

VERSIÓN MEDITERRÁNEA

Allerquant™ Kit ELISA IgG para 90 alimentos

REF 7191

Para el análisis semicuantitativo de anticuerpos
a 90 alérgenos de alimentos en suero humano

diciembre 2014



I. USO PREVISTO

La Prueba Elisa IgG Allerquant 90G sirve para medir la cantidad relativa de anticuerpos IgG específicos de los alimentos presentes en el suero humano. Los valores obtenidos siempre deben estar correlacionados con la presentación clínica, dado que la elevación de un determinado anticuerpo específico de los alimentos por sí mismo no indica necesariamente una enfermedad. Este kit no proporciona información sobre las alergias con mediación de IgE.

II. ANTECEDENTES

El tema de la intolerancia alimentaria y el papel de los alimentos y los aditivos alimentarios como factores causativos de las enfermedades de hipersensibilidad a los alimentos han suscitado un interés considerable durante muchos años. Entre los alimentos que suelen ser alergénicos se encuentran la leche de vaca, los huevos, el trigo, el maíz, el chocolate, los frutos secos, la soja y los mariscos. Aproximadamente un 0,5% de los niños pueden manifestar una reacción de hipersensibilidad a la leche de vaca. Estudios de investigación dan a entender que, en caso de que haya un niño con hipersensibilidad alimentaria probada, la probabilidad de que sus hermanos subsiguientes padezcan hipersensibilidad alimentaria aumenta hasta el 50%. La mayoría de los alimentos que pertenecen a un grupo pueden compartir propiedades alergénicas comunes y, en ocasiones, alimentos de dos grupos diferentes también pueden mostrar reacciones alérgicas cruzadas. Para minimizar determinadas de intolerancia a los alimentos, es recomendable cocinarlos, ya que los alimentos cocidos pueden ser menos alergénicos que los alimentos crudos.

Los síntomas más comunes de la alergia alimentaria son los trastornos gastrointestinales, que pueden incluir náuseas, diarrea y dolor abdominal. Las manifestaciones clínicas de la intolerancia alimentaria también incluyen los síntomas clásicos de una alergia, como anafilaxia, rinitis alérgica, dermatitis atópica y urticaria. El papel de la intolerancia alimentaria en condiciones como migrañas y el síndrome de tensión-fatiga alérgico es controvertido. Es importante recordar que los síntomas de la intolerancia alimentaria, especialmente los síntomas gastrointestinales, pueden ser producidos por otras condiciones diferentes.

III. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los alérgenos específicos se inmovilizan de forma aislada en pozos de microtitulación. Los alérgenos pueden reaccionar con determinados anticuerpos presentes en el suero del paciente. Las proteínas sobrantes del suero se eliminan con el proceso de lavado y el conjugado de anticuerpos marcado con enzimas puede reaccionar con un complejo alérgeno-anticuerpo. La adición de un sustrato que reacciona con la enzima acoplada desarrolla un color. La intensidad del color se puede medir y es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos IgG específicos de un alérgeno concreto.

IV. REACTIVOS Y MATERIALES

Este kit de prueba contiene suficientes pocillos y reactivos para analizar los anticuerpos del suero de 3 pacientes a 90 alimentos diferentes.

PLA FOOD = Placas de micropocillos recubiertos con extractos de alimentos	3 placas
DIL SPE 1X = Diluyente de muestra (verde)	1 x 56 ml
BUF WASH 66.67X = Amortiguador de lavado (concentrado)	1 x 30 ml
CAL FOOD IgG = Calibrador IgG de alimentos.....	1,0 ml
CTRL + IgG = Control positivo IgG de alimentos.....	1,0 ml
CONJ ENZ IgG-HRP = Conjugado IgG-HRP de alimentos	1 x 40 ml
SUBS A TMB = Solución de sustrato A (TMB).....	2 x 12 ml
SUBS B H2O2 = Solución de sustrato B (peróxido de hidrógeno).....	2 x 12 ml
SOLN STOPPING = Solución de parada (1N H ₂ SO ₄)	1 x 20 ml

V. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Material de riesgo biológico potencial

La fuente de los calibradores y controles es el suero humano. Se ha comprobado con reactivos autorizados por la FDA que el suero humano utilizado no es reactivo a HbsAg, anti-VIH 1/2 ni anti-HCV. Dado que no hay ninguna otra prueba que pueda ofrecer una garantía completa de la ausencia de los virus VIH, de hepatitis B u otros agentes infecciosos, estos reactivos deben considerarse potencialmente infecciosos.

