

90 FOOD IgG SCREENING ELISA KIT

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

REF FIGG-90  3 x 96 test/kit

PANNELLO MEDITERRANEO

USO PREVISTO

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

Le allergie alimentari e il ruolo svolto da alimentazione e additivi come fattori alla base delle intolleranze o ipersensibilità patologiche ha scatenato forte interesse negli ultimi decenni. Gli alimenti comunemente coinvolti comprendono latte vaccino, uova, grano, granturco, cioccolato, frutta secca, soia, frutti di mare. 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 figli successivi aumenta fino al 50%. La maggior parte degli alimenti appartenenti ad un gruppo potrebbero presentare proprietà allergeniche in comune e talvolta anche la combinazione di cibi appartenenti a gruppi diversi può causare reazioni allergiche. Per ridurre alcune reazioni allergiche, si consiglia di cuocere i cibi, in quanto la cottura riduce il potenziale allergico rispetto all'assunzione di cibi crudi.

I più frequenti sintomi di allergia alimentare sono di tipo gastrointestinale e possono includere nausea, diarrea e algie addominali. Le manifestazioni cliniche di un'allergia alimentare comprendono anche i classici sintomi delle allergie quali anafilassi, rinite allergica, dermatite atopica e orticaria. Il ruolo esercitato dall'allergia alimentare in condizioni quali emicranie, cefalee e sindrome allergica da affaticamento e stress è controverso. È importante ricordare che i sintomi di allergia alimentare, soprattutto di natura gastrointestinale, possono essere simulati da svariate condizioni di natura diversa.

PRINCIPIO DEL TEST

Il kit rileva il livello degli anticorpi specifici anti IgG. Gli allergeni legati vengono immobilizzati separatamente in micropozzetti e reagiscono immunologicamente con gli anticorpi specifici presenti nel siero del paziente. Dopo la rimozione delle proteine in eccesso, il coniugato enzimatico dell'anticorpo reagisce con il complesso allergene-anticorpo. 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 in particolare.

MATERIALE FORNITO

- Micropiastre coattate con 90 Alimenti**
.....3 piastre x 96 pozzetti/piastra
- Diluente per Siero (Verde)**
.....1 x 56 ml
- Calibratore Alimentare IgG**

-1 x 1.0 ml
- Controllo Positivo Alimentare IgG**
.....1 x 1.0 ml
- Soluzione di lavaggio (concentrata)**
.....1 x 30 ml
- Coniugato Alimentare IgG-HRP**
.....1 x 33 ml
- Soluzione Substrato A**
.....2 x 12 ml
- Soluzione Substrato B**
.....2 x 12 ml
- Soluzione Stop (1N H₂SO₄)**
.....1 x 20 ml

Nota: Questo kit è stato ideato come un sistema completo. Non intercambiare reagenti di altre marche o lotti differenti. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Contenitori per la preparazione della soluzione di lavaggio, della soluzione substrato e per diluire i campioni di siero e i calibratori alimentari IgG.
- Pipette di precisione
- Parafilm
- Acqua distillata o deionizzata
- Letto di micropiastre automatico o semi-automatico con lunghezza d'onda di capacità di assorbanza di 450nm.

SCADENZA E CONSERVAZIONE

Conservare il kit a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata. Non congelare. I reagenti sono stabili fino a 18 mesi dalla data di produzione se conservati in maniera appropriata. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il campione deve essere sierico. Il test richiede circa 0.1 ml di siero. Il campione, prelevato seguendo le normali pratiche di laboratorio, è stabile per 8 ore a temperatura ambiente. Il siero può essere conservato a 2-8°C fino a 2 giorni e può essere congelato a -20°C fino a un anno.

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

Soluzione di lavaggio

Aggiungere 30ml di soluzione di lavaggio in acqua distillata o deionizzata fino a raggiungere il volume finale di 2000ml. Etichettare in maniera appropriata e conservare a 2-8°C. La soluzione è stabile fino a 6 mesi a 2-8°C.

Nota: In alcuni casi la soluzione di lavaggio concentrata (3:200) conservata a 2-8°C può sviluppare dei cristalli. Fare in modo che questi siano completamente disciolti prima di effettuare la diluizione riscaldando la soluzione concentrata a 37°C a bagnomaria mescolandola.

Soluzione Substrato

Mescolare le soluzioni substrato A e B in parti uguali 30 minuti prima dell'uso. Ad esempio, mescolare 5 ml di soluzione A e B per ogni piastra da utilizzare.

