

VERSION MÉDITERRANÉENNE

Allerquant™

Trousse ELISA IgG

pour 90 aliments

REF 7191

Pour l'analyse semi-quantitative des anticorps contre 90 allergènes alimentaires dans le sérum humain

décembre 2014



I. APPLICATION

Le test *Allerquant 90G IgG Elisa Test* sert à mesurer la quantité relative d'anticorps IgG spécifiques à certains aliments dans le sérum humain. Les valeurs obtenues doivent toujours être mises en corrélation avec les signes cliniques, dans la mesure où la concentration élevée d'un certain anticorps spécifique à un aliment ne signifie pas nécessairement à elle seule la présence de maladie. Cette trousse ne fournit pas d'informations sur les allergies médicamenteuses par les IgE.

II. CONTEXTE

L'intolérance alimentaire et le rôle des aliments et des additifs en tant qu'agents causaux de maladies liées à l'hypersensibilité alimentaire suscitent depuis de nombreuses années un vif intérêt. Les aliments fréquemment incriminés sont le lait de vache, les œufs, le blé, le maïs, le chocolat, les noix, le soja et les crustacés. Le lait de vache provoque une réaction allergique chez environ 0,5 % des nourrissons. Certaines études suggèrent que dans chaque cas d'hypersensibilité alimentaire établie chez un enfant, la probabilité d'une hypersensibilité alimentaire chez les enfants de la même famille augmente jusqu'à 50 %. La plupart des aliments d'un même groupe peuvent posséder les mêmes propriétés allergéniques et parfois même les aliments de deux groupes distincts peuvent également entraîner des réactions allergiques croisées. Pour réduire les réactions d'intolérance alimentaire à certains aliments, la consommation d'aliments cuits est parfois recommandée car ils sont souvent moins allergéniques que les aliments crus.

Les symptômes d'intolérance alimentaire sont le plus souvent de nature gastro-intestinale, notamment des nausées, des diarrhées et des douleurs abdominales. Les manifestations cliniques d'intolérance alimentaire comprennent également des symptômes allergiques classiques de type anaphylaxie, rhinite spasmodique, dermatite atopique et urticaire. Le rôle d'intolérance alimentaire dans certaines conditions telles que les migraines et le syndrome allergique tension-fatigue prête à controverse. Il est important de se rappeler que les

symptômes d'intolérance alimentaire, tout particulièrement les symptômes gastro-intestinaux, peuvent être la manifestation de toutes sortes de conditions diverses.

III. PRINCIPE DU TEST

Des allergènes spécifiques sont immobilisés séparément sur des puits de microtitration. On laisse réagir les allergènes avec des anticorps spécifiques présents dans le sérum du patient. Les protéines de sérum excédentaires sont éliminées lors de la phase de nettoyage. On laisse réagir un conjugué anticorps-enzyme avec le complexe allergène-anticorps. L'adjonction d'un substrat réagissant avec l'enzyme couplée entraîne le développement d'une coloration. L'intensité de la coloration est mesurée et est directement proportionnelle à la concentration d'anticorps IgG par rapport à un allergène particulier.

IV. RÉACTIFS ET MATÉRIAUX

Cette trousse d'analyse contient suffisamment de puits et de réactifs pour dépister la présence d'anticorps contre 90 différents aliments dans le sérum de 3 patients.

PLA FOOD = Plaques à micropuits recouverts d'extraits alimentaires	3 plaques
DIL SPE 1X = Diluant pour échantillon (vert).....	1 x 56 ml
BUF WASH 66.67X = Tampon de lavage (concentré).....	1 x 30 ml
CAL FOOD IgG = Étalon IgG.....	1 ml
CTRL + IgG = Contrôle positif IgG.....	1 ml
CONJ ENZ IgG-HRP = Conjugué IgG-HRP.....	1 x 40 ml
SUBS A TMB = Solution de substrat A (TMB).....	2 x 12 ml
SUBS B H2O2 = Solution de substrat B (peroxyde d'hydrogène).....	2 x 12 ml
SOLN STOPPING = Solution blocante (1N H ₂ SO ₄).....	1 x 20 ml

V. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Risque biologique

La source de la calibrateurs et des contrôles est le sérum humain. Le sérum humain utilisé a été testé quant à l'absence d'anticorps HbsAg, anti-VIH 1/2 et anti-hépatite C avec des réactifs agréés par la FDA. Néanmoins, comme il n'existe aucune méthode d'analyse qui puisse totalement garantir l'absence de virus VIH, de l'hépatite B ou de tout autre agent infectieux, ces réactifs doivent être manipulés avec les précautions habituellement observées avec des échantillons présentant un risque biologique.

2. Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre ou le laiton pour former des azides métalliques explosifs. Après évacuation de ces produits dans les canalisations, faire couler l'eau abondamment afin d'éviter toute accumulation d'azide.

3. Solution blocante

La solution blocante est constituée de 1N H₂SO₄. Il s'agit d'un acide puissant qui doit être manipulé avec précaution. Il peut causer des brûlures et doit être manipulé avec des gants. Porter une protection oculaire et des vêtements de protection appropriés. Éviter toute inhalation. Diluer tout acide déversé avec de l'eau avant de l'éponger au moyen de papier absorbant.

VI. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON DU PATIENT

Diluer le sérum du patient au 1/100 dans le diluant pour échantillon. Prélever 0,1 ml du sérum du patient et ajouter à 10 ml de diluant pour échantillon.

VII. PRÉPARATION ET CONSERVATION DES RÉACTIFS

- Tampon de lavage :** Verser le contenu de la fiole dans un flacon de 2 000 ml avec de l'eau distillée et ajuster à 2 000 ml avec de l'eau distillée. Apposer l'étiquette Tampon de lavage actif et réfrigérer à 2-8°C. À cette température, le tampon de lavage actif est stable pendant 6 mois.
- Solution de substrat :** Mélanger les solutions de substrat « A » et « B » en proportions égales 30 minutes avant emploi. (*Par exemple, mélanger 5 ml de chaque solution pour chaque patient ou plaque à utiliser*). Jeter le mélange de solutions de substrat inutilisé. Replacer le bouchon qui convient sur chaque solution en veillant à ne pas les inverser. Si le mélange de solutions de substrat présente une coloration bleue avant emploi, elle doit être jetée. Le mélange de solutions de substrat est stable pendant 60 minutes à température ambiante.

VIII. PROCÉDURE D'ANALYSE

Porter tous les réactifs de la trousse d'analyse à température ambiante avant emploi.

- PRÉPARATION DE LA COURBE D'ÉTALONNAGE :** Apposer des étiquettes 50, 100, 200 & 400 U/ml sur quatre tubes à essai de 12 x 75 mm. Verser dans ces quatre tubes 150 µl de diluant pour échantillon. Ajouter dans le tube « 400 U/ml » 150 µl d'agent d'étalonnage alimentaire. Mélanger et transférer 150 µl dans le tube « 200 U/ml ». Mélanger et transférer 150 µl dans le tube « 100 U/ml ». À nouveau, mélanger et transférer 150 µl dans le tube « 50 U/ml ». Vous devriez à ce stade avoir 150 µl dans les tubes 100, 200 & 400 U/ml et 300 µl dans le tube 50 U/ml. Il s'agit de la courbe d'étalonnage à utiliser dans l'analyse. À partir de chaque tube, transférer 100 µl vers la microplaque comme suit.

Tube	Puits
50 U/ml	1B
100 U/ml	1C
200 U/ml	1D
400 U/ml	1E

- Ajouter 100 µl de diluant pour échantillon au puits 1A et 100 µl de contrôle positif au puits 1F.
- Placer 100 µl du sérum dilué (**voir Préparation de l'échantillon du patient – Section VI ci-dessus**) dans tous les autres puits. Chaque puits devrait contenir 100 µl de liquide.

- Recouvrir les plaques d'un film ou emballage plastique et incuber à température ambiante (22-25°C) pendant une heure.
- Après une incubation d'une heure, laver trois fois tous les micropuits en utilisant à chaque fois 300 µl de tampon de lavage actif. (**Voir Préparation des réactifs – Section VII**). Si vous utilisez un laveur automatique, référez-vous aux instructions du fabricant pour obtenir la procédure de lavage à trois cycles avec un volume de lavage de 300 µl.
- Ajouter 100 µl de conjugué IgG-HRP à chacun des puits.
- Incuber les plaques pendant 30 minutes à température ambiante (22-25°C).
- Laver à nouveau les plaques comme à l'étape 4.
- Ajouter 100 µl de mélange de substrat actif dans chacun des puits (voir Préparation et conservation des réactifs).
- Recouvrir les plaques et incuber pendant 10 minutes à température ambiante (22-25°C).
- Ajouter 50 µl de solution bloquante dans chacun des puits. (Le liquide bleu dans les puits prendra une coloration jaune).
- Régler le lecteur de microplaques sur 450 nm et lire l'absorbance dans tous les puits.