2. Azida sódica

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede reaccionar con el plomo, el cobre o el bronce y formar azidas metálicas explosivas. Al desechar estos materiales, enjuague siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas.

3. Solución de parada

La solución de parada se compone de 1N H₂SO₄. Se trata de un ácido concentrado que debe manejarse con precaución. Puede provocar quemaduras, por lo que debe ponerse guantes. Es necesario llevar gafas y ropa protectora adecuada. Evite la inhalación. Diluya con agua cualquier derrame antes de utilizar toallas de papel para absorberlo.

VI. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DEL PACIENTE

Diluya el suero del paciente 1:100 en diluyente de muestra. Tome 0,1 ml de suero del paciente y añádalo a 10 ml de diluyente de muestra.

VII. PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

- Amortiguador de lavado:** Lave el contenido del vial en un frasco de 2.000 ml con agua destilada y rellene con agua destilada hasta la marca de 2.000 ml. Etiquételo como amortiguador de lavado activo y almacénelo refrigerado a una temperatura de 2-8°C. El amortiguador de lavado activo permanece estable durante 6 meses a 2-8°C.
- Solución de sustrato:** Mezcle la solución de sustrato "A" y la "B" en proporciones iguales 30 minutos antes de su uso. *(Por ejemplo, mezcle 5 ml de la solución "A" y 5 ml de la solución "B" para cada paciente o placa que deba utilizar).* Deseche la solución de mezcla de sustrato que no utilice. No intercambie los tapones de estas soluciones. Si la solución de sustrato mezclada tiene un color azul antes de utilizarla, debe desecharla. La solución de sustrato mezclada permanece estable durante 60 minutos a temperatura ambiente.

VIII. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Deje que todos los reactivos del kit de test alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

- PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN:** Etiquete cuatro tubos de vidrio de 12 x 75 mm como 50, 100, 200 y 400 U/ml. Distribuya 150 µl de diluyente de muestra en estos cuatro tubos. Añada 150 µl de calibrador de alimentos al tubo etiquetado como 400 U/ml. Mezcle y vierta 150 µl en el tubo etiquetado como 200 U/ml. Mezcle y vierta 150 µl en el tubo etiquetado como 100 U/ml. Nuevamente, mezcle y vierta 150 µl en el tubo etiquetado como 50 U/ml. Llegado a este punto, debería tener 150 µl en los tubos 100, 200 y 400 U/ml, y 300 µl en el tubo 50 U/ml. Ésta es la curva de calibración que se debe utilizar en el ensayo. Vierta 100 µl de cada uno de estos tubos en la microplaca de la siguiente manera.

Etiqueta del tubo	Etiqueta del pocillo
50 U/ml	1B
100 U/ml	1C
200 U/ml	1D
400 U/ml	1E

Añada 100 µl de diluyente de muestra al pocillo 1A y 100 µl de control positivo al pocillo 1F.

- Coloque 100 µl del suero diluido del paciente (**Véase el apartado VI anterior, Preparación de la muestra del paciente**) en todos los demás pocillos. Debe haber 100 µl de líquido en todos los pocillos.
- Cubra las placas con una película o envoltorio de plástico e incúbelas a temperatura ambiente (22-25°C) durante 1 hora.
- Después de la incubación de una hora, lave todos los micropocillos tres veces con 300 µl de amortiguador de lavado activo cada vez. (**Véase el apartado VII, Preparación del reactivo**). Si utiliza un lavador automático, busque en las instrucciones del fabricante un procedimiento de lavado de tres ciclos con un volumen de lavado de 300 µl.

- Añada 100 µl de conjugado IgG-HRP de alimentos a todos los pocillos.
- Incube las placas durante 30 minutos a temperatura ambiente (22-25°C).
- Vuelva a lavar las placas como se indica en el paso 4.
- Añada 100 µl de mezcla de sustrato activo a todos los pocillos (véase el tema Preparación y almacenamiento del reactivo).
- Cubra las placas e incúbelas durante 10 minutos a temperatura ambiente (22-25°C).
- Añada 50 µl de solución de parada a todos los pocillos. (El color azul de los pocillos cambiará a amarillo).
- Establezca el lector de la microplaca en 450 nm y lea la absorbancia de todos los pocillos.

