

# RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

## Art. Nr.: A8020 RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents

Gehört zu:

Art. Nr.: A0301	RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate
Art. Nr.: A8021	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Starter Kit
Art. Nr.: A8025	RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit
Art. Nr.: A8025-BCC	RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card
Art. Nr.: A8025-EB	RIDASCREEN® Foodscreen Elution buffer
Art. Nr.: A8101	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate
Art. Nr.: A8111	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Standards and Controls
Art. Nr.: A8121-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1
Art. Nr.: A8121-05	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1
Art. Nr.: A8221-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2
Art. Nr.: A8221-05	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2
Art. Nr.: A8321-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3
Art. Nr.: A8321-05	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3
Art. Nr.: A8621-15	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6
Art. Nr.: A8821	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1
Art. Nr.: A8822	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2
Art. Nr.: A8823	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES
Art. Nr.: A8921	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1
Art. Nr.: A8931	RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Test ist ein Enzymimmunoassay (EIA) zum quantitativen Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern gegen Nahrungsmittelallergene in humanem Serum und Kapillarblut. Der Test sollte bei begründetem Verdacht auf eine Nahrungsmittelunverträglichkeit eingesetzt werden.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

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

Der Test ist ein Enzymimmunoassay (EIA). Alle unter Punkt 4. aufgeführten Reagenzien wurden in Kombination mit den oben angeführten Mikrotiterplatten der Firma R-Biopharm AG validiert. Der Einsatz der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagenzien in Verbindung mit Mikrotiterplatten anderer Hersteller, bzw. der Einsatz der RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Mikrotiterplatten mit Reagenzien anderer Hersteller, ist nicht zulässig.

## 3. Testprinzip

Die Nahrungsmittelextrakte sind an die Innenflächen der Kavitäten einer Mikrotiterplatte adsorbiert. Patientenproben (Serum oder Eluat von Kapillarblut), Standard- und Kontrollseren werden in die entsprechenden Kavitäten pipettiert und bei Raumtemperatur inkubiert. Dabei binden spezifische IgG-Antikörper an ihre korrespondierenden, adsorbierten Nahrungsmittelantigene. Nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines mit alkalischer Phosphatase konjugierten anti-human-IgG-Antikörpers. Während einer erneuten Inkubation bindet dieses Antikörperkonjugat an die humanen IgG Antikörper aus der Patientenprobe. Nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Letztlich wird das Substrat bei dessen Zugabe durch die alkalische Phosphatase dephosphoryliert und somit in ein gelbgefärbtes Produkt überführt. Die Intensität der Gelbfärbung ist proportional der Menge an antigenspezifischen Antikörpern im Serum und kann photometrisch bei 405 nm unter Abzug der Referenzwellenlängenmessung bei 620/630 nm bestimmt werden.

#### 4. Packungsinhalte

**Tab. 1: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)**

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

**Tab. 2: Inhalt von RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte kundenspezifisch, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, ohne Standard- kurve
-------	--------	--

**Tab. 3: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Starter Kit (A8021)**

Plate 1	1 x 5	Mikrotiterplatte 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
Plate 2	1 x 5	Mikrotiterplatte 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
Plate 3	1 x 5	Mikrotiterplatte 3, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve

**Tab. 4: Inhalt von RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit (A8025)**

Card	1	Blood Collection Card, Blutkarte für Kapillarblut
	1 x 2	Sterile Lanzetten
	2	Sterile Alkohol Pads
	2	Sterile Pflaster

**Tab. 5: Inhalt von RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card (A8025-BCC)**

Card	100 x 1	Blood Collection Card, Blutkarte für Kapillarblut
------	---------	---

**Tab. 6: Inhalt von RIDASCREEN® Foodscreen Elution buffer (A8025-EB)**

EB	100 ml	Elutionspuffer, für die Elution des Kapillarblutes von der Blutkarte
----	--------	--

**Tab. 7: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte, kundenspezifisch; mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
-------	--------	--

**Tab. 8: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Standards and Controls (A8111)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte, mit Standards und Kontrollen beschichtet
-------	--------	--

**Tab. 9: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-15)**

Plate 1	3 x 5	Mikrotiterplatte 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 10: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05)**

Plate 1	1 x 5	Mikrotiterplatte 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 11: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-15)**

Plate 2	3 x 5	Mikrotiterplatte 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 12: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05)**

Plate 2	1 x 5	Mikrotiterplatte 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 13: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-15)**

Plate 3	3 x 5	Mikrotiterplatte 3, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 14: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05)**

Plate 3	1 x 5	Mikrotiterplatte 3, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

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

Plate 6	3 x 5	Mikrotiterplatte 6, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
---------	-------	--

