłonny w celu usunięcia pozostałości roztworu do płukania.

9.7 Druga inkubacja (inkubacja koniugatu)

Przy użyciu pipety wprowadzić 50 µl koniugatu [Conjugate] do każdej studzienki. Następnie inkubować płytki [Plate] przez 90 minut w temperaturze 20-25°C. Płytki [Plate] można układać jedna na drugiej w kolejności pipetowania; nakryć górną część płytki [Plate].

9.8 Płukanie

Płukać zgodnie z opisem w rozdziale 9.6.

9.9 Trzecia inkubacja (inkubacja na substracie)

Przy użyciu pipety wprowadzić 50 µl roztwór substratu [AllergySub] do każdej studzienki. Następnie inkubować płytki [Plate] przez 60 minut w temperaturze 20-25°C. Chronić inkubowane płytki [Plate] przed bezpośrednim działaniem światła

słonecznego. Płytki [Plate] można układać jedna na drugiej w kolejności pipetowania; nakryć górną część płytki [Plate].

9.10 Zatrzymywanie reakcji i wykonywanie pomiaru

Dodanie do każdej studzienki 50 µl odczynnika zatrzymującego reakcję [AllergyStop R] spowoduje zatrzymanie reakcji. Po dodaniu odczynnika zatrzymującego reakcję [AllergyStop R] delikatnie „stuknąć” płytkę [Plate], by uzyskać dokładne wymieszanie zawartości studzienek. Zmierzyć ekstynkcję przy 405 nm przy zastosowaniu fali referencyjnej o długości 620/630 nm.

Płytki [Plate] można zmierzyć ponownie w ciągu 24 godzin, jeśli zostaną zakryte i przechowywane w chłodziarce.

10. Kontrola jakości - oznaki niestabilności lub upływu terminu ważności odczynników

10.1 Ocena RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Podczas każdej procedury testowej każda płytka [Plate] powinna zawierać wzorce [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4] oraz próbkę kontrolną [Control high]. Test został przeprowadzony prawidłowo, jeśli spełnione są następujące kryteria (wszystkie informacje oparte są na pomiarze różnicowym od 405 nm do 620 nm (lub 630 nm) [OD_{405/620}]):

[Standard 2]	minus	[Standard 1]	≥ 0,08
[Standard 3]	minus	[Standard 2]	≥ 0,30
[Standard 4]	minus	[Standard 3]	≥ 0,70
[Standard 4]			> 1,0

10.2 Ocena RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Podczas każdej procedury testowej każda płytka [Plate] powinna zawierać kontrolę [Cut-Off]. Test został przeprowadzony prawidłowo, jeśli spełnione jest następujące kryterium (wszystkie informacje oparte są na pomiarze różnicowym od 405 nm do 620 nm lub 630 nm [OD_{405/620}]):

[Cut-Off]	≥ 0,20
-----------	--------

10.3 Oznaki niestabilności lub pogorszenia jakości odczynników

Odchylenie od oczekiwanej wartości referencyjnej, zmętnienie odczynników lub intensywnie żółte zabarwienie substratu [AllergySub] przed dodaniem do studzienki mogą wskazywać na przeterminowanie odczynnika.

Jeśli określone wartości referencyjne nie zostały osiągnięte, przed powtórzeniem testu należy sprawdzić co następuje:

- datę ważności użytych odczynników;
- prawidłowe funkcjonowanie używanego sprzętu (np. kalibrację);
- prawidłowość procedury testu;
- wzrokowo - elementy testu pod kątem zanieczyszczeń lub wycieków.

Nie używać roztworu substratu AllergySub, jeśli ma intensywnie żółte zabarwienie. Jeśli określone wartości nie zostaną osiągnięte po powtórzeniu testu, należy skontaktować się z producentem.

11. Ocena i interpretacja

11.1 Wyniki badania surowicy i krwi włośniczkowej

11.1.1 Podstawa do obliczeń

Obliczenia muszą się opierać na krzywej standardowej do ilościowej oceny i interpretacji testu. W przypadku takiej oceny i interpretacji należy wykonać test dla standardów na każdej płytce. Wartości ekstynkcji standardu są przedstawione jako funkcja powiązanych stężeń ($\mu\text{g/ml}$) w sposób półlogarytmiczny (wykres $y\text{-ln}/x\text{-log}$) na wykresie liniowym w celu wyznaczenia krzywej standardowej. W przypadku analiz standardu w dwóch powtórzeniach średnia ekstynkcji z dwóch powtórzeń zostanie wykorzystana do wyznaczenia krzywej standardowej. Stężenia swoistych przeciwciał IgG w $\mu\text{g/ml}$ można określić na podstawie krzywej standardowej wyznaczonej przy użyciu zmierzonych wartości OD przeliczonych następnie na stężenia dla poszczególnych klas IgG (patrz Tabela 23 i 24). Oceny można również dokonać przy użyciu odpowiedniego oprogramowania. Ocenę i interpretację wyników testu jakościowego wyjaśniono w tabeli.

Krzywą standardową testu RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen skalibrowano według międzynarodowego preparatu referencyjnego: Pierwszy Międzynarodowy Preparat Referencyjny 67/86 Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dla ludzkich przeciwciał IgG.

11.1.2 Stężenia, klasy IgG i obliczenia dla testu RIDASCREEN® Spec. IgG

Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabela 23: Stosunek ilościowy między ustalonymi stężeniami IgG [$\mu\text{g/ml}$], klasami IgG i stężeniem IgG swoistych dla antygeny z próbki surowicy pacjenta

Stężenie IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Klasa IgG	Zawartość IgG swoistych dla antygeny	Alternatyw na klasa IgG	Zawartość IgG swoistych dla antygeny
< 7,5	0	Wynik ujemny	0	Wynik ujemny
od 7,5 do < 12,5	1	Nieznaczną	1	Podwyższona
od 12,5 do < 20,0	2	Podwyższona		
od 20,0 do < 50,0	3	Wysoka	2	Znacznie podwyższona
$\geq 50,0$	4	Bardzo wysoka		

Tabela 24: Stosunek ilościowy między ustalonymi stężeniami [$\mu\text{g/ml}$], klasami IgG i stężeniem IgG swoistych dla antygeny z próbki krwi włośniczkowej pacjenta

Stężenie IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Klasa IgG	Zawartość IgG swoistych dla antygeny	Alternatyw na klasa IgG	Zawartość IgG swoistych dla antygeny
< 8,0	0	Wynik ujemny	0	Wynik ujemny
od 8,0 do < 18,0	1	Nieznaczną	1	Podwyższona
od 18,0 do < 40,0	2	Podwyższona	2	Znacznie podwyższona
$\geq 40,0$	3	Wysoka		

Są to jedynie wartości przybliżone. Nie istnieją międzynarodowe normy dla IgG swoistych dla pokarmów.

Tabela 25: Ocena i interpretacja jakościowa dla RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) i Prescreen Customized Plate (A8931) z próbki surowicy lub krwi włośniczkowej

Przełożenie	Ocena	Interpretacja
$\leq 1,0$	-	Wynik ujemny
od > 1,0 do < 2,5	+	Nieznaczną
od $\geq 2,5$ do < 5,0	++	Podwyższona
$\geq 5,0$	+++	Wysoka

Stosunek = $\text{OD}_{405/620}$ (próbka) $\div$ $\text{OD}_{405/620}$ (cut-off). Wynik testu jest ważny, jeśli $\text{OD}_{405/620}$ dla cut-off wynosi $\geq 0,20$.

12. Ograniczenia metody

Stężenia IgG określone przy użyciu tego systemu testowego dostarczają danych na temat poziomu uwrażliwienia pacjenta na badane antygeny pokarmowe lub ich połączenia.

Na tej podstawie nie można wyciągnąć wniosków dotyczących zależności między poziomem ustalonego stężenia IgG a występowaniem lub nasileniem objawów klinicznych. Uzyskane wyniki należy zawsze interpretować z uwzględnieniem pełnego obrazu klinicznego.

Fałszywie dodatnie wyniki testu mogą występować ze względu na reaktywność krzyżową badanego antygeny z epitopami innych antygenów.

Podczas produkcji ekstraktów z pokarmu i pokrywania płytek mikrotitracyjnych nie zawsze usuwane są epitopy antygenów, co może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych. Przeciwciała IgG przeciwko antygenom pokarmowym, które nie pojawiają się do momentu obróbki przemysłowej, przygotowania pokarmu lub jego strawienia, mogą być niewykrywalne, ponieważ nie ma ich w pierwotnym pokarmie, pod kątem którego pacjent jest badany.

13. Charakterystyka działania

13.1. Precyzja

Odtwarzalność wyników testu RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen ustalono przy użyciu próbek referencyjnych obejmujących cały zakres pomiaru - od wyniku ujemnego do wysoko dodatniego. Średnie wartości i współczynniki zmienności (CV) określono dla trzech serii odczytników i dwóch płytek mikrotitracyjnych. W celu określenia odtwarzalności pomiędzy oznaczeniami oznaczano potrójnie próbki referencyjne z pięciu kolejnych dni roboczych, gdzie w ciągu dnia wykonywano dwa cykle testów. Pomiar przeprowadziło dwóch techników.

Tabela 26: Precyzja pomiaru w obrębie oznaczenia

Średnia CV (%)	8,1
----------------	-----

Tabela 27: Precyzja pomiarów pomiędzy oznaczeniami

Średnia CV (%)	11,1
----------------	------

Tabela 28: Precyzja pomiarów między partiami

Próbki surowicy	1	2	3
Liczba serii zestawów odczynników	3	3	3
Liczba serii płytek mikrotitracyjnych	2	2	2
Liczba alergenów	44	44	44
Liczba pomiarów	264	264	264
Współczynnik zmienności	25,0%	16,9%	15,4%
Średni współczynnik zmienności	19,1%		

Precyzja pomiarów w obrębie oznaczenia, pomiędzy oznaczeniami i między partiami sugeruje, że test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen daje dokładne i powtarzalne wyniki w całym zakresie pomiaru zarówno w stałych, jak i zmiennych warunkach oraz dla kilku serii zestawów.

13.2 Stabilność

13.2.1 Stabilność podczas transportu

Elementy zestawu przetestowano pod kątem stabilności wobec zmian temperatury podczas transportu. Przeanalizowano dwa symulowane scenariusze transportu (TC 1 i TC 2) oraz jeden prawdziwy transport zagraniczny do Australii (TC 3). Prowadzono dokumentację zmian temperatury przez cały czas transportu. Odnotowano temperatury między 4,5°C a 46°C. Elementy zestawu porównano z zestawem referencyjnym, który przechowywano w zalecanej temperaturze (od 2 do 8°C).

W żadnym scenariuszu nie wykryto, by transport elementów zestawu miał wpływ na wyniki, co oznacza, że test RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen jest stabilny w warunkach transportu.

13.2.2 Stabilność zestawu po otwarciu

Elementy zestawu testowano pod kątem stabilności po otwarciu pojedynczych elementów przez okres 6 tygodni. Analizę przeprowadzono przy użyciu dwóch

surowic dających wynik dodatni, które, po 2, 4 i 6 tygodniach, porównano z wynikami testu z tygodnia 0 odpowiadającymi 100% (% REF). Analizę przeprowadzono również po 6 tygodniach na niezakrytej płytce mikrotitracyjnej z niedawno otwartym zestawem odczynników (Ref. Kit) i na niedawno otwartej płytce mikrotitracyjnej z niezakrytym zestawem odczynników (Ref. Plate). Zestawy przechowywano w temperaturze od 2 do 8°C.

Nie wykryto żadnych strat stabilności w przypadku odczynników ani płytek mikrotitracyjnych przez okres co najmniej 6 tygodni. Wyniki testu uzyskane przy użyciu tych elementów zestawu nie wykazały żadnych istotnych odchyleń w porównaniu z elementami referencyjnymi.

13.3 Czułość analityczna

Czułość analityczna to pomiar dokładności testu przy niskich stężeniach analitu.

Średnia LOB dla testu RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen wynosi 2,8 µg/ml, a średnia LOD - 4,0 µg/ml.

13.4 Substancje zakłócające

Zbadano następujące potencjalne substancje zakłócające: hemoglobina, bilirubina, trójglicerydy, HSA.

Nie wykryto względnego wpływu jakiejkolwiek z wymienionych substancji na wynik testu RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen.

Jednak należy pamiętać, że nie przebadano połączeń substancji. Dlatego w odniesieniu do próbek pacjenta w przypadku hemolizy, krwotoku lub lipemii mało wiarygodny wynik zawsze należy przeanalizować z uwzględnieniem ogólnego obrazu klinicznego pacjenta.

