



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**Vyšetření potravinových intolerancí pomocí soupravy
Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

Autor: Pavla Karásková

Vedoucí práce: Mgr. Dagmar Riegert Bystřická, Ph.D.

České Budějovice 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Vyšetření potravinových intolerancí pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3.5.2019

.....

Pavla Karásková

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce paní Mgr. Dagmarě Riegert Bystřické, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, cenné rady a připomínky k práci, které mi poskytla při vypracovávání této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat svému příteli a rodině za jejich podporu a trpělivost při psaní bakalářské práce i během celého studia.

Vyšetření potravinových intolerancí pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot

Abstrakt

Potravinová intolerance je definována jako reakce imunoglobulinů G (IgG) s antigeny, které pocházejí z konkrétních druhů potravin. Statistické analýzy ukazují, že 45 – 60 % populace trpí intolerancí alespoň jedné potraviny, která může vést ke klinickým příznakům nebo tyto příznaky dále zhoršovat. Většina lidí vůbec netuší o své intoleranci a různorodé symptomy se zbytečně a neúspěšně snaží léčit různými léky. Znamky intolerance mohou být různé, od podráždění kůže, přes zažívací potíže, až po nadváhu.

Cílem mé bakalářské práce bylo vypracování odborné rešerše na dané téma. Dále pak praktické zvládnutí metody umožňující detekci 20 potravinových intolerancí z krevní plazmy pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot a prezentace postupu a výsledků týkajících se analýzy potravinových intolerancí.

Teoretická část práce se zabývá rozdíly mezi potravinovou intolerancí a potravinovou alergií, nejčastějšími potravinami vyvolávajícími intolerance a jejich možnou asociací s dalšími onemocněními. Dále se také věnuje způsobům vyšetřování intolerancí a uvádí i postoje odborné veřejnosti vůči tomuto testování.

Praktická část práce, kterou jsem vykonávala v genetické laboratoři GENLABS v Českých Budějovicích zahrnuje přesný popis metody použitý pro detekci potravinových intolerancí a statistické zpracování získaných výsledků.

Klíčová slova

potravinová intolerance; IgG protilátky; astma; Crohnova choroba; migréna; syndrom dráždivého tračníku

Investigation of food intolerances using Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot

Abstract

Food intolerance is defined as a response of G immunoglobulins (IgG) to antigens, which come from specific types of food. Statistical analyses show that 45 – 60% of population suffer from intolerance to at least one type of foodstuff that may lead to clinical symptoms or to worsen such symptoms. Majority of people is not aware of their intolerance and therefore various symptoms are unnecessarily and unsuccessfully treated by medication. Signs of an intolerance can vary from skin irritation, digestive problems, up to overweight.

The aim of my bachelor thesis was to prepare a professional literature review. Then to master practical methods enabling detection of 20 food intolerances from blood plasma using Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot, and presentation of findings about food intolerances.

Theoretical part of the thesis is focused on differences between a food intolerance and food allergy, the most common causes of intolerances and their possible association with other diseases. Ways of investigations of intolerances are analysed together with a summary of experts' positions over this testing.

Practical part of the thesis, which I performed in genetic laboratories GENLABS in České Budějovice, contains a precise description of performed method used for a detection of food intolerances and statistical analysis of retained results.

Key words

food intolerance; IgG antibodies; asthma; Crohn's disease; migraine; Irritable bowel syndrome

Obsah

| | |
|---|-----------|
| Úvod | 8 |
| 1 Teoretická část | 9 |
| 1.1 Potravinové intolerance..... | 9 |
| 1.1.1 Rozdíly mezi potravinovou intolerancí a alergií | 9 |
| 1.1.2 Imunitní systém a potraviny | 11 |
| 1.1.3 Syndrom zvýšené propustnosti střeva | 12 |
| 1.1.4 Nejčastější potraviny vyvolávající intoleranci | 13 |
| 1.1.5 Léčba potravinové intolerance | 15 |
| 1.1.6 Vliv intolerancí na jiná onemocnění..... | 16 |
| 1.1.6 Testování potravinových intolerancí | 26 |
| 1.1.7 Postoje vůči intolerancím | 29 |
| 2 Cíle práce a hypotézy | 32 |
| 2.1 Cíle práce | 32 |
| 2.2 Hypotézy | 32 |
| 3 Metodika | 33 |
| 3.1 IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot..... | 33 |
| 3.1.1 Všeobecné informace | 33 |
| 3.1.2 Princip testů | 34 |
| 3.1.3 Dodávané reagensy..... | 34 |
| 3.1.4 Potřebný materiál, který není součástí soupravy | 36 |
| 3.1.5 Odběr vzorků a manipulace..... | 37 |
| 3.1.6 Pracovní postup | 37 |
| 3.2 AutoBlot 3000..... | 39 |
| 3.2.1 Popis přístroje | 39 |
| 3.2.2 Provoz přístroje | 40 |
| 3.2.3 Komunikace přes klávesnici..... | 40 |
| 3.2.4 Systém přístroje AutoBlot | 41 |
| 3.2.5 Průběh analýzy | 42 |
| 3.2.6 Údržba | 44 |
| 4 Výsledky..... | 47 |
| 4.1 Popis vzorku pacientů | 47 |
| 4.2 Věková skladba vyšetřených pacientů | 48 |
| 4.4 Celkový souhrn výsledků..... | 49 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.5 | Výsledky podle věkových kategorií..... | 52 |
| 4.6 | Výsledky podle pohlaví..... | 53 |
| 4.7 | Zastoupení jednotlivých typů reakcí | 53 |
| 4.8 | Vazby mezi jednotlivými potravinami..... | 54 |
| 5 | Diskuze..... | 55 |
| 6 | Závěr | 58 |
| 7 | Seznam literatury | 59 |
| 8 | Seznam tabulek, obrázků a příloh..... | 65 |
| 9 | Seznam zkratk | 66 |
| 10 | Příloha..... | 67 |

Úvod

Bakalářská práce se zabývá vyšetřováním potravinových intolerancí pomocí enzymatického imunologického testu, který je založený na detekci lidských protilátek 4. podtřídy imunoglobulinu G (IgG4) proti 20 potravinovým antigenům v séru a plazmě. Dle statistik trpí alespoň jednou potravinovou intolerancí až 60 % populace, přičemž o tom v mnoha případech ani neví. Projevy intolerancí bývají různé, nejčastěji se jedná o zažívací potíže, nadváhu, kožní nemoci, bolesti hlavy nebo chronickou únavu. Při zjištění těchto příznaků je možné přistoupit k vyloučení alergií nebo právě potravinových intolerancí způsobujících tyto nežádoucí příznaky.

Reakce spojené s imunitním systémem se od sebe odlišují například časově. Potravinové alergie spojené s imunoglobuliny E (IgE) se rozvíjí během hodiny od požití jídla, zatímco intolerance spojené s IgG mívají opožděné reakce po 24 až 120 hodinách. V současné době se viditelně zvyšuje obliba sérologických stanovení protilátek proti různým potravinovým panelům, přestože toto vyšetření neproplácí zdravotní pojišťovny a tyto testy nejsou uznávány ani odbornými společnostmi.

Vybrala jsem si téma „Vyšetření potravinových intolerancí pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot“, protože se jedná o aktuální problematiku, která ale zatím není dostatečně prozkoumána a ověřena. Mám k tomu tématu blízko také proto, že sama trpím potravinovými alergiemi, které jsou často za intolerance zaměňovány. Díky vypracování této práce jsem se detailněji seznámila s problematikou intolerancí a alergií.

1 Teoretická část

1.1 Potravinové intolerance

Potravinové intolerance mohou být jednoduchým vysvětlením obtíží jako jsou například zažívací obtíže s nepravidelnou stolicí, nadváha a obtížné hubnutí, zadržování vody, bolesti kloubů, bolesti hlavy, chronická únava, spánkové poruchy, celková nevykonnost, kožní problémy nebo častá nemocnost. Předpokládá se, že chronická intolerance způsobená specifickými antigeny různých potravin může vysvětlovat řadu onemocnění. (Nouza, ©2019) Důsledky potravinové intolerance, které snižují kvalitu života, údajně trpí až 45 % obyvatelstva, ale podle názoru některých lékařů je toto číslo ještě vyšší. Většina populace vůbec netuší, že může být intolerantní a různorodé symptomy se zbytečně a neúspěšně snaží léčit různými léky. (Slovenka, 2014) Je zapotřebí zdůraznit, že se v případě intolerance nejedná o potravinovou alergii zprostředkovanou protilátkami IgE. U potravinových intolerancí jsou produkovány protilátky typu IgG. Pokud je prokážeme a vyloučíme problematické potraviny ze stravy, může dojít k výraznému zlepšení zdravotního stavu pacienta. (Nouza, ©2019)

1.1.1 Rozdíly mezi potravinovou intolerancí a alergií

Pojem potravinová intolerance a s ní související protilátky IgG získávají na klinické významnosti teprve v posledních letech, zatímco potravinové alergie jsou v literatuře popisovány již několik desetiletí (tab. 1) Rozvoj laboratorní diagnostiky nám umožňuje najít konkrétní potraviny, které způsobují reakci imunitního systému. Pokud se zjištěné potraviny vyloučí ze stravování, pacientovi se uleví a uzdraví se během několika týdnů. (Nouza, ©2019)

Tabulka 1 Rozdíly mezi potravinovou intolerancí a alergií

| Potravinová intolerance | Potravinová alergie |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">• tvoří se protilátky třídy IgG• obtíže nastupují v rádech hodin až dnů• obvyklá je intolerance na více potravin současně• obtíže bývají mnohočetné, například průjemy, nadýmání, migrény, únava | <ul style="list-style-type: none">• tvoří se protilátky třídy IgE• obtíže nastupují v rádech minut (do 2 hodin)• obtíže zahrnují otoky, vyrážky, svědění, rýmu, dušnost, anafylaktický šok |

Zdroj: (Nouza, ©2019)

1.1.1.1 Potravinová alergie

V případě alergie jde o klasickou imunitní reakci, jejíž mechanismus je dobře známý a prostudovaný. Alergickou reakci vyvolává potravinový alergen, kterým bývá specifický protein přítomný v dané potravine. K nejčastějším klinickým projevům alergie patří například průjem, vyrážky, otoky, ekzém nebo astmatický záchvat. Složitou alergickou reakci zprostředkovávají IgE, které reagují proti specifickým bílkovinám. Laboratorně jsou potravinové alergie detekovány na základě vyšetření krevního séra, kdy jsou měřeny hladiny specifických IgE reagujících s bílkovinou složkou potravin, které stanovujeme. Prokázáním IgE v krevním séru je pak prokázána alergie na dané potraviny. (Cambridge Nutritional Sciences, ©2019)

Alergická reakce se v přítomnosti „škodlivé“ potraviny dostaví velmi rychle, v řádu minut, maximálně během několika hodin po konzumaci konkrétní alergenní potraviny. Díky rychlému nástupu nežádoucích příznaků alergie bývá obvykle souvislost mezi projevy alergické reakce a zkonsumovaným jídlem klinicky jednoznačná. Například konzumace kořenové zeleniny, krevet nebo burských ořechů může u alergických lidí způsobit svědivý otok či vyrážku, zarudnutí v obličeji nebo potíže s dechem. Průjmy a další zažívací potíže nastupují až několik hodin po konzumaci jídla, proto se jejich souvislost s danou potravinou prokazuje hůře. Tyto příznačné souvislosti jsou však velmi dobře známy, takže zkušenému lékaři neuniknou. Dalším způsobem diagnostiky alergií vedle sérologických testů mohou být kožní testy s potravinovými alergeny. (Turnbull et al., 2015) Jedná se o tzv. prick test. Lanceta se ponoří do alergenního roztoku a poté se vpichne do kůže pacienta. Přibližně 15 až 20 minut je místo vpichu pozorováno a pokud je výsledek pozitivní, objeví se v okolí vpichu červený pupínek velký 3 a více mm. (Morris, 2006)

1.1.1.2 Potravinová intolerance

Existence potravinové nesnášenlivosti neboli intolerance není jednoduše odhalitelná. Ve srovnání s alergiemi se v organismu patologické projevy nedostavují tak rychle což bývá také důvodem pro její komplikovanější diagnostiku. Projevy potravinové intolerance mohou být velmi zálučné a mnohem méně jednoznačné. Potravinová intolerance je stav, kdy tělo nepříznivě reaguje na přítomnost některých potravin ve stravě. Důvodem může být absence určité konkrétní látky v těle, např. enzymu, který je nezbytný pro trávení dané potraviny. (Turnbull et al., 2015)

Nejvíce popisovaným příkladem intolerance je nesnášenlivost mléka, obsahujícího mléčný cukr – laktózu. Laktózovou intolerancí pak trpí většina světové populace. V tomto případě tenké střevo v určitém věkovém období a u tolerantních jedinců vyrábí enzym laktázu. Ta v případě intolerance není v organismu přítomna, netvoří se a postižení pak trpí z tohoto důvodu střevními potížemi provázenými nadýmáním, bolestmi břicha a průjmy. (Chrpová, 2010)

Dalším příkladem může být enzym je alkoholdehydrogenáza, jejíž nedostatek postižení lidé pocítí již po vypití malého množství alkoholu, kdy je jim velmi špatně. Výjimkou nejsou ani nepříjemné reakce na chemické látky, které jsou používány v potravinářství. Mohou to být barviva, stabilizátory nebo konzervační látky, které jsou přidávány do nápojů a potravin. Patří mezi ně hlavně siřičitany, salicyláty, kyselina benzoová a její soli, tartrazin, aspartam, kofein a glutamáty. (Fuchs, 2016)

1.1.2 Imunitní systém a potraviny

Principiálně imunitní reakci vyvolávají molekuly označované v odborné literatuře jako antigeny. V případě potravinových intolerancí zodpovídají za nežádoucí účinky antigeny, které jsou součástí základních složek potravin. Během procesu trávení se organismus získává rozkladem potravy jednotlivé živiny, a tedy jednodušší chemické molekuly jako například monosacharidy, aminokyseliny apod. Ty pak mohou přirozeně a prospěšně projít do krevního řečiště skrze střevní stěnu. V některých případech může dojít k tomu, že takto do krevního řečiště projdou také malé části nesprávně strávených potravin. Imunitní systém je pak rozpozná jako tělu cizí a jeho reakcí na danou situaci je pak tvorba protilátek typu IgG. (Nouza, ©2019)

Části potravin, které vyvolají potravinovou intoleranci, mívají obvykle bílkovinou povahu. Nejčastěji se jedná o glykoproteiny s nízkou molekulární hmotností. Mezi jejich základní vlastnosti patří odolnost k denaturaci teplem během kuchyňského zpracování, odolnost k hydrolytickému působení kyselin v žaludku a také odolnost vůči trávicím proteázám, které působí v zažívacím traktu. Speciální buňky střevního epitelu, nazývané M buňky, zachytí tyto molekulární části bílkovin. M buňky pokrývají tzv. Peyerovy pláty, na kterých jsou bílkoviny pohlceny makrofágy. Proběhne další zpracování imunitní reakce a makrofágy pak předkládají antigeny pomocným Th lymfocytům. Dále dojde k imunitní senzibilizaci, kdy se tvoří protilátky, které ale nepocházejí ze třídy IgE a proto nevyvolávají alergickou reakci. V počáteční fázi se

tvorí imunoglobuliny třídy A (IgA) a pokud dojde k dalším podnětům, tvoří se imunoglobuliny IgG. (Fuchs, 2016)

IgG protilátky namířené proti potravinovým antigenům mají stejnou povahu jako protilátky vznikající proti proteinům mikroorganismů. Vznik a neustálá tvorba takové protilátky je podstatou účinnosti očkování a tvoří základ získané imunity. (Nouza, ©2019)

V případě, že dojde vlivem potravy ke zvýšení tvorby IgG, váží se tyto protilátky s dalšími antigeny potravin, a to způsobuje tvorbu komplexů antigen-protilátka. Takovéto komplexy je imunitní systém schopný pomocí fagocytů obvykle eliminovat. Pokud dojde k přetížení imunitního systému, začnou se tyto nerozpustné imunokomplexy ukládat do různých částí těla například do mozkových cév, plicní tkáně, gastrointestinálního traktu, kloubů nebo kůže. Tímto způsobem pak vznikají nepříjemné projevy zapříčiněné zánětem, mezi které patří například astma, syndrom dráždivého tračníku, bolest hlavy, vyrážky, ekzémy a artritida. (Fuchs, 2016)

1.1.3 Syndrom zvýšené propustnosti střeva

Tento syndrom bývá v souvislosti se vznikem potravinových intolerancí často zmiňován. Vlivem zánětu nebo při dlouhodobém dráždění střevní sliznice mohou mezerami mezi buňkami tvořícími střevní stěnu pronikat natrávené potraviny přímo do krevního řečiště. Takovému stavu říkáme syndrom zvýšené propustnosti střeva, který se většinou projevuje bolestmi břicha, pálením žáhy, nespavostí, nadýmáním, úzkostmi, nesnášenlivostí lepku, podvýživou, svalovými křečemi a bolestmi, špatnou tolerancí zátěže a je spojován také s četnými potravinovými alergiemi. Pokud pacient trpí tímto onemocněním, reaguje obvykle na řadu potravin produkcí velmi vysokých hladin IgG protilátek. Nesprávné trávení, malnutrice, oxidační stres a potravinová intolerance mohou být příčinami zánětu, infekce nebo traumatizace střevní sliznice, což vyvolává změny na střevní sliznici a výše popsaný stav. Zánět, který způsobuje zvýšení propustnosti střeva, může být lokální nebo celkový (systémový). (Nouza, ©2019) Buňkami tenkého střeva mohou být produkovány tzv. cytokiny, zánětlivé působky, které reagují proti parazitům, bakteriím a špatně natráveným potravinám. Vznikají také při systémové zánětlivé reakci v důsledku srdeční nedostatečnosti, úrazu nebo jiného poškození. Mexičtí vědci prokázali, že cytokiny zvětšují mezery mezi buňkami střev,

podporují tím vznik syndromu zvýšené propustnosti střeva, přičemž nezáleží na místě jejich vzniku. (Slimáková, 2014)

