

## **RIDA®CHIP FoodGuide**

**REF** A8501 RIDA®CHIP FoodGuide 25

**REF** A8502 RIDA®CHIP FoodGuide 50

**REF** A8503 RIDA®CHIP FoodGuide 100



Deutsch .....	3
English.....	19
Español.....	36
Français.....	52
Italiano .....	69

### 1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA®CHIP FoodGuide Test ist ein quantitativer Microarray-Enzymimmunoassay (M-EIA) zum Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern gegen Nahrungsmittelallergene zur manuellen Abarbeitung. Als Probenmatrix kann humanes Serum und humanes Kapillarblut verwendet werden. Der Test sollte als Diagnosehilfe bei begründetem Verdacht auf IgG-vermittelte Nahrungsmittelunverträglichkeiten eingesetzt werden.

### 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Das menschliche Immunsystem stellt eine wichtige Schutzfunktion gegen körperfremde schädliche Stoffe dar. Es vermittelt die Identifizierung und Inaktivierung von beispielsweise Bakterien, Viren und Parasiten im Rahmen einer komplexen Immunantwort. Richtet sich diese Immunantwort fälschlicherweise gegen grundsätzlich nicht pathogene Moleküle, wie zum Beispiel Nahrungsmittel, wird von einer Überempfindlichkeitsreaktion bzw. Allergie gesprochen. Der verzögerte Typ solcher allergischen Reaktionen gegen Nahrungsmittel, die Typ-III-Allergie, wird durch IgG-Antikörper vermittelt. Durch eine erhöhte Permeabilität der Darmwand können Nahrungsmittelproteine den Darm auf unnatürlichem Weg passieren, sodass sie mit dem Immunsystem in Kontakt geraten und letztlich inflammatorische Reaktionen auslösen können. Die damit verbundenen Symptome treten verzögert auf und reichen von Magen-Darm-Beschwerden über Gelenkschmerzen bis zu Migräne. Durch das verzögerte Auftreten der Symptome kann oft kein kausaler Zusammenhang zwischen dem Verzehr eines Nahrungsmittels und dem Eintreten von Symptomen hergestellt werden. Durch den Nachweis dieser nahrungsmittelspezifischen IgG-Antikörper in humanem Serum können die auslösenden Allergene jedoch leicht identifiziert und die Symptome durch Vermeidung der entsprechenden Nahrungsmittel gemildert werden.

### 3. Testprinzip

Bei dem Test handelt es sich um einen Microarray-basierten Enzymimmunoassay (M-EIA) zur Detektion von IgG-Antikörpern gegen Nahrungsmittelallergene. Die aufwendig extrahierten und gereinigten Nahrungsmittelextrakte werden auf einem Microarray aufgebracht (gespottet). In jeder Kavität des RIDA®CHIP FoodGuide befinden sich mehrere Nahrungsmittelallergene. Zusätzlich sind in jeder Kavität zwei Standardreihen zur Quantifizierung sowie Positiv- und Negativkontrollen vorhanden. Die Patientenproben (Serum bzw. Kapillarbluteluat) werden in die 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 Meerrettichperoxidase konjugierten anti-human-IgG-Antikörpers. Während einer erneuten Inkubation bindet dieses Antikörper-Enzym-Konjugat an die humanen IgG-Antikörper aus der Patientenprobe. Nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Das Substrat wird bei seiner Zugabe durch die Meerrettichperoxidase oxidiert und somit in ein blaues unlösliches Produkt überführt. Die Menge an gebildetem blauem Präzipitat ist proportional zu der Menge an antigenspezifischen Antikörpern im Serum und kann fotografisch detektiert werden. Mit Hilfe der Software RIDASOFT® FoodGuide können diese Daten quantifiziert und umfangreiche Berichte erstellt werden.

#### 4. Packungsinhalt

Tab. 1:

Slide	3 x	Träger mit 1 x 8 Kavitäten. Ermöglicht die Detektion von 101 Antigenen für maximal 12 Patienten (A8503) bzw. die Detektion von 25 bzw. 50 Antigenen für maximal 24 Patienten (A8501 und A8502)
Sample Buffer	2 x 15 ml	Gebrauchsfertiger Probenverdünnungspuffer zur Verdünnung der Patientenprobe sowie zur Elution von Kapillarblutproben
Activation Buffer	5 ml	Gebrauchsfertiger Aktivierungspuffer für die CHIP-Vorbereitung
Conjugate IgG	5 ml	Gebrauchsfertiges, verdünntes anti-human IgG-Konjugat. Meerrettichperoxidase konjugierter Antikörper in stabilisierter Proteinlösung
Substrate	5 ml	Gebrauchsfertige Substratlösung. Enthält TMB.
Wash buffer salt Tween	2 x	Waschpuffersalz für die Herstellung von 2 x 1 Liter Waschpuffer. 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20.

#### 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 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 **Substrate** mit Konjugat **Conjugate IgG** ist unbedingt zu vermeiden, da dies einen Verfall des Substrats zur Folge hätte. Ebenso ist eine direkte Lichteinwirkung auf das Substrat zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Verfärbung vorzubeugen. Siehe auch Punkt 10.2 Anzeichen für Reagenzienverfall.

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 6.1 Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

### 6.2 Zubehör

- Trägerplatte **Slide Carrier** für RIDA®CHIP FoodGuide Träger **Slide**
- Auslesegerät Reader für RIDA®CHIP FoodGuide Träger **Slide**  
(R-Biopharm-Produktnummer: ZCHIP READER SSCL)
- Mikrotiterplatten-Waschautomat **Washer** für 8 Kavitäten
- Mikroliter 1-Kanal Feinpipette (z.B. 1-25 µl)
- Mikroliter 1-Kanal Dispensierpipette oder Mikroliter Multi-Dispensierhilfe
- Geeignete Probenverdünnungsgefäße

## 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.
- Das Produkt ist für den Einsatz durch Fachanwender in Krankenhauslaboren, Referenzlaboren, Privatlaboren oder staatlichen Laboren vorgesehen.
- 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.
- Aktivierungspuffer, Probenverdünnungspuffer, Konjugat und Waschpufferkonzentrat enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Auch wenn die Konzentration an Natriumazid unterhalb der Berücksichtigungsgrenze zur Gefahrenstoffkennzeichnung liegt, ist eine Berührung mit der Haut oder den Schleimhäuten ist zu vermeiden. Bei Kontakt mit Blei- oder Kupferrohren können explosive Metallazide entstehen.
- Berührungen der Haut, Augen und Kleidung mit den Reagenzien sind zu vermeiden! Bei Hautkontakt sofort gründlich mit Wasser und Seife waschen. Bei Augenkontakt die Augen sofort für mindestens 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 und/oder für mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

Der RIDA®CHIP FoodGuide Test wurde für die Untersuchung von humanem Serum oder Kapillarblut entwickelt.

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

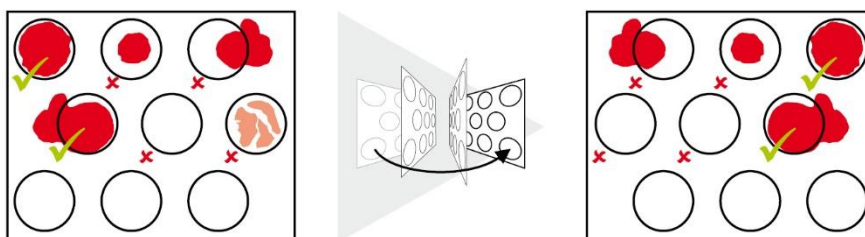
Bei der Verwendung von Kapillarblutproben im RIDA®CHIP FoodGuide Test muss das entsprechende Zubehör (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card) verwendet werden. Nur dieses Zubehör wurde für diesen Test validiert. Die 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. 2:** Probenstabilität

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

**Wichtig:** Vor Verwendung sind alle Reagenzien, Patientenseren/-kapillarblutproben und RIDA®CHIP FoodGuide Träger Slide unbedingt auf Raumtemperatur zu bringen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen.

Der RIDA®CHIP FoodGuide Träger Slide kann nicht mehrfach verwendet werden. Die Kitbestandteile dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

**Eine Abweichung von vorgegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen führt zu einer Verschiebung der Standardreihen-Werte im Vergleich zum Zertifikat. Signifikante Unterschiede in den Werten der Standardreihe können zu ungünstigen Testergebnissen führen.**

**Für jegliche von dieser Beschreibung abweichenden Anpassungen von Inkubationszeit und/oder -temperatur für z. B. eine automatisierte Abarbeitung des Tests kann seitens R-Biopharm keine Gewährleistung übernommen werden.**

Direkte Sonneneinstrahlung ist während der Durchführung des Testes zu vermeiden. Es wird empfohlen, die Träger Slide abzudecken. Die gesamte manuelle Testabarbeitung dauert ca. 2 Stunden und 50 Minuten.

### 9.2 Herstellung des Waschpuffers

Den Inhalt eines Päckchens Waschpuffersalz in 1 Liter destilliertem bzw. deionisiertem Wasser lösen; nur die Menge ansetzen, die für den jeweiligen Testansatz benötigt wird. Verdünnter Waschpuffer hat nur eine begrenzte Haltbarkeit von max. 4 Wochen bei 2 – 8 °C Lagertemperatur.

### 9.3 Probenvorbereitung

#### 9.3.1 Probenverdünnung; Serumproben

Alle Serumproben mit Probenverdünnungspuffer Sample Buffer 1:101 verdünnen. Um systematische Fehler zu vermeiden, empfehlen wir, 1010 µl verdünnte Probe bestehend aus 10 µl Serum und 1000 µl Probenverdünnungspuffer Sample Buffer herzustellen. Es ist auf eine gründliche Vermischung der Probe zu achten; mehrmaliges Auf- und Abpipettieren, mehrmaliges Invertieren bzw. Vortexen der Probe ist nötig, um eine gute Durchmischung zu gewährleisten. Die verdünnte Serumprobe ist für maximal 6 Stunden stabil und muss innerhalb dieses Zeitraumes verarbeitet werden.

#### 9.3.2 Probenverdünnung; Kapillarblutproben

Die getrocknete Kapillarblutprobe wird mit Probenverdünnungspuffer Sample Buffer eine (bis 14) Stunde(n) bei 20 - 25 °C auf einem Horizontal-Schüttler

in einem geeigneten Gefäß geschüttelt. Dazu 1 mit Blut gefüllten Kreis **Card** mit 2 ml Probenverdünnungspuffer **Sample Buffer** vermischen. 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. Das Eluat der Kapillarblutprobe entspricht bereits der verdünnten Patienten-Probe und wird entsprechend der Anleitung in die Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** pipettiert.

#### 9.4 Vorbereiten des CHIP

Vor Benutzung des RIDA®CHIP FoodGuide Trägers **Slide** muss dieser aktiviert werden. Zu diesem Zweck wird die gewünschte Anzahl an Trägern **Slide** in die Trägerplatte **Slide Carrier** eingesetzt. Es können 12 Träger **Slide** pro Trägerplatte **Slide Carrier** verwendet werden. Im folgenden Schritt werden je 100 µl des Aktivierungspuffers **Activation Buffer** in die Kavitäten pipettiert und für 5 Minuten bei 20 - 25 °C inkubiert.

#### 9.5 Waschen

Es wird ausdrücklich die Verwendung von einem Waschautomaten empfohlen. R-Biopharm übernimmt keine Garantie für die Richtigkeit der Abarbeitung unter Verwendung manueller Wasch-Systeme. Die Kavitäten **Wells** werden dreimalig mit jeweils 500 µl Waschpuffer **Wash buffer salt Tween** im Over-flow-Modus gewaschen. Das letzte Absaugen sollte möglichst gründlich erfolgen; es empfiehlt sich hier, eine längere Verweildauer beim Waschen zu programmieren.

**Wichtig: Bitte die Trägerplatte **Slide Carrier** nicht wie ggf. von anderen ELISA-Tests gewohnt auf Zellstoff oder Ähnlichem ausschlagen.**

#### 9.6 Erste Inkubation (Proben-Inkubation)

In die Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** werden je 100 µl der Patientenprobe (verdünntes Patientenserum oder Kapillarblut-Eluat) entsprechend dem Pipettierschema pipettiert. Wichtig: Je nach Testvariante muss entweder jede Kavität **Wells** (A8501, A8502) bzw. es müssen jeweils 2 Kavitäten **Wells** zusammen (A8503) für eine Patientenprobe verwendet werden (vgl. dazu Abbildung 1). Anschließend werden die Träger **Slide** für 45 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Müssen mehrere Trägerplatte **Slide Carrier** verwendet werden, sind diese entsprechend zu markieren. Die Trägerplatte **Slide Carrier** sollte während der Inkubation möglichst abgedeckt werden.





RIDA®CHIP FoodGuide 25 / 50



RIDA®CHIP FoodGuide 100

**Abb. 1:** Pipettierschema der einzelnen Testvarianten des RIDA®CHIP FoodGuide, S = Patientenprobe

### 9.7 Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.5.

### 9.8 Zweite Inkubation (Konjugat-Inkubation)

In die Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** werden jeweils 100 µl Konjugat (ready to use) **Conjugate IgG** pipettiert. Anschließend werden die mit Konjugat **Conjugate IgG** befüllten Träger **Slide** für 30 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die Trägerplatte **Slide Carrier** sollte während der Inkubation möglichst abgedeckt werden.

### 9.9 Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.5.

### 9.10 Dritte Inkubation (Substrat-Inkubation)

In die Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** werden jeweils 100 µl Substrat (ready to use) **Substrate** pipettiert. Anschließend werden die mit Substrat **Substrate** befüllten Träger **Slide** für 15 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die Trägerplatte **Slide Carrier** sollte während der Inkubation möglichst abgedeckt werden.

### 9.11 Stoppen der Farbreaktion und Messung

Die Reaktion wird beendet, indem die Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** zweimalig mit jeweils 1000 µl VE-H<sub>2</sub>O im Over-flow-Modus gewaschen werden. In diesem Schritt soll das letzte Absaugen ausgelassen werden. **Das übrige VE-H<sub>2</sub>O soll in den Kavitäten **Wells** des Trägers **Slide** verbleiben. Das verbleibende Wasser stört die Auswertung des Tests nicht. Die Auswertung muss innerhalb von 2 Stunden erfolgen, andernfalls werden die Ergebnisse beeinträchtigt.** Die Träger **Slide** können für eine etwaige

zweite Bewertung aufbewahrt werden; hierzu muss dann die Flüssigkeit abgesaugt und der Träger **Slide** im Trockenschrank bei 37 °C – 45 °C vollständig getrocknet werden (Dauer: ca. eine Stunde). Die Träger **Slide** werden in das Auslesegerät **Reader** gelegt und gemäß der Betriebsanleitung des Auslesegerätes **Reader** sowie des Softwarehandbuches dokumentiert.

## 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

### 10.1 Qualitätskontrolle der Ergebnisse

Jede Kavität **Wells** des Trägers **Slide** enthält zwei vollwertige Standardreihen, eine Negativkontrolle (als Duplikat) sowie zwei unterschiedliche Positivkontrollen (jeweils als Duplikat). Die Auswertung der Standardreihen sowie der einzelnen Kontrollen erfolgt durch die Auswertesoftware (RIDASOFT® FoodGuide). Alle Spezifikationen sind in der Software hinterlegt und werden automatisch geprüft. Die hinterlegten Spezifikationen können der Tabelle 3 entnommen werden.

Der Test ist technisch korrekt verlaufen, wenn folgende Spezifikationen erfüllt sind:

**Tab. 3:** Spezifikationen für Standards und Kontrollen

Standards	min. Intensität [%]	max. Intensität [%]
Standard 1		< Standard 2
Standard 2	-	< Standard 3
Standard 3	-	< Standard 4
Standard 4	-	< Standard 5
Standard 5	65,0	100
Kontrollen	min. Konzentration µg/ml	max. Konzentration µg/ml
Negativkontrolle	-	< 3,5
Positivkontrolle 1	12,9	23,0
Positivkontrolle 2	28,9	45,4

### 10.2 Anzeichen für Reagenzienverfall

Eine Abweichung von den geforderten Sollwerten, eine Trübung der Reagenzien oder ein blauer Niederschlag im Reagenziengefäß des Substrates können Hinweise auf einen Reagenzienverfall sein.

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

- Haltbarkeit des Kits
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z.B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung gemäß Gebrauchsanweisung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit

**Sind auch nach der Wiederholung des Tests die Sollwerte nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.**

## 11. Auswertung und Interpretation

### 11.1 Berechnungsgrundlagen

Für die Testauswertung wird eine Berechnung anhand der Standardreihe mit Hilfe der Software (RIDASOFT® FoodGuide) vorausgesetzt. Die Konzentrationen der spez. IgG-Antikörper in µg/ml werden anhand der Standardreihen aus den gemessenen Intensitäten ermittelt und anschließend in IgG-Klassen umgerechnet (siehe Tab. 4).

Die Kalibrierung der Standardreihe des RIDA®CHIP FoodGuide ist angelehnt an eine internationale Referenzpräparation: „1st WHO IRP 67/86 for human IgG“.

### 11.2 Konzentrationen, IgG-Klassen, Berechnungen für RIDA®CHIP FoodGuide

**Tab. 4:** Zusammenhang zwischen ermittelten µg/ml, IgG-Klassen und antigenspezifischen IgG-Gehalten des Patienten aus einer Serum- oder Kapillarblutprobe

µg/ml	IgG-Klasse	Antigenspezifischer IgG-Gehalt
< 10,0	0	Negativ
≥10,0 < 20,0	1	Erhöht
≥ 20,0	2	Stark erhöht

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

## 12. Grenzen der Methode

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

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 und stellen lediglich eine Diagnosehilfe dar.