14. Historia zmian

Numer wersji	Rozdział i oznaczenie
2016-08-29	Poprzednia wersja
2020-02-04	Zmiany ogólne: Nowy układ
2020-02-04	1. Przeznaczenie 4. Dostarczane odczynniki 8. Pobieranie i przechowywanie próbek 9. Procedura testu 10. Kontrola jakości - oznaki niestabilności lub upływu terminu ważności odczynników 11. Ocena i interpretacja 13. Charakterystyka działania Indywidualne symbole testów
2020-11-10	13. Charakterystyka działania

15. Objaśnienia symboli

Symbole ogólne

	Do stosowania w diagnostyce in vitro
	Przestrzegać instrukcji użycia
	Numer partii
	Data ważności
	Temperatura przechowywania
	Numer artykułu
	Liczba testów
	Data produkcji
	Producent

Indywidualne symbole testów

AllergyStop R	Odczynnik zatrzymujący reakcję
AllergySub	Roztwór substratu, gotowy do użycia
Card	Karta do pobierania krwi
Plate	Płytki mikrotitracyjna
Conjugate	Koniugat
Control high	Kontrola dodatnia
Sample Buffer IgG	Bufor do rozcieńczania próbek
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Sól do buforu do płukania

16. Piśmiennictwo

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico *in-vitro*. O teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é um imunoensaio quantitativo ou qualitativo de enzimas (EIA) para a determinação de anticorpos IgG específicos contra alérgenos de alimentos. O teste foi projetado para processamento manual e é uma combinação de reagentes e as variantes associadas da placa de microtitulação. Somente os componentes do produto Foodscreen devem ser combinados entre si. O teste é adequado para o uso de soro humano e amostras de sangue capilar humano. O teste é uma ajuda diagnóstica em casos de suspeita de hipersensibilidade alimentar mediada por IgG.

2. Sumário e explicação do teste

A intolerância alimentar pode ser identificada pela detecção de anticorpos IgG específicos. As intolerâncias alimentares podem ser o resultado do aumento da permeabilidade da parede intestinal para um alimento específico. Complexos imunológicos consistindo em anticorpos IgG e alimentos podem se formar resultantes da penetração da comida ou de seus ingredientes através da parede intestinal no tecido circundante, e esses complexos podem desencadear respostas inflamatórias que podem levar a diferentes doenças.

O teste é um EIA. Todas as placas de microtitulação listadas em 4 “Reagentes fornecidos” foram validadas em combinação com o kit de reagentes A8020 da R-Biopharm AG. Os reagentes do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen não podem ser usados em combinação com placas de microtitulação de outros fabricantes e as placas de microtitulação RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen não podem ser usadas com reagentes de outros fabricantes.

3. Princípio do teste

Extratos alimentares que podem causar uma reação de intolerância são adsorvidos nas superfícies internas dos poços de uma placa de microtitulação. Amostras de pacientes humanos (soro ou eluato do sangue capilar), soros padrão e soros de controle são pipetados para as cavidades apropriadas e incubados à temperatura ambiente. Durante a incubação, os anticorpos IgG específicos se ligam aos antígenos alimentares adsorvidos correspondentes. O material não ligado é removido por lavagem. Um anticorpo IgG anti-humano conjugado com fosfatase alcalina é então adicionado. Durante outra fase de incubação, este conjugado de anticorpo se liga aos anticorpos IgG humanos da amostra do paciente. Qualquer conjugado não ligado é removido por lavagem. Por fim, depois de adicionado, o substrato é desfosforilado pela fosfatase alcalina e se transforma em um produto de cor amarela. A intensidade da coloração amarela é proporcional à quantidade de anticorpos específicos para antígenos no soro e pode ser medida por fotometria a 405 nm, menos a medição do comprimento de onda de referência em 620/630 nm. A curva padrão é usada para quantificar os resultados da medição. (Importante: As placas A0301, A8921 e A8931 permitem apenas uma avaliação qualitativa.)

4. Reagentes fornecidos

Tabela 1: Conteúdo do RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação, específica do cliente, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), sem curva padrão, qualitativa
-------	--------	--

Tabela 2: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Sal tampão de lavagem para 5 litros de tampão de lavagem, 10 mM de PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	30 ml	Soro padrão 1, soro humano diluído; concentração: 2,5 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 2	30 ml	Soro padrão 2, soro humano diluído; concentração: 10,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 3	30 ml	Soro padrão 3, soro humano diluído; concentração: 40,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 4	30 ml	Soro padrão 4, soro humano diluído; concentração: 200,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Control high	30 ml	Soro de controle, soro humano diluído; ver certificado de concentração; em solução proteica estabilizada
Conjugate IgG	1 l	Conjugado de IgG anti-humano (ovelha); pronto para uso; anticorpo conjugado com fosfatase alcalina em solução proteica estabilizada

AllergySub	1 l	Solução de substrato, pronta para uso, contém pNPP
AllergyStop R	1 l	Reagente de parada, pronto para uso

Tabela 3: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Tampão de diluição da amostra, pronto para uso
Wash buffer salt Tween	6 x	Sal tampão de lavagem para 1 litros de tampão de lavagem, 10 mM de PBS, 0,05% TWEEN20
Standard 1	2 ml	Soro padrão 1, soro humano diluído; concentração: 2,5 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 2	2 ml	Soro padrão 2, soro humano diluído; concentração: 10,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 3	2 ml	Soro padrão 3, soro humano diluído; concentração: 40,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Standard 4	2 ml	Soro padrão 4, soro humano diluído; concentração: 200,0 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada
Control high	2 ml	Soro de controle, soro humano diluído; ver certificado de concentração; em solução proteica estabilizada
Conjugate	80 ml	Conjugado de IgG anti-humano (ovelha); pronto para uso; anticorpo conjugado com fosfatase alcalina em solução proteica estabilizada
AllergySub	80 ml	Solução de substrato, pronta para uso, contém pNPP
AllergyStop R	80 ml	Reagente de parada, pronto para uso

Tabela 4: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação, específica do cliente, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 5: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulação 1, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabela 6: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulação 2, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabela 7: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulação 3, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabela 8: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulação 6, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
---------	-----------------	--

Tabela 9: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Painel 1 de microtitulação, revestido com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 10: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Painel 2 de microtitulação, revestido com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 11: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação ES, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 12: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação GS, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 13: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação GB, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 14: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação GP1, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	--

Tabela 15: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação GP2, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	--

Tabela 16: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação GK, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-------	--------	---

Tabela 17: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Placa de microtitulação VEG, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo curva padrão, quantitativa
-----------	-----------------	--

Tabela 18: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação Prescreen 1, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo ponto de corte, qualitativa
Cut-Off	5 ml	Controle de ponto de corte, soro humano diluído; concentração: 10 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada

Tabela 19: Conteúdo do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação Prescreen, específica para o cliente, revestida com vários antígenos alimentares (ver matriz alergênica em anexo), incluindo ponto de corte, qualitativa
Cut-Off	5 ml	Controle de ponto de corte, soro humano diluído; em solução proteica estabilizada

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigações de marcação. Para maiores detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDSs) em www.r-biopharm.com.

5. Instruções de armazenamento

O kit de teste deve ser armazenado entre 2 e 8°C e pode ser usado até a data impressa no rótulo. O tampão de lavagem diluído **Wash buffer salt Tween** tem um prazo de validade máximo de 4 semanas quando armazenado entre 2 e 8 °C. A contaminação microbiana deve ser evitada. Nenhuma garantia de qualidade poderá ser assegurada após o término do prazo de validade.

Contaminação da solução de substrato **AllergySub** com o conjugado **Conjugate** deve ser evitado, pois isso causará a descoloração do substrato **AllergySub**. Da mesma forma, a exposição direta do

substrato [AllergySub] à luz deve ser evitada para evitar a degradação ou descoloração por hidrólise. Não use o substrato [AllergySub] se tiver desenvolvido uma coloração amarela intensa. Ver 10.3 “Controle de qualidade – indicação de instabilidade ou expiração de reagentes.”

5.1 Armazenamento de placas de microtitulação

Uma vez que as placas de microtitulação [Plate] são suscetíveis à umidade do ar, os sacos de alumínio devem ser firmemente selados depois que o número necessário de placas [Plate] foi removido. A bolsa dessecante precisa permanecer na bolsa de alumínio durante todo o período de armazenamento. As placas de microtitulação [Plate] podem ser armazenadas na embalagem de alumínio selada corretamente para o prazo de validade especificado de 2 a 8 °C.

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Reagentes fornecidos

- Água destilada ou deionizada

6.2 Equipamento

- Fotômetro para placas de microtitulação (com filtro de 405 nm e 620/630 nm), faixa de medição de 0 a 3,5 OD
- Lavadora para placas de microtitulação para 8 a 96 poços
- Pipeta de 12 canais
- Pipeta com várias etapas
- Agitador horizontal (para a eluição de amostras de sangue capilar)

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

- Apenas para diagnóstico *in vitro*
- Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório treinado. As diretrizes para trabalho em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre cumpra estritamente as instruções de usuário para a realização desse teste.
- Não pipete amostras ou reagentes pela boca; evite o contato com membranas mucosas e pele lesionada. Ao manusear as amostras, utilize luvas descartáveis e lave as mãos após o teste.
- Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras ou reagentes de teste estiverem sendo processados.
- Os soros padrão no kit foram testados para anticorpos anti-HIV e HCV, HBsAg e sífilis conforme CFR 21.640 e foram negativos. No entanto, as amostras dos pacientes e todos os materiais que tocar devem ser tratados como potencialmente

infecciosos. Siga as normas de segurança nacionais para manusear e descartar materiais potencialmente infecciosos.

- Soro padrão **Standard**, conjugado **Conjugate** e concentrado de tampão de lavagem **Wash buffer salt Tween** contêm azida sódica como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou com membranas mucosas. O contato com tubos de chumbo ou cobre pode causar a formação de azidas metálicas explosivas.
- Não permita que o reagente bloqueador ou a solução do substrato entre em contato com a pele, olhos ou roupas. Em caso de contato com a pele, lave com água e sabão imediatamente. Em caso de contato com os olhos, lave imediatamente com água corrente por 15 minutos com as pálpebras abertas. Consulte um oftalmologista. Se ingerido, beba bastante água, evite vômitos e procure atendimento médico imediato.
- Todos os componentes do kit devem ser descartados adequadamente pelo usuário após o uso (consulte as fichas de segurança dos componentes no kit).
- Todos os reagentes e materiais que entrarem em contato com amostras potencialmente infecciosas devem ser tratados com os desinfetantes adequados ou submetidos à autoclavagem a uma temperatura de 121 °C por pelo menos uma hora.

8. Coleta e armazenamento de amostras

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen foi desenvolvido para testar soro humano e sangue capilar.

Durante a coleta de sangue venoso, o soro deve ser separado do coágulo o mais rápido possível após a coagulação completa para evitar hemólise. As amostras de soro devem ser armazenadas a frio (2 a 8 °C) ou congeladas (-20 °C) até serem testadas. Evite congelamento e descongelamento repetidos do soro, bem como contaminação bacteriana. O uso de soros inativados pelo calor, lipêmicos, hemolíticos, ictericos ou turvos pode levar a resultados falsos.

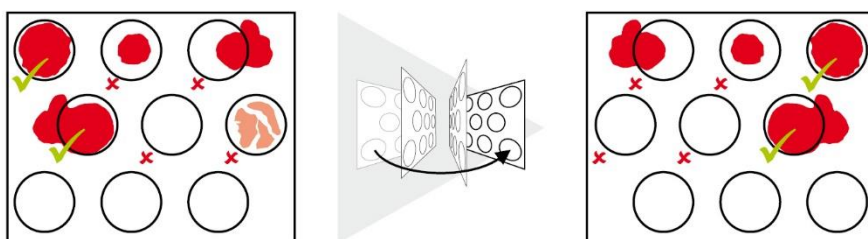
Quando amostras de sangue capilar são usadas no teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen, o equipamento correto deve ser usado (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Somente este equipamento foi validado para este teste. As amostras de sangue capilar seco do Cartão de Coleta de Sangue (componente de A8025 e A8025-BCC) são estáveis por no máximo 3 semanas quando armazenadas em local seco à temperatura ambiente (20 a 25 °C). Não guarde amostras de sangue capilar na geladeira.

Tabela 20: Estabilidade dos tipos de amostra

Soro não diluído		Soro diluído	Amostras de sangue capilar seco	Eluato da amostra de sangue capilar
2 a 8 °C	-20 °C	20 a 25 °C	20 a 25 °C	20 a 25 °C
1 mês	> 3 meses	Máx. 6 horas	3 semanas	Máx. 6 horas

Nota importante para o processamento de amostras de sangue capilar:

Os círculos no cartão de sangue precisam ser completamente preenchidos com sangue. Verifique também o verso do cartão para ter certeza que os círculos foram totalmente embebidos.



9. Realização do teste

9.1 Informações gerais

Todos os reagentes, o soro do paciente e a placa de microtitulação **Plate** devem ser trazidos à temperatura ambiente antes do uso (importante). Misture bem os reagentes imediatamente antes do uso. Após o uso, o kit de reagentes deve ser armazenado entre 2 a 8 °C.

A placas de microtitulação revestidas **Plate** não podem ser usadas mais de uma vez. Não utilize reagentes ou as placas de microtitulação **Plate** se a embalagem estiver danificada ou se os frascos não estiverem bem selados.