Je nutné si uvědomit, že protilátky vznikající při potravinové intoleranci jsou nežádoucí. Při kontaktu imunitního systému s potravinovým antigenem by správně mělo dojít k imunologické toleranci, což znamená, že by potraviny měly být snášeny a protilátky by se neměly tvořit. Přestože jsou potravinové proteiny cizorodé látky, lidský organismus by na ně neměl normálně reagovat. Tento poměrně složitý proces se nazývá imunologická tolerance a získáváme ji v průběhu života. Určité potraviny přesto vyvolají tvorbu IgG protilátek specifických proti některému z proteinů. Rozvíjejí se pak chorobné stavy, které se projevují nejenom průjmem nebo poruchami trávení, ale často mívají projevy mírné, dlouhotrvající, a tudíž zákeřné a obtížně přiřaditelné k reakci na některou potravinu. Proto jsou tyto příznaky označovány jako chronické. (Nouza, ©2019)

1.1.4 Nejčastější potraviny vyvolávající intoleranci

1.1.4.1 Kravské mléko

Kravské mléko je běžně pasterizováno a stáda krav jsou důsledně veterinárně kontrolována. Tato opatření vedla k eliminaci výskytu brucelózy a tuberkulózy, dříve běžně přenášenými mlékem, přesto konzumace mléka může způsobit řadu problémů. Mnozí vědci již mnoho let označují mléko za příčinu četných zdravotních obtíží a za potravinu nevhodně užívanou i v dospělém věku. Konzumace kravského mléka může způsobovat následující tři zdravotní komplikace:

- alergii na bílkoviny v kravském mléce
- intoleranci laktózy při nedostatku nebo chybění enzymu laktázy
- potravinovou intoleranci vyvolanou přítomností bílkovin v kravském mléce (Nouza, ©2019)

1.1.4.1.1 Alergie na bílkovinu kravského mléka

Nejčastější potravinou, na kterou jsou lidé a obzvláště děti alergické, je mléko. U dospělých se tato alergie vyskytuje pouze u 0,2 %, ale u kojenců až u 8 %. Alergie na mléko se v 90 % objeví v průběhu prvního roku života dítěte, a to i u kojených dětí.

Do 6 let věku dítěte pak ve více než 70 % případů alergie sama vymizí. Důležitým terapeutickým opatřením je v tomto případě eliminační dieta, která vyloučí mléko a všechny mléčné výrobky ze stravy. (Turnbull et al., 2015)

Složení mléka se mění v průběhu laktace. Mateřské a kravské mléko obsahuje stejné nebo velmi podobné proteiny, které mají srovnatelné vlastnosti (strukturní, funkční i biologické). Mateřské mléko se odlišuje jen tím, že neobsahuje beta-laktoglobulin. Kravské mléko obsahuje asi 30-35 g/l bílkovin, přičemž z 80 % se jedná o kasein a zbývajících 20 % pak tvoří syrovátka. (Fuchs, 2016)

V mléčné žláze se syntetizují hlavní globulární bílkoviny, jako je alfa-laktalbumin a beta-laktoglobulin. Bovinní sérový albumin, imunoglobuliny a laktoferrin mají krevní původ. Rozlišujeme čtyři typy kaseinu: α 1 kasein, α 2 kasein, β kasein a κ kasein. (tab. 2) (Fuchs, 2016)

Tabulka 2 Složení kravského mléka z hlediska bílkovin

| Bílkoviny kravského mléka | | |
|-------------------------------------|---|-----------------------------------|
| Syravátka | | Kaseinová frakce |
| Původ bílkoviny | | α 1 kasein |
| Mléčná žláza | Krev | α 2 kasein |
| beta-laktoglobulin alfa-laktalbumin | bovinní sérový albumin imunoglobuliny laktoferrin | β kasein κ kasein |

Zdroj: (Nouza, ©2019)

Přecitlivělost může být asociována s více proteiny, přičemž všechny mléčné proteiny mohou představovat alergeny. Hlavním alergenem mléka zůstává kasein, ale významné jsou i další proteiny obsažené v mléce v menším množství, jako je například laktoferrin nebo imunoglobuliny. (Fuchs, 2016)

1.1.4.1.2 Intolerance laktózy při nedostatku nebo chybění enzymu laktázy

Nesnášenlivost laktózy není pravou intolerancí, protože není podmíněna tvorbou IgG protilátek a ani alergií, protože ji nezprostředkovává imunitní systém. Nedostatek enzymu laktázy bývá podmíněn geneticky. Úkolem laktázy je štěpení mléčného cukru laktózy na monosacharidy D-glukózu a D-galaktózu. Výskyt laktózové intolerance je v populaci velmi vysoký a způsobuje po konzumaci mléka průjemy, bolesti břicha a nadýmání. Po konzumaci čerstvého mléka bývají potíže horší než po konzumaci zpracovaného mléka do podoby mléčných výrobků, ve kterých je mléčný cukr převážně

zkvašen. Terapií může být eliminační dieta, kdy je nutné z jídelníčku vyloučit mléko a mléčné výrobky. (Turnbull et al., 2015)

1.1.4.1.3 Potravinová intolerance na bílkoviny v kravském mléce

Nejčastější a nejvýznamnější příčinou potravinové intolerance bývají bílkoviny kravského mléka. Při prokázání intolerance na kravské mléko je potřeba snížit jeho spotřebu nebo jej z jídelníčku úplně vyloučit. Alternativou kravského mléka může být například mléko kozí, ovčí, buvolí, sójové mléko, rýžové mléko, ovesné mléko, kokosové mléko, mandlové mléko nebo mléko z lískových ořechů. (Fuchs, 2016)

Obecně je mléko významným zdrojem živin, jako jsou bílkoviny, cukry, tuky, vápník a vitamíny rozpustné v tucích. I přesto může být nahrazeno. V případě intolerance je doporučováno konzumovat jiná mléka jen po přechodnou dobu a pravidelně je v jídelníčku střídat, aby nevznikla intolerance i vůči nim. (Nouza, ©2019)

1.1.4.2 Pšenice

V posledních letech narůstá počet jedinců s diagnózou celiakie. Toto onemocnění postihuje přibližně 1 promile populace a ve své podstatě se jedná o chronický zánět trávicího traktu, který má dopad na celý organismus. Příčinou tohoto geneticky podmíněného onemocnění je intolerance lepku (glutenu), který najdeme hlavně v obilovinách jako je pšenice, žito a ječmen. (Turnbull et al., 2015) Při diagnostice celiakie se obvykle kromě protilátek IgG proti lepku zjišťuje přítomnost také jiných protilátek proti dalším proteinům pšenice včetně semoliny (tvrdé pšenice, která se používá pro výrobu těstovin). V případě, že je test na stanovení IgG protilátek proti pšenici nebo tvrdé pšenici pozitivní, nemusí to ještě znamenat celiakii. Přesto se ale doporučuje pšenici z potravy vyloučit. (Nouza, ©2019)

1.1.5 Léčba potravinové intolerance

Obecně platí Hippokratovo tvrzení, které je 2400 let staré: "Nechť strava je Tvým lékem". (A2C Anti-Aging Clinic, ©2019) Způsobem, jak zmírnit nebo odstranit projevy potravinové intolerance je eliminační dieta. Je zapotřebí vyřadit problematické potraviny a po několika týdnech by se měl dostavit první pocit úlevy. Eliminační dieta je zatím jedinou možností léčby potravinové intolerance. Může se stát, že po určité době

dojde k samovolné nápravě funkcí organismu, a je možné začít potraviny znovu konzumovat, jindy však musí být vyloučení z jídelníčku trvalé. (Zdraví národa, ©2017)

Základem eliminační diety je striktní vynechání podezřelé potraviny nebo základních alergenů (lepek, mléko, vejce, ořechy, mořské plody) a to po dobu tří až osmi týdnů. Během dodržování diety by měly vymizet nebo se zeslabit příznaky potravinových intolerancí. Následně jsou podezřelé potraviny po jednom a v dostatečných časových odstupech (tři až pět dní) znovu zaváděny do jídelníčku a je sledována reakce organismu, zda se vrátí příznaky, případně jak jsou intenzivní. (Proalergiky.cz, ©2019)

1.1.6 Vliv intolerancí na jiná onemocnění

Protože potraviny mohou prokazatelně vyvolat některé příznaky více méně závažných onemocnění, je zvýšen tlak na systém zdravotní péče, vedoucí k prozkoumání možných příčinných souvislostí mezi příjmem potravy a konkrétními nemocemi. (Alpay, 2010)

1.1.5.1 Astma

Astmatické symptomy je možné udržet pod kontrolou pouze pomocí dlouhodobé farmakologické léčby. Akutní zhoršení (exacerbace) astmatu se obvykle vyskytuje v důsledku vystavení účinkům spouštěčů, jako jsou viry, znečišťující látky a alergeny. (Vlček et al., 2014) I když je všeobecně známo, že působení potravinových alergenů typu IgE může zhoršovat symptomy astmatu, existuje jen málo studií, které by zkoumaly opožděné reakce na potravu zprostředkované imunoglobuliny IgG. V literatuře byly popsány dva klinické případy, u kterých došlo ke snížení symptomů astmatu, snížení závislosti na farmakologické terapii a zvýšení kvality života díky eliminaci určitých potravin ze stravy. Jednalo se o vyloučení potravin, které vykazovaly pozitivitu IgG zjištěným pomocí sérového testování. (Virdee et al., 2015)

Intravenózní astma, běžné chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest je charakterizováno snížením velikosti dýchacích cest v důsledku konstriktce hladkého svalstva, edému dýchacích cest a hypersekrece hlenu. Tyto změny vedou k opakovaným epizodám sipotů, dušnosti, těsnosti hrudníku a kašle. Tento zánět může zesílit hyperreaktivita dýchacích cest na podněty, jako jsou znečišťující látky, alergeny a viry. (Vlček et al., 2014)

Atopie je hlavním dědičným rizikovým faktorem pro rozvoj astmatu. U atopických jedinců bývají zvýšené imunitní reakce na cizí antigeny, které mají tendenci alergicky reagovat vůči antigen specifickému IgE. Potravinové alergeny IgE vyvolávají okamžitou zánětlivou reakci charakterizovanou angioedémem, kopřivkou, astmatem a/nebo anafylaxií. Přítomnost protilátek IgE v séru namířených proti potravinám není diagnostikována jako alergie, pokud se nepotvrdí pomocí provokačního testování. Astmatici trpící současně potravinovými alergiemi mají větší pravděpodobnost výskytu závažných exacerbací astmatu. Kliničtí pracovníci si jsou vědomi toho, že potravinové alergeny s opožděným účinkem mohou působit mimo reakce IgE protilátek. Přesné a klinicky účinné laboratorní testy na potravinové alergeny jiné než IgE, jsou sice existují, ale jejich výsledky nejsou zcela jasné a z tohoto důvodu také nejsou v klinické praxi běžně používány. Laboratorní testy detekující IgG a subfrakci IgG4 potravinových protilátek jsou ale stále více dostupné veřejnosti. Výzkum IgG v souvislosti s potravinovými alergiemi však zůstává kontroverzní a neprůkazný. (Virdee et al., 2015)

Ve spojených státech byli pomocí enzymového imunisorbentního testu (ELISA) pro hodnocení protilátek IgG otestováni dva pacienti s astmatem. Tento sérový test měřil hladinu IgG1-IgG4 proti 96 potravinám a výsledky byly uváděny v semikvantitativní škále od 0 (žádná reaktivita) do IV (extrémně vysoká reaktivita). Obecně lékaři interpretují výsledky ELISA testu pro IgG odlišně a používají různé léčebné protokoly vzhledem k trvání a rozsahu eliminace potravin. Sledovaným pacientům bylo doporučeno zkušební období, ve kterém zcela eliminovali potenciální potravinové alergeny ze stravy a současně si všímali symptomatických změn. (Virdee et al., 2015)

Pacient A už v průběhu prvních 21 dní sledování oznámil, že dodržuje dietní doporučení a jeho dýchání a skóre kvality života se zlepšuje. Pacient byl schopen urazit 1,5 mil bez použití inhalátoru a ztratil 4,5 kg hmotnostní váhy. Frekvence astmatických záchvatů se snížila pouze na jednu epizodu, která byla připsána náhodné konzumaci mléka. Na základě výsledků ELISA testu byl instruován, aby eliminoval potraviny třídy III a IV vykazující přítomnost specifický IgG v krevním séru. Jednalo se o pšenici, mléčné výrobky a vejce. Zpočátku bylo doporučeno jejich odstranění ze stravy. Pacient přísně dodržoval danou dietu a zaznamenal vymizení astmatických záchvatů a také ranního a nočního kašle. Pokud pacient onemocněl v důsledku infekce horních cest dýchacích, která by u něj v minulosti jistě vyvolala zhoršení astmatu, mohl snadno odstranit sputum a nepotřeboval zvýšené dávky léků. Potřeba albuterolového inhalátoru

postupně klesala a závažnost astmatu se nadále snižovala. Bylo doporučeno pokračovat v eliminační dietě a snížit dávku léků na polovinu. Pokud se pacient cítil dobře, mohl zcela přerušit farmakologickou léčbu astmatu. (Virdee et al., 2015)

Pacientu B výsledky ELISA testu ukázaly vysokou reaktivitu IgG na vejce mírnou až těžkou reaktivitu na mléko, sýr, pšenici, kvasinky, citrusy, kasein a kukuřici. Pacientovi byla opět doporučena dieta spočívající v eliminaci uvedených potravin. Zpočátku pacient uvedl sníženou potřebu albuterolu, méně epizod noční dušnosti a méně bolesti břicha, avšak později se pacient cítil frustrovaný dietním protokolem a začal občasně požívat vynechané potraviny. K jeho eliminační dietě přibylo denní užívání přírodních antihistaminik. Při další kontrole pacient přiznal, že si zavedl jeden "podváděcí den" v týdnu, během kterého konzumoval i výše uvedené reaktivní potraviny. V těch dnech, kdy nedodržoval dietu, si všiml sípání před spaním. Později pacient přerušil užívání jiných předepsaných léků a používal je pouze dle potřeby. Při další kontrole se pacientovi projevíly noční příznaky sípání a byl velmi přetížený. Opět začal užívat léky a inhalátor v důsledku konzumace pšenice a mléka tři až čtyři dny v týdnu a občasné konzumace sóji a vajec. Pacient byl vyzván, aby pokračoval v eliminační dietě, ale z důvodu nedodržování doporučené eliminační diety, bylo nutné vrátit se k farmakologické léčbě jeho astmatu. (Virdee et al., 2015)

Oba tito pacienti prokázali výraznou úlevu od symptomů astmatu a sníženou potřebu farmakologické léčby asociované se zahájením diety s řízenou eliminací IgG protilátek. U pacienta A, který dodržoval eliminační dietu, klesla četnost záchvatů astmatu na nulu. Jeho skóre závažnosti symptomů se snižovalo při každé návštěvě lékaře a pacient byl navíc schopen provozovat pohybové aktivity. Pacient B prokázal cyklický vzorec exacerbace a remise symptomů astmatu, korelující s jeho dodržováním či nedodržováním dietního protokolu a užíváním či neužíváním předepsaných léků. Ke zlepšení zdravotního stavu u těchto pacientů mohly přispět vedle eliminační diety také jiné faktory. Pacient A trpěl při své první návštěvě nadváhou, přičemž při třetí návštěvě se pohyboval úbytek jeho hmotnosti kolem 6,8 kg. Je možné, že v tomto případě snížení hmotnosti zlepšilo plicní funkci a snížilo příznaky astmatu. Tento jev byl již dříve prokázán u obézních astmatiků. (Virdee et al., 2015)

1.1.5.2 Crohnova choroba

Crohnova choroba (CD) patří mezi z idiopatická onemocnění, což znamená, že příčina tohoto střevního zánětu není zcela zřejmá. Za vznikem CD může stát autoimunitní reakce organismu, genetická zátěž nebo také infekční agens. Nejčastěji se toto onemocnění objevuje v mladém věku, tedy okolo 20-30 let. V případě tohoto onemocnění granulomatózní vředový zánět submukózy chronicky změní trubici zažívacího ústrojí. Zánět může ale napadnout všechny vrstvy střevní stěny. Zánětlivá ložiska bývají roztroušena, a to i po celé délce gastrointestinální trubice, ale nejčastěji jsou nalezena v terminálním ileu, kde mohou mít podobné příznaky jako akutní appendicitida. Ke klinickým projevům patří akutní ataky s průjmovitými stolicemi, subfebrilie, zvracení, bolesti břicha, úbytek hmotnosti způsobený poruchami vstřebávání živin. Tyto projevy střídají období remise. Pacienti bývají anemičtí v důsledku toho pak unavení, slabí, trpí nechutenstvím a jsou nevykonní. Jejich stolice může obsahovat hlen, čerstvou krev nebo nestrávené tuky. (Zachová, 2010)

