

VERSIONE MEDITERRANEA

Allerquant™ Kit ELISA IgG per 90 alimenti

REF 7191

Per l'analisi semi-quantitativa degli anticorpi di 90
allergeni alimentari nel siero umano

Dicembre 2014



I. USO PREVISTO

Il test *Allerquant 90G IgG Elisa* è inteso per misurare la quantità relativa di anticorpi IgG legati agli alimenti nel siero umano. I valori ottenuti devono essere sempre correlati ad una presentazione clinica dal momento che di per sé l'innalzamento di un dato anticorpo legato a un alimento non implica necessariamente una patologia. Questo kit non fornisce informazioni in merito alle allergie mediate IgE.

II. PRELIMINARI

Intolleranze alimentari e il ruolo svolto da alimentazione e additivi tra i fattori alla radice delle intolleranze o ipersensibilità patologiche ha scatenato forte interesse negli ultimi decenni. Gli alimenti additati con maggiore frequenza nelle intolleranze comprendono latte vaccino, uova, granoturco, farina di frumento, cioccolato, frutta secca, soia, molluschi e crostacei. Si calcola che circa lo 0,5% dei bambini in età infantile manifesta una marcata ipersensibilità al latte vaccino. Gli studi condotti suggeriscono che la probabilità di ipersensibilità alimentare nei secondogeniti e nei figli successivi aumenta del 50% qualora il primogenito ne sia clinicamente affetto. La maggior parte degli alimenti appartenenti a un gruppo tendono a presentare proprietà allergeniche in comune, e talvolta anche la combinazione di cibi appartenenti a gruppi diversi può causare reazioni di intolleranza alimentare. Per mitigare alcune reazioni di intolleranza alimentare, si consiglia di cuocere i cibi, dal momento che la cottura riduce il potenziale allergenico rispetto all'assunzione di cibi crudi.

La gran parte dei sintomi di intolleranze alimentare è di tipo gastrointestinale e può includere nausea, diarrea e algie addominali. Le manifestazioni cliniche di intolleranze alimentare comprendono i classici sintomi delle allergie: anafilassi, rinite allergica, dermatite atopica e orticaria. Non sono state tratte conclusioni definitive sugli effetti esercitati di intolleranze alimentare su condizioni quali emicranie, cefalee e sindrome allergica da affaticamento e stress. Si sottolinea che i sintomi di intolleranze alimentare, soprattutto di natura gastrointestinale, possono essere simulati da svariate condizioni di natura diversa.

III. PRINCIPIO DEL TEST

Gli allergeni legati vengono immobilizzati separatamente in micropozzetti e quindi reagiscono immunologicamente con gli specifici anticorpi presenti nel siero del paziente. Dopo la rimozione delle proteine in esubero dal siero, il coniugato enzimatico dell'anticorpo reagisce con gli anticorpi-allergeni. Viene aggiunto un substrato che reagisce con l'enzima accoppiato e viene misurata l'intensità cromatica che si genera; essa è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi IgG specifici per un allergene particolare.

IV. REAGENTI E MATERIALI

Il kit di test in dotazione contiene un numero sufficiente di pozzetti e reagenti per esaminare la presenza di anticorpi a 90 alimenti diversi nel siero di 3 pazienti.

PLA FOOD = Piastre per micropozzetto rivestite di estratto alimentare 3 piastre
DIL SPE 1X = diluente del campione (verde) 1 x 56 ml
BUF WASH 66.67X = Tampone di lavaggio (concentrato) 1 x 30 ml
CAL FOOD IgG = Calibrazione alimentare IgG 1,0 ml
CTRL + IgG = Controllo positivo alimentare IgG 1,0 ml
CONJ ENZ IgG-HRP = Coniugato alimentare IgG-HRP 1 x 40 ml
SUBS A TMB = Soluzione di substrato A (TMB) 2 x 12 ml
SUBS B H2O2 = Soluzione di substrato B (perossido di idrogeno) 2 x 12 ml
SOLN STOPPING = Soluzione di arresto (1N H₂SO₄) 1 x 20 ml

V. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Materiali dal potenziale rischio biologico

La fonte dei calibratori e dei controlli è siero umano, il quale è stato analizzato con reagenti approvati dall'ente FDA (Food and Drug Administration) e ritenuto non reattivo nei test per l'antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg), HIV-2 e HCV. Dal momento che nessun test è in grado di offrire assoluta certezza in merito all'assenza di agenti infettivi, quali HIV, epatite B virale, questi reagenti devono essere trattati come potenzialmente in grado di trasmettere infezioni.