A placas de microtitulação revestidas **Plate podem ser usadas com os reagentes de diferentes lotes de kits.**

Qualquer desvio dos tempos e temperaturas de incubação especificados fará com que a curva padrão mude em comparação com o certificado. Diferenças significativas nos valores da curva padrão podem levar a resultados de teste inválidos. O cliente precisa modificar (e validar) o tempo e/ou temperatura de incubação, por exemplo, para processamento totalmente automatizado do teste.

Não realize o teste em contato direto com a luz solar. Recomenda-se cobrir as placas de microtitulação [Plate] durante as fases de incubação.

9.2 Preparação do tampão de lavagem

Dissolver o conteúdo de uma embalagem de sal tampão de lavagem [Wash buffer salt Tween] em 1 litro de água destilada. Use apenas a quantidade necessária para cada ensaio. O tampão de lavagem diluído [Wash buffer salt Tween] tem um prazo de validade máximo limitado de 4 semanas (2 a 8 °C).

9.3 Preparação das placas de microtitulação

As placas de microtitulação revestidas [Plate] não podem ser usadas diretamente. Antes da pipetagem, as placas [Plate] precisam ser identificadas com o nome ou número do paciente.

9.4 Diluição da amostra

9.4.1 Diluição da amostra; amostras de soro

Dilua a amostra de soro com o tampão de diluição da amostra [Sample Buffer IgG] de 1:100.

Tabela 21: Preparações de diluição de amostras recomendadas

Até 50 determinações		Até 100 determinações		Até 200 determinações		Até 300 determinações	
Soro	Tampão	Soro	Tampão	Soro	Tampão	Soro	Tampão
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Eluição da amostra; amostras de sangue capilar

Agite a amostra de sangue capilar seco com o tampão de diluição da amostra [Sample Buffer IgG] em um frasco apropriado por 1 (a 14) hora(s) entre 20 a 25 °C em um agitador horizontal. Para cada ensaio, perfure os círculos perfurados correspondentes [Card]. Devem ser usadas luvas descartáveis para perfurar os círculos cheios de sangue, secos [Card] usando o dedo. Também é possível usar um objeto estéril apropriado, tal como a extremidade de uma ponta de pipeta ou uma espátula de laboratório, para perfurar os círculos [Card].

Tabela 22: Preparações recomendadas para eluição da amostra

Até 50 determinações		Até 100 determinações		Até 200 determinações		Até 300 determinações	
Amostra	Tampão	Amostra	Tampão	Amostra	Tampão	Amostra	Tampão
2 círculos	4,0 ml	4 círculos	8,0 ml	6 círculos	12,0 ml	8 círculos	16,0 ml

O eluato da amostra de sangue capilar já corresponde à amostra diluída paciente e é pipetado para a placa de microtitulação [Plate] de acordo com as instruções.

9.5 Primeira incubação (incubação de amostra)

Pipete 50 µl do soros padrão [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4], o controle [Control high] ou [Cut-Off] e o soro do paciente diluído ou eluato da amostra de sangue capilar para nos poços da placa de microtitulação [Plate] de acordo com o esquema de pipetagem. Em seguida, incube as placas [Plate] durante 90 minutos entre 20 a 25 °C. As placas podem ser empilhadas na ordem de pipetagem; cubra a placa superior.

9.6 Lavagem

Lave os poços três vezes em uma lavadora de microplacas usando 350 µl de tampão de lavagem diluído [Wash buffer salt Tween] para cada poço. O desvio final deve ser quantitativo, se possível. As placas [Plate] podem ser extraídas do material absorvível após a lavagem para remover qualquer solução de lavagem residual.

9.7 Segunda incubação (incubação conjugada)

Adicione 50 µl de conjugado [Conjugate] em cada poço. Em seguida, incube as placas [Plate] durante 90 minutos entre 20 a 25 °C. As placas [Plate] podem ser empilhadas na ordem de pipetagem; cubra a placa [Plate] superior.

9.8 Lavagem

Lave do modo descrito na seção 9.6.

9.9 Terceira incubação (incubação de substrato)

Pipete 50 µl de solução de substrato [AllergySub] em cada poço. Em seguida, incube as placas [Plate] durante 60 minutos entre 20 a 25 °C. Mantenha as placas incubadas [Plate] fora da luz solar direta. As placas [Plate] podem ser empilhadas na ordem de pipetagem; cubra a placa superior [Plate].

9.10 Parando a reação e realizando a medição

A adição de 50 µl de reagente bloqueador [AllergyStop R] em cada poço interromperá a reação. Após o reagente bloqueador [AllergyStop R] ser adicionado,

delicadamente “bata” a **Plate** para conseguir uma mistura completa dentro dos poços. Meça a extinção a 405 nm contra o comprimento de onda de referência de 620/630 nm. As placas **Plate** podem ser medidas novamente dentro de 24 horas se estiverem cobertas e refrigeradas.

10. Controle de qualidade – Indicação de instabilidade ou expiração de reagentes

10.1 Avaliação do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Durante cada realização do teste, cada placa **Plate** deve conter os padrões **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, e o controle **Control high**. O teste foi realizado corretamente se os seguintes critérios forem atendidos (todas as informações são baseadas em uma medição diferencial de 405 nm a 620 nm (ou 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	menos	Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	menos	Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	menos	Standard 3	$\geq 0,70$
Standard 4			$> 1,0$

10.2 Avaliação do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Durante cada realização do teste, cada placa **Plate** deve conter o controle de ponto de corte **Cut-Off**. O teste foi realizado corretamente se o seguinte critério for atendido (informações com base em uma medição diferencial de 405 nm a 620 nm ou 630 nm [OD_{405/620}]):

Cut-Off	≥ 0.20
----------------	-------------

10.3 Indicação de instabilidade ou expiração de reagentes

Um desvio do valor de referência esperado, turbidez dos reagentes ou intensa coloração amarela do substrato **AllergySub** antes da adição aos poços pode ser uma indicação de um reagente expirado.

Se os valores de referência especificados não forem atendidos, os seguintes deverão ser verificados antes da repetição do teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- O desempenho funcional do equipamento utilizado (por ex., a calibração)
- Realização correta do teste
- Inspeção visual dos componentes do kit quanto à contaminação ou vazamentos

Não use a solução de substrato **AllergySub** que possui uma coloração amarelada intensa. Se os valores estipulados não forem obtidos após a repetição do teste, entre em contato com o fabricante.

11. Avaliação e interpretação

11.1 Resultados do soro e sanguíneo capilar

11.1.1 Base para os cálculos

Os cálculos devem ser baseados em uma curva padrão para a avaliação quantitativa e interpretação do teste. Para isso, os padrões devem ser executados em todas as placas. Os valores de extinção do padrão são plotados em função das concentrações relacionadas ($\mu\text{g/ml}$) semi-logaritmicamente (gráfico y-ln-/x-log) em um gráfico ponto a ponto para gerar a curva padrão. Nas análises duplicadas do padrão, as extinções médias das análises duplicadas dos padrões serão usadas para gerar a curva padrão. As concentrações dos anticorpos IgG específicos em $\mu\text{g/ml}$ podem ser determinadas com base na curva padrão a partir dos valores de OD medidos e depois convertidas em classes de IgG (ver Tabelas 23 e 24). A avaliação também pode ser feita usando o software apropriado. A avaliação e interpretação qualitativa dos testes são explicadas na tabela.

A curva padrão do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen foi calibrado para uma preparação de referência internacional: 1º IRP 67/86 da OMS para IgG humano.

11.1.2 Concentrações, classes de IgG e cálculos para RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabela 23: Relação quantitativa entre as concentrações de IgG determinadas [$\mu\text{g/ml}$], classes de IgG e a concentração de IgG específica do antígeno do paciente a partir de uma amostra de soro

Concentração de IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Classe IgG	Conteúdo de IgG específico de antígeno	Classe IgG alternativa	Conteúdo de IgG específico de antígeno
< 7,5	0	Negativo	0	Negativo
7,5 a < 12,5	1	Leve	1	Elevado
12,5 a < 20,0	2	Elevado		
20,0 a < 50,0	3	Alto	2	Altamente elevado
$\geq 50,0$	4	Muito alto		

Tabela 24: Relação quantitativa entre as concentrações determinadas [$\mu\text{g/ml}$], classes de IgG e a concentração de IgG específica do antígeno do paciente a partir de uma amostra de sangue capilar

Concentração de IgG [$\mu\text{g/ml}$]	Classe IgG	Conteúdo de IgG específico de antígeno	Classe IgG alternativa	Conteúdo de IgG específico de antígeno
< 8,0	0	Negativo	0	Negativo
8,0 a < 18,0	1	Leve	1	Elevado
18,0 a < 40,0	2	Elevado	2	Altamente elevado
$\geq 40,0$	3	Alto		

Esses valores são apenas diretrizes aproximadas. Não existem padrões internacionais para IgGs específicos para alimentos.

Tabela 25: Avaliação e interpretação qualitativa de RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) e RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) e Prescreen Customized Plate (A8931) de uma amostra de soro ou sangue capilar

Razão	Avaliação	Interpretação
$\leq 1,0$	-	Negativo
$> 1,0$ a $< 2,5$	+	Leve
$\geq 2,5$ a $< 5,0$	++	Elevado
$\geq 5,0$	+++	Alto

Razão = $\text{OD}_{405/620}$ (amostra) $\div$ $\text{OD}_{405/620}$ (corte). O teste é válido se o $\text{OD}_{405/620}$ do ponto de corte for $\geq 0,20$.

12. Limitações do método

As concentrações de IgG determinadas usando este sistema de teste fornecem informações sobre o nível de sensibilização do paciente em relação aos antígenos ou misturas alimentares investigados.

Com base nisso, não é possível deduzir a correlação entre o nível de uma determinada concentração de IgG e a ocorrência ou a severidade dos sintomas clínicos. Os resultados que são obtidos sempre devem ser interpretados em combinação com a situação clínica como um todo.

Resultados do teste falso-positivos podem ocorrer devido à reatividade cruzada do antígeno testado com epítomos de outros antígenos.

A fabricação de extratos de alimentos e o revestimento de placas de microtitulação nem sempre eliminam epítomos antigênicos, o que pode levar a resultados falso-negativos. Os anticorpos IgG contra antígenos alimentares que não aparecem até durante a preparação industrial, a preparação dos alimentos ou a digestão podem não ser detectáveis porque não estão presentes no alimento original para o qual o paciente foi testado.

13. Características de desempenho

13.1. Precisão

A reprodutibilidade do teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen foi determinado usando amostras de referência cobrindo toda a faixa de medição, de negativa a positiva alta. Os valores médios e os coeficientes de variação (CV) foram determinados para três lotes de reagentes e para duas placas de microtitulação. Para a determinação da reprodutibilidade entre ensaios, amostras de referência de cinco dias úteis sequenciais foram analisadas em triplicado, com duas execuções por dia. As medições foram realizadas por dois técnicos.

Tabela 26: Medição de precisão intra-ensaio

CV médio (%)	8,1
--------------	-----

Tabela 27: Medição de precisão interensaio

CV médio (%)	11,1
--------------	------

Tabela 28: Medição de precisão entre lotes

Amostras de soro	1	2	3
Número de lotes de kits de reagentes	3	3	3
Número de lotes de placas de microtitulação	2	2	2
Número de alérgenos	44	44	44
Número de medições	264	264	264
Coeficiente de variação	25,0%	16,9%	15,4%
Coeficiente médio de variação	19,1%		

As medições intra-ensaio, interensaio e precisão entre lotes sugerem que o teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen gera resultados precisos e reproduzíveis em toda a faixa de medição sob condições constantes e variáveis, além de vários lotes de kits.

13.2 Estabilidade

13.2.1 Estabilidade de transporte

Os componentes do kit foram testados quanto à estabilidade sob flutuações de temperatura devido ao transporte. Foram investigados dois cenários de transporte simulados (TC 1 e TC 2) e um transporte genuíno no exterior para a Austrália (TC 3). As flutuações de temperatura foram documentadas ao longo do período de transporte. As temperaturas entre 4,5 °C e 46 °C foram registradas. Os componentes do kit foram comparados com o kit de referência, que foi armazenado na temperatura prescrita (2 a 8 °C).

Nenhum impacto nos resultados após o transporte dos componentes do kit foi detectado em nenhum cenário, o que significa que o RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é estável em condições de transporte.

13.2.2 Estabilidade do kit após a abertura

Os componentes do kit foram testados quanto à sua estabilidade após a abertura dos componentes individuais por um período de 6 semanas. A análise foi realizada com dois soros positivos, que, após 2, 4 e 6 semanas, foram comparados com os resultados do teste da semana 0, que correspondem a 100% (% de REF). A análise também foi realizada em uma placa de microtitulação descoberta após 6 semanas combinada com um kit de reagente aberto recentemente (Ref. Kit) e uma placa de microtitulação aberta recentemente combinada com um kit de reagente deixado descoberto (Ref. Plate). Os kits foram armazenados entre 2 a 8 °C.

Não foram detectadas perdas de estabilidade nas placas de reagentes ou microtitulação durante um período de pelo menos 6 semanas. Os resultados dos testes obtidos com esses componentes do kit também não mostraram desvios significativos em comparação com as referências.