Negative Ergebnisse schließen eine IgG-vermittelte Nahrungsmittelunverträglichkeit nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose herangezogen werden.

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

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass durch Herstellungsprozesse, wie z.B. die Extraktion der Nahrungsmittel oder die Beschichtung der Mikrotiterplatten, antigene Epitope fehlen. Diese potentiell fehlenden Epitope könnten zu falsch negativen Ergebnissen führen. 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

Alle Leistungsmerkmale des RIDA®CHIP FoodGuide wurden für alle 101 Antigene, in Anlehnung an die gültigen CLSI Richtlinien bestimmt. Die Auswertungen erfolgten Antigen bezogen, zur besseren Übersichtlichkeit sind die Daten an dieser Stelle jedoch in zusammengefasster Form dargestellt.

#### 13.1 Präzision

Die Präzision bzw. Reproduzierbarkeit des RIDA®CHIP FoodGuide Tests wurde mit acht Referenzproben bestimmt, die den gesamten Messbereich von negativ bis hoch positiv abdecken. Die Intra-Assay Reproduzierbarkeit wurde für jede Referenzprobe in 12-fach-Bestimmung durchgeführt. Für die Inter-Assay-Reproduzierbarkeit wurden die Referenzen an sechs aufeinanderfolgenden Arbeitstagen mit zwei Läufen am Tag in Triplikaten gemessen. Diese Messungen wurden jeweils von zwei Technikern durchgeführt. Bei der Errechnung der Inter-Lot-Reproduzierbarkeit wurden die Mittelwerte und die Variationskoeffizienten (VK) für drei Reagenzien-Lots ermittelt, die Berechnung der Daten erfolgte unter Verwendung einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA).

**Tab. 5:** Intra-Assay-Präzisionsanalyse

Allergen	VK (%)	Allergen	VK (%)	Allergen	VK (%)
Ananas	6,8	Hühnereiweiß	5,4	Reis	7,8
Apfel	7,0	Hummer	9,6	Rind	6,1
Aprikose	12,2	Kabeljau	9,9	Roggen	8,2
Aspergillus niger	11,4	Kaffee	13,1	Rohrzucker	6,4
Aubergine	10,1	Kakaobohne	8,7	Rosmarin	12,8
Austernpilze	21,6	Karotte	6,5	Rotbarsch	9,3

Banane	9,4	Kartoffel	9,2	Rote Beete	7,4
Basilikum	9,2	Kirsche	8,5	Rotkohl	8,9
Brokkoli	8,7	Kiwi	10,2	Sauermilchprodukte	19,6
Buchweizen	6,7	Knoblauch	9,3	Schafmilch, -käse	14,2
Candida albicans	13,1	Kohlrabi	6,8	Schwein	8,2
Cashewkern	9,7	Kopfsalat	6,9	Seelachs	7,7
Champignon	10,1	Kuhmilch	3,7	Sellerie	7,6
Chili Cayenne	9,9	Kürbiskerne	9,4	Senfkorn	27,2
Curry	11,3	Labkäse (Kuh)	19,6	Sesam	9,5
Dinkel	9,8	Lachs	6,6	Sojabohne	6,8
Erbse	13,0	Lamm	8,6	Sonnenblumenkerne	8,4
Erdbeere	8,1	Lauch	7,8	Tee, Pfefferminz	11,3
Erdnuss	9,4	Leinsamen	8,9	Tee, schwarzer	18,5
Feldsalat	11,3	Mais	7,2	Thunfisch	12,1
Flusskrebs	22,2	Mandel	6,5	Thymian	6,3
Gerste	8,5	Meerrettich	8,2	Tomate	8,5
Gluten	5,0	Mohn	5,8	Traube/Rosine	8,8
grüne Bohne	9,5	Muskatnuss	8,5	Truthahn/Pute	10,9
Guarkernmehl (E412)	10,5	Nektarine	9,2	Vanille	8,5
Gurke	12,6	Olive	11,1	Walnuss	9,7
Hafer	12,7	Orange	7,3	Wassermelone	7,9
Haselnuss	8,5	Oregano	10,2	Weizen	7,2
Hefe	11,1	Paprikagewürz	16,1	Ziegenmilch, -käse	15,2
Himbeere	10,4	Paprikaschote	5,6	Zimt	15,6
Hirse	17,8	Petersilie	15,9	Zitrone	10,5
Honig	9,2	Pfeffer, schwarzer	15,7	Zucchini	6,6
Huhn	10,8	Pistazie	8,2	Zwiebel	8,4
Hühnereigelb	12,3	Quinoa	8,6		

**Tab. 6:** Zusammenfassung der Intra-Assay-Präzisionsanalyse

Anzahl Seren	8
Replikate (pro Serum)	12
<b>Durchschnittlicher VK</b>	<b>10,1 %</b>

**Tab. 7:** Inter-Assay-Präzisionsanalyse

Allergen	VK (%)	Allergen	VK (%)	Allergen	VK (%)
Ananas	12,4	Hühnereiweiß	6,4	Reis	8,6
Apfel	11,2	Hummer	12,2	Rind	6,8
Aprikose	18,7	Kabeljau	8,6	Roggen	8,3
Aspergillus niger	11,8	Kaffee	14,0	Rohrzucker	12,7
Aubergine	19,2	Kakaobohne	15,8	Rosmarin	21,6
Austernpilze	16,5	Karotte	7,6	Rotbarsch	13,3

Banane	15,3	Kartoffel	11,4	Rote Beete	14,4
Basilikum	11,3	Kirsche	9,7	Rotkohl	8,3
Brokkoli	8,0	Kiwi	9,3	Sauermilchprodukte	13,7
Buchweizen	8,1	Knoblauch	7,1	Schafmilch, -käse	15,6
Candida albicans	11,5	Kohlrabi	13,2	Schwein	7,2
Cashewkern	12,1	Kopfsalat	8,6	Seelachs	17,9
Champignon	11,4	Kuhmilch	5,9	Sellerie	7,8
Chili Cayenne	13,1	Kürbiskerne	9,2	Senfkorn	22,6
Curry	12,1	Labkäse (Kuh)	17,2	Sesam	15,3
Dinkel	12,9	Lachs	11,7	Sojabohne	8,3
Erbse	11,4	Lamm	14,2	Sonnenblumenkerne	10,0
Erdbeere	15,6	Lauch	10,4	Tee, Pfefferminz	9,1
Erdnuss	7,2	Leinsamen	7,0	Tee, schwarzer	14,6
Feldsalat	6,7	Mais	13,6	Thunfisch	16,4
Flusskrebs	19,8	Mandel	8,6	Thymian	12,3
Gerste	15,0	Meerrettich	10,1	Tomate	9,6
Gluten	9,9	Mohn	8,5	Traube/Rosine	17,9
grüne Bohne	6,6	Muskatnuss	10,4	Truthahn/Pute	11,2
Guarkernmehl (E412)	9,2	Nektarine	12,2	Vanille	11,0
Gurke	8,4	Olive	11,0	Walnuss	10,4
Hafer	8,0	Orange	10,5	Wassermelone	7,9
Haselnuss	11,0	Oregano	18,0	Weizen	10,7
Hefe	9,0	Paprikagewürz	25,1	Ziegenmilch, -käse	15,4
Himbeere	6,5	Paprikaschote	8,3	Zimt	11,8
Hirse	12,2	Petersilie	13,4	Zitrone	16,6
Honig	8,8	Pfeffer, schwarzer	17,9	Zucchini	10,8
Huhn	13,7	Pistazie	8,7	Zwiebel	9,9
Hühnereigelb	11,7	Quinoa	10,6		

**Tab. 8:** Zusammenfassung der Inter-Assay-Präzisionsanalyse

Anzahl Seren	8
Replikate (pro Serum)	36 (6 Tage, 2 Läufe, jeweils Triplikate)
<b>Durchschnittlicher VK</b>	<b>11,8 %</b>

**Tab. 9:** Zusammenfassung der Inter-Lot-Präzisionsanalyse

Anzahl Lots	3
Anzahl Seren	8
Replikate (pro Serum)	3
<b>Durchschnittlicher VK</b>	<b>18,0 %</b>

## 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 untersucht. Bei den Transportsimulationen wurden Temperaturschwankungen zwischen 3 °C und 43 °C provoziert. Die bei dem Realtransport aufgetretenen Temperaturschwankungen wurden über die gesamte Transportzeit dokumentiert. Es wurden Temperaturen zwischen 1 °C und 24 °C verzeichnet. Die gestressten Kits wurden mit dem Referenzkit der gleichen Lot verglichen. Die Referenzkits wurden bei 2 – 8 °C gelagert. Es wurden insgesamt 4 Seren für die Analyse verwendet.

**Es konnte keine signifikante Beeinträchtigung der Resultate nach Transport der Kitkomponenten festgestellt werden, d.h. der RIDA®CHIP FoodGuide ist unter den analysierten Transportbedingungen stabil.**

### 13.2.2 Kitstabilität nach versehentlichem Einfrieren

Die Kitkomponenten wurden auf ihre Stabilität nach einem Einfrieren über 24h untersucht. Dazu wurden die Kitkomponenten 2 Tage bei -16 °C gelagert. Anschließend wurden die gestressten Kits mit dem Referenzkit der gleichen Lot verglichen. Die Referenzkits wurden bei 2 – 8 °C gelagert. Es wurden insgesamt 4 Seren für die Analyse verwendet.

**Hinweis: Ein Einfrieren der Kitkomponenten ist keine zulässige Lagermethode.**

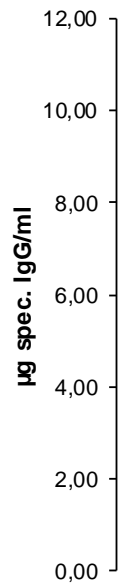
**Es konnte keine signifikante Beeinträchtigung der Resultate nach 2-tägigem Einfrieren der Kitkomponenten beobachtet werden.**

### 13.2.3 Kitstabilität nach Öffnen

**Hinweis:** Der Test ist nur für die einmalige Anwendung bestimmt und enthält deshalb keine Komponenten, die wiederverwendet werden dürfen. Aus diesem Grund wurde keine „Kitstabilität nach dem Öffnen“ für den RIDA®CHIP FoodGuide durchgeführt.

## 13.3 Analytische Sensitivität

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



**Abb. 2:** Whisker-Box-Plot zeigt die Verteilung aller bestimmten „Limit of Blank“ (LOB) und „Limit of Detection“ (LOD); grün = LOB, rot = LOD. Die Boxen repräsentieren 50 % der Gesamtheit der Daten. Die Whisker zeigen die gesamte Verteilung der Daten. Die horizontale Linie in der Box stellt den Median dar.

**Der mediane LOB bzw. LOD von RIDA®CHIP FoodGuide beträgt 2,4 µg/ml respektive 3,2 µg/ml.**

#### 13.4 Interferenzen

Folgende potentielle Störsubstanzen (Interferenzen) in der Probe wurden getestet: Hämoglobin, Bilirubin, Triglyceride.

**Zu keiner der aufgeführten Substanzen konnten relevante Beeinträchtigungen des Testresultates des RIDA®CHIP FoodGuide festgestellt werden.**

#### 14. Versionsübersicht










Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2017-10-12	Vorversion
2020-04-30	Generelle Überarbeitung: Neues Layout





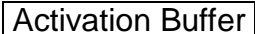
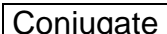
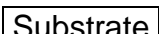
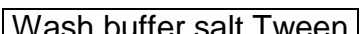
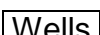
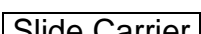
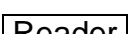
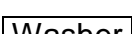
2020-04-30	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. Zweckbestimmung</li> <li>4. Packungsinhalt</li> <li>7. Vorsichtsmaßnahmen</li> <li>8. Sammlung und Lagerung der Proben</li> <li>9. Testdurchführung</li> <li>10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall</li> <li>11. Auswertung und Interpretation</li> <li>12. Grenzen der Methode</li> <li>13. Leistungsmerkmale</li> <li>15. Testspezifische Symbole</li> </ul>
2022-06-13	Überarbeitung
2022-06-13	<ul style="list-style-type: none"> <li>4. Packungsinhalt</li> <li>9. Testdurchführung</li> </ul>

## 15. Symbolerklärung

### Allgemeine Symbole

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

### Testspezifische Symbole

## RIDA<sup>®</sup>CHIP FoodGuide

**REF** A8501, A8502, A8503

### 1. Intended use

For *in vitro* diagnostic use. The RIDA<sup>®</sup>CHIP FoodGuide test is a quantitative microarray enzyme immunoassay (M-EIA) for the determination of specific IgG antibodies against food allergens. The test is designed for manual processing. The test is suited for the use of human serum and human capillary blood as sample matrices. The test is a diagnostic aid in cases of suspected IgG-mediated food hypersensitivities.

### 2. Summary and explanation of the test

The human immune system provides important protection against harmful exogenous substances. It mediates the identification and inactivation of, for example, bacteria, viruses, and parasites as part of a complex immune response. If the immune response erroneously targets non-pathogenic molecules, such as food, this is referred to as a hypersensitivity reaction or an allergy. The delayed type of such allergic reactions to food, a type III allergy, is mediated by IgG antibodies. Due to the high permeability of the intestinal wall, food proteins may cross the intestine barrier unnaturally, coming into contact with the immune system and ultimately triggering inflammatory reactions. The associated symptoms occur in a delayed manner and range from gastrointestinal symptoms and joint pain to migraines. Because the symptoms are delayed, it is often difficult to establish a causal relationship between the food and the onset of symptoms. Detecting the food-specific IgG antibodies in human serum, however, allows the triggering allergens to be easily identified, and the symptoms can be alleviated by avoiding the corresponding food.

### 3. Test principle

The test is a microarray-based enzyme immunoassay (M-EIA) to detect IgG antibodies against food allergens. Food extracts are elaborately extracted and purified and deposited on a microarray. Each well of the RIDA<sup>®</sup>CHIP FoodGuide contains several food allergens. Each well also has two standard series for quantification as well as positive and negative controls. The patient samples (serum or capillary blood eluate) are pipetted into the wells 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 horseradish peroxidase is then added. During a second incubation, this antibody enzyme conjugate binds to the human IgG antibodies of the patient sample. Any unbound conjugate is removed by washing. When the substrate is added, it is oxidized by the horseradish peroxidase and turns into a blue, insoluble product. The amount of blue precipitate which is formed is proportional to the quantity of antigen-specific antibodies in the serum and can be detected photographically. The RIDASOFT® FoodGuide software can be used to quantify these data and create comprehensive reports.

#### 4. Reagents provided

**Table 1:**

Slide	3 x	Slide with 1 x 8 wells Enables the detection of 101 antigens for a maximum of 12 patients (A8503) or the detection of 25 or 50 antigens for a maximum of 24 patients (A8501 and A8502, respectively).
Sample Buffer	2 x 15 ml	Ready-to-use sample dilution buffer to dilute the patient sample and elute capillary blood samples
Activation Buffer	5 ml	Ready-to-use activation buffer for CHIP preparation
Conjugate IgG	5 ml	Ready-to-use, diluted anti-human IgG conjugate Horseradish peroxidase-conjugated antibodies in stabilized protein solution
Substrate	5 ml	Ready-to-use substrate solution. Contains TMB.
Wash buffer salt Tween	2 x	Wash buffer salt for producing 2 x 1 liter of wash buffer. 10 mM PBS, 0.05% TWEEN20.

#### 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 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 **Substrate** with conjugate **Conjugate IgG** must be avoided as this will cause the substrate to deteriorate. Direct exposure of the substrate to light must also be avoided to prevent denaturing or discoloration. See 10.2, Indication of instability or expiration of reagents.

## 6. Reagents required but not provided

### 6.1 Reagents provided

- Distilled or deionized water

### 6.2 Equipment

- Slide carrier **Slide Carrier** for RIDA®CHIP FoodGuide slide **Slide**
- Reader for RIDA®CHIP FoodGuide slide **Slide**  
(R-Biopharm product number: ZCHIP READER SSCL)
- Microtiter plate washer **Washer** for 8 wells
- Microliter single-channel fine pipette (e.g., 1-25 µl)
- Microliter single-channel dispensing pipette or microliter multi-dispensing aid
- Suitable sample diluent vials

## 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.
- The product is intended for use by professionals working in hospital laboratories, reference laboratories, private laboratories, or public laboratories.
- Samples or reagents must not be pipetted by mouth, avoid contact with injured skin or mucous membranes. Wear disposable gloves when handling samples and wash the hands after the test.
- Do not smoke, eat, or drink in areas where samples or test reagents are being processed.
- Activation buffers, sample dilution buffers, conjugates, and wash buffer concentrates contain sodium azide as a preservative. Even though the concentration of sodium azide is below the classification limit for identifying hazardous materials, contact with skin and mucous membranes should be avoided. Contact with lead or copper pipes may cause the formation of explosive metal azides.
- Do not allow reagents to touch the skin, eyes, or clothing! In case of skin contact, wash area thoroughly 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 and/or autoclaved at 121°C for at least one hour.

## 8. Collection and storage of samples

The RIDA<sup>®</sup>CHIP FoodGuide test was developed for testing human serum or capillary blood.

