

RIDA qLine[®] Allergy

Nº do artigo: A6142 Painel 1 (20 alérgenos diferentes)

Nº do artigo: A6242 Painel 2 (20 alérgenos por inalação)

Nº do artigo: A6342 Painel 3 (20 alérgenos de alimentos)

Nº do artigo: A6442 Painel 4 (20 alérgenos pediátricos)

Este manual também é aplicável a todos os outros painéis específicos por país.

Consulte o certificado acompanhante apropriado, fornecido com cada kit, para a composição alergênica.



1. Uso previsto

Para uso em diagnóstico *in vitro*. Este teste é um ensaio imunoenzimático em uma membrana de nitrocelulose (immunoblot) para a detecção quantitativa de anticorpos IgE específicos para alérgenos em soro e plasma humanos (citrato).

2. Sumário e explicação do teste

O sistema imune tem como tarefa proteger o organismo contra bactérias patogênicas, vírus e outros micro-organismos. A resposta da defesa protege o organismo no primeiro contato com patógenos, mas também oferece imunização contra exposição repetitiva. Todas as reações alérgicas são precedidas por um primeiro contato assintomático, onde anticorpos específicos da classe E (anticorpos IgE) já foram formados. No contato repetido com o alérgeno iniciante, esses anticorpos IgE reagem com o alérgeno e provocam a liberação de mediadores (normalmente de mastócitos), como histamina, leucotrieno, prostaglandinas, etc., o que leva a sintomas de alergias. A detecção de anticorpos IgE específicos no soro permite identificar alérgenos de iniciação em caso de reações alérgicas. Também é possível detectar sensibilidades assintomáticas.

3. Princípio do teste

Este teste está baseado nos princípios do método de immunoblot. Vários alérgenos são aplicados na superfície de membranas de nitrocelulose em linhas separadas, dependendo da configuração do painel. Os anticorpos IgE específicos do alérgeno reagem com os alérgenos adequados, caso estejam presentes nas amostras do paciente. Em uma segunda etapa, Os anticorpos IgE anti-humanos, conjugados com biotina, são ligados aos anticorpos adjuntos. Em uma terceira etapa de incubação, a biotina liga a um conjugado de conjugado de estreptavidina poliperoxidase. Em uma etapa final de incubação, a peroxidase transforma o substrato incolor tetrametilbenzidina (TMB) em um produto final com coloração púrpura. Depois de cada incubação individual, uma etapa de lavagem remove o material não ligado. A intensidade da cor azul é proporcional à quantidade de anticorpos específicos de alérgenos no soro do paciente. A amostra é avaliada com RIDA qLine[®] Scan (IVD) ou um scanner de mesa 3D comum a cores (não DIV) validado pela R-Biopharm em combinação com o software RIDA qLine[®] Soft. As intensidades de cores das faixas de alérgeno são avaliadas quantitativamente com base na curva padrão na membrana, para determinar a IU/ml ou as classes RAST.

Curva padrão e controle positivo

RIDA qLine® Allergy é um teste quantitativo feito por meio de uma curva padrão calibrada de acordo com os padrões da OMS. A cada tira, são aplicados 5 padrões. Os 5 padrões correspondem às classes RAST 1 - 5, onde a classe RAST 6 é extrapolada no software.

A curva padrão é a única visível, e os critérios de validade são preenchidos apenas se o teste tiver sido executado corretamente e todos os reagentes estiverem funcionando de modo correto. Os critérios de validade da curva padrão/controle de função são preenchidos se todos os 5 padrões forem visíveis e reconhecidos pelo software, onde o menor padrão atinge no mínimo a intensidade 10, e a intensidade do padrão 1 é < padrão 2 < padrão 3 < padrão 4 < padrão 5.

O controle positivo testa o sistema como um todo. O valor esperado somente pode ser emitido se as tiras forem processadas corretamente, o sistema de medição detectar as bandas corretamente e o software executar o cálculo corretamente. Para que o resultado seja válido, o controle positivo deve atingir, no mínimo, RAST 4.

Faixa CCD

A faixa CCD é feita de cadeias paralelas de carboidratos que são ligadas à membrana de nitrocelulose. A faixa de CCD detecta anticorpos IgE específicos em relação a determinantes de carboidrato de reação cruzada (CCD) na amostra do paciente.