2. Azotidrato di sodio

Alcuni reagenti possono contenere azotidrato di sodio come conservante, il quale può reagire con il piombo, il rame o l'ottone dando luogo alla formazione di azotidri metallici dal potenziale esplosivo. Per eliminare questi materiali, irrorare le tubature con grossi volumi di acqua per evitare l'accumulo di azotidrato.

3. Soluzione di arresto

La soluzione di arresto è un composto di 1N H₂SO₄, un forte acido che va trattato con grande cautela poiché può provocare ustioni. Indossare un paio di guanti occhiali e indumenti di protettivi per maneggiare il materiale. Non inalare e diluire i versamenti con l'acqua prima di assorbirli con carta da cucina.

VI. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Diluire il siero del paziente con la soluzione di diluizione, in rapporto 1:100 (per ogni 0,1 ml di siero, aggiungere 10 ml di diluente).

VII. PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL REAGENTE

1. **Tampone di lavaggio:** versare il contenuto della fiala in un flacone riempito di acqua distillata fino alla tacca di da 2000 ml. Affiggere un'etichetta indicante il contenuto e conservarlo in frigorifero a una temperatura di 2-8°C. Il tampone di lavaggio è stabile per 6 mesi se conservato a 2-8°C.
2. **Soluzione di substrato:** mescolare la soluzione di substrato "A" e "B" in parti uguali 30 minuti prima dell'uso (*ad esempio, mescolare 5 ml di soluzione "A" e "B" per ogni paziente o piastra*). Eliminare la miscela di soluzione inutilizzata. Non scambiare i tappi delle diverse soluzioni. Non utilizzare la soluzione di substrato mescolata se ha una colorazione bluastra prima dell'uso. La soluzione mescolata è stabile per 60 minuti a temperatura ambiente.

VIII. PROCEDURA DI ANALISI

I reagenti del kit in dotazione devono essere a temperatura ambiente prima di procedere.

1. **PREPARAZIONE DELLA CURVA DI CALIBRAZIONE:** Affiggere un'etichetta a ciascuna di 4 provette da 12 x 75 mm con le seguenti diciture: 50, 100, 200 e 400 U/ml. Versare 150 µl di diluente in ogni provetta. Aggiungere 150 µl di calibratore alimentare alla provetta da 400 U/ml. Mescolare e trasferire 150 µl del liquido nella provetta da 200 U/ml. Mescolare e trasferire 150 µl del liquido nella provetta da 100 U/ml. Mescolare nuovamente e trasferire 150 µl del liquido nella provetta da 50 U/ml. Dovranno risultare così 150 µl nelle provette da 100, 200 e 400 U/ml, e 300 µl nella provetta da 50 U/ml. Questa sarà la curva di calibrazione da utilizzare nell'analisi. Trasferire 100 µl del liquido da ciascuna delle provette nella micropiastra come indicato nella tabella sottostante.

Provetta	Pozzetto
50 U/ml	1B
100 U/ml	1C
200 U/ml	1D
400 U/ml	1E

- Aggiungere 100 µl di diluente al pozzetto 1A e 100 µl di controllo positivo al pozzetto 1F.
2. Dispensare 100 µl del siero diluito (**v. Sezione VI – Preparazione del campione**) in ciascuno degli altri pozzetti. I pozzetti dovrebbero contenere ciascuno 100 µl di liquido.
 3. Coprire le piastre con una pellicola di plastica e incubare per 1 ora a temperatura ambiente (22-25°C).
 4. Dopo l'incubazione, lavare tutti i micropozzetti 3 volte con 300 µl di tampone di lavaggio ogni volta (**v. Sezione VIII – Preparazione e conservazione del reagente**). Se si utilizza un lavatore automatico, consultare le istruzioni del produttore per eseguire un ciclo di lavaggio a 3 stadi con un volume di 300 µl.

5. Aggiungere 100 µl di coniugato alimentare IgG-HRP a tutti i pozzetti.
6. Incubare le piastre per 30 minuti a temperatura ambiente (22-25°C).
7. Lavare nuovamente le piastre come descritto al passaggio 4.
8. Aggiungere 100 µl di soluzione di substrato a tutti i pozzetti (**v. Sezione VIII – Preparazione e conservazione del reagente**).
9. Coprire e incubare le piastre per 10 minuti a temperatura ambiente (22-25°C).
10. Aggiungere 50 µl di soluzione di arresto a tutti i pozzetti (il liquido blu nei pozzetti assume una colorazione gialla).
11. Impostare il lettore per micropiastre su 450 nm e annotare il valore di assorbanza in tutti i pozzetti.

