



Potravinové intolerance

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice potravinových intolerancí

ELISA a **IMUNOBLOT** soupravy ke stanovení specifických protilátek
třídy IgG a IgG4 v lidském séru či plazmě



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



Úvod

Potravinová intolerance je snížená schopnost využít určitý druh potravy nebo její část a to buď pro neschopnost takovou potravu trávit (např. laktózová intolerance) nebo pro imunologickou intoleranci, jejímž příkladem jsou nesnášenlivosti založené na přítomnosti specifických protilátek (v tomto materiálu diskutované potravinové intolerance v užším slova smyslu) nebo autoimunitních celulárních systémů (celiakie).

Klinickými projevy jsou dyskomfort v krajině břicha, nadýmání nebo průjem. Extraintestinální projevy mohou být bolesti hlavy, poruchy spánku, náchylnost k infekcím, kožní potíže a celkové neprospívání.

Příznaky intolerance se projevují až za několik dnů, případně týdnů (na rozdíl od klasických alergií, které se projevují do několika minut nebo opožděně do několika hodin). Z tohoto důvodu je obvykle obtížné určit původce potravinové intolerance.

Diagnostika onemocnění

Laboratorní testy potravinových intolerancí poskytují rychlou a spolehlivou detekci specifických protilátek třídy IgG a IgG4 na četné potravinové antigeny za účelem identifikace potenciální potravinové nesnášenlivosti. IgG protilátky detekujeme u pacientů, kteří nemají prokázány žádné klasické alergie (prach, pyl, ale i potraviny) způsobené protilátkami typu IgE. U pacientů s prokázanými alergiemi nebo s podezřením na alergie, je vhodnější testovat IgG4. Výsledkem testu je graficky znázorněné doporučení, které potraviny můžete konzumovat bez omezení a které byste měli naopak zcela vyloučit.

Stanovení specifických IgG nebo IgG4 v diagnostice potravinové intolerance vychází z poznání, že *in vitro* některé podtřídy IgG (zejména IgG4) jsou spojeny s degranulací bazofilních buněk a mastocytů a aktivací kaskádového komplementového systému.

Další průzkumy ukázaly, že u osob se zánětlivými reakcemi na potraviny byly detekovány IgG, nikoli IgE protilátky. Výrazné titry IgG a IgG4 protilátek byly také nalezeny u pacientů s potravinovými intolerancemi.

Kožní testy jsou na potravinové alergie zaměřeny relativně málo a jsou přínosné pouze v přítomnosti reakcí souvisejících s tvorbou IgE protilátek. Jako další alternativa pro určení potravinové alergie a intolerance bývá

doporučeno držení eliminační diety. Tato metoda však silně závisí na motivaci pacientů k dodržování diety. Vzhledem k těmto omezením se v současné době stále více využívají sérologická stanovení protilátek proti různým potravinovým alergenům.

Interpretace výsledků

Výsledky specifických IgG/IgG4 jsou vyjádřeny kvantitativně v U/ml nebo semikvantitativně ve třídách v rozsahu 0 – 4 (resp. 6). Čím vyšší je třída, tím více protilátek bylo detekováno a předpokládá se i pravděpodobnější korelace s klinickými symptomy.

V případě pozitivního nálezu lékař nebo nutriční specialista obvykle doporučí dietní změny.

To může vést k vyloučení dané potravinové nebo periodického zařazení do jídelníčku. Obě varianty vedou ke snížení imunitní odpovědi, jako jsou například zánětlivé změny na sliznici.

