

RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen

Referência: A8020 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Reagents

Pertence a:

Referência: A0301 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Allergens Customized Plate

Referência: A8021 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Starter Kit

Referência: A8025 RIDASCREEN[®] Foodscreen Blood Collection Kit

Referência: A8025-BCC RIDASCREEN[®] Foodscreen Blood Collection Card

Referência: A8025-EB RIDASCREEN[®] Foodscreen Elution buffer

Referência: A8101 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Customized Plate

Referência: A8111 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Standards and Controls

Referência: A8121-15 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 1

Referência: A8121-05 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 1

Referência: A8221-15 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 2

Referência: A8121-05 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 2

Referência: A8321-15 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 3

Referência: A8121-05 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 3

Referência: A8621-15 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Plate 6

Referência: A8821 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1

Referência: A8822 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2

Referência: A8823 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate ES

Referência: A8921 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1

Referência: A8931 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate



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

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



1. Utilização prevista

Para o diagnóstico *in vitro*. O teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é um teste imunoenzimático (EIA) para a detecção quantitativa de anticorpos IgG específicos contra alimentos no soro humano e sangue capilar e deverá ser utilizado em caso de suspeita fundamentada de intolerância alimentar.

2. Resumo e descrição do teste

A intolerância alimentar e os respectivos gatilhos podem ser determinados através da detecção de anticorpos IgG específicos. As intolerâncias alimentares resultam de uma permeabilidade aumentada da parede do intestino ao respectivo alimento. Os complexos imunológicos dos anticorpos IgG e dos alimentos podem ocorrer devido à penetração de alimentos ou componentes de alimentos através da parede do intestino no tecido circundante. Estes complexos imunológicos desencadeiam reações inflamatórias que podem resultar em vários quadros clínicos.

O teste é um teste imunoenzimático (EIA). Todos os reagentes listados na Seção 4 foram validados com o uso das placas de microtitulação da empresa R-Biopharm AG citada acima. O uso de reagentes do teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen junto com as placas de microtitulação de outros fabricantes ou das placas de microtitulação do teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen com reagentes de outros fabricantes não é permitido.

3. Princípio de teste

Os extratos dos alimentos são absorvidos para as superfícies internas das cavidades de uma placa de microtitulação. As amostras dos pacientes (soro ou eluído de sangue capilar) e os soros padrão e de controle são introduzidos com a ajuda de uma pipeta nas cavidades correspondentes e incubados à temperatura ambiente. Durante a incubação, os anticorpos IgG específicos fixam-se aos antígenos alimentares correspondentes (absorvidos para a placa). O material não ligado é removido com uma lavagem. Em seguida, é adicionado um anticorpo IgG anti-humano, o qual é conjugado com fosfatase alcalina. Durante uma segunda incubação, este conjugado de anticorpo liga-se aos anticorpos IgG da amostra do paciente. Qualquer conjugado não ligado é removido com uma lavagem. Por fim é adicionado o substrato, o qual é desfosforilado através da enzima conjugada, tornando-se num produto amarelo. A intensidade da cor amarela é proporcional à quantidade de anticorpos específicos de antígenos no soro e

pode ser medida de forma fotométrica a 405 nm após a dedução do comprimento de onda de referência de 620/630 nm.

4. Reagentes fornecidos

Tab. 1: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Reagents (A8020)

Sample Buffer IgG	120 ml	Diluyente de amostras, pronto a utilizar
	6 x	Sal de solução de lavagem para 1 litro de solução de lavagem, 10mM PBS, 0,05% TWEEN20
AllergySub	80 ml	Solução de substrato, pronta a utilizar, contém pNPP
Standard 1	2 ml	Soro padrão 1, soro humano diluído; Conc.: 2,5 µg IgG/ml; em solução de proteínas estabilizada
Standard 2	2 ml	Soro padrão 2, soro humano diluído; Conc.: 10,0 µg IgG/ml; em solução de proteínas estabilizada
Standard 3	2 ml	Soro padrão 3, soro humano diluído; Conc.: 40,0 µg IgG/ml; em solução de proteínas estabilizada
Standard 4	2 ml	Soro padrão 4, soro humano diluído; Conc.: 200,0 µg IgG/ml; em solução de proteínas estabilizada
Conjugate	80 ml	Conjugado IgG anti-humano, (ovelha); pronto a utilizar; anticorpo conjugado com fosfatase alcalina em solução de proteínas estabilizada
Control high	2 ml	Soro de controlo, soro humano diluído; concentração ver certificado; em solução de proteínas estabilizada
AllergyStop R	80 ml	Solução de paragem de reação, pronta a utilizar