O sistema imunológico forma anticorpos IgE específicos contra alérgenos genuínos, mas também contra as cadeias paralelas de carboidratos de alérgenos (IgE anti-CCD) de origem vegetal ou de insetos, moluscos ou látex. Estes IgEs anti-CCD também levam a reações cruzadas com proteínas não associadas e, portanto, são conhecidos como determinantes de carboidratos de reação cruzada (CCD).

Cerca de 25% de todos os pacientes alérgicos produzem IgEs anti-CCD. No entanto, é altamente improvável que eles ativem sintomas alérgicos e, por isto, não são clinicamente relevantes.

Essas reações cruzadas podem levar a resultados positivos em sistemas de testes in vitro que devem ser considerados falsos positivos. Para poder diferenciar corretamente entre resultados positivos genuínos e falsos positivos, o teste deve ser repetido em caso de um resultado positivo da faixa de CCD (\geq RAST 1), e o soro deve ser bloqueado com um inibidor de CCD (ZA0601) antes do teste, para evitar ligação com CCDs em testes in vitro.

4. Conteúdo da embalagem

Tabela 1: Conteúdo da embalagem suficiente para 10 ensaios

Membrane	10 peças	Membranas de teste RIDA qLine® Allergy (membranas de nitrocelulose) revestidas com material alérgeno em 20 campos de teste e 5 padrões em poços de reação.
Wash 25x	5 ml	Tampão de lavagem em concentrações de 25 vezes, Tris/NaCl
Antibody	5 ml	Anticorpos de detecção, anticorpos IgE (cabra) conjugados com biotina, prontos para usar
Conjugate	5 ml	Estreptavidina conjugada, estreptavidina conjugada com peroxidase, pronta para usar
Substrate	5 ml	Substrato; TMB (tetrametilbenzidina), pronta para usar

5. Instruções de armazenamento para reagentes

As membranas de teste foram armazenadas em um local frio, seco e escuro dentro da embalagem de alumínio. O kit de teste deve ser armazenado a 2-8 °C. O tampão de lavagem diluído tem um prazo máximo de 4 semanas de validade quando armazenado a 2-8 °C. É necessário evitar contaminação microbiana. Nenhuma garantia de qualidade poderá ser assegurada após o término do prazo de validade.

Deve-se evitar sempre a contaminação do substrato com conjugado, considerando que isto gerará descoloração do substrato. Ao mesmo tempo, é necessário evitar a exposição direta do substrato à luz, para prevenir a desnaturação ou descoloração por auto-oxidação. Em caso de descoloração, o substrato não pode continuar sendo usado.

6. Reagentes adicionais e equipamentos necessários

6.1. Reagentes

- Água destilada ou deionizada

6.2. Acessórios

- Misturador vórtice
- Cilindro de medição (200 ml)
- Micropipeta, 1000 µl
- Suporte de tiras para 10 tiras (membranas de teste)

- A caixa externa para incubação no escuro (sistema de suporte de tiras e caixa externa (= RIDA qLine[®] Incubation Set; artigo nº ZG2701) pode ser adquirida na R-Biopharm AG)
- Agitador orbital (300 RPM, raio orbital de 3 mm; artigo nº: ZG2601)
- RIDA qLine[®] Scan (artigo nº: ZG1109) e computador pessoal com a porta USB
- Scanner de mesa 3D comum a cores validado pela R-Biopharm AG (artigo nº: ZG1106) e computador pessoal com a porta USB
- Software RIDA qLine[®] Soft (artigo nº: Z9995)

7. Medidas preventivas

Apenas para uso em 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 esse teste.

Não pipete amostras ou reagentes para a boca; evite o contato com membranas mucosas ou pele lesionada. Ao manusear as amostras, utilize luvas descartáveis e lave as mãos depois do teste. Não fume, coma ou beba nas áreas onde as amostras ou os reagentes de teste estão sendo usados.

Anticorpos e tampões de lavagem contêm azida de sódio como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou com membranas mucosas. O contato com tubulações de chumbo ou cobre pode fazer com que se desenvolva azida metálica.

O substrato contém peróxido de hidrogênio, bem como clorometilisotiazolinona e metilisotiazolinona em concentrações subtóxicas.

Se a embalagem externa estiver danificada, é necessário verificar cada componente antes de usar, para ver se estão danificados. Os componentes do kit não devem ser usados se cada embalagem estiver danificada ou se os frascos estiverem vazando.

Todos os componentes do kit devem ser descartados pelo usuário de forma adequada depois de serem usados.