IX. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Método automatizado

Utilice un programa de regresión automatizado para reducir los datos. Se obtendrán resultados aceptables con los métodos de (1) regla flexible cúbica, (2) punto a punto o (3) cuadrático. Interpole los valores de pacientes desde la curva de calibración.

Método manual

- Determine la absorbancia de cada calibrador, control y muestra.
- Construya una curva de respuesta a la dosis donde la absorbancia de cada calibrador se determine en función de la concentración del calibrador correspondiente en un papel para gráficos lineales o semilogarítmicos. Trace una línea recta entre 2 puntos adyacentes. Este algoritmo matemático generalmente se denomina *cálculo de punto a punto*.
- Lea las concentraciones de las muestras una por una directamente desde la curva.

X. CONTROL DE CALIDAD

Para que la prueba resulte satisfactoria, la misma debe cumplir con las siguientes especificaciones de control de calidad para la D.O. (Densidad Óptica) a 450 nm.

D.O. Pocillo 1A	< 0,2
D.O. Pocillo 1B	> 1,2 x DO 1A
D.O. Pocillo 1C	> 1,2 x DO 1B
D.O. Pocillo 1D	> 1,2 x DO 1C
D.O. Pocillo 1E	> 1,2 x DO 1D
Concentración positiva	> 100 U/ml

XI. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Las lecturas de absorbancia, después de la extrapolación como U/ml de Biomerica, deberían interpretarse de la siguiente manera para cada alérgeno o extracto.

LECTURA	INTERPRETACIÓN	
< 50 U/ml	Negativo	0
50 - 100 U/ml	Ligeramente intolerante	+1
100 - 200 U/ml	Moderadamente intolerante	+2
> 200 U/ml	Muy intolerante	+3









XII. BIBLIOGRAFÍA

- 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. SÍMBOLOS

	Temperatura del almacenamiento
	Código de la serie
	Vencimiento
	Fabricante
	Representante autorizado
	Cuidado, vea las instrucciones
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	N. catalogo

XIV. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

Biomerica dispone de productos para la detección de alergias alimentarias con mediación de IgG en distintas configuraciones. Para obtener más información sobre las configuraciones de estas pruebas, póngase en contacto con el Departamento de Servicio al Cliente.

PEDIDOS:



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

2°C / 8°C





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

67191-4_spa.doc

diciembre 2014



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

Mapa de microplacas (1 paciente) mediterráneas de 90 alimentos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<i>Diluyente de Muestra</i>	Manzana	Brécol	Acelga	Bacalao	Ajo	Lechuga, Iceberg	Semilla de mostaza	Pera	Arroz	Calabaza	Trucha
B	Calibrador 1	Alcachofa	Mantequilla	Queso (fresco)	Café	Uva, blanca/negra	Limón	Avena	Pimienta	Centeno	Calamar	Atún
C	Calibrador 2	Espárrago	Col	Queso (Curado)	Semilla de cola	Pomelo	Lentejas	Oliva	Judía pinta	Salmón	Fresa	Pavo
D	Calibrador 3	Aguacate	Caña de azúcar	Garbanzo	Maíz	Guisante	Haba	Cebolla	Piña	Sardina	Habichuela	Nuez negra
E	Calibrador 4	Plátano	Melón	Pollo	Leche de vaca	Pimiento verde	Langosta	Naranja	Ciruela	Gamba	Semilla de girasol	Trigo
F	Control positivo	Cebada de grano entero	Zanahoria	Chocolate	Pepino	Merluza	Malta	Perejil	Cerdo	Lenguado	Batata	Levadura de panadería
G	Almendra	Carne de vaca	Coliflor	Canela	Huevo, clara/yema	Miel	Mejorana	Melocotón	Patata	Soja	Té negro	Levadura de cerveza
H	Queso americano	Remolachas	Apio	Almeja	Berenjena	Cordero	Champiñón	Cacahuete	Conejo	Espinaca	Tomate	Yogur

diciembre 2014 7191