Bohužel existuje pouze málo studií, které by zkoumaly hladiny specifického IgG4 v potravinách v souvislosti s CD. V jedné takové studii bylo testováno 15 pacientů s CD, 15 pacientů s ulcerózní kolitidou a 10 zdravých kontrol, kdy byla sledována jejich reaktivita proti pěti typům potravin. Pacienti s Crohnovou chorobou CD měli vyšší titry IgG4 na sóju ve srovnání s pacienty s ulcerózní kolitidou (UC) a kontrolní skupinou. Dále bylo prokázáno, že pacienti s CD měli významně vyšší výskyt alergií na potraviny, alergií na léky a atopickou dermatitidu. Nebyla však provedena studie zabývající se vylučovací dietou. (Nasu et al., 1999)

V jiné studii se ukázalo, že dieta a výživa jsou důležité nejen z hlediska příčiny vzniku onemocnění CD a také její při jeho léčbě. V tomto případě je léčba je zaměřena spíše na potlačení imunitního systému a chirurgická léčba je pak určena především pro další možné komplikace. Léčebná terapie zahrnuje v tomto případě odpočinek střev, specifickou výživu vedoucí ke snížení expozice antigenu ve stravě s cílem utlumit imunitní reakci reagující na nevhodné potraviny. Protilátky 1. podtřídy imunoglobulinu G (IgG1) a IgG4 byly považovány za dominantní podtřídy protilátek reagujících proti potravinovým antigenům. Zatímco IgG1 je produkován na počátku působení antigenu, IgG4 je produkován až po jeho chronické expozici. Cílem této studie bylo zjistit, zda by

vylučovací dieta založená na IgG4 mohla zlepšit symptomy a snížit hladiny zánětlivých markerů u pacientů s CD. (Rajendran a Kumar, 2011)

Všichni pacienti vyplnili validovaný dotazník před a po ukončení vylučovací diety. Dotazníky byly hodnoceny s použitím modifikovaného skóre indexu aktivity CD (mCDAI), což je variace skórovacího systému navrženého Best et al., 1979. Součástí bodovacího systému bylo hodnocení bolestí břicha, celkové pohody, počtu pohybů střev za 24 h, počtu mimotělových projevů a přítomnosti abdominální hmoty. Skóre vyšší než 150 znamenalo klinicky aktivní onemocnění a pokles bodů pod 70 znamenal významné klinické zlepšení. (Rajendran a Kumar, 2011)

Do studie bylo přijato celkem 40 pacientů, přičemž jedenáct studií nedokončilo. Analýzou prošlo 26 pacientů (90 %), kteří uvedli symptomatické zlepšení. Průměrný věk pacientů, kteří dokončili studii, byl 39,3 let (rozmezí 18–63). Pacienti byli požádáni, aby vyloučili čtyři nejvíce imuno-reaktivní typy potravin ze své stravy po dobu 4 týdnů. Aktivita onemocnění byla hodnocena pomocí modifikovaného indexu aktivity CD (mCDAI). Dotazník byl vyplněn před a po ukončení vylučovací diety. (Rajendran a Kumar, 2011)

Titry IgG4 protilátek v séru odpovídající čtrnácti běžným potravinám byly měřeny komerčně dostupným radioimuno-fluorescenčním testem. Jednalo se o vaječný bílek, vaječný žloutek, brambory, rajče, sýr čedar, rýži, hovězí maso, jehněčí maso, vepřové maso, sóju, arašídý, pšenici, droždí a kuře. Nejčastěji vyloučenými potravinami byly vaječný bílek a žloutek, sýr čedar, hovězí maso, vepřové maso a pšenice. Průměrné skóre mCDAI při vstupu do studie bylo 171 ± 108 . Po dokončení čtyřtýdenní diety poklesl na průměrný mCDAI na $97,5 \pm 87$. Sérové aktivity IgG4 kontrolované na konci dietního období u 24 z 29 pacientů vykazovaly významný pokles. Tato studie prokázala, že u pacientů s CD dochází k výraznému zlepšení symptomů reagujících na specifickou dietu. Závažnost bolesti, frekvence pohybu střev, celková pohoda a extraintestinální projevy, jak jsou kvantifikovány skórem mCDAI, vykazovaly statisticky významné zlepšení díky upravené stravě. (Rajendran a Kumar, 2011)

Současné metody používané pro vylučovací nebo eliminační diety jsou pro pacienty nepříjemné vzhledem ke své složitosti. Tyto techniky jsou využívány především proto, že neexistují žádné dostupné objektivní testy zjišťující citlivost k potravinám. cílená vylučovací dieta používaná v této studii je individuální a přizpůsobena konkrétnímu

pacientovi na základě zjištěných titrů protilátek IgG4 v séru. Tento přístup má několik výhod. Za první, vyloučení pouze těch potravin, které jsou spojeny se zvýšeným titrem protilátek, je objektivní. Pacientům pak tento přístup vyhovuje, protože je podložen průkaznými laboratorními testy. Za druhé, strava je pacientovi na základě testů individuálně upravena a není tedy nutné vyloučit velké množství potravin. Za třetí, kliničtí lékaři budou pravděpodobně více přesvědčeni o významu předepisované diety vzhledem k použití objektivní metodiky. (Pearson et al., 1993)

Z důvodů malého počtu pacientů a poměrně krátkého sledovacího intervalu je tato studie považována spíše za pilotní. Jedná se o jednoznačná omezení a výsledky jsou dostatečně pozitivní, aby podpořily rozsáhlejší šetření. Testováno bylo pouze 14 běžných potravin, což může ovlivnit věrohodnost získaných dat. Testování více potravin by mohlo vést k vyšší citlivosti a individualizaci, a tedy k možnému dalšímu zlepšení symptomů u většího počtu pacientů. (Rajendran a Kumar, 2011)

Pilotní studie, provedená Pearson et al. (1993) ukazuje na zlepšení symptomů s měřitelnými změnami aktivity CD a rychlost sedimentace erytrocytů (ESR) reagující na IgG4 cílenou vylučovací dietu, v důsledku snížení expozice střevní sliznice konkrétnímu antigenu. Tento přístup může být užitečný v klinické praxi. (Pearson et al., 1993)

1.1.5.3 Migréna

Migréna je stav spojený s těžkou jednostrannou bolestí hlavy, která může být doprovázena nauzeou, zvracením, průjemem, rozmazaným viděním a fotofobií. Přibližně 6-7 % mužů a až 20 % žen uvádí, že zažívají migrenózní bolesti hlavy. Těžká migréna může být stejně invalidní jako quadriplegie a je častou příčinou konzultací pacientů s praktickými lékaři. Kromě toho, že migréna zásadně ovlivňuje kvalitu života, má také významný ekonomický dopad. Pacienti trpící migrénou stráví ročně 4-6 dní odpočinku na lůžku. Etiologie záchvatů migrény není zcela objasněna. V literatuře však bylo identifikováno několik spouštěcích faktorů, včetně stresu, nadměrných aferentních podnětů, změněných vzorců spánku, změny počasí a v neposlední řadě také konzumace potravin. (Mitchell et al., 2011)

Citlivost na konkrétní potravinu je jedním z nejčastějších spouštěčů migrény. Proto dodržování eliminační diety vede ke snížení bolesti hlavy a významnému vymizení symptomů. (Aydinlar et al., 2013)

Arroyave Hernandez et al., 2007 uvedl předběžné důkazy potvrzující příznivý vliv eliminační diety na bázi IgG, kdy u pacientů tímto způsobem úspěšně kontroloval migrénu bez nutnosti medikace. Některé potraviny (např. sýry, čokoláda nebo víno) jsou považovány za dobře známé spouštěče záchvatů migrény na základě konzistentních zpráv od pacientů. V některých případech může dieta s nízkým příjmem tuku snížit frekvenci a intenzitu bolesti hlavy. Na druhou stranu, některé přísady v dietních potravinách, jako je trichlorogalaktosukóza nebo aspartam, mohou u některých migrenistů vyvolat záchvaty. (Alpay et al., 2010)

Vliv potravin na vznik migrény je tématem vědeckého výzkumu již od počátku 19. století. V dřívějších studiích bylo zjištěno, že eliminace specifických potravin z potravy může zabránit nástupu migrény nebo snížit počet zaznamenaných symptomů. Recentní výzkumy naznačují, že hypersenzitivita potravin (intolerance) může být urychlujícím faktorem pro záchvaty migrény. Přibližně 25 % pacientů s migrénou uvádí, že jejich symptomy mohou být vyvolány právě některými potravinami. Úloha potravin v migréně je však stále kontroverzní. Bohužel kvalita studií zabývajících se touto tematikou zatím nebyla příliš vysoká. (Mitchell et al., 2011)

Aydinlar et al. (2013) publikoval studii týkající se pacientů s bolestí hlavy. Pro potřeby experimentu museli vybraní pacienti splňovat konkrétní podmínky. Za použití komerčně dostupného ELISA testu byly u těchto pacientů sledovány hladiny IgG protilátek proti 270 potravinovým antigenům. (Aydinlar et al., 2013) Následovala 6týdenní eliminační dieta s vyloučením potravin s abnormálně zvýšenými IgG protilátkami. Šest týdnů před zahájením testování stejně tak po dobu dodržování eliminační diety si pacienti vedli deník bolesti hlavy. Výsledkem studie bylo zjištění, že eliminační dieta je asociována s výrazným zlepšením migrény. (Alpay et al., 2010)

V jiné mexické studii byl doložen pozitivní vliv eliminační diety založené na IgG spočívající ve zlepšení symptomů, vedoucí k úplné remisi migrény u 43 ze 65 pacientů bez potřeby medikace (Aydinlar et al., 2013) Upravení stravy založené na IgG protilátkách by proto mohlo být účinnou strategií pro snižování četnosti záchvatů migrény zejména u pacientů rezistentních k terapii. Studované soubory pacientů nebyly

příliš rozsáhlé, a proto je nutné k nim přistupovat s jistou opatrností. V případě migrény je zřejmé, že potravinu není její primární příčinou, ale prostřednictvím různých mechanismů je schopna vyvolat nebo zhoršit záchvaty migrény. (Alpay et al., 2010)

Existují ovšem i další studie, popisující jen malý nebo žádný vliv eliminační diety u postižených bolestmi hlavy. (Mitchell et al., 2011)

1.1.5.4 Syndrom dráždivého tračníku

Syndrom dráždivého tračníku (IBS) je běžná funkční gastrointestinální porucha s rostoucí globální incidencí, která postihuje přibližně 10 % až 20 % celkové dospělé populace v Evropě a Americe. (Guo et al., 2012) IBS nemá žádnou identifikovatelnou organickou příčinu a nebyl identifikován ani žádný spolehlivý diagnostický biomarker. Diagnostika IBS tedy je závislá pouze na klinických příznacích. Zřejmě se jedná o komplexní souhru mezi střevní mikroflórou, zánětem nízkého stupně, poruchou funkce slizniční bariéry, viscerální hypersenzitivitou, motilitou střeva a změnami v ose střeva a mozku. Tento stav významně zhoršuje kvalitu života pacienta. (Atkinson, 2004) Je známo, že mezi střevním mikrobiomem a mozkiem a také opačně dochází ke komunikaci. (Morcos et al., 2009)

Patofyziologie IBS tedy není dosud známa a je nepravděpodobné, že by mohla být vysvětlena jediným faktorem. IBS představuje pravděpodobně multifaktoriální stav zahrnující řadu různých mechanismů, které mohou být individuálně odlišné u jednotlivých pacientů (Atkinson, 2004) V literatuře byla popsána řada periferních a centrálních abnormalit. Periferní abnormality zahrnují střevní dysmotility, viscerální hypersenzitivity, zánět sliznice nízkého stupně, zhoršení funkce epiteliální bariéry a změny ve složení střevní mikroflóry. Centrální abnormality zasahují aberantní prezentace centrálního nervového systému střevních událostí a aberantní stresové reakce na poruchy vedoucí podél osy hypotalamus-hypofýza-nadledvin (Morcos et al., 2009)

Pro zajištění jednotnosti a reprodukovatelnosti klinické definice IBS, vznikla tzv, Římská kritéria. Pacienti s IBS byly subtypovány podle jejich převládajícího vzorce stolice do čtyř skupin: IBS s převládající zácpou (IBS-C), IBS s převládajícím průjmem (IBS-D), smíšený IBS (IBS-M) a nesubstituovaný IBS. Ačkoliv může každý pacient přecházet z jednoho typu na druhý v průběhu celého života. (Morcos et al., 2009)

V současné době nejsou k dispozici žádné účinné léky. (Guo, 2012) Léčba IBS je do značné míry založena na použití antispasmodik, antidepresiv a dalších léků, v závislosti na tom, zda je převládajícím problémem zácpa nebo průjem. (Atkinson, 2004)

Pokusy testovat potravinovou nesnášenlivost u IBS se zaměřily především na klasickou potravinovou alergii založenou IgE protilátkách, i když se zdá, že tyto okamžité reakce jsou v tomto stavu pravděpodobně velmi vzácné. Je proto možné, že nežádoucí účinky potravin u pacientů s IBS mohou být způsobeny jinou formou imunitní reakce, než je alergie. Takové reakce by mohly být zprostředkovány IgG protilátkami, které obecně mívají zpožděné odezvy po expozici určitému antigenu a byly identifikovány v některých případech přecitlivělosti na potraviny. Tento mechanismus je však kontroverzní a někteří odborníci jej považují za fyziologický, zejména proto, že IgG protilátky mohou být přítomny u zdánlivě zdravých jedinců. (Atkinson, 2004)

Do studie bylo zařazeno celkem 77 pacientů s IBS (46 mužů, 31 žen) a do kontrolní skupiny 26 zdravých subjektů (16 mužů, 10 žen). Obě skupiny byly srovnatelné z hlediska věku, pohlaví a obecných demografických charakteristik. Pozitivita pro sérové IgG specifické protilátky u pacientů s IBS byla signifikantně vyšší než u zdravých kontrol. Ve skupině IBS mělo 39 ze 77 pacientů různou míru potravinové intolerance. Následně proběhlo 12týdenní sledování změn symptomů u 35 pacientů s IBS, kteří dodržovali eliminační dietu. (Guo et al., 2012) Pacienti trpěli příznaky IBS v průměru více než deset let a laboratorními testy byla zjištěna citlivost k přibližně 6–7 potravinám, 30 % pacientů bylo atopických. (Atkinson, 2004)

Pro vyhodnocení jakýchkoli změn symptomů souvisejících s IBS pacienti vyplnili dotazník před léčbou a 12 týdnů po zahájení léčby. Dotazník zaznamenal stupeň závažnosti hlavních symptomů IBS pomocí čtyřbodového bodovacího systému. Sledovány byly tyto symptomy: bolest břicha a úroveň nadýmání, bolest břicha a její četnost, frekvence průjmu, břišní distenze, tvar stolice, obecné pocity úzkosti a hodnocení celkové účinnosti diety. (Guo et al., 2012)

Atkinson (2004) uvedl, že z hlediska věku, pohlaví, subtypu IBS nebo doby trvání IBS ani z hlediska přítomnosti atopie nebyly zjištěny žádné rozdíly v odpovědi na dietu.