Table 2: Conteúdo de RIDASCREEN® Foodscreen Allergens Customized Plate (A0301)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação, personalizada; revestida com diversos antígenos alimentares, sem curva padrão
-------	--------	--

Tab. 3: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Starter Kit (A8021)

Plate 1	1 x 5	Placa de microtitulação 1, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão
Plate 2	1 x 5	Placa de microtitulação 2, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão
Plate 3	1 x 5	Placa de microtitulação 3, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão

Tab. 4: Conteúdo de RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit (A8025)

Card	1	Blood Collection Card, cartão sanguíneo para sangue capilar
	1 x 2	Lancetas esterilizadas
	2	Compressas esterilizadas embebidas em álcool
	2	Pensos esterilizados

Tab. 5: Conteúdo de RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card (A8025-BCC)

Card	100 x 1	Blood Collection Card, cartão sanguíneo para sangue capilar
------	---------	---

Tab. 6: Conteúdo de RIDASCREEN® Foodscreen Elution buffer (A8025-EB)

EB	100 ml	Solução de diluição para a diluição do sangue capilar do cartão sanguíneo
----	--------	---

Tab. 7: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Customized Plate (A8101)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação à medida do cliente, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão
-------	--------	---

Tab. 8: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Standards and Controls (A8111)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação revestida com padrões e controles
-------	--------	---

Tab. 9: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-15)

Plate 1	3 x 5	Placa de microtitulação 1, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão
---------	-------	---

Tab. 10: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 1 (A8121-05)

Plate 1	3 x 5	Placa de microtitulação 1, revestida com diversos antígenos alimentares, com curva padrão
---------	-------	---

Table 11: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-15)

Plate 2	3 x 5	Placa de microtitulação 2, revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
---------	-------	--

Table 12: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 2 (A8221-05)

Plate 2	1 x 5	Placa de microtitulação 2, revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
---------	-------	--

Table 13: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-15)

Plate 3	3 x 5	Placa de microtitulação 3, revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
---------	-------	--

Table 14 Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 3 (A8321-05)

Plate 3	1 x 5	Placa de microtitulação 3, revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
---------	-------	--

Table 15: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate 6 (A8621-15)

Plate 6	3 x 5	Placa de microtitulação 6, revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
---------	-------	--

Table 16: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 1 (A8821)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação, Painel 1; revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
-------	--------	--

Table 17: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Microtiter Plate, Panel 2 (A8822)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação, Painel 2; revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
-------	--------	--

Table 18: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Plate ES (A8823)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação ES; revestida com diversos antígenos alimentares, curva padrão incluída
-------	--------	---

Table 19: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação Pré-triagem 1, revestida com diversos antígenos alimentares; Limiar incluído
Cut-Off	10 ml	Controle do limiar, soro humano diluído; concentração: 10 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada

Table 20: Conteúdo de RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen Customized Plate (A8931)

Plate	15 x 1	Placa de microtitulação Pré-triagem personalizada, revestida com diversos antígenos alimentares; Limiar incluído
Cut-Off	10 ml	Controle do limiar, soro humano diluído; concentração: 10 µg IgG/ml; em solução de proteína estabilizada

5. Reagentes e respetiva armazenagem

O kit de teste deverá ser armazenado a uma temperatura de 2 – 8 °C e pode ser utilizado até a data de validade impressa na etiqueta. A solução tampão de lavagem diluída pode ser utilizada por um período máximo de 4 semanas, se armazenada a uma temperatura de 2 – 8 °C. A contaminação microbiana deverá ser evitada. Após a data de validade, a garantia de qualidade não será mais válida. A contaminação da solução de substrato com o conjugado deve ser evitada, uma vez que pode resultar na descoloração do substrato. A solução do substrato deverá também ser protegida da luz direta, a fim de prevenir a decomposição ou descoloração devido à hidrólise. Caso o substrato exiba uma cor amarela forte, o mesmo não poderá ser mais utilizado. Consulte também a Seção 10.3 Controle de qualidade – indicações de validade do reagente.