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 1 hora.

8. Coleta e armazenamento de amostra

O teste foi desenvolvido para examinar soro e plasma humanos (citrato). Depois que a amostra de sangue é coletada, para evitar hemólise, o soro deve ser separado do sangue coagulado com a maior rapidez possível. As amostras devem ser armazenadas em um local frio ou congeladas, até que sejam testadas. É necessário evitar o congelamento e descongelamentos repetidos, bem como a contaminação bacteriana do soro. A utilização de soros lipêmicos, hemolíticos, icteríticos ou opacos, inativados pelo calor, podem gerar resultados distorcidos.

Tabela 2: Armazenamento de amostras

2-8 °C	1 semana
-20 °C	> 1 semana

9. Realização do teste

9.1. Informação geral

É permitido fazer a troca ou combinação de componentes dos kits com números de lotes diferentes.

Os resultados reproduzíveis dependem grandemente de obedecer aos períodos e temperaturas de incubação, bem como da lavagem correta das membranas de teste.

Todos os componentes de teste devem ser levados à temperatura ambiente (20-25 °C) antes de o teste ser iniciado.

9.2. Preparação do tampão de lavagem

Coloque 5 ml de concentração de tampão de lavagem **Wash 25x** em um cilindro de medição e preencha-o com 125 ml de água destilada (= tampão de lavagem). Dissolva possíveis cristais no concentrado por aquecimento (banho com água a 37 °C). Mantenha o tampão de lavagem em um recipiente ao qual seja possível ter acesso utilizando pipetas.

9.3. Primeira incubação

A **Membrane** de teste deve ser removida da embalagem de acordo com o número de testes a serem realizados. Os poços são colocados no suporte da membrana de teste, para fixar as tiras quando estiverem soltas. Cada membrana de teste é revestida com 500 µl de tampão de lavagem e agitada no agitador orbital (300 RPM, 3 mm de raio orbital) por 1 minuto, até que não haja mais formação de bolhas. A **Membrane** de teste é esvaziada, então, em um material absorvente. A seguir, a **Membrane** de teste é preenchida com 400 µl de soro do paciente e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente (20-25 °C) no agitador orbital. É necessário garantir que o fluido cobre a membrana completa. Se isto não for assim, poderá ser corrigido com cuidado usando a ponta da pipeta, sem danificar a membrana.

9.4. Lavagem

Após a incubação do soro, os poços são esvaziados. Agora, a **Membrane** de teste é lavada em três etapas separadas com 400 µl de tampão de lavagem no agitador orbital por 1 minuto cada uma, sob as mesmas condições que durante a incubação. A seguir, as membranas de teste são esvaziadas e batidas sobre um material absorvente.

9.5. Segunda incubação

Pipeta de 400 µl de **Antibody** em cada **Membrane** de teste. É necessário garantir, uma vez mais, que o fluido cobre a membrana completa. A seguir, a **Membrane** de teste é incubada por 45 minutos à temperatura ambiente (20-25 °C) no agitador orbital.

9.6. Lavagem

Lave do modo descrito em 9.4.

9.7. Terceira incubação

Pipeta de 400 µl de **Conjugate** em cada **Membrane** de teste. É necessário garantir, uma vez mais, que o fluido cobre a membrana completa. A seguir, a **Membrane** de teste é incubada por 20 minutos à temperatura ambiente (20-25 °C) no agitador orbital.

9.8. Lavagem

A qualidade do resultado depende altamente dessa etapa de lavagem. Enxague cada tira três vezes com 1000 µl de tampão de lavagem cada uma sobre uma pia ou um recipiente adequado. Segure a tira por um ângulo e mova a pipeta da parte de cima até a parte de baixo da membrana enquanto estiver pipetando o fluido, sem chegar a tocar a membrana. A seguir, lave a **Membrane** de teste em duas etapas separadas com 400 µl de tampão de lavagem no agitador orbital por 1 minuto, sob as mesmas condições que durante a incubação. A seguir, as membranas de teste são esvaziadas e batidas sobre um material absorvente.

9.9. Quarta incubação

400 µl de **Substrate** são aplicados a cada **Membrane** de teste, de forma que a membrana seja totalmente coberta. Depois, a **Membrane** de teste é incubada por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20-25 °C) no agitador orbital.