Po osmitýdenní dietní terapii byla významně zlepšena úroveň abdominální bolesti – nadýmání, stupeň abdominální distenze, četnost průjmů, tvar stolice a celkové pocity

úzkosti ve srovnání se skóre zjištěným před léčbou pacientů. Po 8 týdnech se významně zlepšila abdominální bolest – nadýmání, bolest břicha – frekvence, četnost průjmů, abdominální distenze, tvar stolice a celkové pocity úzkosti a po 12 týdnech se všechny příznaky dále zlepšovaly. Po 12 týdnech od zahájení dietní léčby došlo u 23 z 35 pacientů (65,71 %) k zásadní úlevě od příznaků, u 8 pacientů (22,86 %) došlo k určitému zlepšení příznaků a u čtyř (11,43 %) nedošlo ke zlepšení symptomů; celková účinnost eliminační diety byla tedy 88,57 % (31/35 pacientů). (Guo et al., 2012)

Testování IgE protilátek v souvislosti s určením dráždivých potravin bylo spíše zklamáním. Výsledky studií naznačují, že měření protilátek IgG může být v tomto ohledu mnohem přínosnější. Strava pak představuje „aktivní léčbu“ a tato představa je dále podpořena pozorováním významného zhoršení zdravotního stavu u pacientů, kteří znovu zavedli vyřazené potraviny. (Atkinson, 2004)

Jak již bylo uvedeno výše u pacientů s IBS byla incidence potravinové intolerance (identifikovaná specifickou IgG protilátkovou pozitivitou) významně vyšší než v kontrolní skupině. Tato zjištění naznačují, že reakce zprostředkovaná IgG by mohla hrát důležitou roli v patogenezi IBS. Specifická data o IgG protilátkách ukázala, že po vyloučení potravin, které pacienti netolerovali a byly použity k vedení dietní vylučovací terapie, bylo již po čtyřech týdnech po zahájení dietní léčby pozorováno celkové zlepšení příznaků. Pacienti s abnormální gastrointestinální motilitou a viscerálním vnímáním tak vykazovali výrazné zlepšení. Navíc se zlepšila kvalita života pacientů, což ukázalo nižší hodnoty při měření obecných pocitů úzkosti. (Guo et al., 2012) Bylo také zjištěno, že pacienti, kteří vykazují citlivost na větší počet potravin, stanovených testováním IgG, zaznamenali výraznější úbytek symptomů. (Atkinson, 2004)

Symptomy způsobené potravinovou nesnášenlivostí mohou být velmi mírné, takže je pro většinu lidí jejich identifikace obtížná. Pokud není dieta upravena včas, může se rozvinout abnormální imunitní odpověď. Dieta nemusí snížit výskyt pouze gastrointestinálních symptomů, ale může také zlepšit celkovou kvalitu života, postupně snížit finanční zátěž zdravotnického systému i náklady pacientů. Testování IgG protilátek a eliminace špatně snášených potravin se jeví jako jednoduchá a účinná metoda léčby pacientů s IBS. (Guo et al., 2012) Mnozí pacienti s IBS by dávali přednost dietnímu řešení svého problému, před užíváním léků, přičemž ekonomické výhody tohoto přístupu vzhledem ke zdravotnickým službám jsou zřejmé. Výsledky studií tedy

naznačují, že stanovení protilátek IgG hraje významnou roli v identifikaci potravin vhodných pro eliminační dietu a zasloužilo by si další biomedicínský a klinický výzkum. (Atkinson, 2004)

1.1.6 Testování potravinových intolerancí

Pacienti často zohledňují názory alergologů na nekonvenční testování nežádoucích reakcí na potraviny. Tyto způsoby testů zahrnují např. průtokovou cytometrii, používanou pro měření změny objemů bílých krvinek po inkubaci s potravinami, intradermální provokační neutralizaci potravinovými alergeny, analýzu vlasů, elektrodermální testy nebo aplikovanou kineziologii. V některých případech, přestože laboratorní metody mohou být dostatečně věrohodné, neexistují žádné podpůrné studie, které by prokázaly jejich validitu a možnou asociaci s daným onemocněním. V jiných případech, zaslepené, dvojité kontrolované a randomizované studie ukázaly nedostatečnou reprodukovatelnost a dostatečně nekorelovaly s onemocněním. Většina těchto testů pak postrádá biologickou věrohodnost. (Kelso, 2018)

Vzhledem k přetíženosti alergologů není neobvyklé, že pacienti bývají informováni o možnostech testování potravinové intolerance pomocí měření sérového IgG nebo IgG4 proti potravinám. Tyto testy bývají často objednávány nejen nutričními terapeutky a lékaři zabývajícími se alternativní medicínou, ale i vyškolenými lékaři. Některé testy si pacienti mohou objednat přímo, tj. bez návštěvy praktického lékaře. Pacient si s pomocí zasláné testovací soupravy doma odebere kapku krve pro analýzu potravin IgG1 nebo vzorek vlasů pro analýzu vlasů. (EverlyWell, Inc., ©2019; The Great Plains Laboratory, Inc., ©2019; Allergy Test, ©2019) Po provedení takového testu si pacienti často přejí pomoc při interpretaci výsledků. (Kelso, 2018)

Existuje mnoho pacientů trpících fyzickými, psychologickými a psychosomatickými stavy, které konvenční medicína neumí diagnostikovat nebo léčit. Takoví pacienti se pochopitelně obracejí na lékaře, kteří je mohou nasměrovat na vyšetření potravinových intolerancí. Pacienti se pak cítí lépe, protože mají pocit, že znají vysvětlení své nemoci. Tzv. placebo efekt je však velmi silný. Pacienti se mohou cítit lépe po dietních změnách z různých důvodů, které zcela nesouvisejí s výsledky testů. (Kelso, 2018)

1.1.6.1 Test ALCAT

Princip testu spočívá ve vystavení pacienta různým potravinovým agens a sledování objemu a velikosti bílých krvinek. Následně je možné identifikovat potraviny, které mohou vyvolat potenciálně škodlivé reakce imunitního systému. Test využívá průtokovou cytometrii pro měření procenta změny distribuce velikostí buněk při výchozích hodnotách a jejich interakci s jídlem. (Cell Science Systems, 2014) Výsledky mají být využity k přizpůsobení eliminační diety, aby se eliminovaly specifické spouštěče aktivace chronického zánětu a zmírnily se různé symptomy, včetně gastrointestinálních potíží, kožních onemocnění, neurologických a duševních poruch, respiračních onemocnění, metabolických onemocnění, endokrinních systémových poruch muskuloskeletálních a kloubních poruch. (Cell Science Systems, 2014)

Zatím pro tuto metodu neexistuje dostatek důkazů. Není jasné, zda jakékoli změny buněčných objemů v reakci na expozici potravinami jsou fyziologické nebo patologické, nebo jak souvisí s vyšetřovaným onemocněním. (Kelso, 2018) Z novějšího přezkoumání bylo vyvozeno, že testovací systém ALCAT se zatím spoléhá na neprokázaná tvrzení, kterým chybí vědecké a klinické důkazy o jeho účinnosti. (Wüthrich, 2005)

1.1.6.2 IgG – testování potravin

Kvantitativní enzymové imunoanalýzy mohou být použity pro měření IgE protilátek namířených proti potravinám a stejné testy mohou být použity i pro měření IgG protilátek nebo IgG4 protilátek proti potravinám. Tyto testy jsou prováděny v mnoha renomovaných laboratořích a není důvod pochybovat o jejich platnosti a spolehlivosti. Testy ve skutečnosti přesně a reprodukovatelně měří hladiny IgG protilátek namířených proti potravinovým antigenům. Měření IgG u potravin je podporováno za účelem diagnostiky „potravinových citlivostí“, které by se mohly projevit jako akné, ekzém, suchá a svědivá kůže, intolerance potravin, nadýmání po jídle, únava, IBS, bolesti kloubů, migréna, respirační problémy, přibývání na váze a/nebo obtíže při hubnutí, ušní infekce, sinusitida nebo kopřivka. (EverlyWell, Inc., ©2019) Tyto reakce jsou často popsány jako opožděné nebo chronické. (The Great Plains Laboratory, Inc., ©2019)

Produkce protilátek IgG proti potravinám je však normálním imunologickým jevem. IgG protilátky proti potravinám mají prakticky všichni zdraví jedinci. Ve skutečnosti, na

rozdíl od názoru, že vývoj protilátek IgG nebo IgG4 by mohl vést k potravinové intoleranci, byl rozvoj takových protilátek specificky spojen s rozvojem potravinového snížení citlivosti a k následné toleranci. (Kelso, 2018)

Evropská akademie pro alergii a klinickou imunologii vydala dokument schválený Americkou akademií pro alergii, astma a imunologii, kde uvádí, že potravinový specifický IgG4 neindikuje (hrozící) potravinovou alergii nebo intoleranci, jedná se spíše o fyziologickou odpověď imunitního systému po expozici složkám potravy. Proto je laboratorní testování IgG4 na potraviny považováno za irelevantní pro zjištění potravinové alergie nebo nesnášenlivosti a nemělo by být prováděno v případě stížností souvisejících s jídlem. Kanadská Společnost pro alergii a klinickou imunologii (CSACI) došla k závěru, že u normálních, zdravých, dospělých a dětí lze očekávat pozitivní výsledky testů pro potravinově specifické IgG. Nevhodné používání tohoto testu navíc zvyšuje pouze pravděpodobnost falešných diagnóz, což má za následek zbytečná dietní omezení a snížení kvality života. (Kelso, 2018)

1.1.6.3 Další metody pro zjištění potravinových intolerancí

Mezi další způsoby testování patří např. dechový vodíkový test, který se používá při poruše trávení některých cukrů zejména laktózy, výsledkem je zvýšený podíl vodíku ve vydechovaném vzduchu.

Další možností je krevní neimunologický test, používaný v případě podezření na intoleranci laktózy či fruktózy. Nejprve musí pacient zkonzumovat určité množství potravin, která je podezřelá a následně se pak srovnává úroveň glukózy v několika postupně odebíraných vzorcích krve. V případě, že se krevní glukóza nemění (nestoupá), znamená to, že tělo nedokáže štěpit určité cukry.

Test kyselosti stolice používáme, pokud máme podezření na intoleranci laktózy u malých dětí. Nestrávená laktóza vyvolá kvasné procesy, na které poukazuje zvýšená přítomnost kyseliny mléčné a některých testovaných mastných kyselin ve stolici.

Jiným způsobem zjištění potravinových intolerancí je radiodiagnostika. Konzumací potravin, které není naše tělo schopné snášet, může dojít k poškození orgánů, které se vyšetří zobrazovacími metodami. Mezi takové metody patří ultrazvuk, rentgen, magnetická rezonance nebo počítačová tomografie (CT). Metoda se vybírá dle toho, o který poškozený orgán se jedná. (ProAlergiky.cz, ©2019)

Mezi neobvyklé způsoby testování potravinových intolerancí, pro které neexistují žádné publikované studie, které by potvrdily jejich diagnostický význam, patří analýza vlasů. (Kelso, 2018) Jiným nekonvenčním způsobem testování může být také elektrodermální testování nebo aplikovaná kineziologie. (Schwartz et al., 2014)

Dále můžeme zmínit provokační – neutralizační testování, během kterého se alergolog za použití intradermálních injekcí obsahujících extrakty z podezřelých potravin, snaží vyvolat symptomy související s reakcí na jídlo. Následně je injikována odlišná dávka alergenu, která způsobí "neutralizaci" reakce. (Jewett et al., 1990; Fox et al., 1999)

Všechny uvedené přístupy neprokázaly, že jsou užitečným nebo spolehlivým diagnostickým nástrojem, na němž by mohla být založena zdravotní rozhodnutí. (Schwartz et al., 2014) Což není v rozporu s faktem, že pacienti, kteří podstoupili některý z těchto testů a následně upravili svou stravu, se mohou cítit lépe. Ovšem doporučení eliminační diety, spočívající ve vynechání důležitých základních potravin, musí být zejména v těchto případech, dostatečně zodpovědné, zejména pokud se jedná o více potravin, nebo pokud je pacientem malé dítě. (Garrow, 1988)

1.1.7 Postoje vůči intolerancím

Sérologické testy testující hladinu IgG4 proti potravinám jsou trvale podporovány pro diagnostiku přecitlivělosti vyvolané jídlem. Vzhledem k tomu, že mnoho pacientů se domnívá, že jejich příznaky souvisejí s požitím potravy bez diagnostického potvrzení příčinné souvislosti, testy na potravinově specifický IgG4 jsou čím dál více poptávány. (Stapel et al., 2008) Kanadská společnost pro alergii a klinickou imunologii je velmi znepokojena zvýšeným marketingem zaměřeným na širokou veřejnost v posledních několika letech, který doporučuje toto testování jako jednoduchý prostředek k identifikaci „citlivosti na potraviny“. (Carr et al., 2012)

Testování na krevní IgG4 proti různým potravinám se provádí pomocí rozsáhlého screeningu pro stovky potravinových položek enzymatickými imunisorbentními testy a radioalergosorbentními testy u malých dětí, dospívajících a dospělých. Mnohé vzorky séra však vykazují pozitivní výsledky IgG4 bez odpovídajících klinických příznaků. Tato zjištění, kombinovaná s nedostatkem přesvědčivých důkazů o vlastnostech IgG4, neposkytují žádný základ pro hypotézu, že by měla být specifickému IgG4 přisuzována zvláštní role v přecitlivělosti na potraviny. Na rozdíl od sporných přesvědčení, IgG4

proti potravinám ukazuje, že organismus byl opakovaně vystaven potravním složkám, které imunitní systém rozpoznal jako cizí proteiny. Jeho přítomnost by neměla být považována za faktor vyvolávající přecitlivělost, ale spíše za indikátor imunologické tolerance, spojený s aktivitou regulačních T buněk. Lze říci, že IgG4 specifický pro potraviny neindikuje (bezprostřední) potravinovou alergii nebo intoleranci, ale spíše fyziologickou reakci imunitního systému po expozici potravinovým složkám. Proto je testování IgG4 na potraviny považováno za irelevantní pro laboratorní zpracování potravinové alergie nebo nesnášenlivosti a nemělo by být prováděno v případech stížností týkajících se potravin. (Stapel et al., 2008)

Neexistují výzkumné studie, které by podporovaly použití tohoto testu k diagnostice nežádoucích reakcí na potraviny nebo k předpovězení budoucích nežádoucích účinků. Literatura v současné době naznačuje, že přítomnost specifického IgG vůči potravinám je markerem expozice a tolerance vůči potravinám, jak je vidět u účastníků studií orální imunoterapie. (Carr et al., 2012)

Není-li možné pomocí pravidelných diagnostických postupů zjistit IgE-zprostředkovanou potravinovou alergii, není neobvyklé, že zklamaní pacienti, obviňující potravinové komponenty ze svých zdravotních problémů, vyhledávají další informace pro potvrzení svých osobních podezření jinde a nekriticky věří výsledkům testů, které jsou více v souladu s jejich očekáváním. Komerční laboratoře po celé Evropě v současné době provádějí testování IgG4 proti potravinám pro širokou veřejnost a tvrdí, že tyto testy představují spolehlivé nástroje pro diagnostiku potravinových intolerancí. Tato myšlenka je pravděpodobně založena na pozorováních z počátku 80. let, která ukazují, že antigen specifický IgG4 indukuje, podobně jako IgE, uvolňování histaminu z bazofilů. (Stapel et al., 2008)

Nesprávné používání testu pro potravinové intolerance zvyšuje pravděpodobnost falešných diagnóz, což vede ke zbytečným dietním omezením a možnému snížení kvality života. Lze předpokládat, že okamžité náklady na testy jednotlivcům budou navýšeny o další náklady zatěžující již tak přetížený systém zdravotní péče. Osoby zmatené informacemi poskytnutými testováním IgG si pravděpodobně vyžádají další specializovaná doporučení a vyšetření, která by jinak nebyla nutná. (Carr et al., 2012)

V důsledku vážných a rostoucích obav se CSACI rozhodl vydat formální prohlášení podporující názory vyjádřené Americkou akademií pro astma a imunologii (AAAAI)

a Evropskou akademií pro alergii a klinickou imunologii (EAACI). Obě tyto organizace varují před nevhodným měřením IgG nebo IgG4 specifického pro potraviny. A v rámci svých doporučení zdůrazňují, že takové testování nehraje žádnou roli v diagnostice potravinové alergie nebo intolerance. (Carr et al., 2012)

2 Cíle práce a hypotézy

2.1 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce je prezentování postupů a výsledků týkajících se analýzy potravinových intolerancí v letech 2017-2018 v genetické laboratoři GENLABS. Dále praktické zvládnutí metody umožňující detekci 20 potravinových intolerancí z krevní plazmy pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot a vypracování odborné rešerše k danému tématu.

2.2 Hypotézy

1. Potravinové intolerance si nechávají vyšetřit všechny věkové kategorie bez ohledu na pohlaví a roční období.
2. Pozitivních vyšetření je více než negativních.
3. Vysoký výskyt intolerancí se objevuje u kravského mléka, vajec a arašídů.
4. Pozitivita u jednotlivých pacientů je spíše vícenásobná.

3 Metodika

Informace k této části bakalářské práce jsem čerpala z Uživatelské příručky soupravy IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot a z Návodu k obsluze přístroje AutoBlot 3000.

3.1 *IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot*

Enzymatický imunologický test, který je založený na nitrocelulóзовých testovacích prouzcích k detekci lidských protilátek IgG4 proti 20 potravinovým antigenům v séru a plazmě.

3.1.1 *Všeobecné informace*

Reakce proti potravinám v z důvodu inkompatibility mohou vést v lidském těle k různým příznakům, což se v imunitním systému projevuje tvorbou specifických protilátek třídy IgE i IgG a/nebo IgG4.

Podle statistik trpí 60 % populace na intoleranci proti alespoň jedné potravine, a to může vést ke klinickým příznakům nebo tyto příznaky zhoršovat. Projevy mohou být různé, od podráždění kůže přes zažívací potíže až po migrénu. Při zjištění těchto příznaků je nutné vyloučit alergie nebo potravinové intolerance.

Pro stanovení specifických protilátek třídy IgG nebo IgG4 je v diagnostice potravinových intolerancí teoretickým základem zjištění, že některé podtřídy IgG (hlavně IgG4) jsou spojené s aktivací komplementové kaskády a degranulací mastocytů a basofilů in vitro. Vysoké hladiny cirkulujících protilátek třídy IgG byly zjištěny u atopiků.

Již podle prvních studií bylo prokázáno, že osoby se zánětlivými reakcemi proti potravinám mají přítomné protilátky IgG, ne však IgE. Pacientům s potravinovými intolerancemi byly detekované také významné vyšší titry IgG a IgG4.

Kožní testy mají relativně nízkou korelaci s potravinovými alergiemi a jsou významné jen v přítomnosti reakcí spojených s IgE. Dalšími diagnostickými nástroji jsou provokační testy a eliminační diety. Tyto metody jsou významně závislé na motivaci pacienta a tím, jak dodržuje pokyny lékaře. V současné době se vzhledem ke zmíněným omezením zvyšuje obliba serologických stanovení protilátek proti různým potravinovým panelům.

U reakcí spojených s imunitním systémem se časové charakteristiky liší: potravinové alergie spojené s IgE se rozvíjí v průběhu hodiny od požití jídla, zatímco intolerance spojené s IgG/ IgG4 vykazují opožděné reakce po 24 až 120 hodinách s rizikem vzniku trvalých příznaků.