**Tab. 16: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Panel 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
-------	--------	--

**Tab. 17: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Panel 2, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
-------	--------	--

**Tab. 18: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte ES, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Standardkurve
-------	--------	---

**Tab. 19: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Prescreen 1, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Cut-Off
Cut-Off	10 ml	Cut-off Kontrolle, verdünntes Humanserum; Konz.: 10 µg IgG/ml; in stabilisierter Proteinlösung

**Tab. 20: Inhalt von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)**

Plate	15 x 1	Mikrotiterplatte Prescreen kundenspezifisch, mit verschiedenen Nahrungsmittelantigenen beschichtet, inkl. Cut-Off
Cut-Off	10 ml	Cut-off Kontrolle, verdünntes Humanserum; Konz.: 10 µg IgG/ml ; in stabilisierter Proteinlösung

## 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 mit Konjugat ist unbedingt zu vermeiden, da dies eine Verfärbung des Substrats zur Folge hat. Ebenso ist eine direkte Lichteinwirkung auf das Substrat zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Verfärbung durch Hydrolyse vorzubeugen. Bei auftretender, starker Gelbfärbung darf das Substrat nicht mehr verwendet werden. Siehe auch Punkt 10.3 Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall.

### 5.1 Lagerung der Mikrotiterplatten

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

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – und erforderliches Zubehör

### 6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

### 6.2. Zubehör

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

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die *in vitro* Diagnostik.
- Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

- Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhaut vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Die im Kit befindlichen Standardseren wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie HbsAg und Syphilis CFR 21.640 untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten Sie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandeln. Es gelten die nationalen Sicherheitsbestimmungen für den Umgang sowie die Entsorgung von potentiell infektiösem Material.
- Standardseren, Konjugat und Waschpufferkonzentrat enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Bei Kontakt mit Blei- oder Kupferrohren können explosive Metallazide entstehen.
- Eine Berührung der Haut, Augen und Kleidung mit Stopp-Reagenz und Substratlösung vermeiden! Bei Hautkontakt sofort mit Wasser und Seife waschen. Bei Augenkontakt sofort 15 Minuten bei gespreizten Lidern unter fließendem Wasser spülen. Augenarzt konsultieren. Bei Verschlucken viel Wasser trinken, Erbrechen vermeiden und umgehend einen Arzt aufsuchen.
- Alle Bestandteile des Kits müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden (siehe Sicherheitsdatenblätter der im Kit befindlichen Komponenten).
- Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder für mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

## **8. Sammlung und Lagerung der Proben (Serum und Kapillarblut)**

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

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

Bei der Anwendung von Kapillarblutproben im RIDASCREEN<sup>®</sup> Spec. IgG Foodscreen Test muss das entsprechende Zubehör (A8025 RIDASCREEN<sup>®</sup> Foodscreen Blood RIDASCREEN<sup>®</sup> Spec. IgG Foodscreen 2016-08-29



Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card und A8025-EB RIDASCREEN® Foodscreen Elution buffer) verwendet werden. Nur dieses Zubehör ist für diesen Test validiert worden. 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 Kapillarblutprobe sollte nicht im Kühlschrank gelagert werden.

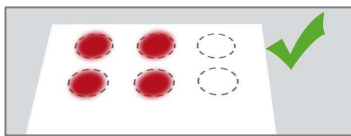
**Tabelle 21: Probenstabilität**

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

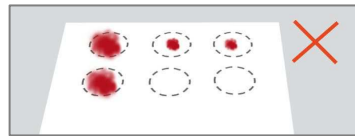
**Wichtiger Hinweis für die Bearbeitung von Kapillarblutproben:**

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.

**Richtig gefüllte Kreise**



**Falsch gefüllte Kreise**



**9. Testdurchführung**

**9.1. Allgemeines**

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

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

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

**Eine Abweichung von vorgegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen führt zu einer Verschiebung der Standardkurve im Vergleich zum Zertifikat.**

**Signifikante Unterschiede in den Werten der Standardkurve können zu ungültigen Testergebnissen führen.**

**Anpassungen von Inkubationszeit und/oder -temperatur für z. B. eine vollautomatische Abarbeitung des Tests müssen vom Hersteller durchgeführt (validiert) werden.**

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

## 9.2. Herstellung des Waschpuffers

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

## 9.3. Vorbereiten der Mikrotiterplatten

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

## 9.4. Probenverdünnung

### 9.4.1 Probenverdünnung; Serumproben

Alle Serumproben mit Probenverdünnungspuffer **Sample Buffer IgG** 1:100 verdünnen.