13.3 Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica é uma medida da precisão de um teste em baixas concentrações do analito.

O LOB médio do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é de 2,8 µg/ml e o LOD médio é de 4,0 µg/ml.

13.4 Interferentes

As seguintes substâncias potenciais foram testadas: hemoglobina, bilirrubina, triglicerídeos, HSA.

Impactos relativos no resultado do teste do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen não foram detectados para nenhuma das substâncias listadas.

Lembre-se, no entanto, de que combinações de substâncias não foram testadas. Portanto, um resultado insatisfatório no caso de amostras de pacientes hemolíticos, hemorrágicos ou lipêmicos deve sempre ser investigado especificamente em relação ao quadro clínico geral do paciente.

14. Histórico de versões

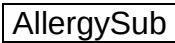
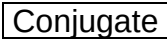
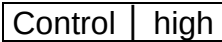
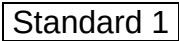
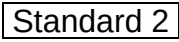
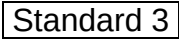
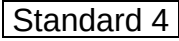
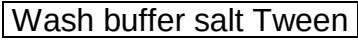
Número da versão	Seção e designação
2016-08-29	Versão anterior
2020-02-04	Revisão geral: Novo layout
2020-02-04	1. Uso previsto 4. Reagentes fornecidos 8. Coleta e armazenamento de amostras 9. Realização do teste 10. Controle de qualidade – indicação de instabilidade ou expiração de reagentes 11. Avaliação e interpretação 13. Características de desempenho Símbolos específicos do teste
2020-11-10	13. Características de desempenho

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico <i>in-vitro</i>
	Respeitar as instruções de uso
	Número do lote
	Data de validade
	Temperatura de armazenamento
	Referência do produto
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos do teste

	Reagente de parada
	Solução de substrato, pronta para uso
	Cartão de coleta de sangue
	Placa de microtitulação
	Conjugado
	Controle positivo
	Tampão de diluição de amostras
	Padrão 1
	Padrão 2
	Padrão 3
	Padrão 4
	Sal tampão de lavagem

16. Referências

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Käyttötarkoitus

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testi on kvantitatiivinen tai kvalitatiivinen entsyymi-immunomääritys (EIA) tiettyjen ruoka-allergeenien IgG-vasta-aineiden määrittämiseen. Testi on tarkoitettu manuaaliseen käsittelyyn, ja se on yhdistelmä reagensseja ja liittyviä mikrotiitterilevyvariantteja. Vain Foodscreen-tuotteen osia saa yhdistää toisiinsa. Testi sopii käytettäväksi ihmisen seerumi- ja kapillaariverinäytteisiin. Testi on diagnostinen apu, kun epäillään IgG-välitteisiä ruokayliherkkyyksiä.

2. Yhteenveto ja selitys testistä

Ruokaintoleranssi voidaan tunnistaa havaitsemalla tiettyjä IgG-vasta-aineita. Ruokaintoleranssit voivat johtua suolen seinämän liiasta tietyn ruoan läpäisystä. IgG-vasta-aineista ja ruoasta muodostuvia immuunikomplekseja voi muodostua sen takia, että ruokaa tai sen ainesosia läpäisee suolen seinämän ympäröivään kudokseen, ja nämä kompleksit voivat käynnistää tulehdusvasteita, jotka voivat johtaa erilaisiin sairauksiin.

Tämä testi on entsyymi-immunomääritys (EIA). Kaikki kohdassa 4 Sisältyvät reagenssit luetellut mikrotiitterilevyt hyväksyntätestattiin R-Biopharm AG:n A8020-reagenssipakkauksen yhteydessä. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -reagensseja ei saa käyttää yhdessä muiden valmistajien mikrotiitterilevyjen kanssa, ja RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -mikrotiitterilevyjä ei saa käyttää muiden valmistajien reagenssien kanssa.

3. Testiperiaate

Intoleranssireaktion mahdollisesti aiheuttavat ruokauutteet adsorboituvat mikrotiitterilevyn kuoppien sisäpinnoilta. Ihmisen potilasnäytteet (seerumi tai kapillaariveren eluaatti), standardiseerumi ja kontrolliseerumi pipetoidaan asianomaisiin kuoppiin ja inkuboidaan huoneenlämmössä. Inkuboinnin aikana tietyt IgG-vasta-aineet sitoutuvat vastaaviin adsorboituneisiin ruoka-antigeeneihin. Sitoutumaton materiaali poistetaan pesemällä. Sitten lisätään anti-humaani-IgG-vasta-ainetta, johon on konjugoitunut alkalinen fosfataasi. Toisen inkubointivaiheen aikana tämä vasta-ainekonjugaatti sitoutuu potilasnäytteen humaani-IgG-vasta-aineisiin. Kaikki sitoutumaton konjugaatti poistetaan pesemällä. Viimeksi lisäämisen jälkeen alkalinen fosfataasi defosforyloi substraatin ja muuttaa sen keltaisenväriseksi tuotteeksi. Keltaisen värin voimakkuus on suhteessa seerumin antigeenispesifisten vasta-aineiden määrään, ja se voidaan mitata fotometrialla 405 nm:ssä miinus viiteaallonpituusmittaus 620/630 nm:ssä. Vakiokäyrää käytetään mittaustulosten kvantifiointissa. (Tärkeää: levyt A0301, A8921 ja A8931 sallivat vain kvalitatiivisen arvioinnin.)

4. Sisällytetyt reagenssit

Taulukko 1: Sisältö RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy, asiakaskohtainen, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), ei vakiokäyrää, kvalitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 2: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Pesupuskurisuora 5 litraan pesupuskuria, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Vakioseerumi 1, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 2,5 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 2	30 ml	Vakioseerumi 2, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 10,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 3	30 ml	Vakioseerumi 3, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 40,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 4	30 ml	Vakioseerumi 4, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 200,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Control high	30 ml	Kontrolliseerumi, laimennettu ihmisen seerumi; katso pitoisuustodistus; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Conjugate IgG	1 l	Anti-humaani-IgG-konjugaatti (lammas); valmiskäyttöinen; alkaliseen fosfataasiin konjugoitunut vasta-aine stabiloidussa proteiiniliuoksessa
AllergySub	1 l	Substraattiliuos, valmiskäyttöinen, sisältää pNPP:tä

AllergyStop R	1 l	Pysäytysreagenssi, valmiskäyttöinen
---------------	-----	-------------------------------------

Taulukko 3: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Näytteen laimennuspuskuri, valmiskäyttöinen
Wash buffer salt Tween	6 x	Pesupuskuruora 1 litraan pesupuskuria, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Vakioseerumi 1, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 2,5 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 2	2 ml	Vakioseerumi 2, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 10,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 3	2 ml	Vakioseerumi 3, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 40,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Standard 4	2 ml	Vakioseerumi 4, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 200,0 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Control high	2 ml	Kontrolliseerumi, laimennettu ihmisen seerumi; katso pitoisuustodistus; stabiloidussa proteiiniliuoksessa
Conjugate	80 ml	Anti-humaani-IgG-konjugaatti (lammas); valmiskäyttöinen; alkaliseen fosfataasiin konjugoitunut vasta-aine stabiloidussa proteiiniliuoksessa
AllergySub	80 ml	Substraattiliuos, valmiskäyttöinen, sisältää pNPP:tä
AllergyStop R	80 ml	Pysäytysreagenssi, valmiskäyttöinen

Taulukko 4: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy, asiakaskohtainen, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	--

Taulukko 5: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiitterilevy 1, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
---------	-----------------	--

Taulukko 6: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiitterilevy 2, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
---------	-----------------	--

Taulukko 7: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiitterilevy 3, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
---------	-----------------	--

Taulukko 8: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiitterilevy 6, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
---------	-----------------	--

Taulukko 9: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevypaneeli 1, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 10: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevypaneeli 2, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 11: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy ES, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 12: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy GS, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 13: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy GB, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 14: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy GP1, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	--

Taulukko 15: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy GP2, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	--

Taulukko 16: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy GK, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-------	--------	---

Taulukko 17: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiitterilevy VEG, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää vakiokäyrän, kvantitatiivinen
-----------	-----------------	--

Taulukko 18: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy esiseulonta 1, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää rajan, kvalitatiivinen
Cut-Off	5 ml	Rajakontrolli, laimennettu ihmisen seerumi; pitoisuus: 10 µg IgG/ml; stabiloidussa proteiiniliuoksessa

Taulukko 19: Sisältö – RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Mikrotiitterilevy esiseulonta, asiakaskohtainen, päällystetty erilaisilla ruoka-antigeeneillä (katso oheinen allergeenimatriisi), sisältää rajan, kvalitatiivinen
Cut-Off	5 ml	Rajakontrolli, laimennettu ihmisen seerumi; stabiloidussa proteiiniliuoksessa

Vaaralliset materiaalit on ilmoitettu etiketöintivelvoitteiden mukaan. Lisätietoja on käyttöturvallisuustiedotteissa (SDS) osoitteessa www.r-biopharm.com.

5. Säilytysohjeet

Testipakkaus on säilytettävä 2–8 °C:ssa, ja sitä voi käyttää etiketissä mainittuun viimeiseen käyttöpäivään asti. Laimennetun pesupuskurin Wash buffer salt Tween[®] enimmäiskäyttöikä on 4 viikkoa säilytettynä 2–8 °C:n lämpötilassa. Mikrobikontaminaatio on estettävä. Viimeisen käyttöpäivän jälkeen laatutakuu ei ole enää voimassa.

Substraattiliuoksen AllergySub[®] kontaminaatiota konjugaatissa Conjugate[®] on vältettävä, koska tämä saa substraatin AllergySub[®] vaihtamaan väriä. Samoin substraatin AllergySub[®] suoraa altistusta valolle on vältettävä hydrolyysin aiheuttamien heikkenemisen tai värimuutosten estämiseksi.

Substraattia AllergySub[®] ei saa käyttää, jos siihen on kehittynyt voimakas keltainen väri. Katso 10.3 Laadunvalvonta – epästabiiliuden merkit tai reagenssien vanheneminen.

5.1 Mikrotiitterilevyjen säilyttäminen

Koska mikrotiitterilevyt [Plate] ovat alttiita ilmankosteudelle, alumiinipussit on suljettava tiiviisti uudelleen, kun tarvittu määrä levyjä [Plate] on otettu. Kuivausainepussin täytyy pysyä alumiinipussissa koko säilytysjakson ajan. Mikrotiitterilevyt [Plate] voidaan säilyttää oikein suljetussa alumiinipussissa määritetyn käyttöiän lämpötilassa 2–8 °C.

6. Tarvitut, ei sisällytetyt reagenssit

6.1 Sisällytetyt reagenssit

- Tislattu tai deionisoitu vesi

6.2 Laitteisto

- Mikrotiitterilevyjen fotometri (ja 405 nm:n ja 620/630 nm:n suodatin), mitta-alue 0–3,5 OD
- Mikrotiitterilevyn pesuri 8–96 kuopalle
- 12-kanavainen pipetti
- Monivaihepipetti
- Vaakasuuntainen ravistin (kapillaariverinäytteiden eluoimiseen)

7. Varoituksia ja varotoimenpiteitä käyttäjille

- Ainoastaan diagnostiseen *in vitro* -käyttöön
- Tämän testin saa tehdä vain koulutettu laboratoriohenkilöstö. Ohjeita työskentelystä lääketieteellisissä laboratorioissa on noudatettava. Tämän testin tekemisen käyttöohjeita on aina noudatettava tarkasti.
- Näytteitä tai reagensseja ei saa pipetoida suulla; ne eivät saa myöskään koskea vahingoittuneeseen ihoon tai limakalvoihin. Näytteitä käsiteltäessä on käytettävä kertakäyttökäsineitä, ja kädet on pestävä testin jälkeen.
- Näytteiden tai testireagenssien käsittelyalueilla ei saa tupakoida, syödä tai juoda.
- Pakkauksen vakioseerumit testattiin HIV- ja HCV-vasta-aineiden, HBsAg:n ja syfiliksen varalta CFR 21.640 -säädöksen mukaisesti, ja ne olivat negatiivisia. Siitä huolimatta kaikkia potilasnäytteitä ja materiaaleja, joihin kosket, on käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisina. Noudata kansallisia turvasäädöksiä mahdollisesti tartuntavaarallisen materiaalin käsittelemisestä ja hävittämisestä.
- Standardiseerumit [Standard], konjugaatti [Conjugate] ja pesupuskurikonsentraatti [Wash buffer salt Tween] sisältävät säilöntäaineena natriumatsidia. Tämä aine ei saa päästä kosketuksiin ihon tai limakalvojen kanssa. Kosketus lyijy- tai kupariputkiin voi aiheuttaa räjähtävien metalliatsidien muodostumista.
- Pysäytysreagenssi tai substraattiliuos ei saa päästä kosketuksiin ihon, silmien tai vaatteiden kanssa. Mikäli ainetta pääsee iholle, se on pestävä saippualla ja

vedellä välittömästi. Mikäli ainetta pääsee silmiin, niitä on huuhdeltava välittömästi juoksevalle vedelle 15 minuutin ajan silmät avoinna. Silmälääkärin konsultaatio on tarpeen. Jos ainetta niellään, on juotava paljon vettä, oltava oksentamatta ja hakeuduttava välittömästi lääkärinhoitoon.