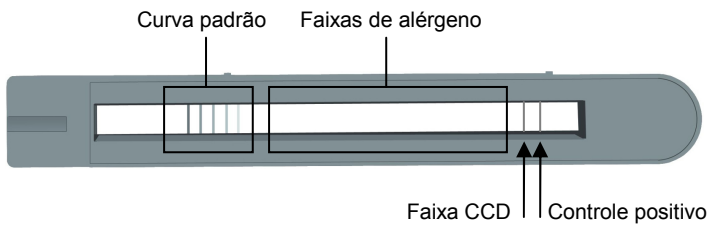
9.10. Lavagem

Após a incubação do substrato, os poços são esvaziados. Finalmente, as **Membrane** de teste são lavadas uma vez com 400 µl de tampão de lavagem uma vez com 400 µl de água destilada no agitador orbital por 1 minuto cada um (300 RPM, 3 mm de raio orbital) sob as mesmas condições que durante a incubação. A seguir, as membranas de teste são esvaziadas e batidas sobre um material absorvente.

O teste pode ser avaliado depois de ter secado ao ar por, pelo menos, 30 minutos ou quando a membrana estiver totalmente seca. Para abreviar esse processo, recomendamos usar um secador de ar frio.

10. Controle de qualidade - indicações da expiração do reagente

O teste foi realizado corretamente se o fundo tiver perdido totalmente sua cor, a curva padrão das cinco faixas diferenciadas estiver visível e o controle positivo preencher as especificações.



Um reagente opaco ou descoloração do substrato antes que seja adicionado à **Membrane** de teste pode ser um sinal de vencimento do reagente.

Se a curva padrão não estiver claramente diferenciada, é necessário verificar o seguinte até que o teste seja repetido:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade do equipamento utilizado (por ex., calibração)
- Execução correta do teste
- Inspeção visual dos componentes do kit, à procura de contaminação ou vazamentos – qualquer solução de substrato que ficou azul não deve ser usada.

Se as condições não tiverem sido preenchidas depois de o teste ser repetido, consulte o fabricante ou o distribuidor R-Biopharm local.

11. Avaliação e interpretação

11.1. Configuração da membrana do RIDA qLine® Allergy Panel 1, 2, 3 e 4

Painel 1 20 alérgenos	Painel 2 20 alérgenos	Painel 3 20 alérgenos	Painel 4 20 alérgenos
Padrão 5	Padrão 5	Padrão 5	Padrão 5
Padrão 4	Padrão 4	Padrão 4	Padrão 4
Padrão 3	Padrão 3	Padrão 3	Padrão 3
Padrão 2	Padrão 2	Padrão 2	Padrão 2
Padrão 1	Padrão 1	Padrão 1	Padrão 1
Derm. pteronyssinus	Derm. pteronyssinus	Avelã	Derm. pteronyssinus
Derm. farinae	Derm. farinae	Amendoim	Derm. farinae
Amieiro	Amieiro	Nozes	Bétula
Bétula	Bétula	Amêndoas	Mistura de grama
Aveleira	Aveleira	Leite	Gato
Mistura de grama	Carvalho	Clara de ovo	Cão
Centeio (pólen)	Mistura de grama	Gema de ovo	Alternaria alternata
Artemísia	Centeio (pólen)	Caseína	Leite
Bananeira	Artemísia	Batata	α Lactalbumina
Gato	Bananeira	Aipo	β -lactoglobulina
Cavalo	Gato	Cenoura	Caseína
Cão	Cavalo	Tomate	Clara de ovo
Alternaria alternata	Cão	Bacalhau	Gema de ovo
Clara de ovo	Porquinho-da-Índia	Caranguejo	Albumina sérica bovina
Leite	Hamster	Laranja	Grãos de soja
Amendoim	Coelho	Maçã	Cenoura
Avelã	Penicillium notatum	Farinha de trigo	Batata
Cenoura	Cladospor. herbarum	Farinha de centeio	Farinha de trigo
Farinha de trigo	Aspergillus fumigatus	Sésamo	Avelã
Grãos de soja	Alternaria alternata	Grãos de soja	Amendoim
CCD	CCD	CCD	CCD
PosCo	PosCo	PosCo	PosCo

As configurações da membrana para todos os outros painéis específicos de cada país, para os quais esta bula da embalagem é aplicável, encontram-se disponíveis na R-Biopharm AG como suplemento para cada painel.