5.1 Armazenagem das placas de microtitulação

Uma vez que as placas de microtitulação são sensíveis à umidade do ar, as embalagens de alumínio deverão ser novamente fechadas após a remoção das placas necessárias. A bolsa do dessecante deverá permanecer na embalagem de alumínio durante todo o período de armazenagem. As placas de microtitulação podem ser armazenadas na embalagem de alumínio corretamente fechada durante a validade indicada a uma temperatura de 2 – 8 °C.

6. Reagentes adicionais necessários e acessórios necessários

6.1. Reagentes

Água destilada ou deionizada

6.2. Acessórios

Fotômetro para placas de microtitulação (com filtro de 405 e 620/630 nm), intervalo de medição 0 a 3,5 OD.

Lavadoras de placas de microtitulação para 8 – 96 cavidades

Pipeta de 12 canais

Pipeta multi-step

Agitador horizontal (para a diluição de amostras de sangue capilar)

7. Medidas de precaução

- Apenas para o diagnóstico *in vitro*.

- Este teste apenas pode ser efetuado por pessoal de laboratório qualificado. As diretrizes para o trabalho em laboratórios médicos terão de ser observadas. As instruções para realizar o teste deverão ser rigorosamente cumpridas.
- Não deverão pipetar-se as amostras ou os reagentes com a boca, e o contato com a pele ferida ou as membranas mucosas deverá ser evitado. Quando manusear as amostras, use luvas descartáveis, e quando o teste estiver concluído, lave as mãos.
- Não fume, beba ou coma nas áreas em que as amostras ou os reagentes de teste estejam a ser utilizados.
- Os soros padrão incluídos no kit foram testados quanto a HIV- e HCV-Ab, bem como HbsAg e Sífilis CFR 21.640 com resultados negativos. No entanto, deverá tratar as amostras dos pacientes e todos os materiais com os quais tenha contato como potencialmente infecciosos. Aplicam-se os regulamentos nacionais de segurança relativamente ao manuseamento e à eliminação de material potencialmente infeccioso.
- Os soros padrão, o conjugado e o concentrado de solução de lavagem contêm azida de sódio como conservante. Esta substância não deverá entrar em contato com a pele ou com as membranas mucosas. Poderão produzir-se azidas de metais explosivos em contacto com tubos de chumbo e cobre.
- Evitar o contato da pele, dos olhos e das roupas com o reagente bloqueador ou a solução do substrato. Em caso de contato com a pele, lavar imediatamente com água e sabão. Em caso de contato com os olhos, enxaguar durante 15 minutos sob água corrente, mantendo as pálpebras abertas; consulte imediatamente um médico. Em caso de ingestão, beba muita água, evite o vômito e consulte imediatamente um médico.
- A eliminação correta de todos os componentes do kit após utilização é de sua exclusiva responsabilidade. (consulte também as fichas de dados de segurança dos componentes incluídos no kit).
- Todos os reagentes ou materiais que entrarem em contato com amostras potencialmente infecciosas devem ser tratados com os desinfetantes adequados ou submetidos à autoclavagem a uma temperatura de 121 °C por pelo menos uma hora.

8. Coleta e armazenagem das amostras (soro e sangue capilar)

O RIDASCREEN[®] Spec. IgG Foodscreen foi desenvolvido para testar soro humano e sangue capilar.

Após a coleta de sangue, o soro deverá ser separado dos coágulos o mais rapidamente possível depois da coagulação, a fim de evitar a hemólise. As amostras de soro deverão ser conservadas frescas (2 – 8 °C) ou congeladas (-20 °C) até à realização dos testes. Deverá evitar-se o congelamento e o descongelamento repetidos do soro, bem como a contaminação microbiana. A utilização de soros inativados por calor, lipêmicos, hemolíticos, ictericos ou turvos poderá conduzir a resultados falsos.