Nota: Non scambiare i tappi di queste soluzioni. Non utilizzare la soluzione substrato miscelata se questa assume una colorazione bluastro prima dell'uso. La soluzione mescolata è stabile per 60 minuti a temperatura ambiente.

PROCEDURA DEL TEST

- Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-28°C) prima dell'uso.
- PREPARAZIONE DI UNA CURVA DI CALIBRAZIONE:**
Etichettare quattro provette 12 x 75 mm con le seguenti diciture: 50, 100, 200 & 400 U/ml. Dispensare 150 µl di Diluente Siero in queste quattro provette. Aggiungere 150

µl di Calibratore Alimentare IgG nella provetta da 400 U/ml. Miscelare e trasferire 150 µl nella provetta da 200 U/ml. Miscelare e trasferire 150 µl nella provetta da 100 U/ml. Mescolare nuovamente e trasferire 150 µl nella provetta da 50 U/ml. A questo punto dovranno risultare 150 µl nelle provette da 100, 200 e 400 U/ml e 300 µl in quella da 50 U/ml. Questa sarà la curva di calibrazione da utilizzare durante il test. Trasferire 100 µl di liquido da ciascuna provetta nella micropiastre come indicato qui di seguito.

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

3. Aggiungere 100 µl di Diluente Siero al pozzetto 1A e 100 µl di Controllo Positivo al pozzetto 1F.

Nota: Il Controllo Positivo IgG non necessita diluizione.

4. Aggiungere 10 ml di Diluente Siero a 0.1 ml di siero del paziente e miscelare.

Nota: Non diluire il Controllo Positivo Alimentare IgG.

5. Dispensare 100µl di siero diluito in ciascuno degli altri pozzetti. Ogni pozzetto dovrebbe contenere 100 µl di liquido.
6. Coprire le piastre con il parafilm e incubare a temperatura ambiente (20-28°C) per 60±2 minuti.
7. Dopo l'incubazione lavare tutti i pozzetti 3 volte con 300 µl di Soluzione di Lavaggio, manualmente o con un lavatore automatico. I pozzetti devono essere riempiti completamente con la soluzione di lavaggio. Successivamente asciugare i pozzetti.
8. Aggiungere 100 µl di Coniugato Alimentare IgG-HRP a tutti i pozzetti. Incubare la piastra per 30±2 minuti a temperatura ambiente (20-28°C).
9. Lavare la piastra 3 volte come indicato al punto 8.
10. Aggiungere 100 µl di Soluzione Substrato a tutti i pozzetti. Coprire la piastra e incubare per 10±2 minuti a temperatura ambiente (20-28°C).
11. Aggiungere 50 µl di Soluzione Stop a tutti i pozzetti (il liquido blu nei pozzetti assume una colorazione gialla).
12. Impostare il lettore per micropiastre a 450 nm e leggere l'assorbanza in ogni pozzetto.

CALCOLO DEI RISULTATI

Su carta per grafici lineari, tracciare la curva che rappresenta l'assorbanza in relazione alle concentrazioni dei pozzetti 1A – 1E. Di seguito è illustrato un esempio di tale curva. Non utilizzare i dati dell'esempio per il calcolo.

Posizione Pozzetto	Concentrazione	Assorbanza
1A	0 U/ml	0,070
1B	50 U/ml	0,562
1C	100 U/ml	0,858
1D	200 U/ml	1,221
1E	400 U/ml	1,767
1F	Controllo Positivo	1,408
1G	Campione Siero	0,280

CONTROLLO QUALITÀ

Affinché i risultati del test risultino attendibili devono essere soddisfatti i seguenti criteri in merito alla densità ottica (O.D.) a 450 nm.

O.D. VUOTO	< 0.2
O.D. 50 CAL	> 1.2 x OD VUOTO
O.D. 100 CAL	> 1.2 x OD 50 CAL
O.D. 200 CAL	> 1.2 x OD 100 CAL
O.D. 400 CAL	> 1.2 x OD 200 CAL
Concentrazione Positiva	> 100 U/ml

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

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

LIMITI

Questo test include molti tipi di allergeni alimentari. Risultati positivi o negativi devono essere riferiti esclusivamente agli allergeni coattati sui pozzetti e non possono provare l'allergia di un paziente nei confronti di altri allergeni.

PERFORMANCES

Linearità

Il range della curva standard di questo kit è 0~400U/ml. Campioni con concentrazioni di IgG maggiori devono essere diluiti e testati nuovamente per determinare l'esatta concentrazione IgG.

Sensibilità

La sensibilità di questo kit non è superiore a 50 U/ml.