11.2. Avaliação com RIDA qLine® Scan ou um scanner de mesa 3D comum a cores e software RIDA qLine® Soft.

Para isto, a membrana ou as membranas de teste são colocadas em um anel de suporte e medidas empregando os dispositivos de medição mencionados e o software adequado. O valor de IU/ml é calculado de forma automática a partir dos valores medidos e alocado às classes RAST 0-6. A avaliação baseia-se na curva padrão contida em cada tira. A intensidade de cada linha de alérgeno individual está relacionada com essa curva padrão.

Consulte o manual correspondente para obter informações sobre como usar os diversos dispositivos de medição para fazer a avaliação.

É necessário garantir que os testes apropriados foram alocados aos painéis de alergia a serem medidos.

Tabela 3: Conexão entre a classe determinada e o conteúdo de IgE específico do alérgeno

IU/ml	Classe	Conteúdo de IgE específico do alérgeno
0,00 - 0,34	0 (0,0 - 0,9)	não detectável ou traço
0,35 - 0,69	1 (1,0 - 1,9)	baixo
0,70 - 3,49	2 (2,0 - 2,9)	elevado
3,50 - 17,49	3 (3,0 - 3,9)	significativamente elevado
17,50 - 49,99	4 (4,0 - 4,9)	alto
50,00 - 99,99	5 (5,0 - 5,9)	muito alto
≥ 100,00	6	extremamente alto

11.3. Documentação

Os dados medidos (fotografia da membrana de teste e a avaliação) são salvos no disco rígido do computador em um diretório predefinido. Esse banco de dados é utilizado para o gerenciamento dos dados do paciente. Para cada soro testado, é possível imprimir uma folha de dados em qualquer impressora comum conectada ao computador.

12. Limitações do método

As concentrações de IgE determinadas com este sistema de teste fornecem informações sobre o nível de sensibilidade do paciente em relação aos alérgenos ou misturas de alérgenos específicos verificados.

Com base nisso, não é possível deduzir a correlação entre o nível de uma determinada concentração de IgE e a ocorrência ou a severidade dos sintomas clínicos. Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em combinação com a situação clínica como um todo.

Devido à falta de normas nacionais e internacionais, e devido às possíveis diferenças entre soluções de percutâneo e extratos de alérgenos, que são usados em testes *in vitro*, podem existir discrepâncias entre os resultados dos testes *in vivo* e *in vitro*. Além disso, as titulações de IgE podem resultar em falsos negativos ou ser medidas muito baixo diretamente após a ocorrência de reações anafiláticas. O teste deve ser repetido após 3 a 4 semanas, caso existam discrepâncias entre os resultados *in vivo* e *in vitro*. Se as discrepâncias continuarem, um alergista deveria realizar outros testes *in vivo*, como testes de provocação. Os testes de provocação podem gerar um choque anafilático.

Podem ocorrer resultados falso positivos devido a reação cruzada aos alérgenos testados com outros alérgenos.

13. Características de desempenho

13.1. Precisão intraensaio

A precisão intraensaio foi determinada testando dois soros (soro 1 e 2) com 20 tiras de teste cada um, e um soro (soro 3) com 10 tiras de teste de um único lote.

Os valores médios (MV), os desvios padrão (SD) e os coeficientes de variância (CV) são determinados para cada alérgeno individualmente e resumidos na Tabela 4. Valores de CV de 15% são aceitos quanto à precisão intraensaio de todos os alérgenos com sinais entre RAST 1 e RAST 2. Valores de CV de 10% são aceitos para alérgenos com sinais \geq RAST 2. Para alérgenos com sinais negativos ($<$ RAST 1), o cálculo de CV não é realizado.