Na utilização de amostras de sangue capilar no teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é necessário utilizar os acessórios correspondentes (A8025 RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Kit, A8025-BCC RIDASCREEN® Foodscreen Blood Collection Card e A8025-EB RIDASCREEN® Foodscreen Elution buffer). Apenas estes acessórios foram validados para este teste. As amostras de sangue capilar secas presentes na Blood Collection Card (componente de A8025 e A8025-BCC) são estáveis mediante armazenamento em local seco durante um período máximo de 3 semanas, a uma temperatura ambiente (20 – 25 °C). A amostra de sangue capilar não deverá ser armazenada no refrigerador.

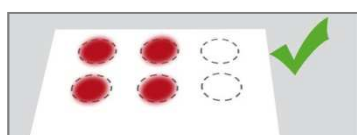
Tabela 21: Estabilidade dos vários tipos de amostras

soro não diluído		soro diluído	Amostra de sangue capilar seca	Eluído da amostra de sangue capilar
2 – 8 °C	-20 °C	20 – 25 °C	20 – 25 °C	20 – 25 °C
1 mês	>3 meses	max. 6 horas	3 semanas	Máx. 6 horas

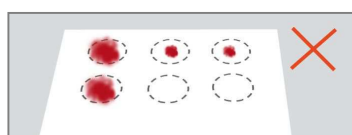
Nota importante para a manipulação de amostras de sangue capilar:

Os círculos no cartão sanguíneo devem estar totalmente preenchidos com sangue. Verifique também se os círculos no verso do cartão estão bem impregnados.

Círculos bem preenchidos



Círculos mal preenchidos



9. Procedimento de teste

9.1. Informações gerais

Antes da utilização, todos os reagentes, soros de pacientes e a placa de microtitulação deverão ser colocados à temperatura ambiente (importante). Os reagentes deverão

ser bem misturados imediatamente antes da utilização. Após a utilização, o kit de reagentes deve ser imediatamente rearmazenado à temperatura de 2 – 8 °C.

As placas de microtitulação revestidas não podem ser utilizadas mais do que uma vez. Os reagentes e as placas de microtitulação não podem ser utilizados se a embalagem estiver danificada ou se os recipientes estiverem vazados.

As placas de microtitulação revestidas podem ser utilizadas com reagentes de cargas de kits distintas!

A utilização de períodos e temperaturas de incubação diferentes dos prescritos resulta numa deslocação na curva padrão face ao certificado. Diferenças significativas nos valores da curva padrão poderão resultar em resultados de teste inválidos.

As adaptações do período e/ou temperatura de incubação para, por exemplo, um processamento totalmente automatizado do teste terá de ser realizadas (validadas) pelo fabricante.

O teste deverá ser efetuado ao abrigo da luz solar direta. Recomendamos que as placas de microtitulação sejam cobertas.

9.2. Preparação da solução de lavagem

Dissolver um pacote do sal de solução de lavagem num litro de água destilada. Prepare apenas a quantidade de solução de lavagem necessária para o teste em curso. A solução de lavagem diluída apenas pode ser armazenada por um período limitado de 4 semanas (2 – 8 °C).

9.3. Preparação das placas de microtitulação

As placas de microtitulação revestidas podem ser utilizadas diretamente. Antes da pipetagem, as placas deverão ser rotuladas com o nome ou o número do paciente.

9.4. Diluição de amostras

9.4.1 Diluição de amostras; Amostras de soro

Diluir todas as amostras de soro com diluente de amostras na proporção de **Sample Buffer IgG** 1:100.

Tab. 22: Medidas recomendadas de diluição das amostras

Testes Prescreen		até 50 determinações		até 100 determinações		até 300 determinações	
Soro	Solução	Soro	Solução	Soro	Solução	Soro	Solução
20 µl	2,0 ml	40 µl	4,0 ml	70 µl	7,0 ml	200 µl	20,0 ml

9.4.2. Eluição de amostras; amostras de sangue capilar

A amostra de sangue capilar seca é agitada com a solução da eluição em recipiente adequado durante **EB** 1 (-14) hora(s) a 20 – 25 °C num agitador horizontal.