- Kaikki pakkauksen osat on hävitettävä asianmukaisesti käytön jälkeen (katso pakkauksen komponenttien käyttöturvatiedotteet).
- Kaikki reagenssit ja materiaalit, jotka joutuvat kosketuksiin mahdollisesti tartuntavaarallisten näytteiden kanssa, on käsiteltävä sopivilla desinfiointiaineilla tai autoklavoitava 121 °C:ssa vähintään yhden tunnin ajan.

8. Näytteiden ottaminen ja säilyttäminen

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen kehitettiin ihmisen seerumin ja kapillaariveren testaamiseen.

Laskimoverinäytteen ottamisen aikana seerumi on eroteltava hyytymästä mahdollisimman pikaisesti täydellisen koagulaation jälkeen hemolyyysin estämiseksi. Seeruminäytteet on säilytettävä kylminä (2–8 °C) tai pakastettuina (–20 °C), kunnes ne testataan. Seerumin toistuvaa pakastusta ja sulatusta sekä bakteerikontaminaatiota on vältettävä. Lämpöinaktivoidun, lipeemisen, hemolyyttisen, ikteerisen tai samean seerumin käyttö voi johtaa virheellisiin tuloksiin.

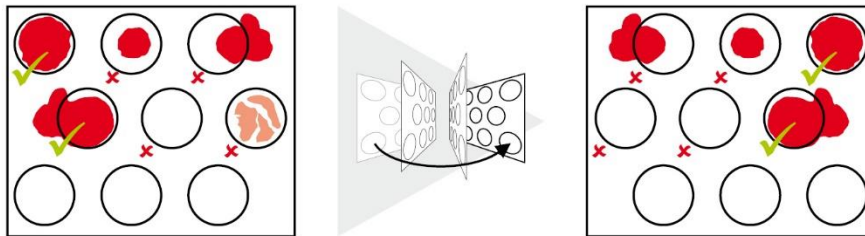
Kun RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testissä käytetään kapillaariverinäytteitä, on käytettävä oikeaa laitteistoa (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Vain tämä laitteisto on hyväksyntätestattu tämän testin yhteydessä. Verinäytekortin (A8025:n ja A8025-BCC:n komponentti) kuivatut kapillaariverinäytteet ovat stabiileja enintään 3 viikkoa, kun niitä säilytetään kuivassa paikassa huoneenlämmössä (20–25 °C). Kapillaariverinäytteitä ei saa säilyttää jääkaapissa.

Taulukko 20: Näytetyyppien stabiilius

Laimentamaton seerumi		Laimennettu seerumi	Kuivattu kapillaariverinäyte	Kapillaariverinäytteen eluaatti
2–8 °C	–20 °C	20–25 °C	20–25 °C	20–25 °C
1 kuukausi	> 3 kuukautta	Maks. 6 tuntia	3 viikkoa	Maks. 6 tuntia

Tärkeä huomautus kapillaariverinäytteiden käsittelystä:

Verikortin ympyröiden täytyy olla kokonaan täytetty verellä. Tarkista myös kortin taustapuolelta, että ympyrät ovat kastuneet läpi.



9. Testimenettely

9.1 Yleistä tietoa

Kaikki reagenssit, potilaan seerumit ja mikrotiitterilevy **Plate** on tuotava huoneenlämpöön ennen käyttöä (tärkeää). Sekoita reagenssit hyvin juuri ennen käyttöä. Käytön jälkeen reagenssipakkausta on säilytettävä 2–8 °C:ssa.

Päällystettyjä mikrotiitterilevyjä **Plate** ei saa käyttää kuin kerran. Reagensseja tai mikrotiitterilevyjä **Plate** ei saa käyttää, jos pakkaus on vahingoittunut tai säiliöitä ei ole suljettu tiukasti.

Päällystettyjä mikrotiitterilevyjä **Plate voidaan käyttää eri pakkauserien reagenssien kanssa.**

Kaikki poikkeamat määritetyistä inkubaatioajoista ja lämpötiloista saavat vakiokäyrän siirtymään suhteessa todistuksessa ilmoitettuun. Merkittävät erot vakiokäyrän arvoissa voivat johtaa epävalideihin testituloksiin. Asiakkaan on muokattava (ja hyväksyntätestattava) inkubaatioaika ja/tai lämpötila esimerkiksi testin täysin automaattista käsittelyä varten.

Testiä ei saa tehdä suorassa auringonvalossa. On suositeltavaa peittää mikrotiitterilevyt **Plate** inkuboinnin ajaksi.

9.2 Pesupuskurin valmisteleminen

Liuota yhden pesupuskurisuolan **Wash buffer salt Tween** pakkauksen sisältö 1 litraan tislattua vettä. Käytä vain kussakin määrittäksessä tarvittava määrä.

Laimennetun pesupuskurin **Wash buffer salt Tween** enimmäiskäyttöikä on vain 4 viikkoa (2–8 °C).

9.3 Mikrotiitterilevyjen valmisteleminen

Päällystettyjä mikrotiitterilevyjä **Plate** ei voi käyttää suoraan. Ennen pipetointia levyihin **Plate** on merkittävä potilaan nimi tai numero.

9.4 Näytteen laimentaminen

9.4.1 Näytteen laimentaminen; seeruminäytteet

Laimenna seeruminäytettä näytteen laimennuspuskurilla **Sample Buffer IgG** suhteessa 1:100.

Taulukko 21: Suositellut näytteen laimennuksen valmistelut

Enintään 50 määritystä		Enintään 100 määritystä		Enintään 200 määritystä		Enintään 300 määritystä	
Seerumi	Puskuri	Seerumi	Puskuri	Seerumi	Puskuri	Seerumi	Puskuri
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Näytteen eluointi; kapillaariverinäytteet

Ravista kuivattua kapillaariverinäytettä näytteen laimennuspuskurin **Sample Buffer IgG** kanssa asianmukaisessa ampullissa 1 (enintään 14) tunti(a) 20–25 °C:ssa vaakatasoisessa ravistelijassa. Kussakin määrittäksessä lävistä vastaavat reiälliset ympyrät **Card**. Kertakäyttökäsineitä on käytettävä kuivattujen, verellä täytettyjen ympyröiden **Card** lävistämisessä sormella. Voit myös käyttää sopivaa steriiliä esinettä, kuten pipettikärjen päätä tai laboratoriospaattelia ympyröiden lävistämiseen **Card**.

Taulukko 22: Suositellut näytteen eluoinnin valmistelut

Enintään 50 määritystä		Enintään 100 määritystä		Enintään 200 määritystä		Enintään 300 määritystä	
Näyte	Puskuri	Näyte	Puskuri	Näyte	Puskuri	Näyte	Puskuri
2 ympyrää	4,0 ml	4 ympyrää	8,0 ml	6 ympyrää	12,0 ml	8 ympyrää	16,0 ml

Kapillaariverinäytteen eluaatti vastaa jo laimennettua potilasnäytettä, ja se pipetoidaan mikrotiitterilevylle **Plate** ohjeiden mukaisesti.

9.5 Ensimmäinen inkubointi (näytteen inkubointi)

Pipetoi 50 µl vakioseerumia **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, kontrollia **Control high** tai **Cut-Off** sekä laimennettua potilaan seerumia tai kapillaariverinäytteen eluaattia mikrotiitterilevyn **Plate** kuoppiin pipetointikaavion mukaisesti. Inkuboi

levyjä [Plate] seuraavaksi 90 minuuttia lämpötilassa 20–25 °C. Levyt voidaan pinota pipetointijärjestyksessä; ylin levy on peitettävä.

9.6 Peseminen

Pese kuopat kolme kertaa mikrolevypesimessä käyttämällä 350 µl laimennettua pesupuskuria [Wash buffer salt Tween] yhtä kuoppaa kohden. Lopullisen lapolla imennän pitäisi olla kvantitatiivista, mikäli mahdollista. Levyjä [Plate] voidaan taputella imukykyiseen materiaaliin pesun jälkeen, jotta pesuliuosjäämät lähtevät.

9.7 Toinen inkubointi (konjugaatti-inkubointi)

Pipetoi 50 µl konjugaattia [Conjugate] jokaiseen kuoppaan. Inkuboi levyjä [Plate] seuraavaksi 90 minuuttia lämpötilassa 20–25 °C. Levyt [Plate] voidaan pinota pipetointijärjestyksessä; ylin levy [Plate] on peitettävä.

9.8 Peseminen

Pese kohdan 9.6 ohjeiden mukaan.

9.9 Kolmas inkubointi (substraatin inkubointi)

Pipetoi 50 µl substraattiliuosta [AllergySub] jokaiseen kuoppaan. Inkuboi seuraavaksi levyjä [Plate] 60 minuuttia lämpötilassa 20–25 °C. Pidä inkuboidut levyt [Plate] poissa suorasta auringonvalosta. Levyt [Plate] voidaan pinota pipetointijärjestyksessä. Peitä ylin levy [Plate].

9.10 Reaktion pysäyttäminen ja mittauksen tekeminen

Kun kuhunkin kuoppaan lisätään 50 µl pysäytysreagenssia [AllergyStop R], reaktio pysähtyy. Kun pysäytysreagenssia [AllergyStop R] on lisätty, napauta levyä [Plate] kevyesti, jotta kuoppien sisältö sekoittuu kunnolla. Mittaa ekstinktio 405 nm:ssä viiteaallonpituutta 620/630 nm vasten. Levyt [Plate] voidaan mitata uudelleen 24 tunnin sisällä, jos ne on peitetty ja säilytetty jääkaapissa.

10. Laadunvalvonta – epästabiiliuden merkit tai reagenssien vanheneminen

10.1 RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -tuotteen arviointi: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Kunkin testaustoimenpiteen aikana jokaisen levyn [Plate] pitäisi sisältää standardit [Standard 1], [Standard 2], [Standard 3], [Standard 4] ja kontrollin [Control high]. Testi tehtiin oikein, jos seuraavat kriteerit täyttyvät (kaikki tiedot perustuvat differentiaalmittaukseen 405 nm:ssä verrattuna 620 nm:iin (tai 630 nm:iin) [OD_{405/620}]):

Standard 2	miinus	Standard 1	$\geq 0,08$
Standard 3	miinus	Standard 2	$\geq 0,30$
Standard 4	miinus	Standard 3	$\geq 0,70$
Standard 4			$> 1,0$

10.2 RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -tuotteen arviointi: A0301, A8921, A8931

Jokaisen testaustoimenpiteen aikana kunkin levyn **Plate** pitäisi sisältää rajakontrolli **Cut-Off**. Testi tehtiin oikein, jos seuraavat kriteerit täyttyvät (tiedot perustuvat differentiaalimittaukseseen 405 nm:ssä verrattuna 620 nm:iin (tai 630 nm:iin) [OD_{405/620}]):

Cut-Off	$\geq 0,20$
----------------	-------------

10.3 Reagenssien epästabiiliuden tai huononemisen merkit

Poikkeama odotetusta viitearvosta, reagenssien sameus tai substraatin **AllergySub** voimakas keltainen väri ennen kuoppiin lisäystä voi olla merkki vanhentuneesta reagenssista.

Jos määritetyt viitearvot eivät täyty, seuraavat asiat on tarkistettava ennen testin toistamista:

- käytettävien reagenssien viimeinen käyttöpäivämäärä
- käytetyn laitteiston toimintakyky (esim. kalibrointi)
- oikea testaustoimenpide
- pakkauksen komponenttien visuaalinen tarkastus kontaminaation tai vuotojen varalta.

Substraattiliuosta **AllergySub**, joka on väriltään voimakas keltainen, ei saa käyttää. Jos määritettyjä arvoja ei saada testin toistamisen jälkeen, ota yhteyttä valmistajaan.

11. Arviointi ja tulkinta

11.1 Seerumi- ja kapillaariverilöydökset

11.1.1 Laskentojen perusta

Laskentojen on perustuttava kvantitatiivisen arvioinnin vakiokäyrään ja testin tulkintaan. Tätä varten jokaiselle levyille on ajettava standardit. Standardin ekstinktioarvot on esitetty liittyvien pitoisuuksien (µg/ml) funktiona puolilogaritmisesti (y-ln/-x-log-kaavio) pisteestä pisteeseen -kaaviona vakiokäyrän luomiseksi. Standardin duplikaattianalyysissä vakiokäyrän luomisessa käytetään keskiarvoekstinktioita standardien duplikaattianalyysistä. Tiettyjen IgG-vasta-aineiden pitoisuudet µg:na/ml voidaan määrittää vakiokäyrän perusteella mitatuista

OD-arvoista ja sitten muuntaa IgG-luokkiin (katso taulukot 23 ja 24). Arviointi voidaan myös tehdä käyttämällä sopivaa ohjelmistoa. Kvalitatiivinen testin arviointi ja tulkinta on selitetty taulukossa.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -vakiokäyrä kalibroitiin kansainväliseen viitevalmisteeseen: 1. WHO IRP 67/86 ihmisen IgG:lle.