3.1.2 Princip testů

Na principu enzymatického imunologického testu (EIA) je založena i testovací souprava Immunolab IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot. Pomocí každé soupravy lze otestovat 16 pacientů. Každému pacientovi je třeba přiřadit jeden testovací proužek. Každý samostatný proužek obsahuje kontrolní linii a pod ní 20 různých potravinových antigenů pro vyhodnocení testu v paralelních liniích. Poté co se proužky předběžně navlhčí se inkubují s naředěným pacientovým sérem. Protilátky IgG4 v séru pacienta se navážou na imobilizované potravinové antigeny na papírovém proužku. Po inkubaci 30 minut při pokojové teplotě se proužky opakovaně opláchnou naředěným promývacím roztokem, aby se nenavázaný materiál odstranil. Poté se přidá konjugát anti-humánního IgG4 a alkalické fosfatázy (AP) připravený k použití, se kterým se souprava inkubuje dalších 30 minut při pokojové teplotě. Pak následuje další promývání a přidání substrátového roztoku 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium (BCIP/NBT), který se inkubuje 60 minut při pokojové teplotě, včetně aktivace precipitačního barviva na liniích u pozitivní reakce. Opláchnutím proužků promývacím roztokem se potom ukončí barevná aktivace. Intenzita zbarvení je přímo úměrná koncentraci protilátek IgG4.

3.1.3 Dodávané reagenty

Tabulka 3 Reagenty dodávané výrobcem a jejich množství

| Díly | Objem/Množství |
|---|----------------|
| Potravinovým antigenem potažené nitrocelulóзовé testovací proužky | 16 |
| Enzymatický konjugát | 18 ml |
| Diluent vzorku | 60 ml |
| Promývací pufr (10x) | 60 ml |
| Substrát | 18 ml |
| Vyhodnocovací šablona | 1 |

Zdroj: Uživatelská příručka soupravy IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot

Skladování a stabilita (viz. data expirace na štítku krabičky)

Součásti soupravy uchovávat při teplotě 2-8°C. Je třeba nasadit a utáhnout uzávěry lahvíček po použití. Soupravu uchovávat při teplotě 2-8°C. Soupravu, která je otevřená je nutné spotřebovat do 6 měsíců.

Univerzální reagentie

Substrát, diluent vzorku a promývací pufr jsou stejné pro všechny screeningové lineblotové testovací soupravy IgG nebo IgG4 Screen Nutritional od společnosti IMMUNOLAB a využívají pro detekci enzym alkalickou fosfatázu. Tudíž lze mezi produkty a šaržemi tyto reagentie volně zaměňovat. Všechny ostatní reagentie se nemohou mezi sebou měnit, přísluší ke konkrétní soupravě a šarži. Všechny dodávané reagentie jsou připraveny k použití, výjimkou je pouze promývací pufr, který je nutné naředit.

1. Nitrocelulókové testovací proužky

V rámci jedné soupravy je připraveno k použití 16 testovacích proužků pro 16 pacientů. Každý samostatný proužek je potažen jedním kontrolním antigenem a 20 různými potravinovými antigeny (viz distribuční schéma).

2. Enzymatický konjugát

Pufrovací roztok s obsahem proteinů a antihumánní IgG4-AP (myš). Přidáno 5 mg/l přípravku Proclin™, 0,01% bromonitrodioxan a 0,01% methylothiazolon. 18 ml.

3. Diluent vzorku

Fosfátem pufovaný fyziologický roztok/bovinní sérový albumin (PBS/BSA). Přidán 0,05% azid sodný. 60 ml.

4. Promývací pufr

Tris pufovaný fyziologický roztok (TBS) + Tween 20. 10x koncentrát. 60 ml. Konečnou koncentraci získáme naředěním deionizovanou vodou v poměru 1+9. Při skladování v chladu může dojít k vysrážení krystalů, pak se koncentrát na 15 minut zahřeje na 37°C. Při teplotě 2-8 °C lze naředěný promývací pufr uchovávat po dobu 4 týdnů.

5. Substrát

BCIP/NBT. 18 ml.

6. Vyhodnocovací šablona

7. Příručka s pokyny

Distribuční schéma

Jedna kontrolní linie je spolu s 20 potravinovými antigeny na testovacím proužku rozdělena v následujícím pořadí:

Tabulka 4 Distribuční schéma potravin na testovacím proužku

| CL | Kontrola |
|----|--------------|
| 1 | Vejde |
| 2 | Kravné mléko |
| 3 | Pšenice |
| 4 | Kukuřice |
| 5 | Rýže |
| 6 | Sója |
| 7 | Arašíd |
| 8 | Sezam |
| 9 | Kreveta |
| 10 | Krab |
| 11 | Treska |
| 12 | Vepřové |
| 13 | Rajče |
| 14 | Brambor |
| 15 | Mrkev |
| 16 | Pomeranč |
| 17 | Kiwi |
| 18 | Jahoda |
| 19 | Banán |
| 20 | Jablko |

Zdroj: Uživatelská příručka soupravy IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot

3.1.4 *Potřebný materiál, který není součástí soupravy*

- Mikropipety o objemu 20 μ l a 1000 μ l
- Inkubační nosiče
- Zkumavky k naředění séra
- Rocker (třepačka pro inkubaci blotů)
- Deionizovaná voda

3.1.5 Odběr vzorků a manipulace

Pro stanovení se může být použito především sérum nebo plazma (EDTA, heparin). Po vysrážení a centrifugaci se sérum oddělí od krve, která byla sterilně odebrána ze žíly. Vzorky séra či plazmy můžeme uchovávat až po dobu 7 dnů při 2-8°C. Delší skladování a uchovávání je možné při teplotě -20°C. Opakovaně by se vzorky neměly rozmrazovat a zmrazovat. Bakteriemi kontaminované, lipemické nebo hemolytické vzorky mohou způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky.

Vzorky je před provedením testu nutné naředit v poměru 1:51 s diluentem vzorku, který je připravený k použití (např. 20 µl séra + 1ml diluentu vzorku). Na otestování 20 antigenů stačí pouze 20 µl séra pacienta.

3.1.6 Pracovní postup

3.1.6.1 Příprava reagensů

Promývací roztok jsem před použitím naředila v poměru 1+9 deionizovanou vodou. Pokud došlo při skladování v chladu k vysrážení krystalů, koncentrát jsem na 15 minut zahřála na 37 °C. Pro spolehlivé provedení testu jsem dle doporučení postupovala důsledně podle protokolu. Všechny reagensie a vzorky jsem před použitím nechala vytemperovat na laboratorní teplotu, ale nevystavovala jsem je této teplotě po dobu delší, než bylo nezbytně nutné.

3.1.6.2 Provedení testu

1. Požadované množství testovacích proužků jsem vložila do inkubačního nosiče. Umístila jsem je tak, aby viditelné značky na jednotlivých testovacích proužcích směřovaly nahoru.
2. Do každého kanálu jsem aplikovala pomocí pipety 1 ml diluentu vzorku a nechala testovací proužky inkubovat na rockeru po dobu 5 minut při pokojové teplotě. Poté jsem roztok odsála pomocí pastěrky.
3. V průběhu inkubace jsem si připravila vzorky, popsala zkumavky a odsála od každého vzorku 1 ml na zamražení.
4. Do každého kanálu nosiče jsem aplikovala pomocí pipety 1 ml vzorku naředěného v poměru 1:51, zapsala do žádanky číslo testovacího proužku

a inkubovala testovací proužky na rockeru po dobu 30 minut při pokojové teplotě. Poté jsem roztok odsála pomocí pastěrky. Do každého kanálu jsem aplikovala pomocí pipety 2 ml naředěného promývacího roztoku a promývala testovací proužky 5 minut na rockeru při pokojové teplotě. Poté jsem roztok odsála pomocí pastěrky. Tento krok jsem provedla celkem 3x.

5. Do každého kanálu jsem aplikovala pomocí pipety 1 ml konjugátu připraveného k použití a inkubovala testovací proužky na rockeru po dobu 30 minut při pokojové teplotě. Poté jsem roztok odsála pomocí pastěrky.
6. Zopakovala jsem krok promývání dle popisu v bodu 4.
7. Do každého kanálu jsem aplikovala pomocí pipety 1 ml substrátu připraveného k použití a inkubovala testovací proužky na rockeru po dobu 60 minut při pokojové teplotě. Poté jsem roztok odsála pomocí pastěrky.
8. Do každého kanálu jsem aplikovala pomocí pipety 1 ml naředěného promývacího roztoku a ukončila tak reakci substrátu. Roztok jsem odsála pomocí pastěrky. Testovací proužky jsem nalepila na list papíru dodávaný výrobcem, zapsala čísla pacientů a příslušná čísla testovacích proužků a nechala vysušit na vzduchu. Společně s pracovníky laboratoře jsem pak testovací proužky vyhodnotila.

3.1.6.3 Hodnocení

Vlhké testovací proužky mohou vykazovat určité barevné pozadí, které schnutím vymizí. Z toho důvodu se proužky vyhodnocují až tehdy jsou-li zcela suché.

Některé vzorky vykazují barevné pozadí, které nevymizí ani po usušení. V takovém případě se mohou v místě potaženém antigeny objevit bílé proužky. Tyto signály se interpretují jako negativní.

Některé vzorky mají velmi slabé reakce na více antigenů. Tyto vzorky mohou mít tendence vykazovat nespecifické reakce, což nelze zcela vyloučit. V tomto případě je třeba je považovat za negativní, a to platí pro všechny antigeny s podobně slabými reakcemi.

Test se považuje za validní, když vznikne jasně viditelná kontrolní linie během inkubace substrátu. Tato linie se objeví i v případě, že budou mít všechny potravinové antigeny negativní výsledek. Kontrolní linie je nejbližší k identifikačnímu kódu, který je na testovacím proužku přímo vytištěn.

Kontrolní linie vysušených testovacích proužků se musí zarovnat s označením na šabloně („CL“). Podle pořadí uvedeného v části „Distribuční schéma“ je poloha potažených antigenů označena čísly 1-20. Signály se u všech antigenů vykládají dle následujícího schématu:

Tabulka 5 Definice jednotlivých signálů

| Třída | Signál | Interpretace |
|-------|--|--------------------------|
| 0 | žádný signál nebo slabý signál u více antigenů | negativní |
| 1 | slabý signál | hraniční výsledek |
| 2 | střední signál | pozitivní výsledek |
| 3 | intenzivní signál | silně pozitivní výsledek |

Zdroj: Uživatelská příručka soupravy IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot

3.1.6.4 Interpretace výsledku

Potraviny, které vyšly v testu silně pozitivní a pozitivní je doporučováno ze stravy vyřadit minimálně po dobu 1 roku. Následně může dojít k zregenerování imunitního systému. Potraviny, které vyšly v testu hraniční je doporučováno konzumovat pouze každý 4. den po dobu minimálně 6 měsíců. Naopak potraviny, které vyšly v testu negativně mohou být konzumovány bez omezení a neměl by být žádný problém, ani předpoklad budoucí intolerance.

3.2 AutoBlot 3000

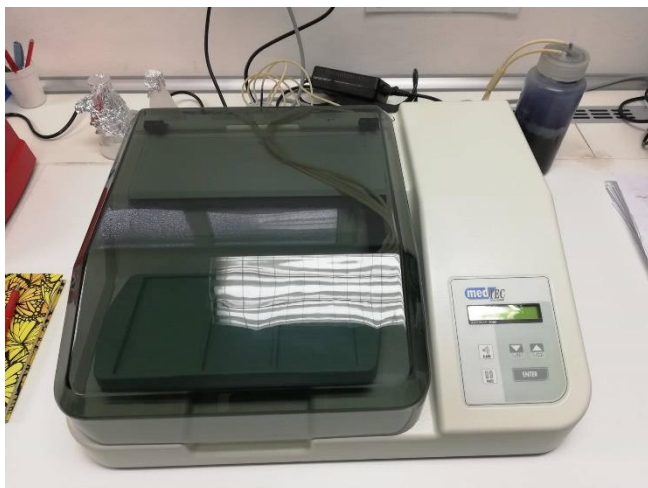
3.2.1 Popis přístroje

AutoBlot 3000 plně automatizuje zpracování metod Western blot. Po manuálním přidání vzorků, AutoBlot sám inkubuje, promývá a provádí dávkování reagensů, tak jak je definováno uživatelem v programu metody. Umožňuje snadné nastavení, bezobslužný průběh metody a upozornění alarmem po dokončení metody.

Přístroj je plně programovatelný přes přední panel a umožňuje uložení až 10 metod, které jsou plně nastavitelné dle pracovního návodu souprav Western blot (dávkované objemy, inkubační časy, odsávání atd.)

Přístroj AutoBlot dokáže nadávkovat a odsát až 20 stripů za 90 sekund. To znamená, že automatické zpracování na přístroji je stejně rychlé jako při manuálním zpracování metody. Model AutoBlot 3000 umožňuje dávkování až 6 reagensů, podle počtu čerpadel.

Přístroj AutoBlot 3000 je jen pro *in vitro* použití.



Obrázek 1 Přístroj AutoBlot 3000

Zdroj: autor

3.2.2 Provoz přístroje

Z důvodu vlastní bezpečnosti a bezpečnosti druhých osob by se mělo s přístrojem pracovat podle návodu k obsluze.

AutoBlot je navržen pro práci při těchto podmínkách:

- Používat v interiéru
- Nadmořská výška do 2000 m
- Teplota 5 °C až 40 °C
- Maximální vlhkost vzduchu 80 % pro teploty nad 31 °C
- Maximální výkyvy napětí v síti ± 10 %

3.2.3 Komunikace přes klávesnici

Na klávesnici AutoBlot analyzátoru je 5 tlačítek:

- klávesa ENTER se používá k provedení výběru nebo k povelu pro provedení akce
- klávesa ALARM vypne alarm, který se spustí v některých fázích provedení analýzy
- klávesa PAUSE dočasně pozastaví přístroj AutoBlot, což poskytne čas připravit roztoky, narovnat stripy nebo přeskočit na další krok v analýze
- šipkové klávesy YES a NO se používají k výběru čísel a k přijetí nebo zamítnutí procesu



Obrázek 2 Klávesnice přístroje AutoBlot 3000

Zdroj: autor

3.2.4 Systém přístroje AutoBlot

„Ready for a New Test“ je první výzva, která se zobrazí po zapnutí přístroje. Zde si můžeme vybrat a spustit dříve naprogramované metody. Tento postup také obsahuje Pump Prime (prvotní nasátí roztoků do hadiček)

„Edit Mode“ se používá k naprogramování kroků nové metody nebo k zobrazení kroků dříve naprogramované metody.

„Calibration Mode“ se používá ke kalibraci objemu rozplňovaného jednotlivými čerpadly. Přístroj byl nakalibrován výrobcem, nicméně je vhodné provést novou kalibraci 1x ročně nebo kdykoli dojde k výměně hadiček.

„Purge Tubing“ se používá k čištění a vyprázdnění hadiček po provedení analýzy.

3.2.5 Průběh analýzy

3.2.5.1 Příprava na spuštění analýzy

Kroky, které je nutné udělat před zahájením konkrétní analýzy:

- Promíchala jsem reagentie
- Pečlivě jsem omyla všechny nádoby destilovanou vodou a naplnila je
- Uzavřela jsem tlakové zámky peristaltických pump
- Připravila jsem vzorky

3.2.5.2 Spuštění analýzy

Po zobrazení výzvy „Ready for a New Test“ jsem stiskla klávesu YES. Ze seznamu dostupných přednastavených metod jsem vybrala typ metody, kterou jsem chtěla spustit. Provedla jsem prvotní nasátí roztoků do hadiček („Prime the pumps“) – každé z čerpadel muselo být před zahájením analýzy spuštěno, aby došlo k nasátí kapaliny do hadiček. Na výzvu jsem postupně spustila jednotlivá čerpadla. Opakovaně jsem stisknula tlačítko YES, dokud tekutina nezačala vytékat do odkapávací vaničky.

Po prvním stisknutí tlačítka YES nasálo čerpadlo 2 ml tekutiny do hadiček, při každém následném stisknutí potom 1 ml. Jakmile bylo čerpadlo připraveno (hadičky byly naplněny) stisknula jsem tlačítko NO, abych mohla přistoupit k přípravě dalšího čerpadla. Přípravu čerpadel bylo nutné provést pouze před provedením první analýzy každý den. Jakmile byly hadičky naplněny tekutinou, nebylo už potřeba znovu provádět přípravu čerpadel.

Zadala jsem počet testovaných stripů pomocí šipkových kláves, nastavila jsem požadované číslo na displeji.

Umístila jsem vaničku s připravenými stripy na pohyblivou plošinu (nosič). Poté jsem uzavřela kryt, který chrání před aerosoly, které vznikají při rozplňovacích a odsávacích cyklech, a proto by měl zůstat po celou dobu analýzy uzavřen.

Zahájila jsem analýzu stisknutím klávesy YES po zobrazení výzvy „Start Assay?“ Jakmile začalo automatické zpracování analýzy, zobrazovaly se různé fáze procesu na displeji. Hlášení se zobrazovala na displeji v různých fázích analýzy, aby upozornila na potřebu připravit vzorky a přidat reagentie.

3.2.5.3 Pozitivní a negativní kontroly

Pozitivní nebo negativní kontroly jsem měla umístit do jamek nejvíce vzdálených od odsávací hlavy a odkapávací vaničky, negativní kontrola by měla být nejvzdálenější (při pohledu zepředu byly tyto kontroly umístěny nejvíce vlevo). Tím jsem zajistila, že se případné problémy projeví na kontrolách.