**Tabelle 22: Empfohlene Probenverdünnungs-Ansätze**

Prescreen Tests		bis 50 Bestimmungen		bis 100 Bestimmungen		bis 300 Bestimmungen	
Serum	Puffer	Serum	Puffer	Serum	Puffer	Serum	Puffer
20 µl	2 ml	40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	200 µl	20,0 ml

### 9.4.2. Proben-Elution; Kapillarblutproben

Die getrocknete Kapillarblutprobe wird mit dem Elutionspuffer **EB** eine (-14) Stunde(n) bei 20 - 25 °C auf einem Horizontal-Schüttler in einem geeigneten Gefäß geschüttelt.

Dazu werden dem jeweiligen Testansatz entsprechend die Kreise **Card** an der Perforation herausgedrückt.

Zum Herausdrücken der getrockneten, mit Blut gefüllten Kreise mit dem Finger, sollten Einmalhandschuhe getragen werden. Alternativ können die Kreise auch mit einem passenden sterilen Gegenstand herausgedrückt werden, z. B. dem Ende einer Pipettenspitze oder einem Laborspatel.

**Tabelle 23: Empfohlene Proben-Elutions-Ansätze**

Prescreen Tests		bis 50 Bestimmungen		bis 100 Bestimmungen		bis 200 Bestimmungen	
Probe	EB	Probe	EB	Probe	EB	Probe	EB
2 Kreis	4,0 ml	2 Kreis	4,0 ml	4 Kreise	8,0 ml	6 Kreise	12,0 ml

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

### 9.5. Erste Inkubation (Probeninkubation)

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

\* Der **Cut-Off** wird nur für die Abarbeitung des RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921) und RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized (A8931) benötigt.

### 9.6. Waschen

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

### 9.7. Zweite Inkubation (Konjugat-Inkubation)

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

### 9.8. Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.6.

### 9.9. Dritte Inkubation (Substrat-Inkubation)

In alle Kavitäten werden 50 µl Substratlösung (ready to use) **AllergySub** pipettiert. Anschließend werden die Platten **Plate** für 60 min bei 20 – 25 °C inkubiert. Die inkubierenden Platten **Plate** sollten nicht dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden. Die Platten **Plate**

können in der Reihenfolge des Pipettierens gestapelt werden; die oberste Platte **Plate** dabei bitte abdecken.

### 9.10. Stoppen der Reaktion und Messung

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

## 10. Auswertung und Qualitätskontrolle

### 10.1. Auswertung RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8021, A8101, A8111, A8121-15, A8121-05, A8221-15, A8221-05, A8321-15, A8321-05, A8621-15, A8821, A8822, A8823

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

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

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

Bei jeder Testdurchführung sind auf jeder Platte die Cut-Off-Kontrolle **Cut-Off** mitzuführen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn folgende Kriterien erfüllt sind (alle Angaben beziehen sich auf eine Differenzmessung von 405 nm zu 620 nm (oder 630 nm) [OD<sub>405/620</sub>]):

- **Cut-Off** ≥ 0,20

### 10.3 Anzeichen für Reagenzienverfall

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

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

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien

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

Eine stark, gelblich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

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

## 11. Auswertung und Interpretation

### 11.1. Serenbefundung

#### 11.1.1. Berechnungsgrundlagen

Für die Testauswertung wird eine Berechnung anhand der Standardkurve vorausgesetzt. Dazu müssen die Standards auf jeder Platte mitgeführt werden. Zur Erstellung der Standardkurve werden die Extinktionswerte der Standards als Funktion der zugehörigen Konzentrationen ( $\mu\text{g/ml}$ ) halblogarithmisch (y-lin-/x-log-Darstellung) in einer point-to-point-Darstellung aufgetragen. Bei Doppelbestimmungen der Standards werden zur Erstellung der Standardkurve die Mittelwerte der Extinktionen aus den Doppelbestimmungen der Standards benutzt. Die Konzentrationen der spez. IgG-Antikörper in  $\mu\text{g/ml}$  können anhand der Standardkurve aus den gemessenen OD-Werten ermittelt und anschließend in IgG-Klassen umgerechnet werden (siehe Tab. 24 und 25). Die Auswertung kann auch durch entsprechende Software durchgeführt werden.