Tabela 4: Precisão intraensaio de todos os 43 alérgenos nos painéis padrão 1-4

Alérgeno	Soro 1			Soro 2			Soro 3		
	MV (RAST)	DP	CV (%)	MV (RAST)	DP	CV (%)	MV (RAST)	DP	CV (%)
Amieiro	4,2	0,1	2,9	5,4	0,1	2,6	5,9	0,1	2,1
Amêndoas	2,8	0,1	3,4	4,2	0,2	4,4	1,7	0,1	5,1
Alternaria alternata	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	3,5	0,1	2,7
Maçã	2,8	0,1	5,0	2,8	0,2	5,3	2,2	0,1	5,2
Aspergillus fumigatus	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	1,9	0,1	7,8
Bétula	5,5	0,1	2,0	6,0	0,0	0,0	1,7	0,1	4,9
Albumina sérica bovina	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Cenoura	3,2	0,1	2,3	1,9	0,1	7,8	0,6	0,0	-
Caseína	0,1	0,1	-	0,4	0,1	-	5,2	0,1	2,2
Gato	2,5	0,1	4,3	4,4	0,1	2,7	6,0	0,1	1,2
Aipo	3,4	0,1	3,7	2,4	0,2	6,5	3,4	0,1	3,5
Cladosporium herbarum	0,3	0,0	-	0,4	0,1	-	3,7	0,1	2,6
Bacalhau	0,1	0,0	-	0,3	0,1	-	5,2	0,1	2,1
Caranguejo	2,4	0,1	4,1	4,0	0,1	3,3	2,2	0,1	4,8
D. farinae	2,1	0,1	2,6	6,0	0,0	0,0	2,9	0,1	3,8
D. pteronyssinus	1,4	0,1	7,1	6,0	0,0	0,0	2,2	0,1	2,8
Cão	0,3	0,0	-	6,0	0,0	0,8	4,1	0,1	3,1
Clara de ovo	0,4	0,1	-	1,0	0,1	-	3,5	0,1	2,8
Gema de ovo	0,1	0,1	-	0,5	0,1	-	3,2	0,1	2,9
Mistura de grama	5,9	0,1	2,0	5,5	0,2	3,4	4,1	0,3	8,3
Porquinho-da-Índia	0,3	0,0	-	1,3	0,1	8,8	0,7	0,1	-
Hamster	0,6	0,1	-	1,8	0,1	6,9	0,7	0,1	-
Aveleira	4,5	0,2	4,4	5,7	0,1	2,2	5,7	0,2	2,7
Avelã	3,0	0,1	2,6	5,1	0,1	2,7	3,8	0,1	1,9
Cavalo	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-	0,3	0,1	-
Leite	0,5	0,1	-	0,5	0,1	-	5,2	0,1	2,7
Artemísia	2,5	0,1	3,9	4,3	0,1	3,3	1,4	0,2	13,8
Carvalho	4,7	0,1	2,8	5,9	0,1	1,4	5,1	0,2	3,7

Laranja	2,3	0,1	5,1	1,2	0,1	11,2	1,2	0,1	10,7
Amendoim	1,3	0,1	9,4	1,5	0,2	13,3	3,4	0,1	2,7
Penicillium notatum	1,1	0,1	6,7	1,4	0,1	7,9	4,0	0,1	2,4
Erva de orelha	2,8	0,1	3,7	4,5	0,1	3,0	2,0	0,1	5,1
Batata	3,4	0,2	4,6	2,2	0,2	8,5	1,7	0,2	9,1
Coelho	1,1	0,1	6,6	1,9	0,1	3,5	1,5	0,2	11,0
Centeio (pólen)	5,5	0,2	3,9	4,4	0,2	4,5	5,2	0,2	3,9
Farinha de centeio	2,7	0,1	4,1	2,8	0,2	6,8	2,9	0,1	4,7
Sésamo	3,0	0,1	4,0	2,9	0,2	6,1	2,7	0,1	5,5
Grãos de soja	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	4,7	0,1	1,6
Tomate	3,7	0,1	2,5	2,3	0,1	6,0	2,7	0,1	4,3
Nozes	0,9	0,1	-	3,7	0,2	4,5	0,2	0,0	-
Farinha de trigo	2,8	0,1	3,9	2,5	0,1	4,5	5,5	0,1	2,5
α lactalbumina	0,2	0,1	-	0,4	0,1	-	2,7	0,2	7,0
β -lactoglobulina	0,3	0,1	-	0,8	0,1	-	4,5	0,2	4,0
CCD	2,2	0,1	4,1	0,3	0,1	-	3,1	0,1	4,3

13.2. Precisão interensaio

Para poder determinar a precisão interensaio, 3 soros foram ensaiados duas vezes em 10 dias consecutivos. O experimento foi realizado por duas pessoas diferentes.

Os valores médios (VM), os desvios padrão (DP) e os coeficientes de variância (CV) são determinados para cada alérgeno individualmente e resumidos na Tabela 5. Valores de CV de 20% são aceitos quanto à precisão interensaio de todos os alérgenos com sinais entre RAST 1 e RAST 2. Valores de CV de 15% são aceitos para alérgenos com sinais \geq RAST 2. Para alérgenos com sinais negativos ($<$ RAST 1), o cálculo de CV não é realizado.