3.2.5.4 Tlačítko PAUSE

Tlačítko PAUSE jsem mohla použít kdykoliv se výkyvná plošina pohybovala (plošina se kývala vždy při inkubacích). To umožňovalo manipulaci se stripy, připravit čerpadla nebo přeskočit k dalšímu kroku analýzy. Po stisknutí tlačítka PAUSE se test zastavil, přístroj zůstal nečinný až do chvíle, kdy jsem provedla výběr z nabídky Pause.

1. „Return to Assay“ – pokračoval by v analýze od okamžiku přerušeni
2. „Prime Pumps?“ – začal by proces úvodního spuštění čerpadel
3. „Skip to Step?“ – pokračoval by v analýze od zvoleného kroku

3.2.5.5 Resetování přístroje

Pro resetování AutoBlotu jsem jednoduše přístroj vypnula alespoň na 6 vteřin. Po opětovném zapnutí se na displeji objevilo hlášení „Continue Test?“ („Pokračovat v testu?“). Jestliže bych stisknula NO, přístroj by se vrátil na začátek testu. Pokud bych stisknula tlačítko YES pokračoval by od okamžiku, ve kterém byl přístroj vypnut.

3.2.5.6 Vypnutí

Jestliže by došlo k výpadku proudu na dobu kratší než 5 vteřin pokračoval test po obnovení přísunu elektrické energie automaticky. Jestliže by byl výpadek delší než 5 vteřin, zobrazila by se na displeji doba, po kterou výpadek trval a výzva „Continue Test?“ („Pokračovat v testu?“). Stisknula bych klávesu YES pro pokračování v rozběhnutém testu nebo NO pro resetování přístroje.

3.2.5.7 Oddělení konjugátů

Funkce oddělení konjugátů („Split Conjugate“) nám umožňovala provést paralelní analýzu vzorků souběžně v jedné vaničce pro Western blot. Provedla vyšetření části panelu s Konjugátem 1 a zbývající část s Konjugátem 2. Zapnula jsem funkci „Oddělení

konjugátu“ („Split Conjugate“) v Edit Mode Pause. Při nastavování mě systém vyzval, abych zadala údaj o tom, jaká část panelu bude vyšetřena Konjugátem 1 a jaká část Konjugátem 2.

3.2.5.8 Signalizace ukončení analýzy

Při ukončení analýzy byla spuštěna signalizace. Pro potvrzení ukončení jsem stisknula tlačítko ALARM. Pokud bych tak neučinila, vypnula by se signalizace automaticky sama po 2 minutách. Následně se na displeji zobrazila výzva „Purge Tubing?“ („Pročistit hadičky?“). Jestliže jsem ukončila poslední analýzu v daném dni, bylo nutné hadičky pročistit touto procedurou. Pokud jsem potřebovala provést další analýzu, stisknula jsem tlačítko NO, abych proceduru čištění přeskočila a započala následující analýzu.

3.2.6 Údržba

Přístroj AutoBlot nevyžadoval žádnou složitou údržbu. Aby byla zachována správná funkčnost přístroje, bylo nutné provést po ukončení každodenní práce některé kroky. Výrobce kromě toho doporučoval provádět preventivní servisní prohlídku přístroje nejméně 1x ročně.

3.2.6.1 Denní údržba

Přístroj jsem otřela vlhkým papírovým ubrouskem (ručníkem). Povrch rozplňovacího a odsávacího ramene jsem otřela Isopropyl alkoholem. Vyjmula jsem všechny nádoby, abych zajistila, že nebudou znečištěny roztoky v následujících analýzách. Použila jsem destilovanou vodu a 2% roztok chlornanu sodného (Savo). Alkoholem jsem očistila odsávací i rozplňovací špičky. Tyto špičky musely být udržovány v čistotě, aby nemohlo dojít k jejich zanesení a aby bylo zajištěno, že tekutina může proudit. Abych zabránila možné kontaminaci nepoužívala jsem tentýž tampon na očištění odsávacích a rozplňovacích špiček. Promyla jsem hadičky (viz níže) po ukončení práce s přístrojem. Byla jsem také vyzvána k očištění odkapávací vaničky.

3.2.6.2 Čištění hadic přístroje

Hadice by měly zůstat čisté pro zajištění správné funkce přístroje. Používala jsem funkci „Purge Tubing Routine“ („Čištění hadic“) pro vyčištění dávkovacího a odsávacího systému přístroje po ukončení metody. Každé čerpadlo by mělo být

vyčištěno po ukončení metody. Tato funkce byla přístupná po skončení dané metody nebo po ukončení „Pump Calibration Routine“ („Kalibraci čerpadel“).

Vyjmula jsem hadice ze všech nádob, umístila je do nádoby s příslušným čistícím roztokem a stiskla ENTER na výzvu „Place Tubes in Cleaner“ („Umístěte hadice do čistícího roztoku“). Bylo doporučeno použít 2% roztok chlornanu sodného (2ml čistého chlornanu sodného, např. Savo + 98ml destilované vody) nebo běžně dostupné desinfekční přípravky, které neovlivňovaly funkci souprav imunoblot, ale odstranily skryté bakterie. Hadice byly naplněny 5 minut z důvodu desinfekce a poté jsem byla vyzvána k jejich vložení do destilované vody.

Umístila jsem hadice do destilované vody a stiskla ENTER. Systém vypláchl každou hadici a ponechal destilovanou vodu v hadicích 5 minut pro rozpuštění solí, které v nich mohly být. Poté systém znovu propláchl každou hadici a vyzval mě k „Remove Tubes from DI“ („Vyjměte hadice z destilované vody“). Vyjmula jsem hadice z nádoby s destilovanou vodou a umístila je na čistý papír (buničinu). Stiskla jsem ENTER a hadice se vyprázdnily.

Systém mě poté vyzval k „Clean Drip Tray“ („Vyčistěte odkapávací vaničku“). Vytřela jsem tedy odkapávací vaničku a stiskla ENTER. Systém mě dále vyzval k „Release Press Pad“ („Uvolněte jistící zarážky“). Odklopila jsem jistící zarážky čerpadel, abych uvolnila tlak na hadice a stiskla ENTER pro dokončení čištění.

3.2.6.3 Týdenní údržba

Zkontrolovala jsem načasování odsávání. Toto jsem mohla udělat v průběhu analýzy. Odklopila jsem kryt přístroje a pozorovala plnění a odsávání. Přesvědčila jsem se, že každý žlábek byl odsát 1-2 sekundy před tím, než se rameno zvedlo a přesunulo se k dalšímu žlábku.

3.2.6.4 Každoroční prohlídka

Z důvodu udržení přístroje ve vynikajícím stavu bylo doporučeno provádět pravidelnou servisní prohlídku, kterou mohl provádět pouze vyškolený technik. Pravidelná servisní prohlídka zahrnovala instalaci nových hadic, překalibrování čerpadel, vyčištění přístroje a promazání pohyblivých částí.

Kontrolovalo se odpočítávání zařízení při inkubacích. Zbývající čas inkubace byl zobrazen na displeji přístroje. Tento čas se jednou ročně zkontroloval na stopkách.

4 Výsledky

Použitá data v mé bakalářské práci, která jsem statisticky zpracovala jsem získala z výsledků vyšetření potravinových intolerancí pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot v genetické laboratoři GENLABS v Českých Budějovicích z období květen 2017 až prosinec 2018. Práci v laboratoři jsem vykonávala pod vedením Mgr. Dagmar Riegert Bystřické, Ph.D. po seznámení s bezpečnostním a provozním řádem laboratoře a s použitím ochranných pomůcek.

4.1 Popis vzorku pacientů

Celkem bylo vyšetřeno 1126 pacientů z toho 357 pacientů během osmi měsíců v roce 2017 a 769 pacientů během celého roku 2018. Vyšetřovaný soubor tvořilo 244 mužů a 882 žen. Věkové rozmezí souboru se pohybovalo od 2 do 80 let.

Ze získaných dat vyplývá, že během 20 sledovaných měsíců bylo vyšetřeno pouze 76 jedinců (6,75 %), kteří netrpěli žádnou testovanou potravinovou intolerancí.

Tabulka 6 Skladba vyšetřených pacientů v roce 2017

| Rok | Měsíc | Počet pacientů | Ženy | Muži | Procento mužů | Procento žen | Věkový průměr | Pořadí dle počtu vyšetření |
|---------------|----------|----------------|------------|-----------|---------------|--------------|---------------|----------------------------|
| 2017 | Květen | 45 | 32 | 13 | 28,89 | 71,11 | 49,09 | 4. |
| | Červen | 59 | 42 | 17 | 28,81 | 71,19 | 49,29 | 2. |
| | Červenec | 60 | 46 | 14 | 23,33 | 76,67 | 46,65 | 1. |
| | Srpen | 50 | 44 | 6 | 12,00 | 88,00 | 44,98 | 3. |
| | Září | 17 | 13 | 4 | 23,53 | 76,47 | 44,59 | 8. |
| | Říjen | 44 | 34 | 10 | 22,73 | 77,27 | 44,57 | 5.-6. |
| | Listopad | 44 | 29 | 15 | 34,09 | 65,91 | 43,54 | 5.-6. |
| | Prosinec | 38 | 21 | 17 | 44,74 | 55,26 | 44,79 | 7. |
| Celkem | 8 | 357 | 261 | 96 | 26,89 | 73,11 | 45,94 | |

Zdroj: autor

Tabulka 7 Skladba vyšetřených pacientů v roce 2018

| Rok | Měsíc | Počet pacientů | Ženy | Muži | Procento mužů | Procento žen | Věkový průměr | Pořadí dle počtu vyšetření |
|---------------|-----------|----------------|------------|------------|---------------|--------------|---------------|----------------------------|
| 2018 | Leden | 21 | 15 | 6 | 28,57 | 71,43 | 45,14 | 11. |
| | Únor | 38 | 33 | 5 | 13,16 | 86,84 | 44,92 | 10. |
| | Březen | 91 | 59 | 32 | 35,16 | 64,84 | 46,96 | 4. |
| | Duben | 106 | 73 | 33 | 31,13 | 68,87 | 46,73 | 1.-2. |
| | Květen | 96 | 74 | 22 | 22,92 | 77,08 | 40,63 | 3. |
| | Červen | 47 | 41 | 6 | 12,77 | 87,23 | 43,49 | 8. |
| | Červenec | 73 | 66 | 7 | 9,59 | 90,41 | 41,08 | 6. |
| | Srpen | 74 | 62 | 12 | 16,22 | 83,78 | 46,07 | 5. |
| | Září | 57 | 54 | 3 | 5,26 | 94,74 | 45,68 | 7. |
| | Říjen | 106 | 97 | 9 | 8,49 | 91,51 | 47,34 | 1.-2. |
| | Listopad | 46 | 40 | 6 | 13,04 | 86,96 | 43,04 | 9. |
| Prosinec | 14 | 7 | 7 | 50,00 | 50,00 | 34,71 | 12. | |
| Celkem | 12 | 769 | 621 | 148 | 19,25 | 80,75 | 43,82 | |

Zdroj: autor

Výše uvedené tabulky 6 a 7 ukazují počty vyšetřených osob v jednotlivých měsících, včetně informací o pohlaví a věkovém průměru pacientů. Jelikož se vyšetření začalo dělat až v průběhu roku 2017, nemohu tento rok zcela porovnávat s rokem 2018. Přesto se dá z dostupných dat vysledovat, že se menší počet osob nechal vyšetřit v zimních měsících. Měsíce s největším počtem vyšetřených osob byly v roce 2017 červenec a v roce 2018 duben a říjen. Společným znakem července 2017 a dubna 2018 je vždy měsíc před a po, které jsou z hlediska počtu vyšetření druhým a třetím nejpočetnějším měsícem v roce.

4.2 Věková skladba vyšetřených pacientů

Tabulka 8 Rozdělení pacientů do kategorií dle věku

| | Věkové rozmezí | | | | | |
|-------------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2–15 let | 16–20 let | 21–35 let | 36–50 let | 51–65 let | 66–80 let |
| Počet osob | 20 | 6 | 230 | 494 | 298 | 78 |

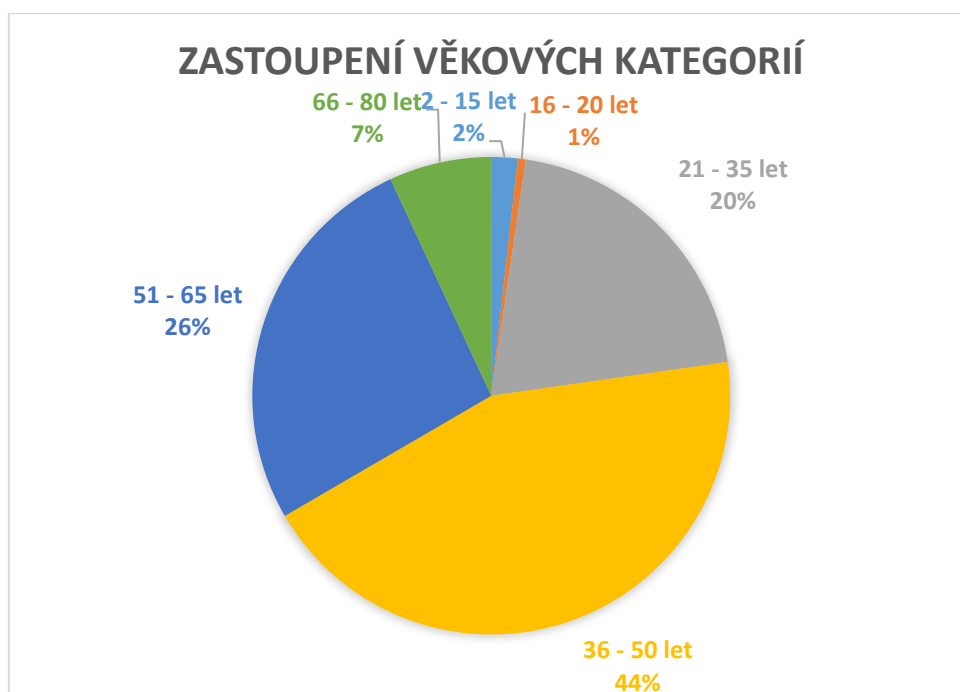
Zdroj: autor

V tabulce 8 je vidět, že věkové rozmezí vyšetřených osob bylo od 2 do 80 let. Toto rozmezí jsem rozdělila do šesti věkových kategorií, níže označených římskými číslicemi I.-VI.:

- děti od 2 do 15 let (I.)
- mládež od 16 do 20 let (II.)

- mladí lidé od 21 do 35 let (III.)
- lidé ve středním věku od 36 do 50 let (IV.)
- lidé v předdůchodovém věku od 51 do 65 let (V.)
- lidé v důchodovém věku od 66 do 80 let (VI.)

Počty vyšetřených jedinců se v jednotlivých skupinách výrazně liší, což je vidět v následujícím grafu na obrázku 3. Nejpočetnější kategorie je IV. kategorie (36 až 50 let), nejméně osob se nechalo testovat ve věku 16 až 20 let (II. kategorie). Z grafu je patrné, že počet vyšetřovaných osob roste s jejich přibývajícím věkem, přičemž v důchodovém věku opět klesá. Průměrný věk vyšetřených pacientů je 44,7 let.



Obrázek 3 Procentuální zastoupení jednotlivých věkových kategorií

Zdroj: autor

4.4 Celkový souhrn výsledků

Z následující tabulky 9 lze vyčíst, že jsem potraviny rozdělila do tří skupin označených různě barevně i písmenem, a to z hlediska počtu pozitivních reakcí, přičemž do skupiny pozitivní reakce zahrnuji hraniční, pozitivní a silně pozitivní výsledek testu. Potraviny s největším počtem reakcí (A – oranžová): vejce, kravské mléko, pšenice, arašídů a banán. Druhé nejčastější potraviny způsobující intoleranci (B – žlutá): kukuřice, sezam, krab, rajče a kiwi. Méně časté pozitivní potraviny (C – zelená): rýže, sója, kreveta, treska, vepřové, brambor, mrkev, pomeranč, jahoda a jablko. V posledním

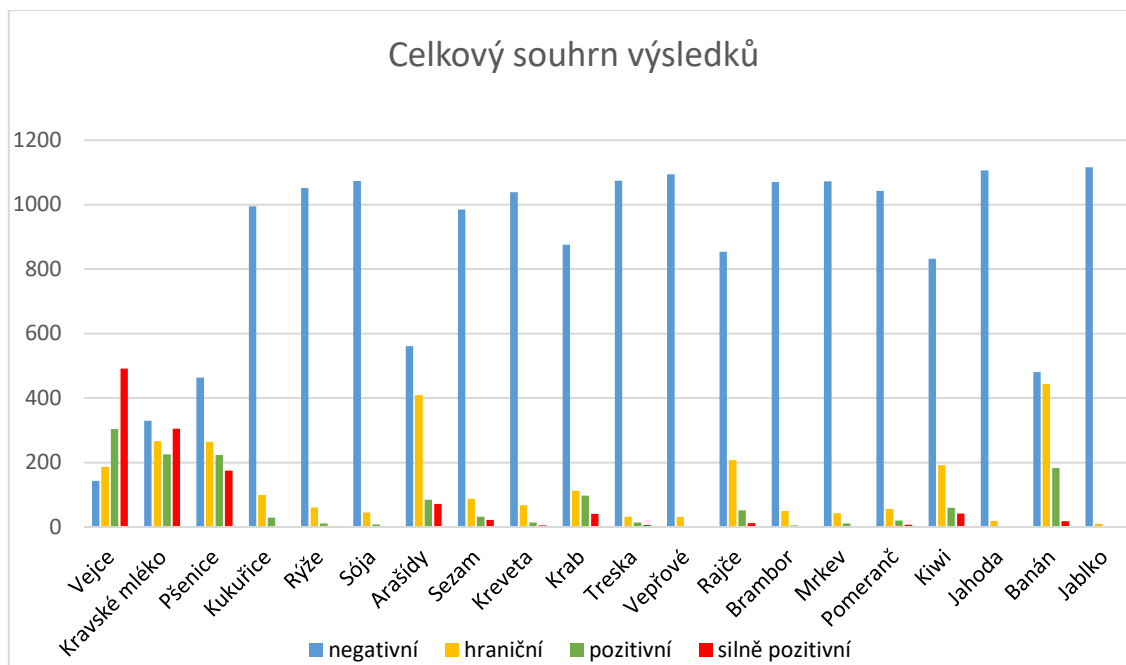
řádku tabulky nalezneme pořadí od největšího počtu po nejmenší počet pozitivních reakcí pro jednotlivé potraviny, tedy od vejce po jablko.