Correspondendo à quantidade de determinações, os círculos **Card** cheios com sangue devem ser perfurados na linha de perfuração.

Para empurrar para fora os círculos secos preenchidos com sangue com o dedo, deverão ser utilizadas luvas descartáveis. Alternativamente, os círculos também podem ser empurrados para fora com um objeto esterilizado adequado, por exemplo, com a ponta de uma pipeta ou uma espátula laboratorial.

Tab. 23: Medidas recomendadas de eluições de amostras

Testes Prescreen		até 50 determinações		até 100 determinações		até 300 determinações	
Amostra	EB	Amostra	EB	Amostra	EB	Amostra	EB
2 círculo	4,0 ml	2 círculo	4,0 ml	4 círculos	8,0 ml	6 círculos	12,0 ml

O eluído da amostra de sangue capilar já corresponde à amostra diluída do paciente e é pipetada para a placa de microtitulação de acordo com as instruções.

9.5. Primeira incubação (incubação de soro)

Introduza, com a ajuda de uma pipeta, 50 µl de cada um dos soros padrão **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4**, o controlo **Control high** ou **Cut-Off*** e o soro diluído do paciente ou o eluído da amostra de sangue capilar nas cavidades da placa de microtitulação **Plate** seguindo o esquema de pipetagem. Em seguida as placas são incubadas durante 90 min. à TA (20 – 25 °C). As placas podem ser empilhadas na ordem da pipetagem; cubra a placa superior.

* O cut-off só é necessário para o tratamento do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 (A8921) e Customized plates (A8931).

9.6. Lavagem

Lave as cavidades três vezes com 350 µl de solução de lavagem diluída por cada cavidade em uma lavadora. Se possível, para essa etapa use uma unidade de lavagem automática para a placa de microtitulação ELISA. A última aspiração deve ocorrer da forma mais quantitativa possível. Para remover o excesso da solução de lavagem é possível bater levemente com as placas sobre um tecido absorvente após a lavagem.

9.7. Segunda incubação (incubação do conjugado)

Em cada uma das cavidades são pipetadas 50 µl de conjugado **Conjugate**. Em seguida as placas **Plate** são incubadas durante 90 min. a 20 – 25 °C. As placas **Plate** podem ser empilhadas na ordem da pipetagem; cubra a placa **Plate** superior.

9.8. Lavagem

Lavagem – ver Ponto 9.6.

9.9. Terceira incubação (incubação do substrato)

Em cada uma das cavidades são pipetadas 50 µl de solução de substrato (pronto a utilizar) **AllergySub**. Em seguida as placas **Plate** são incubadas durante 60 min. a 20 - 25 °C. As placas **Plate** em incubação não deverão ser expostas à luz solar direta. As placas **Plate** podem ser empilhadas na ordem da pipetagem; cubra a placa **Plate** superior.

9.10. Paragem da reação e medição

Para parar a reação, adicione 50 µl da solução de paragem de reação **AllergyStop R** em cada uma das cavidades. Em seguida, bata levemente na placa **Plate** para conseguir uma mistura completa dentro das cavidades. A medição da absorvância ocorre a 405 nm usando um comprimento de onda de referência de 620/630 nm. As placas **Plate** podem ser novamente medidas após 24 horas, se tiverem sido cobertas e armazenadas no frio.

10. Controlo de qualidade

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

Standard 1, **Standard 2**, **Standard 3**, **Standard 4** assim como o controle **Control high** devem ser sempre tested on each plate at the same time.

A realização correta do teste ocorrerá quando os critérios a seguir forem cumpridos (Todos os números referem-se a uma medição da diferença entre 405 nm e 620 nm (ou 630 nm) [OD_{405/620}]):

- **Standard 4** > 1.0.
- **Standard 2** menos **Standard 1** ≥ 0.08
- **Standard 3** menos **Standard 2** ≥ 0.30
- **Standard 4** menos **Standard 3** ≥ 0.70

10.2.: Avaliação RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen: A8921, A8931

Cada vez que o teste é realizado, têm de ser testados simultaneamente os controles cut-off **Cut-Off** em cada placa. O teste foi realizado corretamente quando os seguintes critérios tiverem sido observados OD_{405/620}:

- **Cut-Off** ≥ 0.200 OD

10.3. Indicações de fim de validade do reagente

Se os valores diferirem dos valores estipulados ou se o reagente estiver turvo ou se o substrato apresentar uma coloração muito amarela antes de serem adicionados às cavidades, tal poderá indicar que os reagentes estão fora da validade.