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

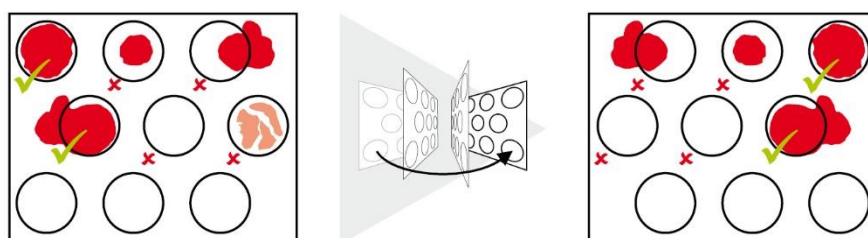
When capillary blood samples are used in the RIDA<sup>®</sup>CHIP FoodGuide test, appropriate equipment must be used (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN<sup>®</sup> Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN<sup>®</sup> Foodscreen Blood Collection Card). Only this equipment was validated for this test. The dried capillary blood samples on the Blood Collection Card (component in A8025 and A8025-BCC) are stable for a maximum of 3 weeks when stored in a dry location at room temperature (20°C to 25°C). Do not store capillary blood samples in the refrigerator.

**Table 2:** Sample stability

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 must 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

**Important:** All reagents, patient sera/capillary blood samples, and the RIDA®CHIP FoodGuide slide [Slide] must be brought to room temperature before use. Mix the reagents well immediately before use.

The RIDA®CHIP FoodGuide slide [Slide] cannot be re-used. The components of the kit must not be used if the packaging is damaged or the vials are leaking.

**Any deviation from the specified incubation times and temperatures will cause the standard series values to shift in comparison with the certificate.**

**Significant differences in the values of the standard series can lead to invalid test results.**

**R-Biopharm assumes no warranty for any modification of incubation time and/or temperature that deviates from this description, for example, for automated processing of the test.**

Do not conduct the test in direct sunlight. It is recommended to cover the slide [Slide]. The manual test procedure takes a total of approximately 2 hours and 50 minutes.

### 9.2 Preparing the wash buffer

Dissolve one package of wash buffer salt in 1 liter of distilled or deionized water. Prepare only the amount of wash buffer needed for the particular assay. The diluted wash buffer has only a limited shelf life of max. 4 weeks at a storage temperature of 2 to 8°C.

### 9.3 Preparation of samples

#### 9.3.1 Sample dilution; serum samples

Dilute all serum samples with the sample dilution buffer [Sample Buffer] in a 1:101 ratio. To avoid systematic errors, we recommend making 1010 µl of diluted sample consisting of 10 µl serum and 1000 µl sample dilution buffer [Sample Buffer]. Make sure that the sample is mixed thoroughly. The sample must be pipetted several times and inverted and vortexed several times to ensure that it is thoroughly mixed. The diluted serum sample is stable for a maximum of 6 hours and must be processed within this time.

#### 9.3.2 Sample dilution; capillary blood samples

The dried capillary blood sample will be shaken with sample dilution buffer [Sample Buffer] for 1 (to 14) hour(s) at 20 to 25°C on a horizontal shaker in a suitable vial. For this step, mix 1 circle filled with blood [Card] with 2 ml sample dilution buffer [Sample Buffer]. Wear disposable gloves to pop out the dried circles filled with blood [Card] using your finger. A suitable sterile object, such as the end of

a pipette tip or a laboratory spatula, may also be used to pop out the circles **Card**. The eluate of the capillary blood sample already corresponds to the diluted patient sample and is pipetted into the wells **Wells** of the slide **Slide** according to the instructions.

#### 9.4 Preparation of the CHIP

The RIDA®CHIP FoodGuide slide **Slide** must be activated prior to use. For this purpose, place the desired number of slides **Slide** in the slide carrier **Slide Carrier**. 12 slides **Slide** can be used per slide carrier **Slide Carrier**. Next, pipette 100 µl of activation buffer **Activation Buffer** into each well and incubate for 5 minutes at 20 to 25°C.

#### 9.5 Washing

Use of a microplate washer is expressly recommended. R-Biopharm assumes no warranty for accurate processing if manual washing systems are used. The wells **Wells** are washed in overflow mode with 500 µl wash buffer **Wash buffer salt Tween** each. Final siphoning should be as thorough as possible; programming of a longer washing time is recommended.

**Important: Do not tap out the slide carrier **Slide Carrier** onto cellulose or similar materials as may normally be performed with other ELISA tests.**

#### 9.6 First incubation (sample incubation)

Pipette 100 µl each of the patient sample (diluted patient serum or capillary blood eluate) into the wells **Wells** of the slide **Slide** according to the pipetting scheme. Important: Depending on the test variant, either every well **Wells** (A8501, A8502) or 2 wells **Wells** each (A8503) must be used for one patient sample (see Figure 1). The slides **Slide** are then incubated for 45 minutes at 20 to 25°C. If multiple slide carriers **Slide Carrier** are used, they must be marked accordingly. The slide carrier **Slide Carrier** should be covered during incubation if possible.





**Fig. 1:** Pipetting scheme of individual test variants of RIDA®CHIP FoodGuide, S = patient sample

### 9.7 Washing

Wash as described in section 9.5.

### 9.8 Second incubation (conjugate incubation)

Pipette 100 µl (ready-to-use) conjugate **Conjugate IgG** into each well **Wells** of the slide **Slide**. Incubate the slides **Slide** filled with conjugate **Conjugate IgG** for 30 minutes at 20 to 25°C. The slide carrier **Slide Carrier** should be covered during incubation if possible.

### 9.9 Washing

Wash as described in section 9.5.

### 9.10 Third incubation (substrate incubation)

Pipette 100 µl (ready-to-use) substrate **Substrate** into each well **Wells** of the slide **Slide**. Incubate the slides **Slide** filled with substrate **Substrate** for 15 minutes at 20 to 25°C. The slide carrier **Slide Carrier** should be covered during incubation if possible.

### 9.11 Stopping the color reaction and performing the measurement

Stop the reaction by washing the wells **Wells** of the slide **Slide** twice each with 1000 µl deionized H<sub>2</sub>O in overflow mode. Omit the final siphoning in this step. **Leave the remaining deionized H<sub>2</sub>O in the wells **Wells** of the slide **Slide**. The remaining water will not affect the evaluation of the test. The evaluation must be performed within 2 hours, otherwise the results will be compromised.** The slides **Slide** can be retained for a second evaluation; for this purpose, the fluid must be siphoned off and the slide **Slide** must be completely dried in the drying cabinet at 37°C to 45°C (duration: about one hour). The slides **Slide** are placed in

the reader **Reader** and documented as specified in the instructions for the reader **Reader** and the software manual.

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

### 10.1 Quality control of the results

Each well **Wells** of the slide **Slide** contains two full standard series, one negative control (in duplicate), and two different positive controls (each in duplicate). The evaluation software (RIDASOFT® FoodGuide) evaluates the standard series and the individual controls. All specifications are stored in the software and checked automatically. The stored specifications are listed in Table 3.

The test has run correctly if the following specifications are met:

**Table 3:** Specifications for standards and controls

Standards	Min. intensity [%]	Max. intensity [%]
Standard 1		< Standard 2
Standard 2	-	< Standard 3
Standard 3	-	< Standard 4
Standard 4	-	< Standard 5
Standard 5	65.0	100

Controls	Min. concentration	Max. concentration
	µg/ml	µg/ml
Negative control	-	< 3.5
Positive control 1	12.9	23.0
Positive control 2	28.9	45.4

## 10.2 Indication of instability or expiration of reagents

Deviation from the stipulated values, turbidity of the reagents, or a blue precipitate in the reagent vial of the substrate may indicate that the reagent has expired.

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

- Kit shelf life
- Functional performance of the equipment used (e.g., calibration)
- Correct test procedure according to the instructions for use
- Visual inspection of the kit components for contamination or leaks

**If the stipulated values are not obtained after repeating the test, please contact the manufacturer.**

## 11. Evaluation and interpretation

### 11.1 Basis for the calculation

To evaluate the test, a calculation based on the standard series with the aid of the software (RIDASOFT® FoodGuide) is required. The concentrations of the specific IgG antibodies in µg/ml are determined on the basis of the standard series from the measured intensities and then converted into IgG classes (see Table 4).

The standard series for RIDA®CHIP FoodGuide is calibrated based on an international reference preparation: 1st WHO IRP 67/86 for human IgG.

### 11.2 Concentrations, IgG classes, and calculations for RIDA®CHIP FoodGuide

**Table 4:** Relationship between the determined µg/ml, IgG classes, and antigen-specific IgG concentration of the patient from a serum or capillary blood sample

µg/ml	IgG class	Antigen-specific IgG content
< 10.0	0	Negative
≥ 10.0 < 20.0	1	Elevated
≥ 20.0	2	Highly elevated

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

## 12. Limitations of the method

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

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 obtained must always be interpreted in combination with the complete clinical symptoms and are only a diagnostic aid.

Negative results do not rule out IgG-mediated food intolerance and should not be used as the sole basis for diagnosis.

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

It cannot be ruled out that antigenic epitopes are missing due to the production processes, e.g., extraction of the food or coating of the microtiter plates. Potentially missing epitopes may lead to false negative results. IgG antibodies against food antigens that appear only during industrial preparation, food preparation, or during digestion may not be detectable because they are not present in the original food for which the patient is tested.

### 13. Performance characteristics

All performance characteristics of RIDA®CHIP FoodGuide were determined for all 101 antigens according to the current CLSI guidelines. The evaluations were conducted for each antigen, but here, the data are presented in a summarized form for greater clarity.

#### 13.1 Precision

The precision or reproducibility of the RIDA®CHIP FoodGuide test was determined using eight reference samples that cover the entire measurement range from negative to highly positive. Intra-assay reproducibility was tested 12 times for each reference sample. For inter-assay reproducibility, references from six sequential working days were assayed in triplicate, with two runs per day. Each measurement was performed by two technicians. Inter-lot reproducibility was calculated using the average values and the coefficients of variation (CV) for three reagent lots; the data were calculated using single-factor analysis of variance (ANOVA).

**Table 5:** Intra-assay precision analysis

Allergen	CV (%)	Allergen	CV (%)	Allergen	CV (%)
Almond	6.5	Gluten	5.0	Pineapple	6.8
Apple	7.0	Goat milk and cheese	15.2	Pistachio	8.2
Apricot	12.2	Grape	8.8	Pollock	7.7
Aspergillus niger	11.4	Green bean	9.5	Poppy	5.8
Banana	9.4	Guar flour (E412)	10.5	Pork	8.2
Barley	8.5	Hazelnut	8.5	Potato	9.2

Basil	9.2	Honey	9.2	Pumpkin seed	9.4
Beef	6.1	Horseradish	8.2	Quinoa	8.6
Beetroot	7.4	Kiwi	10.2	Raspberry	10.4
Black pepper	15.7	Kohlrabi (turnip cabbage)	6.8	Red cabbage	8.9
Black tea	18.5	Lamb	8.6	Rennet cheese	19.6
Broccoli	8.7	Lamb's lettuce	11.3	Rice	7.8
Buckwheat	6.7	Leek	7.8	Rosemary	12.8
Butterhead lettuce	6.9	Lemon	10.5	Rye	8.2
Candida albicans	13.1	Linseed	8.9	Salmon	6.6
Cane sugar	6.4	Lobster	9.6	Sesame	9.5
Carrot	6.5	Maize, sweet corn	7.2	Sheep milk and cheese	14.2
Cashew kernel	9.7	Meadow mushroom	10.1	Sour-milk products (cow)	19.6
Celeriac, knob celery	7.6	Millet	17.8	Soybean	6.8
Cherry	8.5	Mustard seed	27.2	Spelt	9.8
Chicken	10.8	Nectarine	9.2	Strawberry	8.1
Chicken egg-white	5.4	Nutmeg	8.5	Sunflower seed	8.4
Chicken egg-yolk	12.3	Oats	12.7	Sweet pepper	5.6
Chili cayenne	9.9	Ocean perch	9.3	Thyme	6.3
Cinnamon	15.6	Olive	11.1	Tomato	8.5
Cocoa bean	8.7	Onion	8.4	Tunafish	12.1
Cod, codling	9.9	Orange	7.3	Turkey	10.9
Coffee	13.1	Oregano	10.2	Vanilla	8.5
Cow's milk	3.7	Oyster mushrooms	21.6	Walnut	9.7
Crayfish	22.2	Paprika, spice	16.1	Watermelon	7.9
Cucumber	12.6	Parsley	15.9	Wheat	7.2
Curry	11.3	Pea	13.0	Yeast	11.1
Eggplant	10.1	Peanut	9.4	Zucchini (Courgette)	6.6
Garlic	9.3	Peppermint tea	11.3		

**Table 6:** Summary of intra-assay precision analysis

Number of sera	8
Replicates (per serum)	12
<b>Average CV</b>	<b>10.1%</b>

**Table 7:** Inter-assay precision analysis

Allergen	CV (%)	Allergen	CV (%)	Allergen	CV (%)
Almond	8.6	Goat milk and cheese	15.4	Pollock	17.9
Apple	11.2	Grape	17.9	Poppy	8.5
Apricot	18.7	Green bean	6.6	Pork	7.2
Aspergillus niger	11.8	Guar gum (E412)	9.2	Potato	11.4
Eggplant	19.2	Hazelnut	11.0	Pumpkin seeds	9.2

Banana	15.3	Honey	8.8	Quinoa	10.6
Barley	15.0	Horseradish	10.1	Raspberry	6.5
Basil	11.3	Kiwi	9.3	Red cabbage	8.3
Beef	6.8	Kohlrabi (turnip cabbage)	13.2	Rennet cheese (cow)	17.2
Beetroot	14.4	Lamb	14.2	Rice	8.6
Black pepper	17.9	Lamb's lettuce	6.7	Rosemary	21.6
Broccoli	8.0	Leek	10.4	Rye	8.3
Buckwheat	8.1	Lemon	16.6	Salmon	11.7
Butterhead lettuce	8.6	Linseed	7.0	Sesame	15.3
Candida albicans	11.5	Lobster	12.2	Sheep milk and cheese	15.6
Cane sugar	12.7	Maize, sweet corn	13.6	Sour-milk products (cow)	13.7
Carrot	7.6	Meadow mushroom	11.4	Soybean	8.3
Cashew nut	12.1	Millet	12.2	Spelt	12.9
Cayenne pepper	13.1	Mustard seed	22.6	Strawberry	15.6
Celeriac, knob celery	7.8	Nectarine	12.2	Sunflower seeds	10.0
Cherries	9.7	Nutmeg	10.4	Sweet pepper	8.3
Chicken	13.7	Oats	8.0	Tea, black	14.6
Chicken egg white	6.4	Ocean perch	13.3	Tea, peppermint	9.1
Chicken egg yolk	11.7	Olive	11.0	Thyme	12.3
Cinnamon	11.8	Onion	9.9	Tomato	9.6
Cocoa beans	15.8	Orange	10.5	Tunafish	16.4
Cod, codling	8.6	Oregano	18.0	Turkey	11.2
Coffee	14.0	Oyster mushrooms	16.5	Vanilla	11.0
Cow's milk	5.9	Paprika, spice	25.1	Walnut	10.4
Crayfish	19.8	Parsley	13.4	Watermelon	7.9
Cucumber	8.4	Pea	11.4	Wheat	10.7
Curry	12.1	Peanut	7.2	Yeast	9.0
Garlic	7.1	Pineapple	12.4	Zucchini (Courgette)	10.8
Gluten	9.9	Pistachio	8.7		

**Table 8:** Summary of inter-assay precision analysis

Number of sera	8
Replicates (per serum)	36 (6 days, 2 runs, each in triplicate)
<b>Average CV</b>	<b>11.8%</b>

**Table 9:** Summary of inter-lot precision analysis

Number of lots	3
Number of sera	8
Replicates (per serum)	3
<b>Average CV</b>	<b>18.0%</b>

## **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 and one genuine overseas transport were investigated. Temperature fluctuations between 3°C and 43°C were induced during the transport simulations. In the genuine transport investigation, the temperature fluctuations during the entire transportation period were documented. Temperatures between 1°C and 24°C were recorded. The stressed kits were compared with the reference kit from the same lot. The reference kits were stored at 2 to 8°C. A total of 4 sera were used for the analysis.

**No significant impact on results was detected after the kit components were transported, which means RIDA®CHIP FoodGuide is stable under the analyzed transport conditions.**

### **13.2.2 Kit stability after accidental freezing**

The kit components were tested for stability after freezing for 24 hours. The kit components were stored at -16°C for 2 days. The stressed kits were then compared with the reference kit from the same lot. The reference kits were stored at 2 to 8°C. A total of 4 sera were used for the analysis.

**Note: Freezing of kit components is not a permissible method of storage.**

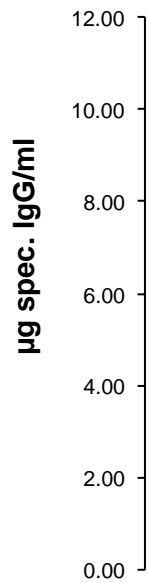
**No significant impact on results was observed after 2-day freezing of the kit components.**

### **13.2.3 Kit stability after opening**

**Note:** The test is intended for single use only so it does not contain any components that may be reused. For this reason, “kit stability after opening” was not determined for RIDA®CHIP FoodGuide.

## **13.3 Analytical sensitivity**

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



**Fig. 2:** Box-whisker plot shows the distribution of all limit of blank (LOB) and limit of detection (LOD) values determined; green = LOB, red = LOD. The boxes represent 50% of the totality of data. The whiskers show overall distribution of the data. The horizontal line in the box is the median.

**For RIDA®CHIP FoodGuide, the median LOB is 2.4 µg/ml and the median LOD is 3.2 µg/ml.**

### 13.4 Interferents

The following potential interfering substances (interferents) were tested in the sample: hemoglobin, bilirubin, triglycerides.

