

### 1. Uso Previsto

O kit de IgG de Alimentos é um método rápido de ELISA para a medição de anticorpos IgG para 109 antígenos de alimentos diferentes, em soro ou plasma humano. Os componentes do kit são apenas para uso diagnóstico.

### 2. Explicação do Teste

Muitas pessoas exibem reações crônicas de sensibilidade a alimentos para antígenos de alimentos específicos. Diferente dos efeitos imediatos da alergia mediada por IgE, as reações de sensibilidade a alimentos mediada por IgG podem levar vários dias para aparecerem. A remoção controlada dos alimentos que causam problemas da dieta do paciente irá, em muitos casos, rapidamente melhorar a condição do paciente. A letargia geral, ganho de peso, dermatite, artrite e fadiga estão associadas com alergias a alimentos. A síndrome do intestino irritável pode também ter ligação com a sensibilidade a alimentos.

### 3. Princípio do Teste

As amostras de soro diluídas são incubadas com extratos de antígenos de 109 alimentos diferentes retidos nos poços de microtitulação. Após lavar tirando os componentes do soro não ligados, a anti-IgG humana de cabra conjugada à peroxidase de rábano silvestre é adicionada aos poços, e esta se liga aos anticorpos ligados à superfície na segunda incubação. O conjugado não ligado é removido com lavagem, e uma solução contendo 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) e substrato de enzima é adicionada para rastrear a ligação do anticorpo específico. A adição da Solução de Parada finaliza a reação e fornece o pH apropriado para o desenvolvimento da coloração. As densidades ópticas dos padrões, controle positivo e amostras são medidas usando uma leitora de microplaca a 450 nm. A densidade óptica é diretamente proporcional à atividade do anticorpo na amostra.

### 4. Materiais Incluídos no Kit

| Componente            | GD14M      | GD14M/10   |
|-----------------------|------------|------------|
| Microplaca            | 1          | 10         |
| Diluyente de Amostra  | 1 x 10 mL  | 10 x 10 mL |
| Tampão de Lavagem     | 1 x 100 mL | 6 x 170 mL |
| Conjugado de Enzima   | 1 x 12 mL  | 1 x 120 mL |
| Substrato TMB         | 1 x 12 mL  | 1 x 120 mL |
| Solução de Parada     | 1 x 12 mL  | 1 x 120 mL |
| Padrões (0 & 25 U/mL) | 2 x 1 mL   | 2 x 2 mL   |
| Controle Positivo     | 1 x 1 mL   | 1 x 2 mL   |

- **Microplaca:** microplaca com 96 poços revestidos com 109 antígenos de alimentos em uma embalagem metálica com dessecante.
- **Reagente 1: Diluyente de Amostra** 10 mM de Salina tamponada com Tris, pH 7.2 com agente antimicrobiano, (azul), pronto para uso.
- **Reagente 2: Tampão de Lavagem** 100 mM com Salina tamponada com Tris com detergente, pH 7.2, concentrado (X 10).
- **Reagente 3: Conjugado** anti-IgG humana de cabra conjugada à peroxidase de rábano silvestre em solução estabilizante de proteína e agente antimicrobiano, (vermelho), pronto para uso.
- **Reagente 4: Substrato TMB** solução aquosa de TMB e peróxido de hidrogênio, pronto para uso.
- **Reagente 5: Solução de Parada** 0.25 M de Ácido Sulfúrico, pronto para uso.
- **Padrões:** 0 & 25 U/mL, 10 mM de Salina tamponada com Tris contendo anticorpos IgG de soro humano, pronto para uso.
- **Controle Positivo:** 10 mM de Salina tamponada com Tris contendo anticorpos IgG de soro humano para alimentos, pronto para uso.
- **Instruções de Uso**