11.1.2 RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -tuotteen pitoisuudet, IgG-luokat ja laskennat: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Taulukko 23: Kvantitatiivinen suhde määritettyjen IgG-pitoisuuksien [µg/ml], IgG-luokkien ja potilaan antigeenispesifisen IgG-pitoisuuden välillä seeruminäytteestä

IgG-pitoisuus [µg/ml]	IgG-luokka	Antigeenispesifinen IgG-sisältö	Vaihtoehtoinen IgG-luokka	Antigeenispesifinen IgG-sisältö
< 7,5	0	Negatiivinen	0	Negatiivinen
7,5–< 12,5	1	Lievä	1	Kohonnut
12,5–< 20,0	2	Kohonnut		
20,0–< 50,0	3	Korkea	2	Erittäin kohonnut
≥ 50,0	4	Erittäin korkea		

Taulukko 24: Kvantitatiivinen suhde määritettyjen pitoisuuksien [µg/ml], IgG-luokkien ja potilaan antigeenispesifisen IgG-pitoisuuden välillä kapillaariverinäytteestä

IgG-pitoisuus [µg/ml]	IgG-luokka	Antigeenispesifinen IgG-sisältö	Vaihtoehtoinen IgG-luokka	Antigeenispesifinen IgG-sisältö
< 8,0	0	Negatiivinen	0	Negatiivinen
8,0–< 18,0	1	Lievä	1	Kohonnut
18,0–< 40,0	2	Kohonnut	2	Erittäin kohonnut
≥ 40,0	3	Korkea		

Nämä arvot ovat vain karkeita suuntaviivoja. Kansainvälisiä standardeja tietyistä IgG:eistä ruoille ei ole olemassa.

Taulukko 25: RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)- ja RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)-, Prescreen 1 (A8921)- ja Prescreen Customized Plate (A8931) -tuotteiden kvalitatiivinen arviointi tai tulkinta seerumi- tai kapillaariverinäytteestä

Suhde	Arviointi	Tulkinta
$\leq 1,0$	–	Negatiivinen
$> 1,0 - < 2,5$	+	Lievä
$\geq 2,5 - < 5,0$	++	Kohonnut
$\geq 5,0$	+++	Korkea

Suhde = $OD_{405/620}$ (näyte) $\div$ $OD_{405/620}$ (raja). Testi on validi, jos rajan $OD_{405/620}$ on $\geq 0,20$.

12. Menetelmän rajoitukset

Tällä testijärjestelmällä määritetyt IgG-pitoisuudet antavat tietoa potilaan herkistymistasosta tutkittujen ruoka-antigeenien tai sekoitusten osalta.

Määritetyn IgG-pitoisuuden tason ja kliinisten oireiden esiintymisen tai vaikeuden välistä korrelaatiota ei voi päätellä testistä. Saadut tulokset on aina tulkittava kaikkien kliinisten oireiden yhteydessä.

Virheellisiä positiivisia testituloksia voi esiintyä testatun antigeenin ja muiden antigeenien epitooppien ristireaktiivisuuden vuoksi.

Ruokaekstraktien valmistus ja mikrotiitterilevyjen päällystys eivät aina poista antigeenisia epitooppeja, mikä voi johtaa virheellisesti negatiivisiin tuloksiin. Ruoka-antigeenien vastaisia IgG-vasta-aineita, joita ei ilmene ennen teollista valmistusta, ruoan valmistusta tai nauttimista, ei ehkä havaita, koska niitä ei ole läsnä alkuperäisessä ruoassa, jonka vuoksi potilas testataan.

13. Suorituskykyominaisuudet

13.1. Tarkkuus

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testin toistettavuus määritettiin käyttämällä viitenäytteitä, jotka kattoivat koko mittausalueen negatiivisesta erittäin positiiviseen. Keskiarvot ja variaatiokertoimet (CV) määritettiin kolmesta reagenssierästä ja kahdesta mikrotiitterilevystä. Määritysten välisen toistettavuuden määrittämistä varten tehtiin kolminkertaisena määrittämiä viideltä peräkkäiseltä työpäivältä kahtena ajona päivässä. Mittaukset teki kaksi tekniikkaa.

Taulukko 26: Määrittelyn sisäinen tarkkuusmittaus

Keskimääräinen CV (%)	8.1
-----------------------	-----

Taulukko 27: Määrittysten välinen tarkkuusmittaus

Keskimääräinen CV (%)	11.1
-----------------------	------

Taulukko 28: Erien välinen tarkkuusmittaus

Seeruminäytteet	1	2	3
Reagenssipakkauserien määrä	3	3	3
Mikrotiitterilevyerien määrä	2	2	2
Allergeenien määrä	44	44	44
Mittausten määrä	264	264	264
Variaatiokerroin	25,0 %	16,9 %	15,4 %
Variaatiokertoimen keskiarvo	19,1 %		

Määrittysten sisäiset, määrittysten väliset ja erien väliset tarkkuusmittaukset viittaavat siihen, että RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testi luo tarkkoja ja toistettavia tuloksia koko mittausalueella pysyvissä sekä muuttuvissa olosuhteissa ja eri pakkauserillä.

13.2 Stabiilius

13.2.1 Stabiilius kuljetuksen aikana

Pakkauksen komponenttien stabiilius testattiin kuljetuksen aikaisten lämpötilojen vaihdellessa. Kaksi simuloitua kuljetusskenaariota (TC 1 ja TC 2) sekä yksi aito merikuljetus Australiaan (TC 3) tutkittiin. Lämpötilavaihtelut dokumentoitiin koko kuljetusjakson ajalta. Kirjatut lämpötilat olivat välillä 4,5–46 °C. Pakkauksen komponentteja verrattiin viitepakkaukseen, jota säilytettiin määritetyssä lämpötilassa (2–8 °C).

Vaikutuksia tuloksiin pakkauksen komponenttien kuljetuksen jälkeen ei havaittu missään skenaariossa, mikä tarkoittaa, että RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen on stabiili kuljetusolosuhteissa.

13.2.2 Pakkauksen stabiilius avaamisen jälkeen

Pakkauksen komponenttien stabiilius testattiin, kun yksittäiset komponentit oli avattu 6 viikon ajaksi. Analyysi tehtiin käyttämällä kahta positiivista seerumia, joita 2, 4 ja 6 viikon jälkeen verrattiin viikon 0 testituloksiin, jotka olivat 100 % (prosenttia

viitteestä). Analyysi tehtiin myös peittämättä jätetylle mikrotiitterilevyille 6 viikon jälkeen yhdistettynä äskettäin avattuun reagenssipakkaukseen (viitepakkaus) ja äskettäin avattuun mikrotiitterilevyyn yhdistettynä peittämättä jätettyyn reagenssipakkaukseen (viitelevy). Pakkauksia säilytettiin lämpötilassa 2–8 °C.

Stabiiliuden menetystä ei havaittu reagensseissa tai mikrotiitterilevyissä vähintään 6 viikon ajanjaksolla. Näillä pakkauksen komponenteilla saadut testitulokset eivät osoittaneet merkittäviä poikkeamia verrattuna viitetuotteisiin.

13.3 Analyyttinen herkkyys

Analyyttinen herkkyys on testin tarkkuuden mitta pienillä analyyttipitoisuuksilla.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testin keskimääräinen LOB on 2,8 µg/ml ja keskimääräinen LOD 4,0 µg/ml.

13.4 Häiritsevät tekijät

Seuraavat potentiaaliset aineet testattiin: hemoglobiini, bilirubiini, triglyseridit, HSA.

Suhteellisia vaikutuksia RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen -testituloksiin ei havaittu minkään mainitun aineen osalta.

On kuitenkin pidettävä mielessä, että aineiden yhdistelmiä ei testattu. Siksi epätodennäköinen tulos hemolyyttisten, hemorragisten tai lipeemisten potilasnäytteiden tapauksessa on aina tutkittava erityisesti potilaan yleinen kliininen kuva huomioon ottaen.

14. Versiohistoria

Versionumero	Kappale ja merkintä
2016-08-29	Edellinen versio
2020-02-04	Yleinen muutos: Uusi asettelu
2020-04-04	1. Käyttötarkoitus 4. Sisällytetyt reagenssit 8. Näytteiden ottaminen ja säilyttäminen 9. Testimenettely 10. Laadunvalvonta – epästabiiliuden merkit tai reagenssien vanheneminen 11. Arviointi ja tulkinta 13. Suorituskykyominaisuudet Testikohtaiset symbolit
2020-11-10	13. Suorituskykyominaisuudet

15. Merkkien selitykset

Yleiset symbolit

	Diagnostiseen in vitro -käyttöön
	Huomioi käyttöohje
	Eränumero
	Käytettävä ennen
	Säilytyslämpötila
	Tuotenumero
	Testien lukumäärä
	Valmistuspäivä
	Valmistaja

Testikohtaiset symbolit

AllergyStop R	Pysäytysreagenssi
AllergySub	Substraattiliuos, valmiskäyttöinen
Card	Verinäytekortti
Plate	Mikrotiitterilevy
Conjugate	Konjugaatti
Control high	Positiivinen kontrolli
Sample Buffer IgG	Näytteen laimennuspuskuri
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Pesupuskurin suola

16. Lähdeviitteet

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

REF A0301, A8010, A8020, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

1. Avsedd användning

För *in vitro*-diagnostisk användning. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testet är en kvantitativ eller kvalitativ enzymimmunanalis (EIA) för att fastställa specifika IgG-antikroppar mot livsmedelsallergener. Testet är utformat för manuell bearbetning och är en kombination av reagenser och tillhörande varianter av mikrotiterplattor. Endast Foodscreen-produktkomponenter får kombineras med varandra. Testet passar för användning av humant serum och humana kapillärblodprover. Testet är ett diagnostiskt hjälpmedel i fall med misstänkt IgG-medierad överkänslighet mot livsmedel.

2. Sammanfattning och förklaring av testet

Livsmedelsallergi kan identifieras genom detektering av specifika IgG-antikroppar. Livsmedelsallergi kan bero på ökad permeabilitet i tarmväggen för ett visst livsmedel. Immunkomplex som består av IgG-antikroppar och livsmedel kan bildas när livsmedel eller dess beståndsdelar tränger igenom tarmväggen till den omgivande vävnaden, och dessa komplex kan utlösa inflammatoriska reaktioner som kan leda till olika sjukdomar.

Det här är ett EIA-test. Alla mikrotiterplattor som anges under 4 "Medföljande reagenser" har godkänts i kombination med R-Biopharm AG:s A8020 reagenssats. RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen reagenser får inte användas i kombination med mikrotiterplattor från andra tillverkare och RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen mikrotiterplatta får inte användas tillsammans med reagenser från andra tillverkare.

3. Testprincip

Livsmedelsextrakt som kan orsaka en allergisk reaktion adsorberas på innerytan av brunnarna på en mikrotiterplatta. Humana patientprover (serum eller eluat från kapillärblod), standardserum och kontrollserum pipetteras i lämpliga håligheter och inkuberas i rumstemperatur. Under inkubering binder specifika IgG-antikroppar mot motsvarande adsorberade livsmedelsantigener. Bundet material avlägsnas genom tvätt. En antihuman IgG-antikropp som konjugerats med alkaliskt fosfatas tillsätts sedan. Under en annan inkuberingsfas binder detta antikroppskonjugat mot de humana IgG-antikropparna i patientprovet. Eventuellt obundet konjugat avlägsnas genom tvätt. Slutligen tillsätts substratet och defosforyleras av det alkaliska fosfataset och omvandlas till en gulfärgad produkt. Den gula färgens intensitet är proportionerlig till mängden antigenspecifika antikroppar i serumet och kan mätas genom fotometri vid 405 nm minus referensvåglängdsmåttet på 620/630 nm. Standardkurvan används för att kvantifiera mätresultaten. (Viktigt: Med plattorna A0301, A8921 och A8931 kan endast en kvalitativ utvärdering göras.)