**None of the listed substances were observed to impair the test results of the RIDA®CHIP FoodGuide.**

### 14. Version history










Version number	Section and designation
2017-10-12	Previous version
2020-04-30	General revision: new layout






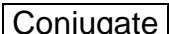
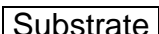
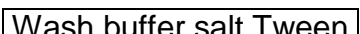
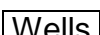
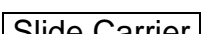
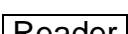
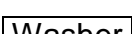
2020-04-30	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Intended use</li> <li>4. Reagents provided</li> <li>7. Warnings and precautions for the users</li> <li>8. Collection and storage of samples</li> <li>9. Test procedure</li> <li>10. Quality control – Indication of instability or expiration of reagents</li> <li>11. Evaluation and interpretation</li> <li>12. Limitations of the method</li> <li>13. Performance characteristics</li> <li>15. Test-specific symbols</li> </ol>
2022-06-13	Revision
2022-06-13	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Reagents provided</li> <li>9. Test procedure</li> </ol>

## 15. Explanation of symbols

### General symbols

	In vitro diagnostic use
	Consult instructions for use
	Batch number
	Use before
	Store at
	Article number
	Number of tests
	Date of manufacture
	Manufacturer

### Test-specific symbols

## 16. References

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.

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

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

H. Uzunısmail 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.

K. Alpay 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.

S. Bentz 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.

### 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. El ensayo RIDA®CHIP FoodGuide es un inmunoensayo enzimático cuantitativo de micropartículas (M-EIA) para la determinación de anticuerpos IgG específicos contra alérgenos alimentarios. El ensayo está diseñado para procesamiento manual. El ensayo es adecuado para el uso de suero humano y sangre capilar humana como matrices de muestra. El ensayo es una ayuda diagnóstica en casos de sospecha de hipersensibilidad alimentaria mediada por IgG.

### 2. Resumen y descripción del ensayo

El sistema inmunitario humano proporciona una protección importante contra las sustancias exógenas nocivas. Media la identificación e inactivación de, por ejemplo, bacterias, virus y parásitos como parte de una respuesta inmune compleja. Si la respuesta inmune se dirige erróneamente a moléculas no patógenas, como los alimentos, esto se conoce como reacción de hipersensibilidad o alergia. El tipo tardío de tales reacciones alérgicas a los alimentos, una alergia tipo III, está mediado por anticuerpos IgG. Debido a la alta permeabilidad de la pared intestinal, las proteínas alimentarias pueden atravesar la barrera intestinal de forma antinatural, entrar en contacto con el sistema inmunitario y, en última instancia, desencadenar reacciones inflamatorias. Los síntomas asociados ocurren de manera tardía y varían desde síntomas gastrointestinales y dolor en las articulaciones hasta migrañas. Debido a que los síntomas se retrasan, a menudo es difícil establecer una relación causal entre los alimentos y la aparición de los síntomas. Sin embargo, detectar los anticuerpos IgG específicos de alimentos en el suero humano permite identificar fácilmente los alérgenos desencadenantes, y los síntomas pueden aliviarse al evitar el alimento correspondiente.

### 3. Principio del ensayo

El ensayo es un inmunoensayo enzimático basado en micropartículas (M-EIA) para detectar anticuerpos IgG contra alérgenos alimentarios. Los extractos alimenticios se extraen y purifican elaboradamente y se depositan en una micromatriz. Cada pocillo de RIDA®CHIP FoodGuide contiene varios alérgenos alimentarios. Cada pocillo también tiene dos series estándar para la cuantificación, así como controles positivos y negativos. Las muestras de pacientes (suero o eluato de sangre capilar) se pipetea en los pocillos 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. Luego se agrega un anticuerpo IgG antihumano conjugado con peroxidasa de rábano. Durante una segunda incubación, este conjugado enzimático de anticuerpos

se une a los anticuerpos IgG humanos de la muestra del paciente. Todo el conjugado libre (no unido) se elimina por lavado. Cuando se agrega el sustrato, se oxida por la peroxidasa de rábano y se convierte en un producto azul insoluble. La cantidad de precipitado azul que se forma es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos de antígeno en el suero y puede detectarse fotográficamente. El software RIDASOFT® FoodGuide se puede utilizar para cuantificar estos datos y crear informes completos.

#### 4. Reactivos suministrados

**Tabla 1:**

Slide	3 x	El portaobjetos con pocillos de 1 x 8 permite la detección de 101 antígenos para un máximo de 12 pacientes (A8503) o la detección de 25 o 50 antígenos para un máximo de 24 pacientes (A8501 y A8502, respectivamente).
Sample Buffer	2 x 15 ml	Tampón de dilución de muestras listo para su uso para diluir la muestra del paciente y eluir las muestras de sangre capilar.
Activation Buffer	5 ml	Tampón de activación listo para su uso en la preparación de CHIP.
Conjugate IgG	5 ml	Conjugado de IgG antihumano diluido, listo para su uso, anticuerpos conjugados con peroxidasa de rábano en solución de proteína estabilizada.
Substrate	5 ml	Solución de sustrato lista para su uso. Contiene TMB.
Wash buffer salt Tween	2 x	Sal de tampón de lavado para producir 2 x 1 litro de tampón de lavado. PBS 10 mM, 0.05 % de TWEEN20.

#### 5. Instrucciones de almacenamiento

El kit de ensayo debe almacenarse a 2 - 8 °C y puede utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. El tampón de lavado diluido tiene una caducidad máxima de 4 semanas si se almacena a 2 - 8 °C. Se debe evitar la contaminación microbiana. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.

Contaminación de la solución de sustrato **Substrate** con conjugado **Conjugate IgG** debe evitarse, ya que esto hará que el sustrato se deteriore. También se debe evitar la exposición directa del sustrato a la luz para evitar la desnaturalización o la decoloración. Consulte 10.2, Indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos.

## 6. Reactivos necesarios no suministrados

### 6.1 Reactivos suministrados

- Agua destilada o desionizada

### 6.2 Equipo

- Placa portaobjetos **Slide Carrier** para portaobjetos **Slide** RIDA® CHIP FoodGuide
- Lector para portaobjetos **Slide** RIDA® CHIP FoodGuide (Número de producto R-Biopharm: LECTOR ZCHIP SSCL)
- Lavador **Washer** de placas de microtitulación para 8 pocillos
- Pipeta fina de un solo canal de microlitros (p. ej., 1 - 25 µl)
- Pipeta dispensadora de un solo canal de microlitros o ayuda multidispensadora de microlitros
- Viales de tampón de dilución adecuados

## 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. Siga siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba.
- El producto está destinado a ser utilizado por profesionales que trabajan en laboratorios hospitalarios, laboratorios de referencia, laboratorios privados o laboratorios públicos.
- No pipetee las muestras ni los reactivos con la boca y evite el contacto con lesiones de la piel y mucosas. Use guantes desechables cuando se manipulen las muestras y lávese las manos después de realizar el ensayo.
- No fume, coma ni beba en las áreas en las que se procesan las muestras o los reactivos del ensayo.
- Los tampones de activación, los tampones de dilución de muestras, los conjugados y los concentrados de tampones de lavado contienen azida de sodio como conservante. Aunque la concentración de azida de sodio está por debajo del límite de clasificación para identificar materiales peligrosos, se debe evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas. Se pueden producir azidas metálicas explosivas por contacto con tuberías de plomo o cobre.
- ¡No permita que los reactivos toquen la piel, los ojos o la ropa! En caso de contacto con la piel, lave el área a fondo con agua y jabón inmediatamente. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con agua corriente durante 15 minutos con los párpados abiertos. Consulte a un oftalmólogo. En caso de ingestión, beba abundante agua, evite el vómito y consulte inmediatamente a un médico.

- El usuario debe eliminar adecuadamente todos los componentes del kit 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

El ensayo RIDA® CHIP FoodGuide se desarrolló para analizar suero humano o sangre capilar.

Tras la extracción de la sangre venosa, se debe separar el suero de los coágulos sanguíneos (después de la coagulación completa) lo antes posible para evitar la hemólisis. Las muestras deben conservarse en frío (2 - 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.

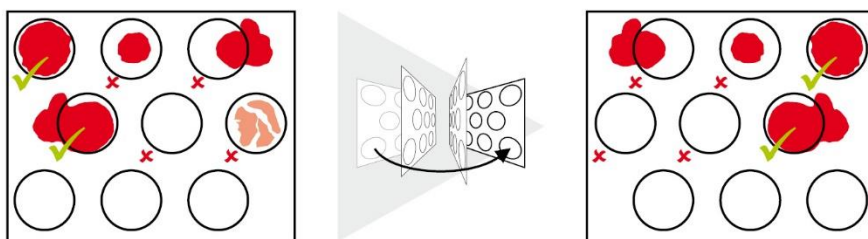
Cuando se utilizan muestras de sangre capilar en el ensayo de RIDA® CHIP FoodGuide, se deben utilizar accesorios apropiados (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Solo se validó este equipo para este ensayo. Las muestras de sangre capilar seca en la tarjeta de extracción de sangre (componente en A8025 y A8025-BCC) son estables durante un máximo de 3 semanas cuando se almacenan en un lugar seco a temperatura ambiente (20 - 25 °C). No almacene muestras de sangre capilar en el refrigerador.

**Tabla 2:** Estabilidad de la muestra

Suero sin diluir		Suero diluido	Muestra de sangre capilar seca	Eluato de la muestra de sangre capilar
2 a 8 °C	-20 °C	20 a 25 °C	20 a 25 °C	20 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. Compruebe también el reverso de la tarjeta para asegurarse de que los círculos estén bien empapados.



## 9. Ejecución de la prueba

### 9.1. Información general

**Importante:** todos los reactivos, muestras de suero/sangre capilar del paciente y el portaobjetos **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide deben llevarse a temperatura ambiente antes de su uso. Mezcle bien los reactivos inmediatamente antes de usarlos.

El portaobjetos **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide no se puede reutilizar. No utilice los componentes del kit si el envase está dañado o los viales tienen fugas.

**Cualquier desviación de los periodos de incubación y temperaturas especificados hará que los valores de la serie estándar cambien en comparación con el certificado. Las diferencias importantes en los valores de la serie estándar pueden dar a resultados no válidos del ensayo.**

**R-Biopharm no asume ninguna garantía por cualquier modificación del periodo de incubación y/o temperatura que se desvíe de esta descripción, por ejemplo, para el procesamiento automatizado del ensayo.**

No realice el ensayo con luz solar directa. Se recomienda cubrir el portaobjetos **Slide**. La ejecución manual de la prueba lleva un total de aproximadamente 2 horas y 50 minutos.

### 9.2. Preparación del tampón de lavado

Disuelva un paquete de sal de tampón de lavado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Prepare únicamente la cantidad de tampón de lavado necesaria para el ensayo en particular. El tampón de lavado diluido tiene una caducidad limitada de 4 semanas como máximo a una temperatura de almacenamiento de 2 a 8 °C.

### 9.3 Preparación de las muestras

#### 9.3.1 Dilución de las muestras; muestras de suero

Diluya todas las muestras de suero con el tampón de dilución de muestras **Sample Buffer** en una proporción de 1:101. Para evitar errores sistemáticos, recomendamos hacer 1010 µl de muestra diluida que consiste en 10 µl de suero y 1000 µl de tampón de dilución de muestras **Sample Buffer**. Asegúrese de que la muestra se encuentre bien mezclada. La muestra se debe pipetear varias veces e invertirse y agitarse en vórtice varias veces para garantizar que se mezcle



bien. La muestra de suero diluido es estable durante un máximo de 6 horas y debe procesarse dentro de este tiempo.

### 9.3.2 Dilución de las muestras; muestras de sangre capilar

La muestra de sangre capilar seca se agitará con tampón de dilución de muestras [Sample Buffer] durante 1 (a 14) hora(s) a 20 a 25 °C en un agitador horizontal en un vial adecuado. Para este paso, mezcle 1 círculo lleno de sangre [Card] con 2 ml de tampón de dilución de muestras [Sample Buffer]. Use guantes desechables para sacar los círculos secos llenos de sangre [Card] con su dedo. También se puede utilizar un objeto estéril adecuado, como el extremo de una punta de pipeta o una espátula de laboratorio, para sacar los círculos [Card]. El eluato de la muestra de sangre capilar ya corresponde a la muestra diluida del paciente y se pipetea en los pocillos [Wells] del portaobjetos [Slide] de acuerdo a las instrucciones.

### 9.4 Preparación del CHIP

El portaobjetos [Slide] RIDA®CHIP FoodGuide se debe activar antes de su uso. Para este fin, coloque el número deseado de portaobjetos [Slide] en la placa portaobjetos [Slide Carrier]. Doce portaobjetos [Slide] se pueden usar por placa portaobjetos [Slide Carrier]. A continuación, pipetee 100 µl de tampón de activación [Activation Buffer] en cada pocillo e incube durante 5 minutos a 20 a 25 °C.

### 9.5 Lavado

Se recomienda expresamente el uso de equipo de limpieza de microplacas. R-Biopharm no asume ninguna garantía de procesamiento preciso si se utilizan sistemas de lavado manual. Los pocillos [Wells] se lavan en modo de rebose con 500 µl de tampón de lavado [Wash buffer salt Tween] cada uno. La extracción con sifón final debe ser lo más completa posible; se recomienda programar un tiempo de lavado más largo.

**Importante: no extraiga la placa portaobjetos [Slide Carrier] sobre celulosa o materiales similares, como se puede realizar normalmente con otros ensayos de ELISA.**

### 9.6 Primera incubación (incubación de muestras)

Pipetee 100 µl cada uno de la muestra del paciente (suero diluido del paciente o eluato de sangre capilar) en los pocillos [Wells] del portaobjetos [Slide] según el esquema de pipeteo. Importante: dependiendo de la variante del ensayo, bien cada pocillo [Wells] (A8501, A8502) o 2 pocillos [Wells] cada uno (A8503) deben usarse para una muestra de paciente (consulte la Figura 1). Los portaobjetos [Slide] luego se incuban durante 45 minutos a 20 a 25 °C. Si se utilizan múltiples placas portaobjetos [Slide Carrier], deben marcarse en

consecuencia. La placa portaobjetos **Slide Carrier** se debe cubrir durante la incubación si es posible.



**Figura 1:** Esquema de pipeteo de variantes de ensayos individuales de RIDA®CHIP FoodGuide, S = muestra del paciente

### 9.7 Lavado

Lave según se describió en la sección 9.5.

### 9.8 Segunda incubación (incubación del conjugado)

Pipetee 100 µl de conjugado **Conjugado IgG** (listo para su uso) en cada pocillo **Wells** del portaobjetos **Slide**. Incube los portaobjetos **Slide** llenos de conjugado **Conjugate IgG** durante 30 minutos a 20 a 25 °C. La placa portaobjetos **Slide Carrier** se debe cubrir durante la incubación si es posible.

### 9.9 Lavado

Lave según se describió en la sección 9.5.

### 9.10 Tercera incubación (incubación del sustrato)

Pipetee 100 µl de sustrato **Substrate** (listo para su uso) en cada pocillo **Wells** del portaobjetos **Slide**. Incube los portaobjetos **Slide** llenos de sustrato **Substrate** durante 15 minutos a 20 a 25 °C. La placa portaobjetos **Slide Carrier** se debe cubrir durante la incubación si es posible.

### 9.11 Cómo detener la reacción de color y realizar la medición

Detenga la reacción al lavar los pocillos **Wells** del portaobjetos **Slide** dos veces cada uno con 1000 µl de H<sub>2</sub>O desionizada en modo de rebose. Omita la extracción con sifón final en este paso. **Deje el H<sub>2</sub>O desionizada restante en los pocillos **Wells** del portaobjetos **Slide**. El agua restante no afectará la evaluación del ensayo. La evaluación se debe realizar dentro de las 2 horas, de**

**lo contrario los resultados se verán comprometidos.** Los portaobjetos **Slide** se pueden retener para una segunda evaluación; para este propósito, el fluido debe ser extraído con sifón y el portaobjetos **Slide** debe secarse completamente en el gabinete de secado a 37 °C - 45 °C (duración: aproximadamente una hora). Los portaobjetos **Slide** se colocan en el lector **Reader** y se documentan como se especifica en las instrucciones para el lector **Reader** y el manual del software.

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

### 10.1 Control de calidad de los resultados

Cada pozo **Wells** del portaobjetos **Slide** contiene dos series estándar completas, un control negativo (por duplicado) y dos controles positivos diferentes (cada uno por duplicado). El software de evaluación (RIDASOFT® FoodGuide) evalúa la serie estándar y los controles individuales. Todas las especificaciones se almacenan en el software y se verifican automáticamente. Los resultados almacenados se muestran en la Tabla 3.

El ensayo se ejecutó correctamente si se cumplen las siguientes especificaciones:

**Tabla 3:** Especificaciones para estándares y controles

Estándares	Intensidad mín. [%]	Intensidad máx. [%]
Estándar 1		< Estándar 2
Estándar 2	-	< Estándar 3
Estándar 3	-	< Estándar 4
Estándar 4	-	< Estándar 5
Estándar 5	65.0	100

Controles	Concentración mín.	Concentración máx.
	µg/ml	µg/ml
Control negativo	-	< 3.5
Control positivo 1	12.9	23.0
Control positivo 2	28.9	45.4

### 10.2 Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

La desviación de los valores estipulados, la turbidez de los reactivos o un precipitado azul en el vial de reactivo del sustrato pueden indicar que el reactivo caducó.

Si no se alcanzan los valores especificados, se deben comprobar las siguientes cosas antes de repetir el ensayo:

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

**Si no se obtienen los valores estipulados después de repetir el ensayo, comuníquese con el fabricante.**

## 11. Evaluación e interpretación

### 11.1 Bases para los cálculos

Para evaluar el ensayo, se requiere un cálculo basado en la serie estándar con la ayuda del software (RIDASOFT® FoodGuide). Las concentraciones de los anticuerpos IgG específicos en µg/ml se determinan sobre la base de la serie estándar a partir de las intensidades medidas y luego se convierten en clases de IgG (consulte la Tabla 4).