Tabela 5: Precisão interensaio

Alérgeno	Soro 1			Soro 2			Soro 3		
	MV (RAST)	DP	CV (%)	MV (RAST)	DP	CV (%)	MV (RAST)	DP	CV (%)
Amieiro	5,4	0,2	3,6	2,2	0,2	9,1	5,9	0,1	2,0
Amêndoas	1,6	0,2	13,5	1,1	0,2	16,1	1,4	0,2	15,2
Alternaria alternata	2,4	0,2	8,4	1,7	0,2	13,5	3,5	0,2	6,3
Maçã	2,2	0,1	6,4	0,2	0,1	-	3,3	0,3	7,7
Aspergillus fumigatus	0,2	0,1	-	0,2	0,1	-	2,0	0,2	10,4
Bétula	1,0	0,2	-	2,7	0,3	9,8	5,9	0,1	1,4
Albumina sérica bovina	4,9	0,2	3,7	2,0	0,3	14,4	0,1	0,1	-
Cenoura	2,4	0,2	7,7	0,4	0,1	-	0,9	0,1	-
Caseína	5,1	0,2	3,6	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Gato	4,4	0,2	3,7	2,9	0,2	7,4	5,9	0,2	2,7
Aipo	3,5	0,2	5,0	0,8	0,1	-	2,2	0,2	7,1
Cladosporium herbarum	0,5	0,1	-	0,4	0,1	-	3,8	0,2	4,7
Bacalhau	5,2	0,2	3,1	1,3	0,3	26,0	0,4	0,1	-
Caranguejo	2,9	0,2	6,6	2,6	0,2	6,4	1,4	0,3	18,3
D. farinae	4,6	0,2	4,9	5,1	0,3	5,5	2,3	0,2	7,1
D. pteronyssinus	1,6	0,2	14,5	5,4	0,2	3,2	1,5	0,2	14,1
Cão	0,7	0,1	-	0,3	0,1	-	3,8	0,2	4,8
Clara de ovo	3,5	0,1	4,2	0,2	0,0	-	0,5	0,1	-
Gema de ovo	3,3	0,2	4,8	0,1	0,0	-	0,2	0,1	-
Mistura de grama	4,9	0,3	5,3	3,1	0,2	5,3	5,9	0,1	1,6
Porquinho-da-Índia	2,3*	0,3	10,8	0,4	0,1	-	0,5	0,1	-
Hamster	1,8	0,2	11,2	0,4	0,1	-	0,6	0,1	-
Aveleira	5,0	0,2	4,5	2,0	0,2	11,8	5,6	0,2	3,8
Avelã	3,8	0,2	5,1	3,2	0,2	7,2	3,7	0,2	5,4
Cavalo	1,4	0,2	15,2	0,2	0,1	-	0,3	0,1	-
Leite	5,3	0,2	4,3	0,1	0,1	-	0,3	0,1	-
Artemísia	2,7	0,4	13,6	0,3	0,1	-	1,1	0,3	22,9
Carvalho	3,9	0,2	5,1	0,9	0,1	-	4,4	0,3	6,4
Laranja	1,2	0,1	10,2	0,2	0,1	-	0,8	0,1	-
Amendoim	3,7	0,2	4,9	0,3	0,1	-	1,8	0,2	11,8
Penicillium notatum	1,0	0,2	-	1,5	0,2	10,5	4,0	0,2	5,4

Erva de orelha	2,6	0,3	10,2	0,7	0,1	-	1,7	0,3	15,1
Batata	1,6	0,3	18,9	0,7	0,1	-	1,5	0,2	12,9
Coelho	1,3	0,2	12,2	0,5	0,1	-	0,6	0,1	-
Centeio (pólen)	5,8	0,2	4,2	2,0	0,3	13,7	4,8	0,4	7,6
Farinha de centeio	2,9	0,2	6,3	1,0	0,2	14,8	3,3	0,1	3,9
Sésamo	2,7	0,2	8,5	1,1	0,2	16,9	3,0	0,2	5,9
Grãos de soja	4,9	0,2	3,8	0,3	0,1	-	2,5	0,3	12,5
Tomate	2,7	0,2	6,9	0,8	0,1	-	1,3	0,3	19,6
Nozes	0,3	0,1	-	1,0	0,2	19,1	0,2	0,1	-
Farinha de trigo	5,6	0,2	3,3	0,7	0,1	-	2,1	0,1	5,2
α lactalbumina	2,6	0,4	15,7	0,0	0,0	-	0,2	0,1	-
β -lactoglobulina	4,7	0,2	4,7	0,1	0,1	-	0,2	0,1	-
CCD	0,4	0,1	-	0,6	0,1	-	3,2	0,2	5,5