### 5. Outros Equipamentos Necessários

1. Tubos de teste para diluição • cilindro graduado para a preparação do tampão de lavagem • pipetas de precisão e ponteiros descartáveis para dispensar 25 µL, 100 µL e 1 mL • lavadora de microplaca de ELISA ou pipeta multi-canaís ou frasco de lavagem • água destilada ou deionizada • papel absorvente • leitora de microplaca de ELISA com 450 nm e filtro de referência 620 nm opcional. Alternativamente, um sistema automatizado adequado pode ser usado.
2. A instrumentação, manual ou automática, deve satisfazer os seguintes critérios: pipetas com imprecisão melhor do que 3% sem excesso entre as etapas de pipetagem; as lavadoras de microplacas devem remover 99% dos fluidos; as máquinas automáticas devem minimizar o tempo entre a lavagem e a adição do próximo reagente.

### 6. Precauções

#### 6.1 Precauções de Segurança

1. Todos os reagentes nesse kit são apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.
2. Somente pessoas com experiência em laboratório devem utilizar esse teste. O protocolo do teste deve ser rigorosamente seguido.
3. Todo material de origem humana usado na preparação dos Padrões e Controle Positivo para esse produto foi testado e teve resultado negativo para anticorpos de HIV, HbsAg e HCV. Nenhum método de teste, entretanto, pode oferecer completa segurança de que não existam agentes infecciosos. Portanto, todos os reagentes contendo material humano devem ser manuseados como potencialmente infecciosos. Os operadores devem usar luvas de exame livres de pó e roupa de proteção quando manusearem soros de pacientes ou produtos baseados em soro durante todo o procedimento do teste.
4. Os reagentes desse kit contêm agentes antimicrobianos e a solução de Substrato TMB contém 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina. Evite contato com a pele e olhos. Lave imediatamente com água abundante no caso de ocorrer qualquer contato.
5. A Solução de Parada contém 0.25 M de ácido sulfúrico. Evite contato com a pele e olhos. Lave imediatamente com água abundante no caso de ocorrer qualquer contato.
6. Qualquer líquido que tenha entrado em contato com material potencialmente infeccioso deve ser descartado em um recipiente com um desinfetante. O descarte deve ser realizado de acordo com a legislação local.

#### 6.2 Precauções Técnicas

1. A microplaca e as soluções não devem ser usadas se a embalagem metálica estiver danificada ou os líquidos tiverem vazado.
2. Os reagentes e a microplaca devem estar em temperatura ambiente antes de serem usados.
3. Inclua o Controle Positivo em todo teste para monitorar a estabilidade do reagente e o desempenho correto do teste.
4. Observe rigorosamente os tempos e temperatura de incubação indicados.
5. Quando estiver usando equipamento automático, considere os excessos de volumes necessários para configurar o equipamento e o volume morto da pipeta automatizada.
6. Assegure-se de que não ocorra contaminação cruzada entre os poços. Mantenha todas as pipetas e outros equipamentos usados para o Conjugado completamente separados do substrato TMB.
7. Evite a contaminação dos frascos de reagentes. Nunca despeje os reagentes não usados de volta nos frascos originais.
8. Não deixe os micropoços secarem entre as etapas de incubação.
9. Siga rigorosamente o procedimento de lavagem descrito. A lavagem insuficiente pode causar um sinal de fundo alto.
10. Evite a luz direta e a exposição a fontes de aquecimento durante todas as etapas de incubação.
11. Recoloque as tampas com códigos de cores nos seus frascos corretos para evitar contaminação cruzada.
12. É importante dispensar todas as amostras e o controle positivo dentro dos poços sem demora. Portanto, assegure-se de que todas as amostras estão prontas para serem dispensadas.

### 7. Prazo de Validade e Condições de Armazenamento

Na chegada, armazene o kit à 2 – 8 °C. Uma vez aberto, o kit é estável por 3 meses (ou até sua data de validade se for inferior a 3 meses). Não use o kit após sua data de validade. Não congele nenhum componente do kit. O Tampão de Lavagem diluído tem validade de 3 meses se armazenado em um frasco fechado a 2 – 8 °C.