La serie estándar de RIDA®CHIP FoodGuide está calibrada en base a una preparación de referencia internacional: 1er IRP 67/86 de la OMS para IgG humana.

### 11.2 Concentraciones, clases de IgG y cálculos para RIDA®CHIP FoodGuide

**Tabla 4:** Relación entre el valor de µg/ml determinado, las clases de IgG y la concentración de IgG específica del antígeno del paciente a partir de muestras de suero o sangre capilar

µg/ml	Clase de IgG	Contenido de IgG específica del antígeno
< 10.0	0	Negativo
≥ 10.0 < 20.0	1	Elevado
≥ 20.0	2	Altamente elevado

Estos valores son solo guías aproximadas. No existen estándares internacionales para IgG específicas para alimentos.

## 12. Limitaciones del método

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

No es posible deducir una correlación entre el nivel de una 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 los síntomas clínicos completos y son solo una ayuda diagnóstica.

Los resultados negativos no descartan la intolerancia alimentaria mediada por IgG y no deben usarse como la única base para el diagnóstico.

Los resultados falsos positivos del ensayo se pueden deber a la reacción cruzada del alérgeno analizado con otros alérgenos.

No se puede descartar que falten epítomos antigénicos debido a los procesos de producción, por ejemplo, extracción del alimento o recubrimiento de las placas de microtitulación. Los epítomos potencialmente perdidos pueden conducir a resultados falsos negativos. Es posible que los anticuerpos IgG contra antígenos alimentarios que aparecen solo durante la preparación industrial, la preparación de alimentos o la digestión no se puedan detectar debido a que no están presentes en el alimento original con el que se realizan las pruebas del paciente.

### 13. Características de rendimiento

Todas las características de rendimiento de RIDA®CHIP FoodGuide se determinaron para los 101 antígenos de acuerdo con las directrices actuales de CLSI. Las evaluaciones se realizaron para cada antígeno, pero aquí, los datos se presentan de forma resumida para mayor claridad.

#### 13.1 Precisión

La precisión o reproducibilidad del ensayo RIDA®CHIP FoodGuide se determinó utilizando ocho muestras de referencia que cubren todo el rango de medición de negativo a muy positivo. La reproducibilidad del intraensayo se probó 12 veces para cada muestra de referencia. Para la reproducibilidad interensayo, se analizaron referencias en forma de triplicados de seis días de trabajo secuenciales, con dos ensayos por día. Dos técnicos realizaron cada medición. La reproducibilidad entre lotes se calculó utilizando los valores promedio y los coeficientes de variación (CV) para tres lotes de reactivos; los datos se calcularon utilizando el análisis de varianza de un solo factor (ANOVA).

**Tabla 5:** Análisis de precisión intraensayo

Alérgeno	CV (%)	Alérgeno	CV (%)	Alérgeno	CV (%)
Abadejo	7.7	Col morada	8.9	Perca del Pacífico	9.3
Aceituna	11.1	Colinabo	6.8	Perejil	15.9
Ajo	9.3	Cordero	8.6	Pimienta de cayena	9.9
Ajonjolí	9.5	Curri	11.3	Pimienta dulce	5.6
Albahaca	9.2	Ejote	9.5	Pimienta negra	15.7
Albaricoque	12.2	Espelta	9.8	Piña	6.8

Almendra	6.5	Frambuesa	10.4	Pistache	8.2
Amapola	5.8	Fresa	8.1	Plátano	9.4
Apio, apio nabo	7.6	Gluten	5.0	Pollo	10.8
Arroz	7.8	Granos de cacao	8.7	Productos de leche agria (vaca)	19.6
Aspergillus niger	11.4	Harina de guar (E412)	10.5	Puerro	7.8
Atún	12.1	Kiwi	10.2	Queso de cuajo	19.6
Avellana	8.5	Langosta	9.6	Quinoa	8.6
Avena	12.7	Leche de vaca	3.7	Rábano	8.2
Azúcar de caña	6.4	Leche y queso de cabra	15.2	Romero	12.8
Bacalao	9.9	Leche y queso de oveja	14.2	Salmón	6.6
Berenjena	10.1	Lechuga francesa	6.9	Sandía	7.9
Betabel	7.4	Levadura	11.1	Semilla de calabaza	9.4
Brócoli	8.7	Limón	10.5	Semilla de girasol	8.4
Cacahuete	9.4	Linaza	8.9	Semilla de mostaza	27.2
Café	13.1	Maíz, maíz dulce	7.2	Seta campesina	10.1
Calabacita	6.6	Manzana	7.0	Setas de cardo	21.6
Candida albicans	13.1	Miel	9.2	Soya	6.8
Canela	15.6	Mijo	17.8	Té de menta	11.3
Cangrejo de río	22.2	Naranja	7.3	Té negro	18.5
Canónigo	11.3	Nectarina	9.2	Tomate	8.5
Carne de res	6.1	Nuez	9.7	Tomillo	6.3
Cebada	8.5	Nuez de la India	9.7	Trigo	7.2
Cebolla	8.4	Nuez moscada	8.5	Trigo sarraceno	6.7
Centeno	8.2	Orégano	10.2	Uva	8.8
Cerdo	8.2	Papa	9.2	Vainilla	8.5
Cereza	8.5	Paprika, especie	16.1	Yema de huevo de gallina	12.3
Chícharo	13.0	Pavo	10.9	Zanahoria	6.5
Clara de huevo de gallina	5.4	Pepino	12.6		

**Tabla 6:** Resumen del análisis de precisión intraensayo

Número de sueros	8
Replicados (por suero)	12
<b>CV promedio</b>	<b>10.1 %</b>

**Tabla 7:** Análisis de precisión interensayo

Alérgeno	CV (%)	Alérgeno	CV (%)	Alérgeno	CV (%)
Abadejo	17.9	Col morada	8.3	Perca del Pacífico	13.3
Aceituna	11.0	Colinabo	13.2	Perejil	13.4
Ajo	7.1	Cordero	14.2	Pimienta de cayena	13.1
Ajonjolí	15.3	Curri	12.1	Pimienta dulce	8.3

Albahaca	11.3	Ejote	6.6	Pimienta negra	17.9
Albaricoque	18.7	Espelta	12.9	Piña	12.4
Almendra	8.6	Frambuesa	6.5	Pistacho	8.7
Amapola	8.5	Fresa	15.6	Plátano	15.3
Apio, apio nabo	7.8	Gluten	9.9	Pollo	13.7
Arroz	8.6	Goma guar (E412)	9.2	Productos de leche agria (vaca)	13.7
Aspergillus niger	11.8	Granos de cacao	15.8	Puerro	10.4
Atún	16.4	Kiwi	9.3	Queso de cuajo (vaca)	17.2
Avellana	11.0	Langosta	12.2	Quinoa	10.6
Avena	8.0	Leche de vaca	5.9	Rábano	10.1
Azúcar de caña	12.7	Leche y queso de cabra	15.4	Romero	21.6
Bacalao	8.6	Leche y queso de oveja	15.6	Salmón	11.7
Berenjena	19.2	Lechuga francesa	8.6	Sandía	7.9
Betabel	14.4	Levadura	9.0	Semilla de calabaza	9.2
Brócoli	8.0	Limón	16.6	Semilla de girasol	10.0
Cacahuete	7.2	Linaza	7.0	Semilla de mostaza	22.6
Café	14.0	Maíz, maíz dulce	13.6	Seta campesina	11.4
Calabacita	10.8	Manzana	11.2	Setas de cardo	16.5
Candida albicans	11.5	Miel	8.8	Soya	8.3
Canela	11.8	Mijo	12.2	Té de menta	9.1
Cangrejo de río	19.8	Naranja	10.5	Té negro	14.6
Canónigo	6.7	Nectarina	12.2	Tomate	9.6
Carne de res	6.8	Nuez	10.4	Tomillo	12.3
Cebada	15.0	Nuez de la India	12.1	Trigo	10.7
Cebolla	9.9	Nuez moscada	10.4	Trigo sarraceno	8.1
Centeno	8.3	Orégano	18.0	Uva	17.9
Cerdo	7.2	Papa	11.4	Vainilla	11.0
Cereza	9.7	Paprika, especie	25.1	Yema de huevo de gallina	11.7
Chícharo	11.4	Pavo	11.2	Zanahoria	7.6
Clara de huevo de gallina	6.4	Pepino	8.4		

**Tabla 8:** Resumen del análisis de precisión interensayo

Número de sueros	8
Replicados (por suero)	36 (6 días, 2 ensayos, cada uno por triplicado)
<b>CV promedio</b>	<b>11.8 %</b>

**Tabla 9:** Resumen del análisis de precisión entre lotes

Número de lotes	3
Número de sueros	8
Replicados (por suero)	3
<b>CV promedio</b>	<b>18.0 %</b>

## 13.2 Estabilidad

### 13.2.1 Estabilidad del transporte

Los componentes del kit se probaron en cuanto a estabilidad bajo fluctuaciones de temperatura debido al transporte. Se investigaron dos escenarios de transporte simulados y uno genuino en el extranjero. Se indujeron fluctuaciones de temperatura entre 3 °C y 43 °C durante las simulaciones de transporte. En la investigación de transporte genuina, se documentaron las fluctuaciones de temperatura durante todo el periodo de transporte. Se registraron temperaturas entre 1 °C y 24 °C. Los kits sometidos a esfuerzos se compararon con el kit de referencia del mismo lote. Los kits de referencia se almacenaron a una temperatura de 2 a 8 °C. Se utilizó un total de 4 sueros para el análisis.

**No se detectó un impacto significativo en los resultados después de transportar los componentes del kit, lo que significa que RIDA®CHIP FoodGuide es estable en las condiciones de transporte analizadas.**

### 13.2.2 Estabilidad del kit después de congelación accidental

Se probó la estabilidad de los componentes del kit después de congelar durante 24 horas. Los componentes del kit se almacenaron a -16 °C durante 2 días. Los kits sometidos a esfuerzos se compararon entonces con el kit de referencia del mismo lote. Los kits de referencia se almacenaron a una temperatura de 2 a 8 °C. Se utilizó un total de 4 sueros para el análisis.

**Nota: la congelación de los componentes del kit no es un método de almacenamiento permitido.**

**No se observó un impacto significativo en los resultados después de 2 días de congelación de los componentes del kit.**

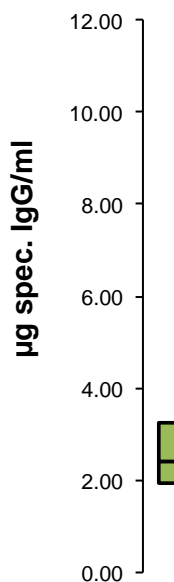
### 13.2.3 Estabilidad del kit después de la apertura

**Nota:** el ensayo está diseñado para un solo uso, por lo que no contiene ningún componente que pueda reutilizarse. Por esta razón, no se determinó la "estabilidad del kit después de la apertura" para RIDA®CHIP FoodGuide.



### 13.3 Sensibilidad analítica

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



**Figura 2:** el gráfico de caja y bigotes muestra la distribución de todos los valores de límite del blanco (LOB) y límite de detección (LOD) determinados; verde = LOB, rojo = LOD. Las cajas representan el 50 % de la totalidad de los datos. Los bigotes muestran la distribución general de los datos. La línea horizontal en la caja es la mediana.

**Para RIDA®CHIP FoodGuide, la mediana de LOB es de 2.4 µg/ml y la mediana de LOD es de 3.2 µg/ml.**

### 13.4 Interferentes

Las siguientes sustancias potenciales interferentes (interferentes) se analizaron en la muestra: hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos.

**No se observó que ninguna de las sustancias enumeradas perjudicara los resultados del ensayo de RIDA®CHIP FoodGuide.**










## 14. Historial de versiones

Número de versión	Sección y designación
2017-10-12	Versión anterior
2020-04-30	Revisión general: nuevo diseño




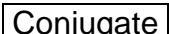
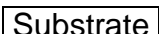
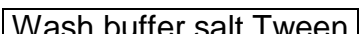
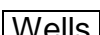
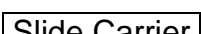
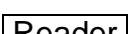
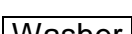
2020-04-30	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uso previsto</li> <li>4. Reactivos suministrados</li> <li>7. Advertencias y precauciones para los usuarios</li> <li>8. Obtención y almacenamiento de muestras</li> <li>9. Ejecución de la prueba</li> <li>10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos</li> <li>11. Evaluación e interpretación</li> <li>12. Limitaciones del método</li> <li>13. Características de rendimiento</li> <li>15. Símbolos específicos de prueba</li> </ol>
2022-06-13	Revisión
2022-06-13	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Reactivos suministrados</li> <li>9. Ejecución de la prueba</li> </ol>

## 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 de prueba

### 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDA®CHIP FoodGuide est un test immunoenzymatique quantitatif sur microarray (M-EIA) destiné à la détermination des anticorps IgG spécifiques contre les allergènes alimentaires. Ce test est prévu pour un traitement manuel. Il peut être utilisé sur du sérum humain et du sang capillaire humain, ainsi que sur des matrices d'échantillons. Le test facilite le diagnostic en cas de suspicion d'hypersensibilités alimentaires IgG médiées.

### 2. Résumé et explication du test

Le système immunitaire humain assure une protection conséquente contre les substances exogènes nocives. Il induit l'identification et l'inactivation, par exemple, des bactéries, des virus et des parasites dans le cadre d'une réponse immunitaire complexe. Lorsque la réponse immunitaire cible par erreur des molécules non pathogènes, telles que les aliments, il s'agit d'une réaction d'hypersensibilité ou d'une allergie. Ce type de réaction allergique retardée aux aliments, soit une allergie de type III, est provoquée par les anticorps IgG. En raison de la perméabilité élevée de la paroi intestinale, les protéines alimentaires peuvent traverser la barrière intestinale de manière non naturelle pour entrer en contact avec le système immunitaire et déclencher à terme des réactions inflammatoires. Les symptômes connexes se manifestent de manière différée et varient entre symptômes gastro-intestinaux, douleurs articulaires et migraines. Le caractère différé des symptômes rend difficile l'établissement d'un lien de causalité entre l'aliment et l'apparition des symptômes. Toutefois, la détection d'anticorps IgG spécifiques dans le sérum humain permet d'identifier facilement les allergènes déclencheurs et d'atténuer les symptômes en écartant l'aliment concerné.

### 3. Principe du test

Ce test est un dosage immunoenzymatique sur microarray (M-EIA) destiné à détecter des anticorps IgG spécifiques contre les allergènes alimentaires. Les extraits alimentaires sont minutieusement prélevés et purifiés avant d'être déposés sur un microarray. Chaque puits du RIDA®CHIP FoodGuide contient plusieurs allergènes alimentaires. Chaque puits inclut également deux séries standards pour la quantification ainsi que des contrôles positifs et négatifs. Les échantillons des patients (sérum ou éluat de sang capillaire) sont pipetés dans les puits 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 humaine conjugué à de la peroxydase de raifort est ensuite ajouté. Pendant une deuxième phase

d'incubation, ce conjugué enzymatique d'anticorps se lie aux anticorps IgG humains de l'échantillon du patient. Tout conjugué non fixé est éliminé par lavage. Lorsque le substrat est ajouté, il est oxydé par la peroxydase de raifort et devient un produit insoluble bleu. La quantité de précipité bleu qui se forme est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques aux antigènes dans le sérum et peut être détectée par voie photographique. Le logiciel RIDASOFT® FoodGuide peut être utilisé pour quantifier ces données et créer des rapports exhaustifs.

#### 4. Contenu du paquet

**Tableau 1 :**

Slide	3 x	Lame à 1 x 8 puits Permet la détection de 101 antigènes pour 12 patients maximum (A8503) ou la détection de 25 ou 50 antigènes, pour 24 patients maximum (A8501 et A8502, respectivement).
Sample Buffer	2 x 15 ml	Tampon de dilution de l'échantillon prêt à l'emploi pour diluer l'échantillon du patient et éluer les échantillons de sang capillaire.
Activation Buffer	5 ml	Tampon d'activation prêt à l'emploi pour préparation CHIP.
Conjugate IgG	5 ml	Conjugué anti-IgG humaine dilué et prêt à l'emploi Anticorps conjugués par peroxydase de raifort dans une solution protéique stabilisée.
Substrate	5 ml	Solution de substrat prête à l'emploi Contient du TMB.
Wash buffer salt Tween	2 x	Sel de tampon de lavage permettant de produire 2 x 1 litre de tampon de lavage. 10 mM PBS, 0,05 % TWEEN20.

#### 5. Instructions de conservation des réactifs

Le 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 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.

Toute contamination de la solution de substrat **Substrate** par le conjugué **Conjugate IgG** doit être impérativement évitée car elle risque d'entraîner la détérioration du substrat. Toute exposition directe du substrat à la lumière doit également être évitée afin de prévenir la dénaturation ou la décoloration. Voir 10.2, Signes d'instabilité ou de péremption des réactifs.