13.3. Comparação com um sistema de referência in vitro IgE quantitativo.

Para poder determinar a concordância entre o RIDA qLine® Allergy e um sistema de referência IgE quantitativo (Phadia ImmunoCap, Thermo Scientific, EUA), ambos os sistemas de teste foram usados para testar 50 soros para 42 alérgenos no painel padrão 1-4 RIDA qLine® Allergy. As classes RAST resultantes de ambos os sistemas de testes foram comparadas. (Veja tabela 6). A diferença entre os sistemas de teste do Δ RAST ≤ 1 é considerada como concordante.

Tabela 6: Comparação com o sistema IgE de referência

	Δ qLine/sistema IgE de referência
Concordância ($\Delta \leq 1$ RAST)	1904
Discrepância ($\Delta \leq 1$ RAST)	196
Amostras em total	2100

% de concordância	90,7%
% de discrepância	9,3%

13.4. Substâncias interferentes

O soro de pacientes suspeitos de terem uma condição alérgica foi testado quando a substâncias interferentes, para poder identificar substâncias interferentes em amostras de soro humano. Substâncias potencialmente interferentes foram encontradas em concentrações que excedem o nível fisiológico em duas amostras de soro. Para essas amostras, foi realizado o teste de RIDA qLine® Allergy.

Os resultados indicam que o tratamento com Omalizumabe pode levar à redução de valores ou falsos negativos.

Como é impossível excluir a possibilidade de interferência de triglicérides no soro, os soros lipérmicos não podem ser usados para testar (consulte também a Seção 8).

Tabela 7: Substâncias com o potencial de interferir com RIDA qLine® Allergy

Substância	Concentrações no soro final	Soro 1		Soro 2	
		Número de alérgenos	Δ RAST ≥ 1	Número de alérgenos	Δ RAST ≥ 1
IgG (humano não específico)	20 mg/ml	43	1	43	1
Ceterizina	7,7 μ mol/L	43	0	43	0
Loratadina	0,78 μ mol/L	43	0	43	0
Desloratadina	0,97 μ mol/L	43	0	43	0
Omalizumabe	75 μ g/ml	43	10	43	7
Hemoglobina	2 mg/ml	43	0	43	0
Triglicerídeos	32,75 mg/ml	43	4	43	0
Bilirrubina	200 μ g/ml	43	0	43	0
Colesterol	5 mg/ml	43	1	43	0

Literatura

- Kjellman, N.I.M.: Prediction and prevention of atopic allergy, *Allergy* 37, 463 - 473 (1982)
- Debelic, M.: Die klinische Bedeutung der Bestimmung von Serum-Gesamt IgE und spezifischem IgE für die Diagnostik und Verlaufsbeobachtung allergischer Krankheitsbilder [The clinical importance of determining total serum IgE and specific IgE in the diagnosis and monitoring of allergenic clinical pictures]. *Therapiewoche* 29, 2280 - 2295 (1979)
- Urbanek, R.: Papier-Radio-Immuno-Sorbent-Test (PRIST) - IgE-Spiegel bei nicht allergischen und allergischen Kindern, [Paper disc Radio Immuno Sorbent Test (PRIST) - IgE levels for non-allergic and allergic children] *Monatsschrift Kinderheilkunde* 125, 583 - 585 (1977)
- Kjellman, N.I.M., et al.: Serum IgE levels in healthy children quantified by a Sandwich technique (PRIST), *Clinical Allergy* 6, 51 - 59 (1976)
- Turner, K.J.: IgE globulins and immunity. *Medical Journal of Australia* 2, 846 (1974)
- Johansson, S.G.O.: Raised levels of a new immunoglobulin class (IgND) in asthma. *Lancet* II, 951 - 953 (1967)
- Ishizaka, K., Ishizaka, T., Hornbook, M.M.: Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *Journal of Immunol* 97, 75 (1966)
- Bennich, H.H., et al.: Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Bulletin World Health Organisation* 38, 151 (1964)