Se os valores estipulados não forem cumpridos, é necessário verificar os seguintes pontos antes de repetir os testes:

Data de validade dos reagentes utilizados.

Funcionalidade do equipamento utilizado (por exemplo, calibração).

Procedimento de teste correto.

Uma solução de substrato com coloração amarela já não pode ser utilizada

Se mesmo após repetição do teste as condições ainda não tiverem sido preenchidas, contate o fabricante.

11. Avaliação e interpretação

11.1. Resultados para o teste

11.1.1. Bases de cálculo

Para avaliar o teste é necessário preparar uma curva padrão válida, um cálculo baseado na curva padrão é um pré-requisito. Para esse efeito, processam-se os padrões de cada placa. Para elaborar a curva padrão, os valores de extinção dos padrões são representados semi-logaritmicamente (apresentação y-lin-/x-log) em função das concentrações associadas ($\mu\text{g/ml}$) numa apresentação ponto a ponto. Se um padrão estiver presente duas vezes na placa de microtitulação (A8621, placa 6), são utilizados os valores de extinção médios das determinações duplas dos padrões para elaborar a curva padrão. A curva padrão pode ser utilizada para determinar as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) dos anticorpos IgG específicos. As mesmas podem ser convertidas para classes IgG (consulte as tabelas 24 e 25). A avaliação também pode ser realizada recorrendo a um software apropriado.

A curva padrão do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen foi calibrada em função da preparação de referência internacional "1st WHO IRP 67/86 for human IgG".

11.1.2. Concentrações, classes IgG, cálculos para RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen

Tab. 24: Relação entre os valores de µg/ml, classes de IgG determinados e os teores de IgG de antígenos específicos do paciente a partir de uma amostra de soro:

µg / ml	Classe IgG	Quantidade de IgG específico de alérgeno	Classe IgG alternativa	Quantidade de IgG específico de alérgeno
< 7,5	0 (0,0 – 0,9)	negativo	0 (0,0 – 0,9)	negativo
7,5 – 12,49	1 (1,0 – 1,9)	fraco (título normal)	1 (1,0 – 1,9)	aumentado
12,5 – 19,99	2 (2,0 – 2,9)	aumentado		
20,0 – 49,99	3 (3,0 – 3,9)	alto	2 (2,0 – 2,9)	muito aumentado
≥ 50	4 (4,0 – 4,9)	muito alto		

Os valores referidos são meramente indicativos. Os padrões internacionais para os IgG específicos contra alimentos não estão referidos a nível mundial.

Tab. 25: Relação entre os valores de µg/ml, classes de IgG determinados e os teores de IgG de antígenos específicos do paciente a partir de uma amostra de sangue capilar:

µg / ml	Classe IgG	Quantidade de IgG específico de alérgeno	Classe IgG alternativa	Quantidade de IgG específico de alérgeno
< 8,0	0 (0,0 – 0,9)	negativo	0 (0,0 – 0,9)	negativo
8,0 – 17,99	1 (1,0 – 1,9)	fraco (título normal)	1 (1,0 – 1,9)	aumentado
18,0 – 39,99	2 (2,0 – 2,9)	aumentado	2 (2,0 – 2,9)	muito aumentado
≥ 40	3 (3,0 – 3,9)	alto		

Os valores referidos são meramente indicativos. Os padrões internacionais para os IgG específicos contra alimentos não estão referidos a nível mundial.

Tab. 26: Avaliação e interpretação do RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen Prescreen 1 e Customized (A8921, A8931) a partir de uma amostra de soro ou de sangue capilar:

Q	Avaliação	Interpretação
≤ 1,0	–	Negativo
> 1.0	+	Fraco
≥ 2.5	++	Aumentado
≥ 5.0	+++	Elevado

$Q = OD_{405/620} (\text{amostra}) / OD_{405/620} (\text{cut-off})$. O teste é válido, se $OD_{405/620} \text{ Cut-off} \geq 0.20$

12. Limitações do método

As concentrações de IgG determinadas com este sistema de teste permitem retirar conclusões sobre o grau de sensibilização do paciente a antígenos alimentares ou misturas testados.