## 6. Réactifs requis, mais non fournis

### 6.1 Contenu du paquet

- Eau distillée ou désionisée

### 6.2 Équipement

- Porte-lames **Slide Carrier** pour lames **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide
- Lecteur pour lames **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide  
(numéro de produit R-Biopharm : ZCHIP READER SSCL)
- Laveur de plaque de microtitrage **Washer** pour 8 puits
- Micropipette fine à canal unique (exemple : 1-25 µl)
- Micropipette de distribution à canal unique ou aide à la micro-distribution à plusieurs canaux
- Flacons adaptés pour tampons de dilution

## 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.
- L'utilisation de ce produit est réservée aux professionnels travaillant dans des laboratoires hospitaliers, des laboratoires de référence, des laboratoires privés ou des laboratoires publics.
- Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche ; éviter tout contact avec de la peau ou des membranes muqueuses lésées. Porter des gants jetables pour manipuler les 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 tampons d'activation, les tampons de dilution de l'échantillon, les conjugués et les concentrés de tampon de lavage contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. Même si la concentration en azoture de sodium est inférieure à la limite de classification pour l'identification de matières dangereuses, il convient d'éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses. Le contact avec des tuyaux en plomb ou en cuivre peut provoquer la formation d'azotures métalliques explosifs.
- Ne pas laisser les réactifs entrer en contact avec la peau, les yeux ou les vêtements ! En cas de contact avec la peau, laver la zone concernée abondamment à l'eau savonneuse. 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 et/ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

Le test RIDA®CHIP FoodGuide a été développé dans le but de tester le sérum ou le sang capillaire humain.

Après prélèvement de sang veineux, le sérum doit être séparé des caillots de sang (après coagulation complète) dès que possible pour éviter l'hémolyse. Les échantillons doivent être conservés dans un endroit frais (entre 2 et 8 °C) ou congelés (-20 °C) jusqu'à ce qu'ils soient soumis à un test. Éviter toute congélation et décongélation répétées du sérum ainsi que toute contamination microbienne. L'utilisation de sérums lipémiques, hémolytiques, ictériques ou troubles inactivés par la chaleur risque de donner lieu à des résultats erronés.

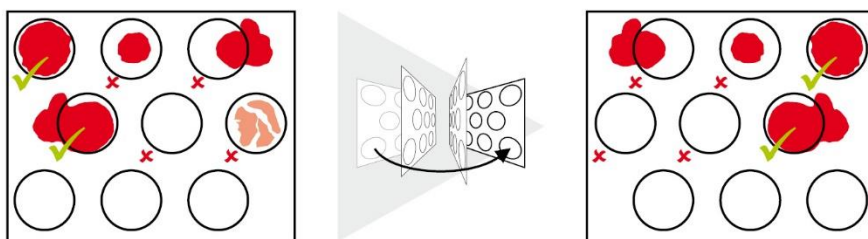
Lorsque des échantillons de sang capillaire sont utilisés pour effectuer le test RIDA®CHIP FoodGuide, il est impératif d'utiliser l'équipement adéquat (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Seuls ces équipements ont été validés pour ce test. Les échantillons de sang capillaire séché sur la carte de prélèvement de sang (composant dans les produits A8025 et A8025-BCC) sont stables lorsqu'ils sont conservés pendant une durée maximale de 3 semaines dans un endroit sec à température ambiante (entre 20 et 25 °C). Ne pas conserver les échantillons de sang capillaire au réfrigérateur.

**Tableau 2 : Stabilité de l'échantillon**

Sérum non dilué		Sérum dilué	Échantillons de sang capillaire séché	Éluat de l'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 concernant le traitement des échantillons de sang capillaire :

Les cercles figurant sur la carte de prélèvement de sang doivent être entièrement 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

**Important** : tous les réactifs, sérums/échantillons de sang capillaire des patients et la lame **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide doivent être amenés à température ambiante avant utilisation. Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation.

La lame **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide ne peut pas être réutilisée. Les composants du kit ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

**Tout écart par rapport aux durées et températures d'incubation indiquées entraînera un décalage entre les valeurs des séries standards et le certificat. D'importantes différences entre les valeurs des séries standards peuvent donner lieu à des résultats de test non valides.**

**R-Biopharm décline toute garantie en cas de modification de la durée et/ou de la température d'incubation contraire à la présente description, par exemple, pour un traitement automatisé du test.**

Ne pas réaliser le test à la lumière directe du soleil. Il est recommandé de couvrir la lame **Slide**. La procédure de test manuel dure environ 2 heures et 50 minutes au total.

### 9.2 Préparation du tampon de lavage

Dissoudre un paquet de sel de tampon de lavage dans 1 litre d'eau distillée ou désionisée. Préparer uniquement la quantité de tampon de lavage nécessaire au test en question. Le tampon de lavage dilué a une durée de conservation maximale de 4 semaines à une température de conservation comprise entre 2 et 8 °C.

### 9.3 Préparation des échantillons

#### 9.3.1 Dilution de l'échantillon ; échantillons de sérum

Diluer tous les échantillons de sérum avec le tampon de dilution de l'échantillon **Sample Buffer** selon un rapport 1/101. Pour éviter les erreurs systématiques, il est recommandé de préparer 1 010 µl d'échantillon dilué composé de 10 µl de sérum et de 1 000 µl de tampon de dilution de l'échantillon **Sample Buffer**. Vérifier que l'échantillon est soigneusement mélangé.



L'échantillon doit être pipeté à plusieurs reprises, puis retourné et agité au vortex plusieurs fois afin de s'assurer qu'il est bien mélangé. L'échantillon de sérum dilué est stable pendant 6 heures maximum et doit être traité pendant ce délai.

### 9.3.2 Dilution de l'échantillon ; échantillons de sang capillaire

L'échantillon de sang capillaire séché doit être mélangé avec le tampon de dilution de l'échantillon **Sample Buffer** pendant 1 (à 14) heure(s) entre 20 et 25 °C sur un agitateur horizontal dans un flacon adapté. Pour cette étape, mélanger 1 cercle de la carte **Card** rempli de sang avec 2 ml de tampon de dilution de l'échantillon **Sample Buffer**. Porter des gants jetables pour sortir les cercles remplis de sang séché de la carte **Card** avec le doigt. Il est aussi possible d'utiliser un objet stérile, comme l'extrémité d'une pointe de pipette ou d'une spatule de laboratoire, pour sortir les cercles de la carte **Card**. L'éluat de l'échantillon de sang capillaire correspond déjà à l'échantillon du patient dilué et doit être pipeté dans les puits **Wells** de la lame **Slide** conformément aux instructions.

### 9.4 Préparation CHIP

La lame **Slide** RIDA®CHIP FoodGuide doit être activée avant utilisation. Pour ce faire, placer le nombre de lames **Slide** désiré sur le porte-lames **Slide Carrier**. Douze lames **Slide** peuvent être utilisées par porte-lames **Slide Carrier**. Pipeter ensuite 100 µl de tampon d'activation **Activation Buffer** dans chaque puits et incuber pendant 5 minutes entre 20 et 25 °C.

### 9.5 Lavage

Il est expressément recommandé d'utiliser un laveur de microplaques. R-Biopharm décline toute garantie de précision du traitement en cas d'utilisation de systèmes de lavage manuels. Les puits **Wells** sont lavés en mode débordement avec 500 µl de tampon de lavage **Wash buffer salt Tween** versé dans chacun d'eux. Le siphonnage final doit être le plus approfondi possible ; il est recommandé de programmer un temps de lavage plus long.

**Important : ne pas tapoter le porte-lames **Slide Carrier** sur une surface en cellulose ou autre matériau similaire, contrairement aux procédures habituellement utilisées avec les autres tests ELISA.**

### 9.6 Première incubation (de l'échantillon)

Pipeter 100 µl de l'échantillon du patient (sérum du patient dilué ou éluat de sang capillaire) dans chacun des puits **Wells** de la lame **Slide** conformément au procédé de pipetage. Important : selon la variante du test, tous les puits **Wells** (A8501, A8502) ou seulement 2 puits **Wells** (A8503) doivent être utilisés pour un même échantillon de patient (voir Figure 1). Les lames **Slide** sont ensuite incubées pendant 45 minutes entre 20 et 25 °C. Si plusieurs porte-

lames **Slide Carrier** sont utilisés, ils doivent être identifiés en conséquence. Le porte-lames **Slide Carrier** doit, si possible, rester couvert pendant l'incubation.



**Figure 1** : Procédé de pipetage pour chaque variante du test RIDA®CHIP FoodGuide, S = échantillon du patient

### 9.7 Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

### 9.8 Deuxième incubation (du conjugué)

Pipeter 100 µl de conjugué **Conjugate IgG** (prêt à l'emploi) dans chacun des puits **Wells** de la lame **Slide**. Incuber les lames **Slide** remplies de conjugué **Conjugate IgG** pendant 30 minutes entre 20 et 25 °C. Le porte-lames **Slide Carrier** doit, si possible, rester couvert pendant l'incubation.

### 9.9 Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

### 9.10 Troisième incubation (du substrat)

Pipeter 100 µl de substrat **Substrate** (prêt à l'emploi) dans chacun des puits **Wells** de la lame **Slide**. Incuber les lames **Slide** remplies de substrat **Substrate** pendant 15 minutes entre 20 et 25 °C. Le porte-lames **Slide Carrier** doit, si possible, rester couvert pendant l'incubation.

### 9.11 Arrêt de la réaction de coloration et exécution de la mesure

Arrêter la réaction en lavant les puits **Wells** de la lame **Slide** à deux reprises avec 1 000 µl de H<sub>2</sub>O désionisé en mode débordement. Ne pas effectuer le siphonnage final à cette étape. **Laisser le reste de H<sub>2</sub>O désionisé dans les puits **Wells** de la lame **Slide**. L'eau restante n'aura aucun effet sur l'évaluation du test. Cette évaluation doit être exécutée dans les 2 heures. Dans**

**le cas contraire, la validité des résultats sera compromise.** Les lames **Slide** peuvent être conservées pour procéder à une deuxième évaluation ; à cette fin, le liquide doit être siphonné et la lame **Slide** doit être desséchée en étuve à une température comprise entre 37 et 45 °C (durée : environ une heure). Les lames **Slide** sont placées dans le lecteur **Reader** et documentées conformément aux instructions du lecteur **Reader** et au manuel du logiciel.

## 10. Contrôle qualité – signes d’instabilité ou de péremption des réactifs

### 10.1 Contrôle de la qualité des résultats

Chaque puits **Wells** de la lame **Slide** contient deux séries standards, un contrôle négatif (en double) et deux contrôles positifs différents (chacun en double). Le logiciel d’évaluation (RIDASOFT® FoodGuide) évalue les séries standards et chaque contrôle. Toutes les spécifications sont archivées dans le logiciel et automatiquement vérifiées. Les spécifications archivées sont répertoriées dans le Tableau 3.

Le test a fonctionné correctement lorsque les spécifications suivantes étaient respectées :

**Tableau 3** : Spécifications pour les standards et les contrôles

Standards	Intensité min. [%]	Intensité max. [%]
Standard 1		< Standard 2
Standard 2	-	< Standard 3
Standard 3	-	< Standard 4
Standard 4	-	< Standard 5
Standard 5	65,0	100

Contrôles	Concentration min.	Concentration max.
	µg/ml	µg/ml
Contrôle négatif	-	< 3,5
Contrôle positif 1	12,9	23,0
Contrôle positif 2	28,9	45,4

### 10.2 Signes d’instabilité ou de péremption des réactifs

Tout écart par rapport aux valeurs attendues, la turbidité des réactifs ou la présence d’un précipité bleu dans le flacon de réactif du substrat peuvent indiquer que le réactif est périmé.

En cas d'écart par rapport aux valeurs attendues, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Durée de conservation du kit
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test conformément au mode d'emploi
- Inspection visuelle des composants du kit à la recherche d'une contamination ou de fuites

**Si les valeurs indiquées ne sont pas obtenues après avoir recommencé le test, contacter le fabricant.**

## 11. Évaluation et interprétation

### 11.1 Base de calcul

Pour évaluer le test, un calcul basé sur la série standard doit être effectué à l'aide du logiciel (RIDASOFT® FoodGuide). Les concentrations d'anticorps IgG spécifiques en µg/ml sont déterminées en fonction de la série standard au regard des intensités mesurées puis converties en classes d'IgG (voir Tableau 4).

Pour le test RIDA®CHIP FoodGuide, la série standard est étalonnée en fonction d'une préparation de référence internationale : 1<sup>e</sup> Préparation de référence internationale (IRP) 67/86 de l'OMS pour les immunoglobulines G.

### 11.2 Concentrations, classes d'IgG et calculs pour le test RIDA®CHIP FoodGuide

**Tableau 4** : Relation entre la concentration en µg/ml déterminée, les classes d'IgG et la concentration en IgG spécifiques aux antigènes du patient dans un échantillon de sérum ou un échantillon de sang capillaire

µg/ml	Classe d'IgG	Teneur en IgG spécifiques aux antigènes
< 10,0	0	Négatif
≥ 10,0 < 20,0	1	Élevée
≥ 20,0	2	Très élevée

Ces valeurs sont données à titre indicatif. Il n'existe pas de standards internationaux pour les IgG spécifiques aux aliments.

## 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 alimentaires 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 conjointement à l'ensemble des symptômes cliniques et constituent uniquement une aide au diagnostic.

Des résultats négatifs n'excluent pas une intolérance alimentaire IgG médiée et ne doivent pas être utilisés comme seule base de diagnostic.

Des résultats de test faux-positifs peuvent être générés à la suite d'une réactivité croisée de l'allergène testé avec les épitopes d'autres allergènes.

Il n'est pas possible d'écarter l'absence possible d'épitopes antigéniques en raison des processus de production, par exemple, l'extraction de l'aliment ou le revêtement des plaques de microtitrage. L'absence potentielle d'épitopes peut donner lieu à des résultats faux négatifs. Les anticorps IgG contre les antigènes alimentaires qui apparaissent uniquement pendant la préparation industrielle, la préparation alimentaire ou la digestion peuvent ne pas être détectables, car non présents dans l'aliment original pour lequel le patient est testé.

### 13. Performances

Toutes les performances du test RIDA®CHIP FoodGuide ont été déterminées pour l'ensemble des 101 antigènes conformément aux directives actuelles du CLSI. Les évaluations ont été menées pour chaque antigène. Les données proposées sont toutefois présentées sous une forme synthétique pour plus de clarté.

#### 13.1 Précision

La précision ou reproductibilité du test RIDA®CHIP FoodGuide a été déterminée avec huit échantillons de référence qui couvrent l'ensemble de la plage de mesures, de négatives à fortement positives. La reproductibilité intra-essai a été testée à 12 reprises pour chaque échantillon de référence. Pour ce qui est de la reproductibilité inter-essais, les références de six jours de travail consécutifs ont été mesurées en triple, avec deux passages par jour. Chaque mesure a été effectuée par deux techniciens. La reproductibilité inter-lots a été calculée à l'aide des valeurs moyennes et des coefficients de variation (CV) pour trois lots de réactifs ; les données ont été calculées à l'aide d'une analyse de variance à facteur unique (ANOVA).

**Tableau 5** : Analyse de la précision intra-essai

Allergène	CV (%)	Allergène	CV (%)	Allergène	CV (%)
Abricot	12,2	Fèves de cacao	8,7	Paprika	16,1
Agaric champêtre	10,1	Fraise	8,1	Pavot	5,8
Agneau	8,6	Framboise	10,4	Persil	15,9

Ail	9,3	Fromage à la présure	19,6	Piment de Cayenne	9,9
Amande	6,5	Gluten	5,0	Pistache	8,2
Ananas	6,8	Graine de courge	9,4	Pleurotes	21,6
Arachide	9,4	Graine de lin	8,9	Poireau	7,8
Aspergillus niger	11,4	Graine de moutarde	27,2	Pois	13,0
Aubergine	10,1	Graine de tournesol	8,4	Poivre noir	15,7
Avoine	12,7	Haricot vert	9,5	Poivron	5,6
Banane	9,4	Homard	9,6	Pomme	7,0
Basilic	9,2	Jaune d'œuf de poule	12,3	Pomme de terre	9,2
Betterave	7,4	Kiwi	10,2	Porc	8,2
Blanc d'œuf de poule	5,4	Lait de vache	3,7	Poulet	10,8
Blé	7,2	Lait et fromage de brebis	14,2	Produits à base de lait caillé (vache)	19,6
Bœuf	6,1	Lait et fromage de chèvre	15,2	Quinoa	8,6
Brocoli	8,7	Laitue	6,9	Raifort	8,2
Cabillaud, morue	9,9	Levure	11,1	Raisin	8,8
Café	13,1	Lieu noir	7,7	Riz	7,8
Candida albicans	13,1	Mâche	11,3	Romarin	12,8
Cannelle	15,6	Maïs	7,2	Sarrasin	6,7
Carotte	6,5	Melon	7,9	Saumon	6,6
Céleri rave	7,6	Miel	9,2	Sébaste du Pacifique	9,3
Cerise	8,5	Millet	17,8	Seigle	8,2
Chou rouge	8,9	Nectarine	9,2	Sésame	9,5
Chou-rave	6,8	Noisette	8,5	Soja	6,8
Citron	10,5	Noix	9,7	Sucre de canne	6,4
Concombre	12,6	Noix de cajou	9,7	Thé à la menthe	11,3
Courgette	6,6	Noix de muscade	8,5	Thé noir	18,5
Curry	11,3	Oignon	8,4	Thon	12,1
Dinde	10,9	Olive	11,1	Thym	6,3
Écrevisse	22,2	Orange	7,3	Tomate	8,5
Épeautre	9,8	Orge	8,5	Vanille	8,5
Farine de guar (E412)	10,5	Origan	10,2		

**Tableau 6** : Résumé de l'analyse de précision intra-essai

Nombre de sérums	8
Réplicats (par sérum)	12
<b>CV moyen</b>	<b>10,1 %</b>

**Tableau 7** : Analyse de la précision inter-essais

Allergène	CV (%)	Allergène	CV (%)	Allergène	CV (%)
Abricot	18,7	Fraise	15,6	Paprika	25,1
Agaric champêtre	11,4	Framboise	6,5	Pavot	8,5