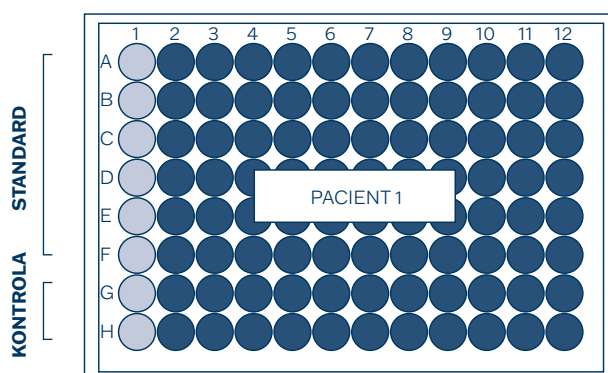
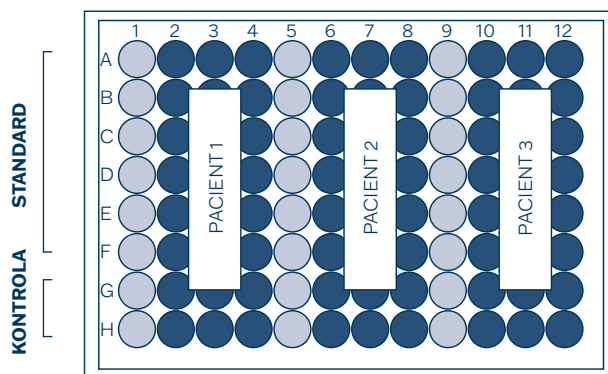
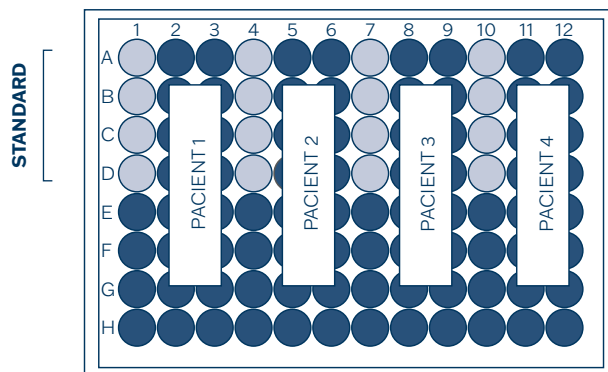
- **Negativní výsledek** – testované potraviny nevedou k tvorbě protilátek, intolerance se nepředpokládá.
- **Slabá pozitivita** – potraviny mohou být konzumované každý 4. den v časovém rozmezí 4 – 6 měsíců (výjimky představují mléko, vajíčka, pšenice a ořechy).
- **Silná pozitivita** – potraviny by měly být vyloučené až po dobu jednoho roku v závislosti na symptomech.

Třída	ELISA	BLOT
0	< 0.35 U/ml	< 1 U/ml
1	0.35 U/ml	1 U/ml
2	0.7 U/ml	3.5 U/ml
3	3.5 U/ml	17.5 U/ml
4	17.5 U/ml	50 U/ml
5	50 U/ml	–
6	100 U/mL	–

ELISA

Standardní formáty souprav

Standardní formáty souprav pro stanovení specifických protilátek ve třídě IgG a IgG4 umožňují testování různých počtů pacientů v závislosti na počtu a uspořádání antigenů.



Antigeny

Možnost výběru tří sestav kombinací

– 20 potravinových antigenů

– 4 standardy

– 4 pacienti

arašídý, banán, celer, jahoda, ječná mouka, kari, kiwi, kravské mléko, lískový ořech, mrkev, pepř, pomeranč, pšeničná mouka, rajče, sezam, sójové boby, treska, vaječný bílek, vepřové maso, žitná mouka

– 24 potravinových antigenů

– 6 standardů, 2 kontroly

– 3 pacienti

banán, burský ořech, celer, česnek, hovězí maso, jahoda, ječmen, kari, kiwi, kravské mléko, lískový ořech, mrkev, pekařské droždí, pepř, pomeranč, pšenice, rajče, rýže, sezam, sójové boby, treska, vaječný bílek, vepřové maso, žito

– 88 potravinových antigenů

– 6 standardů, 2 kontroly

– 1 pacient

ananas, banán, bazalka, brambora, broskev, burský ořech, camembert, celer, cibule, citron, cuketa, čaj černý, česnek, čočka, datle, fazole červená, fazole zelená, fenykl, grapefruit, hořčičné semínko, hovězí maso, hrách, hroznové víno, hruška, hřib, chřest, jablko, jahoda, kakao, kari, kasein, káva, kiwi, kmín, kokosový ořech, kopr, kozí mléko, kravské mléko, krevety, krůtí maso, křen, kukuřice, kuřecí maso, květák, lískový ořech, losos, malina, mandle, mango, máta, medový meloun, mrkev, okurka, olivy, ovčí maso, ovčí mléko, parmezán, paprika, pekařské droždí, pepř černý, petržel, pistácie, platýs, pohanka, pomeranč, proso, pstruh, pšenice, rajče, rokfór, rýže, ředkvička, sardinka, sezam, skořice, sójové boby, špenát, švestka, treska, třešeň, tuňák, tymián, vaječný bílek, vaječný žloutek, vepřové maso, vlašský ořech, zelí bílé, žito

Vyhodnocení

Vyhodnocení umožňuje jednoduchý hodnotící nástroj založený na speciálně navrženém Excelu.