4. Medföljande reagenser

Tabell 1: Innehåll i RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Kundspecifik mikrotiterplatta, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), utan standardkurva, kvalitativ
-------	--------	---

Tabell 2: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents Bulk (A8010)

Wash buffer salt Tween	5 x	Tvättbuffertsalt till 5 liter tvättbuffert, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	30 ml	Standardserum 1, utspätt humant serum; koncentration: 2,5 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 2	30 ml	Standardserum 2, utspätt humant serum; koncentration: 10,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 3	30 ml	Standardserum 3, utspätt humant serum; koncentration: 40,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 4	30 ml	Standardserum 4, utspätt humant serum; koncentration: 200,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Control high	30 ml	Kontrollserum, utspätt humant serum; se certifikat för koncentration; i stabiliserad proteinlösning
Conjugate IgG	1 l	Antihumant IgG-konjugat (får); färdigt att använda; alkalisk fotofatas-konjugerad antikropp i stabiliserad proteinlösning
AllergySub	1 l	Substratlösning, färdig att använda, innehåller pNPP
AllergyStop R	1 l	Stoppreagens, färdig att använda

Tabell 3: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Provspädningsbuffert, färdig att använda
Wash buffer salt Tween	6 x	Tvättbuffertsalt till 1 liter tvättbuffert, 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20
Standard 1	2 ml	Standardserum 1, utspätt humant serum; koncentration: 2,5 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 2	2 ml	Standardserum 2, utspätt humant serum; koncentration: 10,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 3	2 ml	Standardserum 3, utspätt humant serum; koncentration: 40,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Standard 4	2 ml	Standardserum 4, utspätt humant serum; koncentration: 200,0 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning
Control high	2 ml	Kontrollserum, utspätt humant serum; se certifikat för koncentration; i stabiliserad proteinlösning
Conjugate	80 ml	Antihumant IgG-konjugat (får); färdigt att använda; alkalisk fotofatas-konjugerad antikropp i stabiliserad proteinlösning
AllergySub	80 ml	Substratlösning, färdig att använda, innehåller pNPP
AllergyStop R	80 ml	Stoppreagens, färdig att använda

Tabell 4: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Kundspecifik mikrotiterplatta, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 5: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05/15)

Plate 1	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplatta 1, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
---------	-----------------	--

Tabell 6: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05/15)

Plate 2	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplatta 2, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
---------	-----------------	--

Tabell 7: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05/15)

Plate 3	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplatta 3, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
---------	-----------------	--

Tabell 8: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-05/15)

Plate 6	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplatta 6, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
---------	-----------------	--

Tabell 9: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterpanel 1, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 10: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822-15)

Plate	15 x 1	Mikrotiterpanel 2, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 11: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta ES, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 12: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GS (A8824)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta GS, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 13: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GB (A8825)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta GB, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 14: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP1 (A8826)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta GP1, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 15: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GP2 (A8827)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta GP2, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	--

Tabell 16: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate GK (A8828)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta GK, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-------	--------	---

Tabell 17: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate VEG (A8829-05/15)

Plate VEG	1 x 5, 3 x 5	Mikrotiterplatta VEG, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med standardkurva, kvantitativ
-----------	-----------------	--

Tabell 18: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatta Prescreen 1, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med gränsvärde, kvantitativ
Cut-Off	5 ml	Gränsvärdeskontroll, utspätt humant serum; koncentration: 10 µg IgG/ml; i stabiliserad proteinlösning

Tabell 19: Innehåll i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen, Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Kundspecifik Prescreen mikrotiterplatta, belagd med olika livsmedelsantigener (se bifogad allergenmatris), med gränsvärde, kvantitativ
Cut-Off	5 ml	Gränsvärdeskontroll, utspätt humant serum; i stabiliserad proteinlösning

Farliga material anges i enlighet med märkningsföreskrifter. Mer information finns i säkerhetsdatablad (SDS) på www.r-biopharm.com.

5. Förvaringsanvisningar

Testsatsen måste förvaras i 2 till 8 °C och kan användas fram till utgångsdatumet på etiketten. Den utspädda tvättbufferten **Wash buffer salt Tween** har en maximal förbrukningstid på 4 veckor vid förvaring i 2 till 8 °C. Mikrobiell kontaminering måste förhindras. Eter utgångsdatumet gäller inte kvalitetsgarantin längre.

Kontaminering av substratlösningen **AllergySub** med konjugatet **Conjugate** måste undvikas, eftersom det får substratet **AllergySub** att missfärgas.

Direktexponering av substratet **AllergySub** för ljus måste också undvikas för att förhindra försämring eller missfärgning på grund av hydrolys. Använd inte substratet **AllergySub** om det har utvecklat en intensiv gul färg. Se 10.3

"Kvalitetskontroll – indikation på reagensernas instabilitet eller utgångsdatum".

5.1 Förvaring av mikrotiterplattor

Eftersom mikrotiterplattorna **Plate** är känsliga för luftfuktighet ska aluminiumpåsarna förslutas ordentligt när önskat antal plattor av **Plate** har tagits ut. Torkmedelspåsen måste ligga kvar i aluminiumpåsen under hela förvaringsperioden. Mikrotiterplattorna **Plate** kan förvaras i korrekt försluten aluminiumpåse under den angivna förvaringstiden i 2 till 8 °C.

6. Reagenser som behövs men som inte medföljer

6.1 Medföljande reagenser

- Destillerat eller avjoniserat vatten

6.2 Utrustning

- Fotometer för mikrotiterplattor (med 405 nm och 620/630 nm filter), mätintervall 0 till 3,5 OD
- Mikrotiterplattvätt för 8 till 96 brunnar
- 12-kanalspipett
- Flerstegspipett
- Horisontal shaker (för eluering av kapillärblodprover)

7. Varningar och försiktighetsåtgärder för användare

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning
- Det här testet får endast utföras av utbildad laboratoriepersonal. Riktlinjerna för arbete i medicinska laboratorier måste följas. Följ alltid bruksanvisningen för detta test noggrant.
- Pipettera inte prover eller reagenser med munnen; undvik kontakt med skadad hud och slemhinnor. Bär engångshandskar när du hanterar prover och tvätta händerna efter testet.
- Rök, ät eller drick inte i områden där prover eller testreagenser bearbetas.
- Standardserumen i satsen har testats för HIV och HCV-antikroppar, HBsAg och syfilis enligt CFR 21.640 och var negativa. Patientproverna och allt material som du vidrör ska ändå hanteras som potentiellt smittbärande. Följ nationella säkerhetsregler för hantering och omhändertagande av potentiellt smittbärande material.
- Standardserumen **Standard**, konjugatet **Conjugate** och tvättbuffertkoncentratet **Wash buffer salt Tween** innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Detta ämne får inte komma i kontakt med hud eller slemhinnor. Kontakt med bly- eller kopparrör kan leda till att explosiva metallazider bildas.
- Låt inte stoppreagensen eller substratlösningen komma i kontakt med hud, ögon eller kläder. Vid kontakt med huden, tvätta omedelbart med tvål och vatten. Vid kontakt med ögonen, spola omedelbart under rinnande vatten i 15 minuter med ögonlocken öppna. Kontakta en ögonspecialist. Vid förtäring, drick stora mängder vatten, framkalla inte kräkning och kontakta läkare omedelbart.
- Alla komponenter i satsen måste omhändertas korrekt av användaren efter användning (se säkerhetsdatablad angående satsens komponenter).
- Alla reagenser och material som kommer i kontakt med potentiellt smittbärande prover måste hanteras med lämpliga desinfektionsmedel eller autoklaveras i 121 °C i minst en timme.

8. Insamling och förvaring av prover

RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen har utvecklats för att testa humant serum och kapillärblod.

Vid insamling av venösa blodprover ska serumet separeras från koagel så fort som möjligt efter fullständig koagulation för att förhindra hemolys. Serumproverna måste förvaras kyllda (2 till 8 °C) eller frysta (-20 °C) tills de ska testas. Undvik upprepad frysning och tining av serumet liksom bakteriell kontaminering. Användning av värmeinaktiverade, lipemiska, hemolytiska, ikteriska eller grumliga serum kan leda till falska resultat.

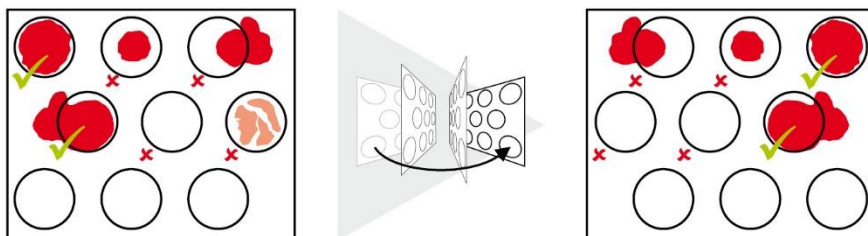
När kapillärblodprover används i RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testet måste rätt utrustning användas (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Endast denna utrustning har godkänts för detta test. Torkade kapillärblodprover på Blood Collection Card (ingår i A8025 och A8025-BCC) är stabila i högst 3 veckor vid förvaring på en torr plats i rumstemperatur (20 till 25 °C). Förvara inte kapillärblodprover i kylskåp.

Tabell 20: Stabilitet hos provtyper

Ej utspätt serum		Utspätt serum	Torkat kapillärblodprov	Eluat av kapillärblodprov
2 till 8 °C	-20°C	20 till 25 °C	20 till 25 °C	20 till 25 °C
1 månad	> 3 månader	Högst 6 timmar	3 veckor	Högst 6 timmar

Viktigt meddelande vid bearbetning av kapillärblodprover:

Cirklarna på blodkortet måste fyllas helt med blod. Kontrollera även kortets baksida för att säkerställa att cirklarna har absorberat blodet helt.



9. Testprocedur

9.1 Allmän information

Alla reagenser, patientserum och mikrotiterplattan **Plate** måste få rumstemperatur innan de används (viktigt). Blanda reagenserna ordentligt före användning. Efter användning måste reagenssatsen förvaras vid 2 till 8 °C.

De belagda mikrotiterplattorna **Plate** får inte användas mer än en gång. Använd inte reagenser eller mikrotiterplattorna **Plate** om förpackningen är skadad eller om behållarna inte är ordentligt förslutna.

De belagda mikrotiterplattorna **Plate kan användas med reagenser från olika satser.**

Eventuella avvikelser från de angivna inkubationstiderna och temperaturerna kommer att göra att standardkurvan förändras i jämförelse med certifikatet. Omfattande skillnader i värden från standardkurvan kan leda till ogiltiga testresultat. Kunden behöver till exempel ändra (och validera) inkubationstiden och/eller temperaturen för helt automatiserad bearbetning av testet.

Utför inte testet i direkt solljus. Rekommendationen är att täcka mikrotiterplattorna **Plate** under inkuberingsfaserna.

9.2 Förbereda tvättbufferten

Lös upp innehållet i en förpackning tvättbuffertsalt **Wash buffer salt Tween** i 1 liter destillerat vatten. Använd bara den mängd som behövs för varje analys. Upplöst tvättbuffert **Wash buffer salt Tween** har bara en maximal hållbarhetstid på 4 veckor (2 till 8 °C).

9.3 Förbereda mikrotiterplattor

De belagda mikrotiterplattorna **Plate** kan inte användas direkt. Innan pipettering utförs måste plattorna **Plate** märkas med patientnamn eller -nummer.

9.4 Provutspädning

9.4.1 Provutspädning; serumprover

Späd serumprovet med provspädningsbuffert **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tabell 21: Rekommenderade förberedelser för provutspädning

Upp till 50 bestämningar		Upp till 100 bestämningar		Upp till 200 bestämningar		Upp till 300 bestämningar	
Serum	Buffert	Serum	Buffert	Serum	Buffert	Serum	Buffert
40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	150 µl	15,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2 Provspädning; kapillärblodprover

Skaka det torkade kapillärblodprovet med provspädningsbuffert

Sample Buffer IgG i en lämplig flaska i 1 (till 14) timme (timmar) vid 20 till 25 °C i en horisontell shaker. För varje analys, tryck ut motsvarande antal perforerade cirklar **Card**. Engångshandskar ska användas för att trycka ut de torkade, blodfyllda cirkarna **Card** med fingrarna. Du kan också använda ett lämpligt sterilt föremål, till exempel änden på en pipettspets eller en laboratoriespatel, för att trycka ut cirkarna **Card**.

Tabell 22: Rekommenderade förberedelser för provutspädning

Upp till 50 bestämningar		Upp till 100 bestämningar		Upp till 200 bestämningar		Upp till 300 bestämningar	
Prov	Buffert	Prov	Buffert	Prov	Buffert	Prov	Buffert
2 cirklar	4,0 ml	4 cirklar	8,0 ml	6 cirklar	12,0 ml	8 cirklar	16,0 ml

Eluatet med kapillärblodprovet motsvarar redan det utspädda patientprovet och pipetteras på mikrotiterplattan **Plate** enligt anvisningarna.

9.5 Första inkubering (provinkubering)

Pipettera 50 µl av standardserumen **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, kontrollen **Control high** eller **Cut-Off** och det utspädda patientserumet eller eluatet av kapillärblodprovet i brunnarna på mikrotiterplattan **Plate** enligt pipetteringsschemat. Inkubera sedan plattorna **Plate** i 90 minuter vid 20 till 25 °C. Plattorna kan staplas i pipetteringsordning; täck över den översta plattan.

9.6 Tvätt

Tvätta brunnarna tre gånger med en mikroplatttvätt med 350 µl utspädd tvättbuffert **Wash buffer salt Tween** för varje brunn. Slutlig sugning ska vara kvantitativ, om det är möjligt. Plattorna **Plate** kan tömmas ut på absorberande material efter tvätt för att avlägsna eventuell kvarstående tvättlösning.

9.7 Andra inkubering (konjugatinkubering)

Pipettera 50 µl av konjugat **Conjugate** i varje brunn. Inkubera sedan plattorna **Plate** i 90 minuter vid 20 till 25 °C. Plattorna **Plate** kan staplas i pipetteringsordningen, täck över den översta **Plate**.