Agneau	14,2	Fromage à la présure	17,2	Persil	13,4
Ail	7,1	Gluten	9,9	Piment de Cayenne	13,1
Amande	8,6	Gomme de guar (E412)	9,2	Pistache	8,7
Ananas	12,4	Graine de courge	9,2	Pleurotes	16,5
Arachide	7,2	Graine de lin	7,0	Poireau	10,4
Aspergillus niger	11,8	Graine de moutarde	22,6	Pois	11,4
Aubergine	19,2	Graine de tournesol	10,0	Poivre, noir	17,9
Avoine	8,0	Haricot vert	6,6	Poivron	8,3
Banane	15,3	Homard	12,2	Pomme	11,2
Basilic	11,3	Jaune d'œuf de poule	11,7	Pomme de terre	11,4
Betterave	14,4	Kiwi	9,3	Porc	7,2
Blanc d'œuf de poule	6,4	Lait de vache	5,9	Poulet	13,7
Blé	10,7	Lait et fromage de brebis	15,6	Produits à base de lait caillé (vache)	13,7
Bœuf	6,8	Lait et fromage de chèvre	15,4	Quinoa	10,6
Brocoli	8,0	Laitue	8,6	Raifort	10,1
Cabillaud, morue	8,6	Levure	9,0	Raisin	17,9
Café	14,0	Lieu noir	17,9	Riz	8,6
Candida albicans	11,5	Mâche	6,7	Romarin	21,6
Cannelle	11,8	Maïs	13,6	Sarrasin	8,1
Carotte	7,6	Melon	7,9	Saumon	11,7
Céleri rave	7,8	Miel	8,8	Sébaste du Pacifique	13,3
Cerise	9,7	Millet	12,2	Seigle	8,3
Chou rouge	8,3	Nectarine	12,2	Sésame	15,3
Chou-rave	13,2	Noisette	11,0	Soja	8,3
Citron	16,6	Noix	10,4	Sucre de canne	12,7
Concombre	10,8	Noix de cajou	12,1	Thé à la menthe	9,1
Courgette	8,4	Noix de muscade	10,4	Thé, noir	14,6
Curry	12,1	Oignon	9,9	Thon	16,4
Dinde	11,2	Olive	11,0	Thym	12,3
Écrevisse	19,8	Orange	10,5	Tomate	9,6
Épeautre	12,9	Orge	15,0	Vanille	11,0
Fèves de cacao	15,8	Origan	18,0		

**Tableau 8** : Résumé de l'analyse de précision inter-essais

Nombre de sérums	8
Réplicats (par sérum)	36 (6 jours, 2 passages, chacun en triple)
<b>CV moyen</b>	<b>11,8 %</b>

**Tableau 9** : Résumé de l'analyse de précision inter-lots

Nombre de lots	3
Nombre de sérums	8
Réplicats (par sérum)	3
<b>CV moyen</b>	<b>18,0 %</b>

## 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 simulations de transport et une situation réelle de transport à l'étranger ont été étudiées. Des variations de température entre 3 et 43 °C ont été induites pendant les simulations de transport. Lors de l'étude en situation réelle de transport, les variations de température sur l'ensemble de la période de transport ont été documentées. Des températures entre 1 et 24 °C ont été enregistrées. Les kits concernés ont été comparés au kit de référence du même lot. Les kits de référence ont été conservés entre 2 et 8 °C. Quatre sérums au total ont été utilisés pour l'analyse.

**Aucun impact significatif sur les résultats n'a été détecté après le transport des composants du kit, ce qui signifie que le test RIDA®CHIP FoodGuide est stable dans les conditions de transport analysées.**

### 13.2.2 Stabilité du kit après congélation accidentelle

La stabilité des composants du kit a été testée après une congélation pendant 24 heures. Les composants du kit ont été conservés à -16 °C pendant 2 jours. Les kits concernés ont ensuite été comparés au kit de référence du même lot. Les kits de référence ont été conservés entre 2 et 8 °C. Quatre sérums au total ont été utilisés pour l'analyse.

**Remarque : la congélation des composants du kit n'est pas une méthode de conservation admissible.**

**Aucun impact significatif sur les résultats n'a été observé après la congélation des composants du kit pendant 2 jours.**

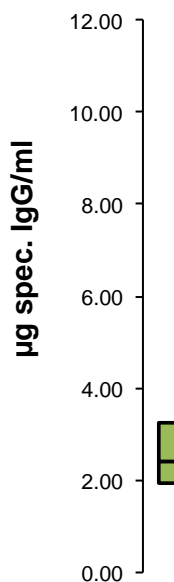
### 13.2.3 Stabilité du kit après ouverture

**Remarque** : Le test est réservé à un usage unique, ce qui implique qu'aucun des composants ne peut être réutilisé. C'est la raison pour laquelle, la « Stabilité du kit après ouverture » n'a pas été déterminé pour le test RIDA®CHIP FoodGuide.



### 13.3 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique est une mesure de la précision d'un test à faibles concentrations de l'analyte.



**Figure 2** : Le diagramme de quartiles illustre la distribution de toutes les valeurs de limite du blanc (LdB) et de limite de détection (LdD) déterminées ; en vert = LdB, en rouge = LdD. Les cases représentent 50 % de l'ensemble des données. Les traits montrent la distribution globale des données. La ligne horizontale figurant dans la case indique la médiane.

**Pour le test RIDA®CHIP FoodGuide, la médiane de la LdB est égale à 2,4 µg/ml et la médiane de la LdD est égale à 3,2 µg/ml.**

### 13.4 Substances interférentes

Les substances interférentes potentielles suivantes ont été testées dans l'échantillon : hémoglobine, bilirubine, triglycérides.

**Selon les observations, aucune des substances indiquées n'a altéré les résultats du test RIDA®CHIP FoodGuide.**










## 14. Historique des versions

Numéro de version	Section et désignation
2017-10-12	Version précédente
2020-04-30	Révision générale : nouvelle présentation




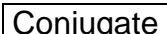
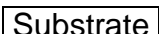
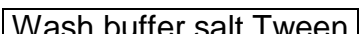
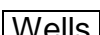
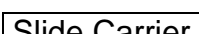
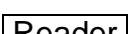
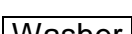
2020-04-30	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Application</li> <li>4. Contenu du paquet</li> <li>7. Mesures de précaution</li> <li>8. Prélèvement et conservation des échantillons</li> <li>9. Réalisation du test</li> <li>10. Contrôle qualité – signes d’instabilité ou de péremption des réactifs</li> <li>11. Évaluation et interprétation</li> <li>12. Limites de la méthode</li> <li>13. Performances</li> <li>15. Symboles spécifiques des tests</li> </ol>
2022-06-13	Révision
2022-06-13	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Contenu du paquet</li> <li>9. Réalisation du test</li> </ol>

## 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 stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques des tests

## 16. Bibliographie

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.

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

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

H. Uzunismail 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.

K. Alpay 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.

S. Bentz 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.

## 1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. Il test RIDA® CHIP FoodGuide è un dosaggio immunoenzimatico quantitativo su micropiastra (M-EIA) per la determinazione di anticorpi IgG specifici contro allergeni alimentari. Il test è progettato per la processazione manuale. Come matrici del campione, il test utilizza siero umano e sangue capillare umano. Il test è un aiuto diagnostico in caso di sospetta ipersensibilità alimentare mediata da IgG.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

Il sistema immunitario umano fornisce un'importante protezione contro le sostanze esogene nocive. Ad esempio, media l'identificazione e l'inattivazione di batteri, virus e parassiti come parte di una risposta immunitaria complessa. Se la risposta immunitaria colpisce erroneamente molecole non patogene, come gli alimenti, si parla di reazione di ipersensibilità o allergia. La forma ritardata di queste reazioni allergiche agli alimenti, o allergia di tipo III, è mediata dagli anticorpi IgG. A causa dell'elevata permeabilità della parete intestinale, le proteine degli alimenti possono attraversare la barriera intestinale in modo innaturale, entrando in contatto con il sistema immunitario e scatenando infine reazioni infiammatorie. I sintomi associati si presentano in ritardo rispetto all'assunzione degli alimenti che li hanno innescati, e comprendono sintomi gastrointestinali, dolori articolari ed emicrania. Poiché i sintomi compaiono con ritardo, è spesso difficile stabilire una relazione causale tra l'alimento e l'insorgenza dei sintomi. La ricerca di anticorpi IgG specifici degli alimenti nel siero umano, tuttavia, consente di identificare facilmente gli allergeni scatenanti e di alleviare i sintomi evitando il cibo che li contiene.

## 3. Principio del test

Il test è un dosaggio immunoenzimatico su micropiastra (M-EIA) che rivela anticorpi IgG contro gli allergeni alimentari. Gli estratti degli alimenti vengono prelevati, purificati accuratamente e depositati su una micropiastra. Ogni pozzetto del test RIDA®CHIP FoodGuide contiene diversi allergeni alimentari. Ogni pozzetto ha anche due serie di standard per la quantificazione e controlli positivi e negativi. I campioni dei pazienti (siero o eluato di sangue capillare) vengono pipettati nei pozzetti 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 perossidasi di rafano. Durante una seconda incubazione, questo coniugato enzima-anticorpo si lega agli anticorpi IgG umani del campione del paziente. Il coniugato non legato viene rimosso mediante lavaggio. Una volta

aggiunto, il substrato viene ossidato dalla perossidasi di rafano e si trasforma in un prodotto blu insolubile. La quantità di precipitato blu che si forma è proporzionale alla quantità di anticorpi specifici dell'antigene nel siero e può essere rilevata fotograficamente. Il software RIDASOFT® FoodGuide può essere utilizzato per quantificare questi dati e compilare referti completi.

#### 4. Contenuto della confezione

**Tabella 1:**

Slide	3	Il vetrino con 1 x 8 pozzetti consente di rivelare 101 antigeni per un massimo di 12 pazienti (A8503) o 25 o 50 antigeni per un massimo di 24 pazienti (A8501 e A8502, rispettivamente).
Sample Buffer	2 da 15 ml	Tampone di diluizione pronto all'uso per diluire il campione del paziente ed eluire i campioni di sangue capillare.
Activation Buffer	5 ml	Tampone di attivazione pronto all'uso per preparazione CHIP.
Conjugate IgG	5 ml	Anticorpi coniugati anti IgG umane diluiti pronti all'uso Anticorpi coniugati con perossidasi di rafano in soluzione proteica stabilizzata.
Substrate	5 ml	Soluzione di substrato pronta all'uso. Contiene TMB.
Wash buffer salt Tween	2	Tampone di lavaggio per produrre 2 dosi da 1 litro di tampone di lavaggio. 10 mM PBS, 0,05% TWEEN20.

#### 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 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 **Substrate** con il coniugato **Coniugate IgG** perché il substrato potrebbe deteriorarsi. È inoltre necessario evitare l'esposizione diretta del substrato alla luce per evitare la denaturazione o lo scolorimento. Vedere 10.2, Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

#### 6. Reagenti necessari ma non in dotazione

##### 6.1 Contenuto della confezione

- Acqua distillata o deionizzata

## 6.2 Attrezzatura

- Portavetrini **Slide Carrier** per vetrini RIDA®CHIP FoodGuide **Slide**
- Lettore per vetrini RIDA®CHIP FoodGuide **Slide**  
(Codice prodotto R-Biopharm: ZCHIP READER SSCL)
- Dispositivo di lavaggio per piastra da microtitolazione **Washer** per 8 pozzetti
- Pipetta microlitro monocanale piccola (ad es. 1-25 µl)
- Pipetta di dispensazione microlitro monocanale o strumento microlitro multicanale
- Cuvette idonee per il tampone di diluizione

## 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.
- Il prodotto è destinato all'uso da parte di professionisti che lavorano in laboratori ospedalieri, laboratori di riferimento, privati o pubblici.
- Non pipettare con la bocca campioni o reagenti ed 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.
- Tamponi di attivazione, tamponi di diluizione, coniugati e concentrati del tampone di lavaggio contengono sodio azide come conservante. Anche se la concentrazione di sodio azide è inferiore al limite di classificazione per l'identificazione di materiali pericolosi, si consiglia di evitare il contatto con la pelle e le mucose. Il contatto con tubi di piombo o rame può causare la formazione di azoturi metallici esplosivi.
- Evitare che i reagenti tocchino la pelle, gli occhi o gli indumenti. In caso di contatto con la pelle, lavare immediatamente e accuratamente con acqua e sapone. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente sotto 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

Il test RIDA®CHIP FoodGuide è stato sviluppato per testare siero umano o sangue capillare.

Dopo il prelievo di sangue venoso, il siero deve essere separato dai coaguli (dopo coagulazione completa) il più rapidamente possibile per evitare l'emolisi. I campioni 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 microbica. L'uso di sieri inattivati dal calore, lipemici, emolitici, itterici o torbidi può produrre risultati errati.

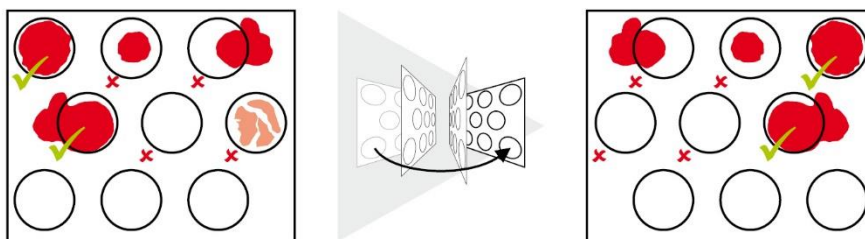
Quando il test RIDA®CHIP FoodGuide viene usato su campioni di sangue capillare, è necessario utilizzare un'attrezzatura adeguata (A8025/A8025-IMU/A8025-PIM RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card). Solo queste attrezzature sono state validate 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 °C a 25 °C). Non conservare campioni di sangue capillare in frigorifero.

**Tabella 2:** Stabilità del 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 riempiti completamente 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**

**Importante:** Tutti i reagenti, i sieri/i campioni di sangue capillare dei pazienti e il vetrino RIDA®CHIP FoodGuide Slide devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso. Mescolare bene i reagenti immediatamente prima dell'uso.



Il vetrino RIDA®CHIP FoodGuide [Slide] non può essere riutilizzato. I componenti del kit non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o se i flaconcini non sono ermetici.

**Qualsiasi deviazione dai tempi e dalle temperature di incubazione specificati causerà lo spostamento dei valori della serie di standard rispetto al certificato. Differenze significative nei valori delle serie di standard possono portare a risultati non validi.**

**R-Biopharm non si assume alcuna responsabilità per eventuali modifiche del tempo e/o della temperatura di incubazione rispetto a questa descrizione, ad esempio per l'elaborazione automatizzata del test.**

Non eseguire il test alla luce solare diretta. Si raccomanda di coprire il vetrino [Slide]. L'esecuzione del test manuale richiede un totale di circa 2 ore e 50 minuti.

## **9.2 Preparazione del tampone di lavaggio**

Sciogliere una confezione di sale per tampone di lavaggio in un litro di acqua distillata o deionizzata. Preparare solo la quantità di tampone di lavaggio necessaria per il test specifico. Il tampone di lavaggio diluito ha una durata di conservazione limitata a max. 4 settimane a una temperatura di conservazione compresa tra 2 e 8 °C.

## **9.3 Preparazione dei campioni**

### **9.3.1 Diluizione del campione; campioni di siero**

Diluire tutti i campioni di siero con il tampone di diluizione [Sample Buffer] in un rapporto 1:101. Per evitare errori sistematici, si consiglia di preparare 1010 µl di campione diluito composti da 10 µl di siero e 1000 µl di tampone di diluizione [Sample Buffer]. Assicurarsi che il campione sia miscelato accuratamente. Il campione deve essere pipettato più volte, capovolto e vorticato più volte per garantire che sia accuratamente miscelato. Il campione di siero diluito è stabile per un massimo di 6 ore e deve essere processato entro questo tempo.

### **9.3.2 Diluizione del campione; campioni di sangue capillare**

Il campione di sangue capillare essiccato viene agitato con il tampone di diluizione [Sample Buffer] da 1 a 14 ore, a una temperatura compresa fra 20 e 25 °C, su un agitatore orizzontale in una cuvetta adatta. Per questa fase, mescolare i cerchi imbevuti di sangue di una [Card] con 2 ml tampone di diluizione [Sample Buffer]. Indossare guanti monouso e aiutandosi con un dito estrarre i cerchi imbevuti di sangue secco della [Card]. Per estrarre i cerchi dalla [Card] è anche possibile usare un oggetto sterile adatto, come l'estremità del puntale di una pipetta o una spatola da laboratorio. L'eluato del campione di sangue capillare corrisponde già

al campione diluito del paziente e viene pipettato nei pozzetti **Wells** del vetrino **Slide** secondo le istruzioni.

#### 9.4 Preparazione del CHIP

Il vetrino RIDA®CHIP FoodGuide **Slide** deve essere attivato prima dell'uso. A tale scopo, posizionare il numero desiderato di vetrini **Slide** nel portavetrini **Slide Carrier**. Per ogni portavetrini **Slide Carrier** è possibile usare dodici vetrini **Slide**. Successivamente pipettare 100 µl di tampone di attivazione **Activation Buffer** in ciascun pozzetto e incubare per 5 minuti a 20-25 °C.

#### 9.5. Lavaggio

Si raccomanda caldamente l'uso di un dispositivo di lavaggio per micropiastre. R-Biopharm non si assume alcuna responsabilità per l'accuratezza della processazione se si utilizzano sistemi di lavaggio manuale. I pozzetti **Wells** vengono lavati in modalità di sovrafflusso con 500 µl di tampone di lavaggio **Wash Buffer salt Tween** ciascuno. Il sifonamento finale dovrebbe essere il più accurato possibile; si consiglia di programmare un tempo di lavaggio più lungo.