Specificità

Emoglobine, trigliceridi, IgE, IgM, e IgA non influiscono sui risultati del test.

Riproducibilità

Coefficiente di variazione Intra-dosaggio (N=40): 11%;
coefficiente di variazione inter-dosaggio (N=44): 15%.

Risultati di studi clinici

Studi clinici hanno dimostrato la presenza nella popolazione in generale di alcuni anticorpi specifici alimentari IgG, quindi una diagnosi clinica non può essere data esclusivamente con riferimento al risultato di un test, ma deve essere collegata alla condizione clinica del paziente.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Questo kit è per esclusivo uso diagnostico in vitro.
2. Seguire attentamente la procedura del test. Non aumentare o diminuire il numero dei lavaggi.
3. Alcuni reagenti contengono sodio azide che potrebbe reagire con piombo e rame formatosi nelle tubature creando azoturi di metallo altamente esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con abbondante acqua per evitare la formazione di azoturo.
4. La Soluzione Stop consiste di 1N H2SO4 un acido forte che va trattato con grande cautela poiché può provocare ustioni. Utilizzare guanti, occhiali e indumenti protettivi per maneggiarlo. Sciacquare immediatamente con abbondante acqua in caso di contatto.

5. I calibratori e i controlli sono costituiti da siero umano che è stato testato utilizzando reagenti approvati dall'FDA ed è risultato non reattivo alla presenza di HBsAg, HIV e HCV. Dal momento che non esiste nessun test in grado di offrire assoluta certezza in merito all'assenza di agenti infettivi quali HIV, HBsAg e HCV, questi reagenti devono essere trattati come potenzialmente in grado di trasmettere infezioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, C.M. and Burke, V. Pediatric Gastroenterology, Oxford: Blackwell, 1975.
2. Back, S.A., Lee, W.Y., Remigio, L.K. and May, C.C. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. J. Clin. Allergy Immunol., 62, 327, 1978.
3. Eastham, E.J. and Walker, W.A. Adverse effects of milk formula ingestion on the gastrointestinal tract. Gastroenterol., 76, 366, 1979.
4. Kuitunen, P., Visakorpi, K. J., Savilahti, E. and Pelkonen, P. Malabsorption syndrome with intolerance: Clinical findings and course in 54 cases. Arch. Dis. Child., 54, 351, 1975.
5. 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.
6. Farrel, M. Food allergy, in Manual of Allergy and Immunology, ed: Lawlor, G.J. and Fischer, T.J., 1982.

				 8°C 2°C	
Numero di lotto	Conformità Europea	Numero di test	Per uso diagnostico <i>in vitro</i>	Temperatura di conservazione	Scadenza
					
Numero di catalogo	Leggere le istruzioni per l'uso	Attenzione, vedere le istruzioni	Non utilizzare se la confezione è danneggiata	Non riutilizzare	Fabbricante



Meridian Healthcare srl

Via Caronda, 446/SC. A , 95129 Catania , Italy
 Tel: +39 095 725 68 69 Fax: +39 095 725 44 54
 e-mail: info@meridianhealthcare.it
 web: www.meridianhealthcare.it



MAPPA PER MICROPIASTRA 90 ALIMENTI MEDITERRANEI

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	VUOTO	Mela	Broccoli	Bietole	Merluzzo	Aglione	Lattuga, Iceberg	Semi di Senape	Pera	Riso	Zucca	Trota
B	Calibratore 1	Carciofi	Burro	Ricotta	Caffè	Uva (Bianca)	Limoni	Avena	Pepe Nero	Segale	Calamari	Tonno
C	Calibratore 2	Asparagi	Cavolo	Formaggi (stagionati)	Noce di cola	Pompelmo	Lenticchie	Olive	Fagioli Pinto	Salmone	Fragole	Tacchino
D	Calibratore 3	Avocado	Zucchero di canna	Ceci	Mais	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 Torte
G	Mandorle	Manzo	Cavolfiore	Cannella	Uova, Albume d'uovo	Miele	Maggiorana	Pesca	Patate	Fagioli di soia	Tè, nero	Lievito di Birra
H	Formaggi Fusi	Barbabietole	Sedano	Vongole	Melanzana	Agnello	Funghi	Arachidi	Coniglio	Spinaci	Pomodoro	Yogurt



Meridian Healthcare srl

Via Caronda, 446/SC. A , 95129 Catania , Italy
 Tel: +39 095 725 68 69 Fax: +39 095 725 44 54
 e-mail: info@meridianhealthcare.it
 web: www.meridianhealthcare.it