Zadané naměřené hodnoty absorbance jsou automaticky vyhodnoceny a pro přehlednost i graficky znázorněny barevně – výstup může být použit i jako zpráva pro pacienta.

Pracovní postup

Krok

Kroky testu



1.

Ředění vzorků
– séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml)



2.

Dávkování kalibrátorů a ředěných vzorků 100 µl



3.

Inkubace 60 min. při 37 °C



4.

Odsátí a promytí jamek 3 krát



5.

Dávkování Konjugátu 100 µl



6.

Inkubace 30 min. při 37 °C



7.

Odsátí a promytí jamek 3 krát



8.

Dávkování substrátu 100 µl
(TMB-Complete)



9.

Inkubace 60 min. při 37 °C



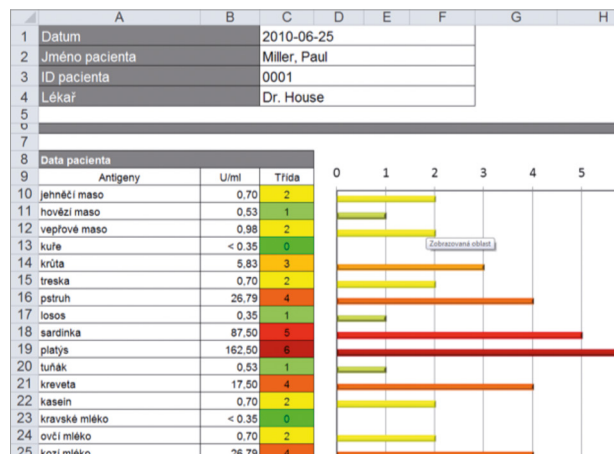
10.

Dávkování Zastavovacího roztoku
100 µl



11.

Fotometrické měření při 450 nm



Charakteristiky souprav

Antigen

Diagnostická citlivost

Diagnostická specifita

Vaječný bílek

86 %

88 %

Kravné mléko

94 %

86 %

Rajče

80 %

90 %

IMUNOBLOT

Charakteristiky souprav

<u>Antigen</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
Vejce	93 %	96 %
Kravné mléko	88 %	94 %
Pšenice	95 %	94 %
Arašíd	91 %	94 %

Vyhodnocení

- Vizuálně pomocí šablony
- Softwarově pomocí uživatelsky příjemného programu, který intuitivně provází celým procesem zpracování a vyhodnocení výsledků včetně komunikace s LIS

Pracovní postup

<u>Krok</u>	<u>Kroky testu</u>
 1.	Dávkování Univerzálního roztoku 2,5 ml
 2.	Smáčení stripů 10 min. při laboratorní teplotě - třepačka
 3.	Odsátí
 4.	Ředění vzorků - séra/plazmy 1:51 (30 µl + 1,5 ml)
 5.	Dávkování kontrol a ředěných vzorků 1,5 ml
 6.	Inkubace 30 min. při lab. teplotě - třepačka
 7.	Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 1,5 ml po 5 min. - třepačka
 8.	Dávkování Konjugátu 1,5 ml
 9.	Inkubace 30 min. při lab. teplotě - třepačka
 10.	Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 1,5 ml po 5 min. - třepačka
 11.	Dávkování substrátu (BCIP/NBT) 1,5 ml
 12.	Inkubace 15 min. při laboratorní teplotě - třepačka
 13.	Odsátí a promytí v destilované vodě 2 krát 2 ml po 5 min. - třepačka
 14.	Nalepení a vyhodnocení stripů



Antigeny

ImmunoLINE LBL10



ImmunoLINE LBL11



ImmunoLINE LBL12



ImmunoLINE LBL13



Individuální profil – více než 400 antigenů potravin

Je prokázáno, že 60% populace moderní civilizace trpí potravinovými intolerancemi nejméně na jednu potravinu. Kromě dříve zmíněných standardních formátů umožňuje jedinečná koncepce definovat uživateli individuální testovací profil výběrem z více než 400 druhů dostupných potravinových antigenů.