**Importante: non picchiettare il portavetrini **Slide Carrier** su cellulosa o materiali simili come accade normalmente con altri test ELISA.**

#### 9.6 Prima incubazione (incubazione del campione)

Pipettare 100 µl di ogni campione (siero diluito o eluato di sangue capillare) nei pozzetti **Wells** del vetrino **Slide** secondo lo schema di pipettaggio. Importante: a seconda del tipo di test, per un campione del paziente usare un pozzetto **Wells** (A8501, A8502) o 2 pozzetti **Wells** (A8503) (vedere la Figura 1). I vetrini **Slide** vengono quindi incubati per 45 minuti a 20-25 °C. Se vengono utilizzati più portavetrini **Slide Carrier** devono essere contrassegnati di conseguenza. Se possibile coprire il portavetrini **Slide Carrier** durante l'incubazione.



RIDA®CHIP FoodGuide 25/50



RIDA®CHIP FoodGuide 100

**Figura 1:** Schema di pipettaggio delle singole varianti di test RIDA®CHIP FoodGuide, S = campione del paziente

### 9.7 Lavaggio

Lavare come descritto al punto 9.5.

### 9.8 Seconda incubazione (incubazione del coniugato)

Pipettare 100 µl di coniugato (pronto all'uso) **Conjugate IgG** in ogni pozzetto **Wells** del vetrino **Slide**. Incubare i vetrini **Slide** riempiti con il coniugato **Conjugate IgG** per 30 minuti a 20-25 °C. Se possibile, coprire il portavetrini **Slide Carrier** durante l'incubazione.

### 9.9 Lavaggio

Lavare come descritto al punto 9.5.

### 9.10 Terza incubazione (incubazione del substrato)

Pipettare 100 µl di substrato (pronto all'uso) **Substrate** in ogni pozzetto **Wells** del vetrino **Slide**. Incubare i vetrini **Slide** riempiti con il substrato **Substrate** per 15 minuti a 20-25 °C. Se possibile, coprire il portavetrini **Slide Carrier** durante l'incubazione.

### 9.11 Interruzione della reazione cromatica ed esecuzione della misurazione

Bloccare la reazione lavando i pozzetti **Wells** del vetrino **Slide** due volte ciascuno con 1000 µl di H<sub>2</sub>O deionizzata in modalità di sovrarafflusso. Evitare il sifonamento finale in questo passaggio. **Lasciare l'acqua deionizzata residua nei pozzetti Wells del vetrino Slide. L'acqua non influirà sulla valutazione del test. Per garantire risultati validi, la valutazione deve avvenire entro 2 ore.** È possibile conservare i vetrini **Slide** per una seconda valutazione; a tal fine, il fluido deve essere sifonato e il vetrino **Slide** deve essere completamente asciugato in un essiccatoio da 37 °C a 45 °C (durata: circa un'ora). I vetrini **Slide** vengono collocati nel lettore **Reader** e documentati come specificato nelle istruzioni del lettore **Reader** e nel manuale del software.

## 10. Controllo qualità – Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

### 10.1 Controllo qualità dei risultati

Ciascun pozzetto **Wells** del vetrino **Slide** contiene due serie complete di standard, un controllo negativo (in duplicato) e due diversi controlli positivi (ciascuno in duplicato). Il software di valutazione (RIDASOFT® FoodGuide) valuta le serie standard e i singoli controlli. Tutte le specifiche sono memorizzate nel software e

controllate automaticamente. Le specifiche memorizzate sono elencate nella Tabella 3.

Il test è stato eseguito correttamente se sono soddisfatte le seguenti specifiche:

**Tabella 3:** Specifiche per standard e controlli

Standard	Intensità min [%]	Intensità max [%]
Standard 1		< Standard 2
Standard 2	-	< Standard 3
Standard 3	-	< Standard 4
Standard 4	-	< Standard 5
Standard 5	65,0	100

Controlli	Concentrazione min	Concentrazione max
	[µg/ml]	[µg/ml]
Controllo negativo	-	< 3,5
Controllo positivo 1	12,9	23,0
Controllo positivo 2	28,9	45,4

## 10.2 Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

La deviazione dai valori stabiliti, la torbidità dei reagenti o un precipitato blu nel flacone di reagente del substrato può indicare che il reagente è scaduto.

Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare quanto segue:

- Durata di conservazione.
- Prestazioni funzionali dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione).
- Correttezza della procedura di esecuzione del test secondo le istruzioni per l'uso.
- Ispezione visiva dei componenti del kit per escludere contaminazione o perdite.

**Se dopo aver ripetuto il test non si ottengono i valori indicati contattare il produttore.**

## 11. Valutazione e interpretazione

### 11.1 Base per il calcolo

Per valutare il test, è necessario un calcolo basato sulle serie di standard con l'ausilio del software (RIDASOFT® FoodGuide). Le concentrazioni degli anticorpi IgG specifici in µg/ml sono determinate sulla base delle serie di standard dalle intensità misurate e quindi convertite in classi di IgG (vedere Tabella 4).

La serie di standard per RIDA®CHIP FoodGuide è calibrata sulla base di una preparazione di riferimento internazionale: 1° IRP 67/86 dell'OMS per le IgG umane.

### 11.2 Concentrazioni, classi di IgG e calcoli per RIDA®CHIP FoodGuide

**Tabella 4:** Relazione tra µg/ml determinati, classi di IgG e concentrazione di IgG specifiche dell'antigene del paziente da un campione di siero o di sangue capillare

[µg/ml]	Classe IgG	Contenuto di IgG specifiche dell'antigene
< 10,0	0	Negativo
≥ 10,0 < 20,0	1	Elevato
> 20,0	2	Molto elevato

Questi valori sono solo indicativi. Non esistono standard internazionali per le IgG specifiche per gli alimenti.

## 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 o i mix di antigeni degli alimenti 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 essere sempre interpretati in combinazione con il quadro sintomatologico completo e sono solo un ausilio alla diagnosi.

I risultati negativi non escludono l'intolleranza alimentare mediata da IgG e non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi.

Data la cross-reattività dell'allergene testato con gli epitopi di altri allergeni, il test potrebbe produrre risultati falsi positivi.

Non si può escludere che l'assenza di epitopi degli antigeni sia dovuta ai processi di produzione, ad esempio l'estrazione dell'alimento o il rivestimento delle piastre da microtitolazione. Gli epitopi potenzialmente mancanti possono produrre risultati falsi negativi. Gli anticorpi IgG contro gli antigeni alimentari che compaiono solo durante

la preparazione industriale, la preparazione dell'alimento o durante 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

Tutte le prestazioni e caratteristiche di RIDA®CHIP FoodGuide sono state determinate per tutti i 101 antigeni secondo le attuali linee guida CLSI. Le valutazioni sono state condotte per ciascun antigene, ma in questa sede i dati sono presentati in forma sintetizzata per maggiore chiarezza.

#### 13.1 Precisione

La precisione o la riproducibilità del test RIDA®CHIP FoodGuide è stata determinata utilizzando otto campioni di riferimento che coprono l'intero intervallo di misurazione da negativo a altamente positivo. La riproducibilità intra-test è stata testata 12 volte per ciascun campione di riferimento. Per la riproducibilità inter-analisi, le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite in sei giorni lavorativi consecutivi con due serie al giorno in triplicato. Ogni misurazione è stata eseguita da due operatori. La riproducibilità tra lotti è stata calcolata usando i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tre lotti di reagenti; i dati sono stati calcolati utilizzando l'analisi della varianza a fattore singolo (ANOVA).

**Tabella 5:** Analisi della precisione intra-analisi

Allergene	CV (%)	Allergene	CV (%)	Allergene	CV (%)
Aglio	9,3	Glutine	5,0	Pesce persico	9,3
Agnello	8,6	Grano	7,2	Piselli	13,0
Albicocca	12,2	Grano saraceno	6,7	Pistacchio	8,2
Albume d'uovo di pollo	5,4	Kiwi	10,2	Pollo	10,8
Anacardi	9,7	Lampone	10,4	Pomodoro	8,5
Ananas	6,8	Latte e formaggio di capra	15,2	Porro	7,8
Anguria	7,9	Latte e formaggio di pecora	14,2	Prezzemolo	15,9
Arachide	9,4	Latte vaccino	3,7	Prodotti a base di latte acido (vaccino)	19,6
Aragosta	9,6	Lattuga a cappuccio	6,9	Quinoa	8,6
Arancia	7,3	Lievito	11,1	Rafano	8,2
Aspergillus niger	11,4	Limone	10,5	Riso	7,8
Avena	12,7	Maiale	8,2	Rosmarino	12,8
Banana	9,4	Mais, mais dolce	7,2	Salmone	6,6
Barbabietola	7,4	Mandorla	6,5	Sedano rapa	7,6
Basilico	9,2	Manzo	6,1	Segale	8,2
Broccoli	8,7	Mela	7,0	Semi di cacao	8,7
Caffè	13,1	Melanzana	10,1	Semi di girasole	8,4

Candida albicans	13,1	Merluzzo	9,9	Semi di lino	8,9
Cannella	15,6	Merluzzo nero	7,7	Semi di senape	27,2
Carota	6,5	Miele	9,2	Semi di zucca	9,4
Cavolo rapa	6,8	Miglio	17,8	Sesamo	9,5
Cavolo rosso	8,9	Nettarina	9,2	Soia	6,8
Cetriolo	12,6	Nocciola	8,5	Soncino	11,3
Ciliegie	8,5	Noce	9,7	Tacchino	10,9
Cipolla	8,4	Noce moscata	8,5	Tè alla menta	11,3
Curry	11,3	Oliva	11,1	Tè nero	18,5
Fagiolini	9,5	Origano	10,2	Timo	6,3
Farina di guar (E412)	10,5	Orzo	8,5	Tonno	12,1
Farro	9,8	Papavero	5,8	Tuorlo d'uovo di pollo	12,3
Formaggio di caglio	19,6	Patata	9,2	Uva	8,8
Fragola	8,1	Pepe nero	15,7	Vaniglia	8,5
Funghi ostrica	21,6	Peperoncino	16,1	Zucchero di canna	6,4
Fungo prataiolo	10,1	Peperoncino di Cayenna	9,9	Zucchini	6,6
Gambero	22,2	Peperone dolce	5,6		

**Tabella 6:** Riepilogo dell'analisi di precisione intra-test

Numero di sieri	8
Replicati (per siero)	12
<b>CV medio</b>	<b>10,1%</b>

**Tabella 7:** Analisi della precisione inter-test

Allergene	CV (%)	Allergene	CV (%)	Allergene	CV (%)
Aglione	7,1	Gomma di guar (E412)	9,2	Pesce persico	13,3
Agnello	14,2	Grano	10,7	Piselli	11,4
Albicocca	18,7	Grano saraceno	8,1	Pistacchio	8,7
Albume d'uovo di pollo	6,4	Kiwi	9,3	Pollo	13,7
Anacardi	12,1	Lampone	6,5	Pomodoro	9,6
Ananas	12,4	Latte e formaggio di capra	15,4	Porro	10,4
Anguria	7,9	Latte e formaggio di pecora	15,6	Prezzemolo	13,4
Arachide	7,2	Latte vaccino	5,9	Prodotti a base di latte acido (vaccino)	13,7
Aragosta	12,2	Lattuga a cappuccio	8,6	Quinoa	10,6
Arancia	10,5	Lievito	9,0	Rafano	10,1
Aspergillus niger	11,8	Limone	16,6	Riso	8,6
Avena	8,0	Maiale	7,2	Rosmarino	21,6
Banana	15,3	Mais, mais dolce	13,6	Salmone	11,7
Barbabietola	14,4	Mandorla	8,6	Sedano rapa	7,8

Basilico	11,3	Manzo	6,8	Segale	8,3
Broccoli	8,0	Mela	11,2	Semi di cacao	15,8
Caffè	14,0	Melanzana	19,2	Semi di girasole	10,0
Candida albicans	11,5	Merluzzo	8,6	Semi di lino	7,0
Cannella	11,8	Merluzzo nero	17,9	Semi di senape	22,6
Carota	7,6	Miele	8,8	Semi di zucca	9,2
Cavolo rapa	13,2	Miglio	12,2	Sesamo	15,3
Cavolo rosso	8,3	Nettarina	12,2	Soia	8,3
Cetriolo	8,4	Nocciola	11,0	Soncino	6,7
Ciliegie	9,7	Noce	10,4	Tacchino	11,2
Cipolla	9,9	Noce moscata	10,4	Tè alla menta	9,1
Curry	12,1	Oliva	11,0	Tè nero	14,6
Fagiolini	6,6	Origano	18,0	Timo	12,3
Farro	12,9	Orzo	15,0	Tonno	16,4
Formaggio di caglio	17,2	Papavero	8,5	Tuorlo d'uovo di pollo	11,7
Fragola	15,6	Patata	11,4	Uva	17,9
Funghi ostrica	16,5	Pepe, nero	17,9	Vaniglia	11,0
Fungo prataiolo	11,4	Peperoncino	25,1	Zucchero di canna	12,7
Gambero	19,8	Peperoncino di Cayenna	13,1	Zucchini	10,8
Glutine	9,9	Peperone dolce	8,3		

**Tabella 8:** Riepilogo dell'analisi di precisione inter-test

Numero di sieri	8
Replicati (per siero)	36 (6 giorni, 2 analisi, ciascuna in triplicato)
<b>CV medio</b>	<b>11,8%</b>

**Tabella 9:** Riepilogo dell'analisi di precisione fra lotti

Numero di lotti	3
Numero di sieri	8
Replicati (per siero)	3
<b>CV medio</b>	<b>18,0%</b>

## 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 simulati e un vero trasporto via mare. Durante le simulazioni sono state indotte fluttuazioni di temperatura fra 3 °C e 43 °C. Nello studio sul caso reale sono state documentate le fluttuazioni di temperatura durante l'intero trasporto. Sono state registrate



temperature fra 1 °C e 24 °C. I kit sottoposti allo stress termico sono stati confrontati con il kit di riferimento dello stesso lotto. I kit di riferimento sono stati conservati tra 2 e 8 °C. Per l'analisi sono stati utilizzati in totale 4 sieri.

**Dopo il trasporto dei componenti del kit non sono emersi impatti significativi sui risultati; questo significa che RIDA®CHIP FoodGuide è stabile nelle condizioni di trasporto analizzate.**

### **13.2.2 Stabilità del kit dopo congelamento accidentale**

I componenti del kit sono stati testati per verificarne la stabilità dopo un congelamento di 24 ore. I componenti del kit sono stati conservati a -16 °C per 2 giorni. I kit sottoposti allo stress termico sono stati confrontati con il kit di riferimento dello stesso lotto. I kit di riferimento sono stati conservati tra 2 e 8 °C. Per l'analisi sono stati utilizzati in totale 4 sieri.

**Nota: il congelamento dei componenti del kit non è un metodo di conservazione consentito.**

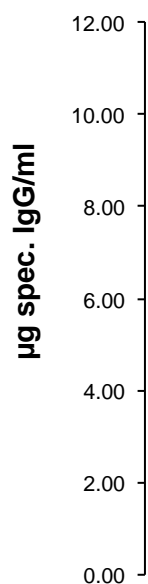
**Dopo un congelamento di 2 giorni non sono emersi impatti significativi sui risultati.**

### **13.2.3 Stabilità del kit dopo l'apertura**

**Nota:** Il test è esclusivamente monouso, pertanto non contiene componenti che possono essere riutilizzati. Per questo motivo, la "stabilità del kit dopo l'apertura" del test RIDA®CHIP FoodGuide non è stata determinata.

## **13.3 Sensibilità analitica**

La sensibilità analitica è una misura dell'accuratezza di un test a basse concentrazioni dell'analita.



**Figura 2:** Il diagramma degli estremi e dei quartili mostra la distribuzione di tutti i valori limite del bianco (LOB) e dei limiti di rilevamento (LOD) determinati; verde = LOB, rosso = LOD. I rettangoli rappresentano il 50% della totalità dei dati. I segmenti mostrano la distribuzione complessiva dei dati. La linea orizzontale nella casella è la mediana.

**Per RIDA®CHIP FoodGuide, il LOB mediano è 2,4 µg/ml e il LOD mediano è 3,2 µg/ml.**

### 13.4 Interferenti

Nel campione sono state testate le seguenti potenziali sostanze interferenti: emoglobina, bilirubina, trigliceridi.










**Nessuna delle sostanze elencate ha mostrato effetti negativi sui risultati del test RIDA®CHIP FoodGuide.**

## 14. Cronologia delle versioni




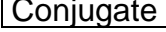

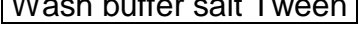

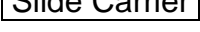
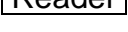
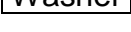
Numero della versione	Sezione e denominazione
2017-10-12	Versione precedente
2020-04-30	Revisione generale: nuovo layout
2020-04-30	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Campo di applicazione</li><li>4. Contenuto della confezione</li><li>7. Avvertenze e misure precauzionali</li><li>8. Raccolta e conservazione dei campioni</li><li>9. Esecuzione del test</li><li>10. Controllo qualità – Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti</li><li>11. Valutazione e interpretazione</li><li>12. Limiti del metodo</li><li>13. Prestazioni e caratteristiche</li><li>15. Simboli specifici del test</li></ol>
2022-06-13	Revisione
2022-06-13	<ol style="list-style-type: none"><li>4. Contenuto della confezione</li><li>9. Esecuzione del test</li></ol>

## 15. Descrizione dei simboli

### Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Numero di lotto
	Data di scadenza
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici del test

## 16. Bibliografia

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.

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

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

H. Uzunısmail 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.

K. Alpay 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.

S. Bentz 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.