IX. CALCOLO DEI RISULTATI

Metodo automatico

Utilizzare un programma di regressione automatizzata per ridurre i dati. Si otterranno risultati accettabili con i metodi Spline cubica (1), Punto-punto (2) o Quadratico (3). Interpolare i valori paziente dalla curva di calibrazione.

Metodo manuale

- Determinare l'assorbanza media di ogni standard, controllo e campione.
- Su carta semi-logaritmica o per grafici lineari tracciare la curva che rappresenta l'assorbanza di ogni standard in relazione alla concentrazione dello standard corrispondente. Tracciare una linea retta tra 2 punti adiacenti. Questo algoritmo matematico è noto come calcolo "punto-punto".
- Estrapolare le concentrazioni dei campioni direttamente dalla curva.

X. CONTROLLO QUALITÀ

Il criterio di superamento del test è determinato dalle seguenti specifiche di controllo qualità in merito alla densità ottica (DO) a 450 nm.

DO pozzetto 1A	< 0.2
DO pozzetto 1B	> 1,2 x DO 1A
DO pozzetto 1C	> 1,2 x DO 1B
DO pozzetto 1D	> 1,2 x DO 1C
DO pozzetto 1E	> 1,2 x DO 1D
Concentrazione positiva	> 100 U/ml

XI. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I valori di assorbanza dopo l'estrapolazione in Biomerica U/ml, vanno interpretati in funzione dell'allergene o dell'estratto sulla base dei criteri seguenti:

VALORE	INTERPRETAZIONE	
< 50 U/ml	Negativo	0
50 - 100 U/ml	Lievemente intollerante	+1
100 - 200 U/ml	Moderatamente intollerante	+2
> 200 U/ml	Altamente intollerante	+3








XII. BIBLIOGRAFIA

- 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-Vautrùn, 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. SIMBOLI

	Temperatura di conservazione
	Codice di lotto
	Scadenza
	Fabbricante
	Rappresentante autorizzato
	Attenzione, vedere le istruzioni
	All'impiego diagnostico in vitro
REF	n. ° de Catálogo

XIV. INFORMAZIONI PER L'ORDINAZIONE

Biomerica dispone di altri prodotti per l'esame dell'allergia alimentare mediata IgG in diverse configurazioni. Per ulteriori informazioni su queste configurazioni, rivolgersi all'assistenza clienti.

ORDINAZIONE:

 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_ita.doc

Dicembre 2014



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

Mapa per micropiastra di 90 alimenti mediterranei (1 paziente)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<i>Diluentede Campione</i>	Mela	Broccoli	Bietole	Merluzzo	Aglio	Lattuga, Iceberg	Semi di senape	Pera	Riso	Zucca (vari tipi)	Trota
B	Calibratore 1	Carciofi	Burro	Ricotta	Caffè	Uva (bianca)	Limoni	Avena	Pepe	Segale	Calamari	Tonno
C	Calibratore 2	Asparagi	Cavolo	Formaggi (stagionati)	Noce di cola	Pompelmo	Lenticchie	Olive	Fagioli Pinto	Salmone	Fragola	Tacchino
D	Calibratore 3	Avocado	Zucchero di canna	Ceci	Granoturco	Piselli verdi	Fagioli Lima	Cipolla	Ananas	Sardine	Fagiolini	Noce, nera
E	Calibratore 4	Banana	Melone	Pollo	Latte vaccino	Pepe verde	Aragosta	Arancia	Prugna	Gamberetti	Semi di girasole	Grano
F	Controllo positivo	Orzo, integrale	Carote	Cioccolato	Cetrioli	Nasello	Malto	Prezzemolo	Maiale	Sogliola	Patate dolci	Lievito per panettieri
G	Mandorle	Manzo	Cavolfiore	Cannella	Uova, albume/tuorlo	Miele	Maggiorana	Pesca	Patate	Fagioli di soia	Tè, nero	Lievito per birra
H	Formaggi fusi	Barbabietole	Sedano	Vongole	Melanzana	Agnello	Funghi	Arachidi	Coniglio	Spinaci	Pomodori	Yogurt

Dicembre 2014 7191