Tabulka 9 Rozdělení pacientů podle pozitivní a negativní reakce na vyšetřované potraviny

| | | Potraviny | | | | | | | | | |
|-----------------|--|-----------|---------------|---------|----------|-------|----------|---------|--------|---------|--------|
| Reakce | | Vejce | Kravske mléko | Pšenice | Kukuřice | Rýže | Sója | Arašidy | Sezam | Kreveta | Krab |
| Negativní | | 143 | 330 | 464 | 995 | 1052 | 1073 | 561 | 985 | 1039 | 876 |
| Pozitivní | | 983 | 796 | 662 | 131 | 74 | 53 | 565 | 141 | 87 | 250 |
| Pořadí potravin | | 1. | 2. | 3. | 10. | 13. | 16. | 5. | 9. | 11. | 8. |
| | | Potraviny | | | | | | | | | |
| Reakce | | Treska | Vepřové | Rajče | Brambor | Mrkev | Pomeranč | Kiwi | Jahoda | Banán | Jablko |
| Negativní | | 1074 | 1094 | 854 | 1070 | 1072 | 1043 | 832 | 1106 | 481 | 1116 |
| Pozitivní | | 52 | 32 | 272 | 56 | 54 | 83 | 294 | 20 | 645 | 10 |
| Pořadí potravin | | 17. | 18. | 7. | 14. | 15. | 12. | 6. | 19. | 4. | 20. |

Zdroj: autor

Detailnější znázornění intenzity reakce jednotlivých potravin je znázorněno v grafu na obr. 4, kde je také vidět, že kromě potravin ze skupiny A převažují u všech ostatních potravin negativní reakce. Přesné počty reakcí jsou uvedeny v tabulce 10 pod grafem. Všechny potraviny mají nejpočetnější intenzitu reakce hraniční, výjimkou je pouze vejce a kravske mléko, které mají nejvíce reakcí silně pozitivních. Oproti tomu kukuřice, sója, vepřové, mrkev, jahoda a jablko nemají silně pozitivní reakci žádnou. Banán, který jsem zařadila do skupiny A obsahující nejvíce reagující potraviny, ten má sice 645 pozitivních reakcí, ale z toho 444 hraničních, 183 pozitivních a jen 18 silně pozitivních. Nejméně reaktivní se ukázalo být jablko, které má z 1126 pacientů jen 10x hraniční výsledek, jinak reagovalo vždy negativně. Nejreaktivnější potravinou bylo vejce, které reagovalo pouze ve 143 případech negativně a u 183 osob hraničně, 304 osob pozitivně a 492 osob silně pozitivně.



Obrázek 4 Celkový souhrn výsledků – znázornění intenzity reakcí u jednotlivých potravin

Zdroj: autor

Tabulka 10 Celkový přehled všech typů reakcí

| Reakce | Potraviny | | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------|---------------|---------|----------|--------|----------|---------|--------|---------|--------|--|
| | Vejce | Kravské mléko | pšenice | Kukuřice | Rýže | Sója | Arašidy | Sezam | Kreveta | Krab | |
| Negativní | 143 | 330 | 464 | 995 | 1052 | 1073 | 561 | 985 | 1039 | 876 | |
| Celkem pozitivních | 983 | 796 | 662 | 131 | 74 | 53 | 565 | 141 | 87 | 250 | |
| Hraniční | 187 | 266 | 264 | 99 | 61 | 45 | 409 | 87 | 68 | 112 | |
| Pozitivní | 304 | 225 | 223 | 29 | 11 | 8 | 84 | 32 | 14 | 97 | |
| Silně pozitivní | 492 | 305 | 175 | 3 | 2 | 0 | 72 | 22 | 5 | 41 | |
| Reakce | Potraviny | | | | | | | | | | |
| | Treska | Vepřové | Rajče | Brambor | Mirkev | Pomeranč | Kiwi | Jahoda | Banán | Jablko | |
| Negativní | 1074 | 1094 | 854 | 1070 | 1072 | 1043 | 832 | 1106 | 481 | 1116 | |
| Celkem pozitivních | 52 | 32 | 272 | 56 | 54 | 83 | 294 | 20 | 645 | 10 | |
| Hraniční | 32 | 31 | 208 | 50 | 43 | 56 | 192 | 19 | 444 | 10 | |
| Pozitivní | 14 | 1 | 52 | 5 | 11 | 20 | 60 | 1 | 183 | 0 | |
| Silně pozitivní | 6 | 0 | 12 | 1 | 0 | 7 | 42 | 0 | 18 | 0 | |

Zdroj: autor

4.5 Výsledky podle věkových kategorií

I. a II. věková kategorie obsahují jako jediné potraviny, které měly jen negativní výsledky. U obou skupin to byla sója, kreveta, treska, vepřové, mrkev, jahoda, jablko a u II. skupiny navíc ještě rýže, sezam, brambor, pomeranč a kiwi. Všechny ostatní kategorie (III.-VI.) měly u všech potravin alespoň jednu reakci, i když jen hraniční. Věkové kategorie III.-V. mají nejméně potravin se žádnou silně pozitivní reakcí (III.= 7, IV.= 8, V.= 8). Naopak nejvíce potravin bez silně pozitivní reakce je vidět v kategorii II. (17), I. (15) a VI. (12). Každá věková kategorie je v příloze znázorněna v samostatném grafu (viz příloha 1 až 6).

Pro všechny kategorie (I.-VI.) jsem pro každý typ reakce spočítala průměrný počet těchto reakcí na osobu. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 11. Hodnoty se v jednotlivých kategoriích příliš nemění. Nejvíce rozdílné hodnoty jsem v tabulce červeně zvýraznila.

Tabulka 11 Výsledky podle věkových kategorií a průměrný počet reakcí

| Věková kategorie: | | | | | | | | | |
|------------------------|--------|------------------|--------|-----------------|--------|-----------------|--------|-----------------|--|
| | | Všichni pacienti | | I. | | II. | | III. | |
| Reakce | | průměr na osobu | | průměr na osobu | | průměr na osobu | | průměr na osobu | |
| | součet | | součet | | součet | | součet | | |
| Negativní | 17260 | 15,33 | 328 | 16,4 | 94 | 15,67 | 3542 | 15,4 | |
| Hraniční | 2683 | 2,38 | 29 | 1,45 | 17 | 2,83 | 509 | 2,21 | |
| Pozitivní | 1374 | 1,22 | 20 | 1 | 4 | 0,67 | 273 | 1,19 | |
| Silně pozitivní | 1203 | 1,07 | 23 | 1,15 | 5 | 0,83 | 276 | 1,2 | |
| Věková kategorie: | | | | | | | | | |
| | | IV. | | V. | | VI. | | | |
| Reakce | | průměr na osobu | | průměr na osobu | | průměr na osobu | | | |
| | součet | | součet | | součet | | | | |
| Negativní | 7558 | 15,30 | 4545 | 15,25 | 1180 | 15,13 | | | |
| Hraniční | 1154 | 2,34 | 763 | 2,56 | 211 | 2,71 | | | |
| Pozitivní | 620 | 1,26 | 358 | 1,20 | 99 | 1,27 | | | |
| Silně pozitivní | 535 | 1,08 | 294 | 0,99 | 70 | 0,90 | | | |

Zdroj: autor

4.6 Výsledky podle pohlaví

U mužů i žen vidíme v grafech (viz Příloha Obr. 7 a 8) potraviny, které nevykazují žádnou silně pozitivní reakci. Patří mezi ně sója, vepřové, mrkev, jahoda, jablko a mužů navíc ještě rýže a brambor. Některé potraviny reagovaly pouze hraničně nebo negativně, přičemž hraničních reakcí bylo jen velmi málo oproti negativním. U mužů to byl brambor, jahody, jablko a u žen jen jablko. Hodnoty se u mužů a žen nijak výrazně neodlišovaly kromě několika výjimek, které zde dále uvádím. Muži měli v porovnání se ženami, které měly přibližně stejné zastoupení všech reakcí u kravského mléka, vysoký počet silně pozitivních reakcí a to 92 (negativních 53, hraničních 56, pozitivních 43). U mužů je zřejmá ještě jedna odlišnost, a to že u arašídů a banánu je nejvíce zastoupen hraniční stupeň positivity.

4.7 Zastoupení jednotlivých typů reakcí

Tabulka 12 vyjadřuje kolik osob má daný počet reakcí určitého typu. Pro lepší pochopení vysvětlím význam tabulky na příkladu. Sloupec označený číslem pět vyjadřuje, že na 5 různých potravin mělo 8 osob negativních reakcí, 88 osob hraniční, 17 osob pozitivní a 11 osob silně pozitivních. Ze všech pacientů měla jedna osoba silně pozitivní reakci na 8 potravin z 20. U pozitivních reakcí je nejvyšší počet pozitivních reakcí na potraviny 10 a také jen u jedné osoby. Nejvyšší počet hraničních výsledků byl zjištěn u dvou osob, a to u 11 potravin. Našel se i jeden pacient, který neměl žádnou negativní potraviny, což znamená, že měl na všech 20 potravin některý ze stupňů positivity.

Tabulka 12 Zastoupení jednotlivých typů reakcí a jejich počet u jednotlivých osob

| | počet výsledků u jednotlivce | | | | | | | | | | |
|-----------------|------------------------------|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|
| typ reakce | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| negativní | 1 | 2 | 0 | 4 | 3 | 8 | 11 | 8 | 10 | 14 | 26 |
| hraniční | 185 | 263 | 216 | 173 | 129 | 88 | 31 | 15 | 18 | 4 | 2 |
| pozitivní | 399 | 340 | 227 | 102 | 34 | 17 | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 |
| silně pozitivní | 504 | 302 | 172 | 86 | 35 | 11 | 9 | 6 | 1 | 0 | 0 |

| | počet výsledků u jednotlivce | | | | | | | | | | |
|-----------------|------------------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|--|
| typ reakce | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | |
| negativní | 29 | 52 | 80 | 148 | 144 | 150 | 124 | 121 | 115 | 76 | |
| hraniční | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| pozitivní | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| silně pozitivní | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Zdroj: autor

4.8 Vazby mezi jednotlivými potravinami

Tabulka 9 uvedená v Příloze vyjadřuje počet osob, které mají intoleranci na potravinu uvedenou ve sloupci a řádku. Uvedené procento vyjadřuje procentuální část z celkového počtu osob s pozitivní reakcí na potravinu uvedenou ve sloupci, přičemž dané osoby mají zároveň pozitivní reakci na potravinu uvedenou v řádku. Procento je tedy matematicky zapsáno rovnicí: $Z_{x,y} = \frac{\text{počet osob s poz. reakcí na potravinu X a zároveň Y}}{\text{počet osob s poz. reakcí na potravin X}} \cdot 100$

K vysvětlení výpočtu slouží pomocná tabulka 13.

Tabulka 13 Pomocná tabulka k vysvětlení výpočtu procent

| | Potraviny | |
|----------------|--|--|
| Potraviny | X ₁ | X ₂ |
| Y ₁ | | Z _{x₂,y₁} |
| Y ₂ | Z _{x₁,y₂} | |

Zdroj: autor

Například na kravské mléko má intoleranci 796 osob, z toho 772 osob má intoleranci zároveň i na vejce, což je 96,99 % z osob, které mají pozitivní reakci na kravské mléko. Díky tabulce 9 uvedené v Příloze jsem zjistila, že v případě intolerance na některé potraviny je procento výskytu intolerancí na jiné potraviny velmi vysoké. Procenta nad 85 % jsem v tabulce zvýraznila. Čísla v posledním sloupci vyjadřují průměrnou procentuální část pacientů, kteří mají intoleranci na danou potravinu v řádku a zároveň druhou intoleranci na jakoukoli další potravinu.

5 Diskuze

Jedním z cílů této bakalářské práce bylo prezentování výsledků týkajících se analýzy potravinových intolerancí pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot. Konkrétně se jednalo o výsledky potravinových intolerancí získané v genetické laboratoři GENLABS v letech 2017 a 2018. Celkem bylo v tomto období vyšetřeno 1126 pacientů, jejichž výsledky jsem statisticky zpracovala a z konečných výsledků sestavila grafy a vytvořila tabulky. Získaná data byla využita k potvrzení nebo vyvrácení stanovených hypotéz.

Hypotéza číslo 1: Potravinové intolerance si nechávají vyšetřit všechny věkové kategorie bez ohledu na pohlaví a roční období.

Ze zpracovaných výsledků vyplývá, že je tato hypotéza nepravdivá. Vyšetřované osoby byly nejčastěji ve věku 36-50 let, naopak nejméně se nechali vyšetřovat lidé ve věku 16-20 let. Počet vyšetřených osob rostl s jejich přibývajícím věkem, přičemž v důchodovém věku strmě klesal. Průměrný věk souboru byl 44,7 let, což přibližně odpovídá průměrnému věku obyvatelstva České Republiky. Soubor byl složen z 244 mužů a 882 žen, výrazně převažují tedy ženy, ale výsledky mužů a žen se nijak výrazně neodlišovaly. Při porovnání počtu vyšetření v jednotlivých měsících lze říci, že v zimních měsících se nechal vyšetřit menší počet osob než v měsících letních.

Bylo by zajímavé zjistit příčinu, proč se nechávají vyšetřit spíše starší lidé. Zda je důvodem projev intolerance až v pozdějším věku, nevnímovost k možným symptomům nebo neznalost existence potravinových intolerancí a nedostatečná informovanost o možnosti jejich vyšetření. Dalším předmětem zkoumání by mohl být výrazně vyšší počet vyšetřených žen oproti mužům. Důvodem by mohla být například větší starostlivost žen o své zdraví nebo jejich celková vyšší citlivost vzhledem k potravinám. K výše uvedené problematice se mi nepodařilo dohledat informace v odborné literatuře, tudíž nemám tyto výsledky s čím srovnávat.

Hypotéza číslo 2: Pozitivních vyšetření je více než negativních.

Tato hypotéza se potvrdila. Ze získaných dat vyplývá, že za 20 sledovaných měsíců bylo vyšetřeno pouze 76 osob, což je 6,75 %, které netrpěly žádnou z testovaných potravinových intolerancí. Za pozitivní vyšetření považuji alespoň jednu hraniční, pozitivní nebo silně pozitivní reakci na jednu z dvaceti vyšetřovaných potravin u dané

osoby. Důvodem tohoto výsledku by mohl být fakt, že vyšetření potravinových intolerancí podstupují pacienti, kteří mají pouze podezření na potravinovou intoleranci.

Hypotéza číslo 3: Vysoký výskyt intolerancí se objevuje u kravského mléka, vajec a arašídů.

Vysoký výskyt intolerancí je v literatuře popisován především u kravského mléka, vajec, pšenice a arašídů. (Fuchs, 2016) Např. Nouza (©2019) označil ve své publikaci jako nejčastější potraviny vyvolávající intoleranci kravské mléko a pšenici. Ve výsledcích uvádím, že mezi potraviny s největším počtem reakcí patří vejce, kravské mléko, pšenice, arašídů a banán. Třetí hypotéza se tedy potvrdila. Ve studovaném souboru se navíc mezi nejvíce intolerantní potraviny zařadil banán, který nebyl v mojí hypotéze uveden, a nakonec měl více pozitivních reakcí než arašídů. Ty jsou v mém souboru až na pátém místě. Z mých výsledků dále vyplývá, že kravské mléko a pšenice byly druhou a třetí nejvíce reagující potravinou. Nejvyšší počet pozitivních reakcí jsem zaznamenala u vejce. Intoleranci na tuto potravinu mělo 983 pacientů a z toho 492 mělo silně pozitivní reakci. Vzhledem k vysokému počtu silně pozitivních reakcí, které nejsou v literatuře běžně popisovány, je na místě zamyslet se jednak nad citlivostí testu nebo také nad skutečným nebezpečím spojeným se zvýšenou konzumací vajec, která může být asociována s různými typy chronických onemocnění. Překvapením je také vysoká reaktivita banánu, který je dnes jako potravina celoročně dostupný a ve velkém měřítku je konzumován zejména dětmi.

Hypotéza číslo 4: Pozitivita u jednotlivých pacientů je spíše vícenásobná.