### 8. Coleta da Amostra e Armazenamento

Amostras de soro, plasma ou sangue total podem ser usadas e devem ser armazenadas à -20°C se for por longo-prazo. As amostras congeladas devem ser bem misturadas após serem descongeladas e antes do teste. Congelar e descongelar repetidas vezes pode afetar os resultados. A adição de conservantes na amostra de soro pode afetar os resultados. Amostras com contaminação microbiana, aquecidas ou contendo partículas de substâncias não devem ser usadas. Amostras muito hemolisadas, ictericas ou lipêmicas devem ser evitadas.

### 9. Preparo das Amostras e do Tampão de Lavagem

1. Dilua o Tampão de Lavagem (**Reagente 2**) 1:9 em água destilada para fazer tampão suficiente para o teste. Exemplo: adicione 50 mL de tampão de lavagem concentrado em 450 mL de água.
2. Adicione 25 µL de soro ou plasma em um frasco de Diluyente de Amostra (**Reagente 1**) e misture bem.

## 10. Procedimento do Teste

1. Assegure-se de que a microplaca está corretamente orientada como mostrado abaixo.



2. Dispense 100 µL de cada Padrão e o Controle Positivo dentro dos poços como a seguir:

| Poço | Padrão/Controle   |
|------|-------------------|
| A1   | 0 U/mL Padrão     |
| B1   | 25 U/mL Padrão    |
| C1   | Controle Positivo |

3. Dispense 100 µL da amostra de paciente diluída dentro dos poços D1 - H12.

4. Incube por **30** minutos em temperatura ambiente.

5. Após 30 minutos, decante ou aspire o conteúdo do poço e lave os poços 3 vezes usando lavagem automática ou o procedimento de lavagem manual (veja abaixo). Uma lavagem cuidadosa é a solução para bons resultados. **Não deixe os poços secarem.**

### Procedimento de Lavagem Manual:

Esvazie os poços por inversão. Usando uma pipeta de multi-canais ou um frasco de lavagem, preencha os poços com Tampão de Lavagem. Esvazie por inversão e coloque os poços em papel absorvente. Repita esse processo de lavagem mais 2 vezes. Coloque os poços em papel absorvente antes de continuar. **Não deixe os poços secarem.**

6. Dispense 100 µL de Conjugado (**Reagente 3**) dentro de cada poço. Incube os poços por **30** minutos em temperatura ambiente.

7. Após 30 minutos, descarte o conteúdo do poço e lave cuidadosamente os poços 4 vezes com Tampão de Lavagem. Assegure-se de que os poços estejam vazios, mas não os deixem secar.

8. Usando um dispensador de repetição, rapidamente dispense 100 µL de Substrato TMB (**Reagente 4**) dentro de cada poço. Incube a placa por **10** minutos. Observe cuidadosamente o desenvolvimento de coloração. O desenvolvimento de coloração deve ser homogêneo em todo o poço. Se alguns dos poços mostrarem um rápido desenvolvimento de cor em qualquer ponto no poço, pode ser devido ao conjugado de enzima, que não foi tirado por completo na lavagem. Trate, portanto, os resultados com cuidado.

9. Adicione 100 µL de Solução de Parada (**Reagente 5**) em cada poço. Para que os tempos de reação sejam iguais, a Solução de Parada deve ser adicionada aos poços na mesma ordem que o Substrato TMB.

10. Leia a densidade óptica (DO) de cada poço a 450 nm em uma leitora de microplaca dentro de 10 minutos. Um filtro de 620 nm pode ser usado como comprimento de onda de referência.

## 11. Controle de Qualidade

1. Os valores de DO esperados e as faixas de aceitação para os Padrões e Controle Positivo são dados no certificado incluído no kit.
2. O Controle Positivo tem a finalidade de monitorar falhas importantes do reagente.
3. Qualquer poço positivo pelo espectrofotômetro, mas sem coloração visível, deve ser limpo no lado inferior e lido novamente. Se valores de DO abaixo de zero forem observados, os comprimentos de onda usados devem ser verificados, o branco contra o ar deve ser novamente feito e as medições devem ser repetidas.