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

#### 11.1.2. Konzentrationen, IgG-Klassen, Berechnungen für RIDASCREEN<sup>®</sup> Spec. IgG Foodscreen

**Tab. 24: Zusammenhang zwischen ermittelten  $\mu\text{g/ml}$ , IgG-Klassen und antigenspezifischen IgG-Gehalten des Patienten aus einer Serumprobe**

$\mu\text{g} / \text{ml}$	IgG-Klasse	Allergenspezifischer IgG-Gehalt	Alternative IgG Klasse	Allergenspezifischer IgG-Gehalt
< 7,5	0 (0,0 – 0,9)	negativ	0 (0,0 – 0,9)	negativ
7,5 – 12,49	1 (1,0 – 1,9)	schwach (Normaltiter)	1 (1,0 – 1,9)	erhöht
12,5 – 19,99	2 (2,0 – 2,9)	erhöht		
20,0 – 49,99	3 (3,0 – 3,9)	hoch	2 (2,0 – 2,9)	stark erhöht
$\geq 50$	4 (4,0 – 4,9)	sehr hoch		

**Tab. 25: Zusammenhang zwischen ermittelten µg/ml, IgG-Klassen und antigenspezifischen IgG-Gehalten des Patienten aus einer Kapillarblutprobe**

µg / ml	IgG-Klasse	Allergenspezifischer IgG-Gehalt	Alternative IgG Klasse	Allergenspezifischer IgG-Gehalt
< 8,0	0 (0,0 – 0,9)	negativ	0 (0,0 – 0,9)	negativ
8,0 – 17,99	1 (1,0 – 1,9)	schwach (Normaltiter)	1 (1,0 – 1,9)	erhöht
18,0 – 39,99	2 (2,0 – 2,9)	erhöht	2 (2,0 – 2,9)	stark erhöht
≥ 40	3 (3,0 – 3,9)	hoch		

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

**Tab. 26: Auswertung und Interpretation des RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 und Customized (A8921, A8931) aus einer Serum- oder Kapillarblutprobe**

Q	Auswertung	Interpretation
≤ 1,0	–	Negativ
> 1.0	+	Schwach
≥ 2.5	++	Erhöht
≥ 5.0	+++	Hoch

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

## 12. Grenzen der Methode

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

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

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass durch die Herstellung der Nahrungsmittel-extrakte und die Beschichtung der Mikrotiterplatten antigenwirkende Epitope fehlen, was zu falsch negativen Ergebnissen führen kann. IgG-Antikörper gegen

Nahrungsmittelantigene, die erst durch die industrielle Verarbeitung, bei der Speisenzubereitung oder während des Verdauungsprozesses entstehen, können möglicherweise nicht nachgewiesen werden, da sie nicht in dem ursprünglichen Nahrungsmittel, auf das der Patient getestet wird, enthalten sind.

### 13. Leistungsmerkmale

#### 13.1 Präzision

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

**Tab. 27: Intra-Assay Präzisionsmessung**

Anzahl Seren	2
Replikate (pro Serum)	30 (15)
<b>durchschnittlicher VK</b>	<b>8,1 %</b>

**Tab. 28: Inter-Assay Präzisionsmessung**

Anzahl Seren	2
Replikate (pro Serum)	60 (30)
<b>durchschnittlicher VK</b>	<b>11,1 %</b>

**Tab. 29: Inter-Lot Präzisionsmessung**

Anzahl Lots	3 x Reagenzien, 2 x Mikrotiterplatten
Seren / Kombinationen	3 / 18
Replikate (pro Kombination)	54 (3)
<b>durchschnittlicher VK</b>	<b>19,1 %</b>

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

## 13.2 Stabilität

### 13.2.1 Transportstabilität

Die Kitkomponenten wurden auf ihre Stabilität unter transportbedingten Temperaturschwankungen untersucht. Dabei wurden sowohl zwei simulierte Transportszenarien, als auch ein reeller Überseeexport untersucht. Die aufgetretenen Temperaturschwankungen sind über die gesamte Transportzeit dokumentiert worden. Es wurden Temperaturen zwischen 2 °C und 45 °C verzeichnet.

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

### 13.2.2 Kitstabilität Nach Öffnen

Die Kitkomponenten wurden auf ihre Stabilität nach dem Öffnen der Einzelkomponenten über einen Zeitraum von 6 Wochen untersucht.

***Sowohl die Reagenzien als auch die Mikrotiterplatten zeigten keinerlei Stabilitätsverluste über einen Zeitraum von min. 6 Wochen. Die mit diesen Kitkomponenten erzielten Testergebnisse verzeichneten außerdem keine Abweichungen.***

## 13.3 LOD

Die analytische Sensitivität (eng. Limit Of Detection) ist ein Maß für die Genauigkeit eines Tests bei niedrigen Konzentrationen des Analyten.

***Der durchschnittliche LOD von RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen beträgt ~4µg/ml.***

## 13.4 Interferenzen

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

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

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

## 13.5. Methodenvergleich

**Tab. 30: Vergleich zu RIDASCREEN® Spec. IgG Allergen Disc (A0629)**

getestete Allergene	88
---------------------	----



Anzahl Seren	5
<b>durchschnittliche Übereinstimmung</b>	<b>95,45%</b>

## 14 Literatur

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

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

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

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

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

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

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