Estas concentrações não podem, no entanto ser utilizadas para deduzir a relação entre a concentração de IgG determinada e a ocorrência ou seriedade de sintomas clínicos. Os resultados obtidos têm de ser sempre interpretados em combinação com o quadro clínico completo.

Os resultados de testes positivos falsos podem ser produzidos por reatividade cruzada dos antígenos testados com epítomos de outros antígenos.

Não se pode excluir a ausência de epítomos que desencadeiam os antígenos através da produção de extratos alimentares e do revestimento das placas de microtitulação, o que poderia conduzir a resultados negativos falsos. Os anticorpos IgG contra antígenos alimentares que apenas se manifestam aquando da sua preparação industrial, da preparação de alimentos ou durante a digestão, poderão não ser detectáveis, uma vez que não estão presentes no alimento original relativamente ao qual o paciente é testado.

13. Características de desempenho

13.1 Precisão

A precisão do teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen foi avaliada com amostras de referência que abrangem todo o intervalo de medição. Para a precisão inter-lote, foram testados três lotes de reagente e dois lotes de placas de microtitulação. No caso da precisão intra-ensaio, as amostras foram testadas por cinco dias com duas execuções para cada uma.

Tab. 27: Precisão inter-ensaio

Amostras	2
Réplicas (por amostra)	30 (15)
CV médio	8,1 %

Tab. 28: Precisão inter-ensaio

Amostras	2
Réplicas (por amostra)	60 (30)
CV médio	11,1 %

Tab. 29: Precisão inter-lote

N.º de lotes	3 x reagentes, 2 x placas de microtitulação
Amostras / combinações	3 / 18
Réplicas (por comb.)	54 (3)
CV médio	19,1 %

Com base nas medições de precisão Intra-Ensaio, Inter-Ensaio e Inter-Lote, pode concluir-se que o teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen é preciso e reproduzível sob condições alteradas e de repetibilidade, assim como para diversos lotes de reagentes e de placas de microtitulação diferentes para toda a gama pretendida pelo teste.

13.2 Estabilidade

13.2.1 Estabilidade após transporte

A estabilidade durante o transporte foi investigada para os reagentes e placas de microtitulação do teste RIDASCREEN® Spec. IgG Foodscreen. Duas simulações de transporte e uma situação real de transporte foram investigadas. As temperaturas durante o transporte e durante as simulações foram monitoradas com um registrador de dados. As temperaturas entre 4,5 °C e 45,0 °C foram registradas.

Nenhum resultado do teste foi influenciado pelas condições de transporte.

13.2.2 Estabilidade dos componentes abertos do kit

O kit foi analisado em relação à sua estabilidade após a abertura de cada componente individual do kit ao longo de um período de 6 semanas.

Tanto os reagentes como as placas de microtitulação não mostraram qualquer resultado de perturbação ao longo do período de 6 semanas.

13.3 LOD

O limite de detecção (LOD) é uma medida da sensibilidade do teste para concentrações muito baixas do analito.

Um LOD médio de aproximadamente 4 µg/ml foi calculado através das análises.

13.4 Interferência

Foram testadas as seguintes substâncias de interferência conhecidas: Hemoglobina, Bilirrubina, triglicerídeos, HSA.

Nenhuma das substâncias listadas mostrou uma perturbação significativa nos resultados do teste.

É importante mencionar que as combinações dessas substâncias não foram testadas. Portanto, é sempre importante avaliar o quadro clínico completo do paciente, especialmente se foram obtidos resultados implausíveis de amostras hemolíticas, hemorrágicas ou lipêmicas.

13,5. Comparação de métodos

Tab. 30: Comparação com o Disco de Alérgeno RIDASCREEN® Spec. IgG (A0629)

Alérgenos testados	88
Amostras	5
Concordância geral	95,45%

Bibliografia

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

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

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

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

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

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

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