IX. CALCUL DES RÉSULTATS

Méthode automatisée

À l'aide d'un programme de régression automatisée pour traiter les données, des résultats acceptables seront obtenus avec la méthode (1) courbe spline cubique, (2) point par point ou (3) quadratique. Interpoler les valeurs des patients à partir de la courbe d'étalonnage.

Méthode manuelle

- Déterminer l'absorbance de chaque étalon, contrôle et échantillon.
- Construire une courbe dose-effet, où l'absorbance de chaque étalon est indiquée en fonction de la concentration correspondante sur papier graphique semi-logarithmique ou linéaire. Tracer une ligne droite entre 2 points adjacents. Cet algorithme mathématique est couramment appelé calcul « point par point ».
- Lire les concentrations des échantillons directement à partir du graphique.

X. CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Pour que le test soit valide, il doit être conforme aux spécifications de densité optique (DO) suivantes à 450 nm.

DO puits 1A	< 0,2
DO puits 1B	> 1,2 x DO 1A
DO puits 1C	> 1,2 x DO 1B
DO puits 1D	> 1,2 x DO 1C
DO puits 1E	> 1,2 x DO 1D
Concentration positive	> 100 U/ml

XI. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les mesures d'absorbance, après extrapolation sous U/ml Biomerica, doivent être interprétées comme suit pour chaque allergène ou extrait.

MESURE	INTERPRÉTATION	
< 50 U/ml	Négatif	0
50 - 100 U/ml	Légèrement intolérant	+1
100 -200 U/ml	Modérément intolérant	+2
> 200 U/ml	Extrêmement intolérant	+3

XII. RÉFÉRENCES

- All, M., et al. *Serum concentration of allergy specific IgG antibodies in inhalant allergy*. Effects of specific immunotherapy. **Amer. J Clin. Pathol.**, **80**, 290, 1983
- Farrel, M. *Food allergy*, in Manual of Allergy and Immunology, ed: **Lawlor, G.J. and Fischer, T.J.**, 1982
- El Rafei, A., Peter, S.M., Harris, N., Bellanti, J.A., *Diagnostic value of IgG4 measurements in patients with food allergy*. **Annals of Allergy.**, **62**, 94-99, 1989
- Kanny, F.K., Moneret-Vautrun, D.A., Flabbee, J., Beaudouin, E., Morisset, M., and Thevenin, F. *Population study of food allergy in France*, **Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology**, France, 2000
- Calkhoven, P.G., Aalbers, M., Koshte, V.L., Schilte, P.P.M., Yntema, J.L., Griffioen, R.W., Van Nierop, J.C., Oranje, A.P., and Allberse, R.C. *Relationship between IgG1 and IgG4 antibodies to foods and the development of IgE antibodies to inhalant allergens. II. Increased levels of IgG antibodies to foods in children who subsequently develop IgE antibodies to inhalant allergens*, **Clinical and Experimental Allergy**, **21**, 99-107, 1991
- Pastorello, E.A., Stocchi, L., Pravettoni, V., Bigi, A., Schilke, M.L., Incorvaia, C. and Zanusi, C., *Role of the elimination diet in adults with food allergy*, **J Allergy Clin. Immunol**, **84**, 475-83 1989
- Bock, S. *A critical evaluation of clinical trials in adverse reactions to foods in children*, **J. Allergy Clin. Immunol.** July 1986
- Ali, M., Ramanarayanan, M.P., Nalebuff, D.J., Fadal, R.G. and Willoughby, J.W., *Serum Concentrations of Allergen-specific IgG Antibodies in Inhalant Allergy: Effect of Specific Immunotherapy*. **American Society of Clinical Pathologists**, **0002-9173/83/0900/0290**, 1982
- Sampson, H. A. *Role of immediate food hypersensitivity in the pathogenesis of atopic dermatitis*, **J Allergy Clin. Immunol**, **71**, no5, pp. 473-480, 1983
- Hoffman, D.R., *Immunochemical identification of the allergens in egg white*, **J Allergy Clin. Immunol.**, **72**, no 5 pp. 481-486 1983
- Pichler, W.J., Stadler, B.M., Dalhinden, C., Pecoud, A.R., Frei, P.C., Schneider, C., and DeWeck, A.L. *Progress in Allergy and Clinical Immunology*, **Proceedings of the 13th Int'l Congress of Allergology and Clinical Immunology** pp.299-303
- Abdelnoor, A.M., Kobeissy, F., Farhat, D., Hadi, U., *Circulating immune complexes and complement C3 and C4 levels in selected group of patients with rhinitis in Lebanon*, **Clin Mol. Allergy**, **2** (1), 6, 2004

- Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ., *Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial*. **Gut**. 2004 Oct;**53**(10):1459-64
- Kalliomaki MA., *Food allergy and irritable bowel syndrome*. **Curr Opin Gastroenterol**. 2005 Nov;**21**(6):708-11.
- Zuo XL, Li YQ, Li WJ, Guo YT, Lu XF, Li JM, Desmond PV. *Alterations of food antigen-specific serum immunoglobulins G and E antibodies in patients with irritable bowel syndrome and functional dyspepsia*. **Clin Exp Allergy**. 2007 Jun;**37**(6):823-30.
- Thabane, M., Simunovic, M. Akhtar-Danes, N., et al. *An outbreak of acute bacterial gastroenteritis is associated with an increased incidence of irritable bowel syndrome in children*. **Am J Gastroenterol**, **105**, 933-939, 2010
- Saito YA., Petersen GM., Larson JL., et al. *Familial Aggregation of Irritable Bowel Syndrome: A Family Case-Control Study*. **Am J Gastroenterol**, **105**, 833-841, 2010

XIII. SYMBOLES

	Température de conservation
	Code de fournée
	Expiration
	Fabricant
	Agent agréé
	Précaution, voir des instructions
	Pour un diagnostic in vitro
	N° de catalogue

XIV. COMMANDE DE PRODUITS

D'autres produits de dépistage d'allergies alimentaires médiées par les IgG sont disponibles auprès de Biomerica sous plusieurs configurations. Pour plus d'informations sur ces configurations d'analyse, veuillez contacter le Service clientèle.

COMMANDES :



BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, California 92614 USA

2°C / 8°C



Phone: +1(949) 645-2111
FAX: +1(949) 553-1231
E-Mail: bmra@biomerica.com

67191-4_fre.doc

décembre 2014



according to IVDD 98/79/ EC
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Germany

Table de microplaques méditerranéennes pour 90 aliments (1 patient)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<i>Diluant pour échantillon</i>	Pomme	Brocoli	Bette	Morue	Ail	Laitue, laitue iceberg	Graine de moutarde	Poire	Riz	Courge	Truite
B	Étalon 1	Artichaut	Beurre	Fromage (au lait caillé)	Café	Raisin, blanc/noir	Citron	Avoine	Poivre	Seigle	Calmar	Thon
C	Étalon 2	Asperges	Chou	Fromage (affiné)	Noix de cola	Pamplemousse	Lentilles	Olive	Haricot pinto	Saumon	Fraise	Dinde
D	Étalon 3	Avocat	Sucre de canne	Pois chiche	Maïs	Petits pois	Haricot de Lima	Oignon	Ananas	Sardine	Haricot vert	Noix noire
E	Étalon 4	Banane	Melon cantaloup	Poulet	Lait de vache	Poivre vert	Homard	Orange	Prune	Crevette	Graine de tournesol	Blé
F	Contrôle positif	Orge, grains entiers	Carotte	Chocolat	Concombre	Merlu	Malt	Persil	Porc	Sole	Patate douce	Levure de boulanger
G	Amande	Bœuf	Chou-fleur	Cannelle	Œuf, blanc/jaune	Miel	Marjolaine	Pêche	Pomme de terre	Soja	Thé, noir	Levure de bière
H	Fromage américain	Betteraves	Céleri	Palourde	Aubergine	Agneau	Champignon	Cacahuète	Lapin	Épinard	Tomate	Yaourt

décembre 2014 7191