9.8 Tvätt

Tvätta enligt beskrivningen i avsnitt 9.6.

9.9 Tredje inkubering (substratinkubering)

Pipettera 50 µl substratlösning **AllergySub** i varje brunn. Inkubera sedan plattorna **Plate** i 60 minuter vid 20 till 25 °C. Håll de inkuberade plattorna **Plate** borta från direkt solljus. Plattorna **Plate** kan staplas i pipetteringsordning, täck över den översta plattan **Plate**.

9.10 Stoppa reaktionen och utföra mätningen

Om man tillsätter 50 µl stoppreagens **AllergyStop R** i varje brunn stoppas reaktionen. När stoppreagensen **AllergyStop R** har tillsatts ska du "knacka" försiktigt på plattan **Plate** för att uppnå ordentlig blandning i brunnarna. Mät utrotningen vid 405 nm mot referensvåglängden på 620/630 nm. Plattorna **Plate** kan mätas om inom 24 timmar om de täcks över och förvaras i kylskåp.

10. Kvalitetskontroll – indikation på reagensernas instabilitet eller utgångsdatum

10.1 Utvärdering av RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8821-15, A8822-15, A8829-05/-15

Under varje testprocedur ska varje platta **Plate** innehålla standarderna **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** och kontrollen **Control high**. Testet har utförts korrekt om följande kriterier har uppfyllts (all information baseras på ett differentialmätt på 405 nm till 620 nm (eller 630 nm) [OD_{405/620}]):

Standard 2	minus	Standard 1	≥ 0,08
Standard 3	minus	Standard 2	≥ 0,30
Standard 4	minus	Standard 3	≥ 0,70
Standard 4			> 1,0

10.2 Utvärdering av RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8921, A8931

Under varje testprocedur ska varje platta **Plate** innehålla gränsvärdeskontrollen **Cut-Off**. Testet har utförts korrekt om följande kriterium har uppfyllts (informationen baseras på ett differentiamått på 405 nm till 620 nm, eller 630 nm [OD_{405/620}]):

$$\text{Cut-Off} \geq 0,20$$

10.3 Indikation på reagensernas instabilitet eller försämring

En avvikelse från det förväntade referensvärdet, grumlighet i reagensen eller intensiv gulfärgning av substratet **AllergySub** innan det tillsätts i brunnarna kan vara ett tecken på att reagensen passerat sitt utgångsdatum.

Om det angivna referensvärdet inte nås måste följande saker kontrolleras innan testet upprepas:

- utgångsdatum för de reagenser som används
- funktionell prestanda för den utrustning som används (t.ex. kalibrering)
- korrekt testprocedur
- visuell inspektion av satsens komponenter avseende kontaminering eller läckage.

Använd inte substratlösning **AllergySub** som har en intensiv gul färg. Kontakta tillverkaren om de angivna värdena inte uppnås efter att testet har upprepats.

11. Utvärdering och tolkning

11.1 Fynd i serum och kapillärblod

11.1.1 Grunder till beräkning

Beräkningarna måste baseras på en standardkurva för kvantitativ utvärdering och tolkning av testet. Därför måste standarder köras på varje platta. Utrotningsvärdena för standarden är angivna som en funktion av de relaterade koncentrationerna (µg/ml) semilogaritmiskt (y-ln-/x-logdiagram) i ett punkt-till-punkt-diagram för att skapa standardkurvan. Vid dubbla analyser av standarden används medelutrotningsvärdet från den dubbla analysen av standarderna för att skapa standardkurvan. Koncentrationerna av de specifika IgG-antikropparna i µg/ml kan fastställas med hjälp av standardkurvan från de uppmätta OD-värdena och sedan konverteras till IgG-klasser (se tabell 23 och 24). Utvärderingen kan också utföras med lämplig programvara. Kvalitativ utvärdering och tolkning av testet förklaras i tabellen.

Standardkurvan för RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen kalibrerades till ett internationellt referenspreparat: 1:a WHO IRP 67/86 för humant IgG.

11.1.2 Koncentrationer, IgG-klasser och beräkningar för RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A0301, A8101, A8121-05/-15, A8221-05/-15, A8321-05/-15, A8621-05/-15, A8821-15, A8822-15, A8823, A8824, A8825, A8826, A8827, A8828, A8829-05/-15, A8921, A8931

Tabell 23: Kvantitativ relation mellan fastställda IgG-koncentrationer [µg/ml], IgG-klasser och patientens antigenspecifika IgG-koncentration från ett serumprov

IgG-koncentration [µg/ml]	IgG-klass	Antigenspecifikt IgG-innehåll	Alternativ IgG-klass	Antigenspecifikt IgG-innehåll
< 7,5	0	Negativ	0	Negativ
7,5 till < 12,5	1	Mild	1	Förhöjd
12,5 till < 20,0	2	Förhöjd		
20,0 till < 50,0	3	Hög	2	Mycket förhöjd
≥ 50,0	4	Mycket hög		

Tabell 24: Kvantitativ relation mellan fastställda koncentrationer [µg/ml], IgG-klasser och patientens antigenspecifika IgG-koncentration från ett kapillärblodprov

IgG-koncentration [µg/ml]	IgG-klass	Antigenspecifikt IgG-innehåll	Alternativ IgG-klass	Antigenspecifikt IgG-innehåll
< 8,0	0	Negativ	0	Negativ
8,0 till < 18,0	1	Mild	1	Förhöjd
18,0 till < 40,0	2	Förhöjd	2	Mycket förhöjd
≥ 40,0	3	Hög		

Dessa värden är endast grova riktlinjer. Det finns inga internationella standarder för specifika IgG för livsmedel.

Tabell 25: Kvalitativ utvärdering och tolkning av RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301) och RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101), Prescreen 1 (A8921) och Prescreen Customized Plate (A8931) från ett serum- eller kapillärblodprov

Kvot	Utvärdering	Tolkning
$\leq 1,0$	-	Negativ
$> 1,0$ till $< 2,5$	+	Mild
$\geq 2,5$ till $< 5,0$	++	Förhöjd
$\geq 5,0$	+++	Hög

Kvot = $OD_{405/620}$ (prov) $\div$ $OD_{405/620}$ (gränsvärde). Testet är giltigt om $OD_{405/620}$ av gränsvärdet är $\geq 0,20$.

12. Metodens begränsningar

De IgG-koncentrationer som fastställs med hjälp av detta testsystem ger information om nivån av sensitisering hos patienten med avseende på undersökta livsmedelsantigener eller blandningar.

En korrelation mellan nivån av en fastställd IgG-koncentration och förekomsten eller allvarlighetsgraden av kliniska symtom kan inte härledas från detta. De resultat som uppnås måste alltid tolkas i kombination med de fullständiga kliniska symtomen.

Falskt positiva testresultat kan förekomma på grund av en korsreaktivitet hos den testade antigenen med epitoper från andra antigener.

Märket av livsmedelsextrakt och beläggningen på mikrotiterplattorna eliminerar inte alltid antigenepitoper, vilket kan leda till falskt negativa resultat. IgG-antikroppar mot antigener som inte uppstår förrän vid industriell beredning, matlagning eller matsmältning kanske inte är detekterbara eftersom de inte förekommer i det ursprungliga livsmedlet som patienten testas för.

13. Prestandaegenskaper

13.1. Precision

Reproducerbarheten hos RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testet fastställdes med hjälp av referensprover som täcker hela mätintervallet från negativt till starkt positivt. Medelvärdena och variationskoefficienterna (CV) fastställdes för tre reagensloter och för två mikrotiterplattor. För att fastställa reproducerbarheten mellan studier användes referensprover från fem på varandra följande arbetsdagar i tre versioner, med två körningar per dag. Mätningarna utfördes med två tekniker.

Tabell 26: Mätning av precision inom analysen

Medelvärde CV (%)	8,1
-------------------	-----

Tabell 27: Mätning av precision mellan analyser

Medelvärde CV (%)	11,1
-------------------	------

Tabell 28: Mätning av precision mellan loter

Serumprover	1	2	3
Antal loter med reagenssatser	3	3	3
Antal loter med mikrotiterplattor	2	2	2
Antal allergener	44	44	44
Antal mätningar	264	264	264
Variationskoefficient	25,0%	16,9%	15,4%
Genomsnittlig variationskoefficient	19,1%		

Mätningarna av precision inom analysen, mellan analyser och mellan loter antyder att RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen-testet ger korrekta och reproducerbara resultat i hela mätintervallet under både konstanta och föränderliga villkor och med flera olika satsloter.

13.2 Stabilitet

13.2.1 Transportstabilitet

Satskomponenternas stabilitet kontrollerades vid temperaturfluktuationer orsakade av transport. Två simulerade transportscenarion (TC 1 och TC 2) och en verklig utlandstransport till Australien (TC 3) undersöktes. Temperaturfluktuationerna dokumenterades under hela transportperioden. Temperaturer på mellan 4,5 °C och 46 °C registrerades. Satskomponenterna jämfördes med referenssatsen, som förvarades vid den föreskrivna temperaturen (2 till 8 °C).

Ingen påverkan på resultaten efter transport av satskomponenterna upptäcktes vid något av scenarierna, vilket innebär att RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen är stabilt under transportförhållanden.

13.2.2 Satsens stabilitet efter öppnande

Satskomponenternas stabilitet testades efter de enskilda komponenterna hade öppnats under en 6 veckor lång period. Analysen utfördes med hjälp av två positiva

serum som, efter 2, 4 och 6 veckor, jämfördes med testresultaten från vecka 0, som motsvarar 100 % (% av REF). Analysen utfördes också på en mikrotiterplatta som inte täckts över efter 6 veckor, kombinerad med en nyligen öppnad reagenssats (ref.sats) och en nyligen öppnad mikrotiterplatta kombinerad med en reagenssats som lämnats öppen (ref.platta). Satserna förvarades vid 2 till 8 °C.

Ingen förlorad stabilitet upptäcktes i reagenserna eller mikrotiterplattorna under en period på minst 6 veckor. Testresultaten som uppnåddes med dessa satskomponenter uppvisade heller inga betydande avvikelser jämfört med referenserna.

13.3 Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet är ett mått av ett tests exakthet vid låga koncentrationer av analyten.

Genomsnittligt LOB hos RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen är 2,8 µg/ml och genomsnittligt LOD är 4,0 µg/ml.

13.4 Interferenter

Följande potentiella ämnen testades: hemoglobin, bilirubin, triglycerider, HSA.

Ingen relativ påverkan på testresultatet av RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen påvisades för något av de angivna ämnena.

Observera dock att inga kombinationer av ämnena testades. Därför måste ett osannolikt resultat vid eventuellt hemolytiska, hemorragiska eller lipemiska patientprover alltid utredas specifikt med hänseende på patientens övergripande kliniska bild.

14. Versionshistorik

Versionsnummer	Avdelning och benämning
2016-08-29	Föregående version
2020-02-04	Allmän revidering: Ny layout
2020-02-04	1. Avsedd användning 4. Medföljande reagenser 8. Insamling och förvaring av prover 9. Testprocedur 10. Kvalitetskontroll – indikation på reagensernas instabilitet eller utgångsdatum 11. Utvärdering och tolkning 13. Prestandaegenskaper Testspecifika symboler
2020-11-10	13. Prestandaegenskaper

15. Symbolförklaringar

Allmänna symboler

	För in vitro-diagnostisk användning
	Se bruksanvisningen
	Batchnummer
	Använd före
	Förvaringstemperatur
	Artikelnummer
	Antal tester
	Tillverkningsdatum
	Tillverkare

Testspecifika symboler

AllergyStop R	Stoppreagens
AllergySub	Substratlösning, färdig att använda
Card	Bloduppsamlingskort
Plate	Mikrotiterplatta
Conjugate	Konjugat
Control high	Positiv kontroll
Sample Buffer IgG	Provspädningsbuffert
Standard 1	Standard 1
Standard 2	Standard 2
Standard 3	Standard 3
Standard 4	Standard 4
Wash buffer salt Tween	Tvättbuffertsalt

16. Referenser

Bentz S *et al.* (2010) Clinical relevance of IgG antibodies against food antigens in Crohn's disease: a double-blind cross-over diet intervention study. *Digestion* 81(4):252-64.

Alpay K *et al.* (2010) Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: a clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7):829-37.

Aydinlar EI *et al.* (2013) IgG-based elimination diet in migraine plus irritable bowel syndrome. *Headache*. 53(3):514-25.

Uzunismail H *et al.* (2012) The effects of provocation by foods with raised IgG antibodies and additives on the course of Crohn's disease: a pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 23:19-27.

G. E. Mullin *et al.* (2010) Testing for Food Reactions: The Good, the Bad, and the Ugly. *Nutr Clin Pract* 25(2):192-198.

A. Aljada *et al.* (2004) Increase in intranuclear nuclear factor B and decrease in inhibitor B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr* 79:682–90.

A. R. Gaby. (1998) The Role of Hidden Food Allergy/Intolerance in Chronic Disease. *Alternative Medicine Review*, 3(2):90-100.