## 12. Interpretação dos Resultados

Plote a DO do Padrão 0 e 25 U/mL contra a concentração e desenhe uma linha reta através dos pontos. Leia os pontos desconhecidos dessa curva. A tabela seguinte dá as faixas de concentração sugeridas e graus para diferentes respostas do anticorpo do alimento:

| Resposta       | Faixa (AU/mL) <sup>1</sup> | Grau         |
|----------------|----------------------------|--------------|
| Negativa       | < 8                        | 0            |
| Limitrofe      | 8 - 12.5                   | 1 (Duvidoso) |
| Positiva       | 12.5 - 25.0                | 2+           |
| Forte Positivo | > 25.0                     | 3+           |

<sup>1</sup> As unidades são arbitrárias às unidades da Genesis.

Essas são as faixas sugeridas baseadas em estudos internos da Genesis Diagnostics Ltd. Os usuários do kit devem verificar essas faixas nos seus próprios laboratórios sob as condições locais e ajustá-las, se necessário.

## 13. Limitações do Procedimento

1. Os resultados devem sempre ser correlacionados com a condição clínica do paciente, já que um nível aumentado de IgG de alimento não precisa se manifestar com nenhum sintoma específico.
2. É importante lembrar que os resultados desse kit não dão informações sobre alergias mediadas por IgE.

## 14. Características do Teste

Imprecisão entre placas < 20%

## 15. 109 IgG de Alimentos – Esquema do Antígeno de Alimento

Veja o folheto de relatório de alimentos fornecido com o kit.

### Resumo do Método

- Adicione 25 µL da Amostra em 10 mL de Diluente (**Reagente 1**).
- Dispense os Padrões, o Controle Positivo e a amostra diluída dentro dos poços especificados da microplaca.
- Incube por **30** minutos em temperatura ambiente.
- Lave os poços três vezes.
- Dispense 100 µL de Conjugado (**Reagente 3**) dentro de cada poço.
- Incube em temperatura ambiente por **30** minutos.
- Lave os poços quatro vezes.
- Adicione 100 µL de Substrato TMB (**Reagente 4**) em cada poço.
- Incube em temperatura ambiente por **10** minutos.
- Adicione 100 µL de Solução de Parada (**Reagente 5**) em cada poço.
- Leia a densidade óptica a 450 nm (comprimento de onda único) ou 450/620 nm (comprimento de onda duplo).

## 16. Garantia

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

## 17. Gerenciamento de Resíduos

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, revisão em vigor.

## 18. Leitura Adicional

- Atkinson et al. IgG antibodies in IBS, Gut 2004;53:1459-1464.
- James M. Toward an understanding of allergy and in vitro testing. Nat. Med. Journal, 1999; 2 (4): 7-15.
- Gaby AR. The role of hidden food allergy/intolerance in chronic disease. Alt. Med. Review, 1998; 3(2): 90-100.
- Hofman T. IgE and IgG antibodies in children with food allergy. Roc. Akad. Med. Bialmyst, 1995; 40 (3): 468-473.
- Sampson HA, Metcalfe DD. Food allergies. JAMA, 1992; 268 (20): 2840-2844.
- El Rafei A. et al. Diagnostic value of IgG4 measurement in patients with food allergy. Ann. Allergy, 1989; 62: 94-99.

Fabricado por: Genesis Diagnostics LTD.  
Importado e Distribuído por: BioSys LTDA.  
CNPJ: 02220795/0001-79  
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Niterói, RJ.  
CEP: 24.020-062

MS/ANVISA: 10350840182

Responsável técnico:  
Vera Lúcia Alves Janoni – CRF: 2848

SAC: + 55 (21) 3907-2534

[sac@biosys.com.br](mailto:sac@biosys.com.br)  
[www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br)