Vytvoření individuálního profilu

Na základě údajů o pacientovi je možné vytvořit individuální profil potravinových antigenů. Výsledky těchto individuálních profilů poskytují další a více specifické možnosti vedoucí k diferenciální diagnóze potíží pacientů.

Definování individuálního profilu:

- uspořádání, typ a počet potravinových antigenů
- možnost přidání regionálně specifických potravin

Cereálie	amarant, cizrna, farro, ječmen, kamut pšenice, kukuřice, merlík čilský, oves, pohanka, proso, pšenice, rýže, sezam, špalda, žito, žitovec
Ryby/mořské plody	candát, ďas, halibut, humr, chobotnice, kalamár, kapr, krab, krevety, langusta, losos, makrela, mečoun, okoun, platýs, pstruh, rak, rosefish, sardel, sumec, štikozubec, treska, tuňák, úhoř
Ovoce	ananas, angrešt, avokádo, banán, borůvka, broskev, brusinka, citrón, datle, granátové jablko, grapefruit, hrozen, hruška, jablko, jahoda, kaki, kiwi, limetka, malina, mandarinka, mango, meruňka, mochně, nektarinka, ostružina, pomelo, pomeranč, švestka, třešeň
Zelenina	artyčoky, brokolice, celer, cuketa, červená řepa, česnek, čínské zelí, dýně, chřest, hlávkový salát, hrášek, kedluben, květák, lilek, mrkev, okurka, paprika, rajče, rukola, růžičková kapusta, špenát, zelené fazole, zelí
Mléčné produkty	camember, cottage cheese, čedar, eidam, ementál, gouda, jogurt, kasein, kefír, kozí mléko, kozí sýr, kravské mléko, máslo, niva, ovčí mléko, ovčí sýr, parmazán, podmásli, ricotta, syrovátka, tvaroh
Maso	hovězí, husí, jehněčí, kachní, kozí, králíčí, krůtí, kuřecí, pštrosí, srnčí, vepřové
Ořechy/semena/luštěniny	burský ořech, čočka, hořčičné semínko, hrách, kaštan, kešu ořech, kokosový ořech, lískový ořech, lněné semínko, mák, makadamský ořech, mandle, muškátový oříšek, para ořech, piniové ořechy, pistácie, řepková semínka, sezam, slunečnicová semena, sójové boby, vlašský ořech
Ostatní	aloe vera, anýz, bobkový list, čaj, čili, hřebíček, chmel, javorový sirup, kakao, kapary, kari, káva, kmín, kopr, křen, lékořice, libeček, majoránka, med, meduňka, nové koření, olivy, pekařské droždí, pektin, pelyněk, pepř, petržel, skořice, slad, smrž, šafrán, šalvěj, vaječný bílek/žloutek, vanilka, zázvor



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

IMUNOLOGIE – POTRAVINOVÉ INTOLERANCE

Objednací údaje

ELISA

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	
ILE-SCG25	IgG Screen Nutritional 24 ELISA	
ILE-SCG26	IgG Screen Nutritional 88 ELISA	
ILE-SCG06	IgG ₄ Screen Nutritional 20 ELISA	
ILE-SCG210	IgG ₄ Screen Nutritional 24 ELISA	
ILE-SCG80	IgG ₄ Screen Nutritional 88 ELISA	96

IMUNOBLLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
ILE-LBL10	immunoLINE IgG4 Nutritional	16
ILE-LBL11	immunoLINE IgG4 Nutritional MX1	16
ILE-LBL12	immunoLINE IgG4 Nutritional MX2	16
ILE-LBL13	immunoLINE IgG4 Nutritional MX3	16

VÝROBCE:

Immunolab
*Clinical Diagnostics***Immunolab Clinical Diagnostics GmbH**
Otto-Hahn-Straße 16, 34123 Kassel,
Germany
info@immunolab-clinical.de
www.immunolab-clinical.de

DISTRIBUTOR:

BGI TestLine®**TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.**
Křižíkova 68, 612 00 Brno
Česká republika
trade@testlinecd.com
www.testlinecd.cz