Potvrzení této hypotézy lze vyčíst z tabulky číslo 12. Součtem negativních reakcí ve sloupci 19 a 20 zjistíme, že pouze 191 pacientů z 1126 (16,9 %) mělo jednu nebo žádnou pozitivní reakci, všichni ostatní pacienti měli pozitivní reakci na dvě a více potravin. Průměrně měl každý pacient 1,07 silně pozitivních reakcí, 1,22 pozitivních reakcí, 2,38 hraničních reakcí a 15,33 negativních reakcí na dvacet vyšetřovaných potravin. Znamená to tedy, že podle mých výsledků vyvolává intoleranci u jednotlivých osob většinou více než jedna potravina.

Celkově lze k výsledkům říci, že mohou být ovlivněny z několika hledisek. Vysoká pozitivita u pacientů může být způsobena tím, že toto vyšetření vyhledávají lidé, kteří již mají podezření na některou potravinovou intoleranci, protože trpí výše uvedenými

symptomy. Dalším vlivem by mohl být i řízený marketing, tedy propagace daného vyšetření spíše neklinickými pracovníky, a tedy výživovými poradci a také načasovanost tohoto marketingu v jednotlivých ročních obdobích. V neposlední řadě je využití těchto testů také ovlivněno postojem zdravotních pojišťoven, které je neproplácí a klienti si toto vyšetření hradí formou samoplátcetví.

Problematika potravinových intolerancí není ještě dostatečně prozkoumána, a proto by bylo vhodné provést další klinický výzkum. Podle mého názoru by měl být výzkum proveden na náhodně vybraných osobách pro zjištění objektivních výsledků.

6 Závěr

Cíle mé bakalářské práce, kterými bylo prezentování postupů a výsledků týkajících se analýzy potravinových intolerancí, praktické zvládnutí metody umožňující detekci 20 potravinových intolerancí z krevní plazmy pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot a vypracování odborné rešerše k danému tématu byly splněny.

Teoretická část práce se snaží shrnout dostupné informace o potravinové intoleranci, vysvětlit rozdíly mezi potravinovou alergií a intolerancí, popsat potraviny nejčastěji vyvolávající intoleranci a objasnit dostupné informace o možné asociaci s dalšími onemocněními. Dále se věnuje způsobům vyšetřování intolerancí a uvádí postoje odborné veřejnosti vůči tomuto typu vyšetření i onemocnění.

Praktická část práce podrobně popisuje metodu, kterou byly pomocí soupravy Immunolab IgG4 Screen Nutritional Lineblot intolerance vyšetřovány manuálně i automatizovaně za pomoci přístroje AutoBlot 3000. Dále jsou uvedeny statisticky zpracované výsledky, které jsou doplněny tabulkami a grafy.

Hypotéza číslo 1, že potravinové intolerance si nechávají vyšetřit všechny věkové kategorie bez ohledu na pohlaví a roční období, se nepotvrdila. Dále hypotéza číslo 2, že pozitivních vyšetření je více než negativních, se potvrdila. Z výsledků vyplývá, že z celkového počtu 1126 pacientů pouze 6,75 % osob netrpělo žádnou intolerancí na dvacet vyšetřovaných potravin. Hypotéza číslo 3, že se vysoký výskyt intolerancí objevuje u kravského mléka, vajec, pšenice a arašídů, se potvrdila. Nejvíce reagující potravinou se ukázalo být vejce, které mělo nejvíce silně pozitivních reakcí. Dále se potvrdila hypotéza číslo 4, že pozitivita u jednotlivých pacientů je spíše vícenásobná. Z celkového počtu 1126 pacientů bylo pouze 191 pacientů, kteří měli jednu nebo žádnou pozitivní reakci, všichni ostatní pacienti měli pozitivní reakci na dvě a více potravin. Průměrně měl každý pacient 1,07 silně pozitivních reakcí, 1,22 pozitivních reakcí, 2,38 hraničních reakcí a 15,33 negativních reakcí na dvacet vyšetřovaných potravin.

7 Seznam literatury

1. A2C Anti-Aging Clinic, ©2019. TEST POTRAVINOVÉ INTOLERANCE – ALCAT TEST [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.a2c.cz/potravinove-intolerance-alcat-test-28.html>
2. Allergy Test [online], ©2019. [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <https://allergytest.co/>
3. ALPAY, Kadriye, Mustafa ERTAŞ, Elif Kocasoy ORHAN, Didem Kanca ÜSTAY, Camille LIENERS a Betül BAYKAN, 2010. Diet restriction in migraine, based on IgG against foods: A clinical double-blind, randomised, cross-over trial. *Cephalalgia*. 30(7), 829-837. DOI: 10.1177/0333102410361404. ISSN 0333-1024. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0333102410361404>
4. ATKINSON, W, 2004. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut*. 53(10), 1459-1464. DOI: 10.1136/gut.2003.037697. ISSN 0017-5749. Dostupné také z: <http://gut.bmj.com/cgi/doi/10.1136/gut.2003.037697>
5. AYDINLAR, Elif Ilgaz, Pinar Yalinay DIKMEN, Arzu TIFTIKCI, Murat SARUC, Muge AKSU, Hulya G. GUNSOY a Nurdan TOZUN, 2013. IgG-Based Elimination Diet in Migraine Plus Irritable Bowel Syndrome. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*. 53(3), 514-525. DOI: 10.1111/j.1526-4610.2012.02296.x. ISSN 00178748. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1526-4610.2012.02296.x>
6. BEST, William R., Jack M. BECKTEL a John W. SINGLETON, 1979. Rederived values of the eight coefficients of the Crohn's Disease Activity Index (CDAI). *Gastroenterology*. 77(4), 843–846.
7. Cambridge Nutritional Sciences, ©2019. IgE food allergy [online]. [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://camnutri.com/blogs/food-intolerance/ige-food-allergy>
8. CARR, Stuart, Edmond CHAN, Elana LAVINE a William MOOTE, 2012. CSACI Position statement on the testing of food-specific IgG. 8(1). DOI:

- 10.1186/1710-1492-8-12. ISSN 1710-1492. Dostupné také z: <https://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-8-12>
9. Cell Science Systems, 2014. Dossier Scientific Basis of the Alcat Test [online]. [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <http://nutricioninteligente.cl/wp-content/uploads/2014/06/DossierALCAT314E.pdf>
 10. EverlyWell, Inc., ©2019. Food Sensitivity Test. [online]. [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <https://www.everlywell.com/products/food-sensitivity/>
 11. FELL, P.J., J. BROSTOFF a S. SOULSBY SOULSBY, 1990. Cell Science Systems. Alcat – A new cellular test for food sensitivity [online]. [cit. 2019-04-13]. Dostupné z: <https://cellsciencesystems.com/education/research/alcat-a-new-cellular-test-for-food-sensitivity/>
 12. FOX, R.A., B.M. SABO, T.P WILLIAMS a M.R. JOFFRES, 1999. Intradermal testing for food and chemical sensitivities: a double-blind controlled study. *J Allergy Clin Immunol.* (103), 907–911.
 13. FUCHS, Martin, 2016. Potravinová alergie a intolerance. Praha: Mladá fronta. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3757-0.
 14. GARROW, J.S., 1988. Kinesiology and food allergy. *British Medical Journal.* (296), 1573–1574.
 15. GUO, Hong, Tao JIANG, Jinliang WANG, Yongchao CHANG, Hai GUO a Weihong ZHANG, 2012. The Value of Eliminating Foods According to Food-Specific Immunoglobulin G Antibodies in Irritable Bowel Syndrome with Diarrhoea. *Journal of International Medical Research.* 40(1), 204-210. DOI: 10.1177/147323001204000121. ISSN 0300-0605. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/147323001204000121>
 16. HALL, S., G. LEWITH, S. BRIEN a P. LITTLE, 2008. A Review of the Literature in Applied and Specialised Kinesiology. *Forschende Komplementärmedizin / Research in Complementary Medicine.* 15(1), 40-46. DOI: 10.1159/000112820. ISSN 1661-4127. Dostupné také z: <https://www.karger.com/Article/FullText/112820>

17. CHRPOVÁ, Diana, 2010. S výživou zdravě po celý rok. Praha: Grada. Zdraví & životní styl. ISBN 978-80-247-2512-3.
18. JEWETT, D.L., G. FEIN a M.H. GREENBERG, 1990. A double-blind study of symptom provocation to determine food sensitivity. *N Engl J Med.* (323), 429–433.
19. KELSO, John M., 2018. Unproven Diagnostic Tests for Adverse Reactions to Foods. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice.* 6(2), 362–365. DOI: 10.1016/j.jaip.2017.08.021. ISSN 22132198. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213219817307043>
20. KROP, J., G.T. LEWITH, W. GZIUT a C. RADULESCU, 1997. A Double Blind, Randomized, Controlled Investigation of Electrodermal Testing in the Diagnosis of Allergies. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 3(3), 241–248. DOI: 10.1089/acm.1997.3.241. ISSN 1075-5535. Dostupné také z: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/acm.1997.3.241>
21. LEWITH, G.T., J.N. KENYON, J. BROOMFIELD, P. PRESCOTT, J. GODDARD a S.T. HOLGATE, 2001. Is electrodermal testing as effective as skin prick tests for diagnosing allergies? A double blind, randomised block design study. *BMJ.* (322), 131–134.
22. MARINKOVICH, V., 1996. Specific IgG antibodies as markers of adverse reactions to foods. *Monogr Allergy.* (32), 221–225.
23. MITCHELL, Natasha, Catherine E HEWITT, Shalmini JAYAKODY, Muhammad ISLAM, Joy ADAMSON, Ian WATT a David J TORGERSON, 2011. Randomised controlled trial of food elimination diet based on IgG antibodies for the prevention of migraine like headaches. *Nutrition Journal.* 10(1). DOI: 10.1186/1475-2891-10-85. ISSN 1475-2891. Dostupné také z: <http://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2891-10-85>
24. MORCOS, Ashraf, Ted DINAN a Eamonn MM QUIGLEY, 2009. Irritable bowel syndrome: Role of food in pathogenesis and management. *Journal of Digestive Diseases.* 10(4), 237–246. DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00392.x.

ISSN 17512972. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-2980.2009.00392.x>

25. MORRIS, A. J., 2006. Potravinové alergie. UCB inštitút pre alergiu. (11), 1–22.
26. NASU, Junichirou, Motowo MIZUNO, Tokurou UESU, et al., 1999. Increased incidence of allergic disorders and elevated food-specific serum IgG4 levels in Japanese patients with Crohn's disease. *Allergology International*. 48(4), 247-251. DOI: 10.1046/j.1440-1592.1999.00140.x. ISSN 13238930. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S132389301531491X>
27. Návod k obsluze přístroje AutoBlot 3000
28. NOUZA, Martin a Alena NOUZOVÁ, ©2019. Pokroky v klinické imunologii [online]. In: [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <http://imunologie.cz/lecebna-napl/potravinove-intolerance/>
29. PEARSON, M, K TEAHON, A J LEVI a I BJARNASON, 1993. Food intolerance and Crohn's disease. *Gut*. 34(6), 783-787. DOI: 10.1136/gut.34.6.783. ISSN 0017-5749. Dostupné také z: <http://gut.bmj.com/cgi/doi/10.1136/gut.34.6.783>
30. ProAlergiky.cz, ©2019. Diagnostika potravinové alergie a intolerance [online]. [cit. 2019-04-15]. Dostupné z: <https://www.proalergiky.cz/alergie/clanek/diagnostika-a-lecba-potravinove-alergie>
31. Proalergiky.cz, ©2019. Máte podezření na potravinovou alergii či intoleranci? Může vám pomoci eliminační dieta [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.proalergiky.cz/alergie/clanek/mate-podezreni-na-potravinovou-alergii-ci-intoleranci-muze-vam-pomoci-eliminacni-dieta>
32. RAJENDRAN, N. a D. KUMAR, 2011. Food-specific IgG4-guided exclusion diets improve symptoms in Crohn's disease: a pilot study. *Colorectal Disease*. 13(9), 1009-1013. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2010.02373.x. ISSN 14628910. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1463-1318.2010.02373.x>

33. SEMIZZI, M., G. SENNA, M. CRIVELLARO, G. RAPACIOLI, G. PASSALACQUA, W. G. CANONICA a P. BELLAVITE, 2002. A double-blind, placebo-controlled study on the diagnostic accuracy of an electrodermal test in allergic subjects. *Clinical & Experimental Allergy*. 32(6), 928-932. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2002.01398.x. ISSN 0954-7894. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2222.2002.01398.x>
34. SCHWARTZ, Stephan A., Jessica UTTS, S. James P. SPOTTISWOODE, Christopher W. SHADE, Lisa TULLY, William F. MORRIS a Ginette NACHMAN, 2014. A Double-Blind, Randomized Study to Assess the Validity of Applied Kinesiology (AK) as a Diagnostic Tool and as a Nonlocal Proximity Effect. *EXPLORE*. 10(2), 99-108. DOI: 10.1016/j.explore.2013.12.002. ISSN 15508307. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550830713003418>
35. SLIMÁKOVÁ, Margit, 2014. PharmDr. Margit Slimáková. Jak vyléčit syndrom zvýšené propustnosti střev? [online]. [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://www.margit.cz/syndrom-propustnosti-strev/>
36. Slovenka, 2014. Test potravinovej intolerancie: Zbaví vás zdravotných problémov! [online]. [cit. 2019-04-16]. Dostupné z: <http://slovenka.zenskyweb.sk/test-potravinovej-intolerancie-zbavi-vas-zdravotnych-problemov>
37. STAPEL, Steven O., R. ASERO, B. K. BALLMER-WEBER, E. F. KNOL, S. STROBEL, S. VIETHS a J. KLEINE-TEBBE, 2008. Testing for IgG4 against foods is not recommended as a diagnostic tool: EAACI Task Force Report*. *Allergy*. 63(7), 793-796. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2008.01705.x. ISSN 01054538. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2008.01705.x>
38. The Great Plains Laboratory, Inc., ©2019. IgG Food Allergy Test + Candida [online]. [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <https://www.greatplainslaboratory.com/igg-food-allergy-test/>

39. The Macdonald Centre for Natural Medicine., nevedeno. Food Allergy Testing (Vega testing). [online]. [cit. 2019-04-14]. Dostupné z: <http://getwellhere.com/food-allergy-testing-vega-testing/>
40. TURNBULL, J. L., H. N. ADAMS a D. A. GORARD, 2015. Review article: the diagnosis and management of food allergy and food intolerances. 41(1), 3-25. DOI: 10.1111/apt.12984. ISSN 02692813. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/apt.12984>
41. Uživatelská příručka soupravy IgG4 Screen Nutritional 20 Lineblot
42. VIRDEE, Kulveen, Jeannette MUSSET, Matthew BARAL, Courtney CRONIN a Jeffrey LANGLAND, 2015. Food-specific IgG Antibody—guided Elimination Diets Followed by Resolution of Asthma Symptoms and Reduction in Pharmacological Interventions in Two Patients: A Case Report. Global Advances in Health and Medicine. 4(1), 62-66. DOI: 10.7453/gahmj.2014.068. ISSN 2164-957X. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.7453/gahmj.2014.068>
43. VLČEK, Jiří, Daniela FIALOVÁ a Magda VYTRŘÍSALOVÁ, 2014. Klinická farmacie. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4532-9.
44. WÜTHRICH, B., 2005. Unproven techniques in allergy diagnosis. J Investig Allergol Clin Immunol. (15), 86–90.
45. ZACHOVÁ, Veronika, 2010. Stomie. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3256-5.
46. Zdraví národa, ©2017. Neobjasněné zdravotní potíže? Na vině může být potravinová intolerance [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.zdravinaroda.cz/clanky/neobjasnene-zdravotni-potize-na-vine-muze-byt-potravinova-intolerance>

8 Seznam tabulek, obrázků a příloh

Tabulky:

| | |
|---|----|
| Tabulka 1 Rozdíly mezi potravinovou intolerancí a alergií | 9 |
| Tabulka 2 Složení kravského mléka z hlediska bílkovin | 14 |
| Tabulka 3 Reagencie dodávané výrobcem a jejich množství | 34 |
| Tabulka 4 Distribuční schéma potravin na testovacím proužku | 36 |
| Tabulka 5 Definice jednotlivých signálů | 39 |
| Tabulka 6 Skladba vyšetřených pacientů v roce 2017 | 47 |
| Tabulka 7 Skladba vyšetřených pacientů v roce 2018 | 48 |
| Tabulka 8 Rozdělení pacientů do kategorií dle věku | 48 |
| Tabulka 9 Rozdělení pacientů podle pozitivní a negativní reakce na vyšetřované potraviny..... | 50 |
| Tabulka 10 Celkový přehled všech typů reakcí | 51 |
| Tabulka 11 Výsledky podle věkových kategorií a průměrný počet reakcí | 52 |
| Tabulka 12 Zastoupení jednotlivých typů reakcí a jejich počet u jednotlivých osob | 53 |
| Tabulka 13 Pomocná tabulka k vysvětlení výpočtu procent..... | 54 |

Obrázky:

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 Přístroj AutoBlot 3000..... | 40 |
| Obrázek 2 Klávesnice přístroje AutoBlot 3000 | 41 |
| Obrázek 3 Procentuální zastoupení jednotlivých věkových kategorií | 49 |
| Obrázek 4 Celkový souhrn výsledků – znázornění intenzity reakcí u jednotlivých potravin | 51 |

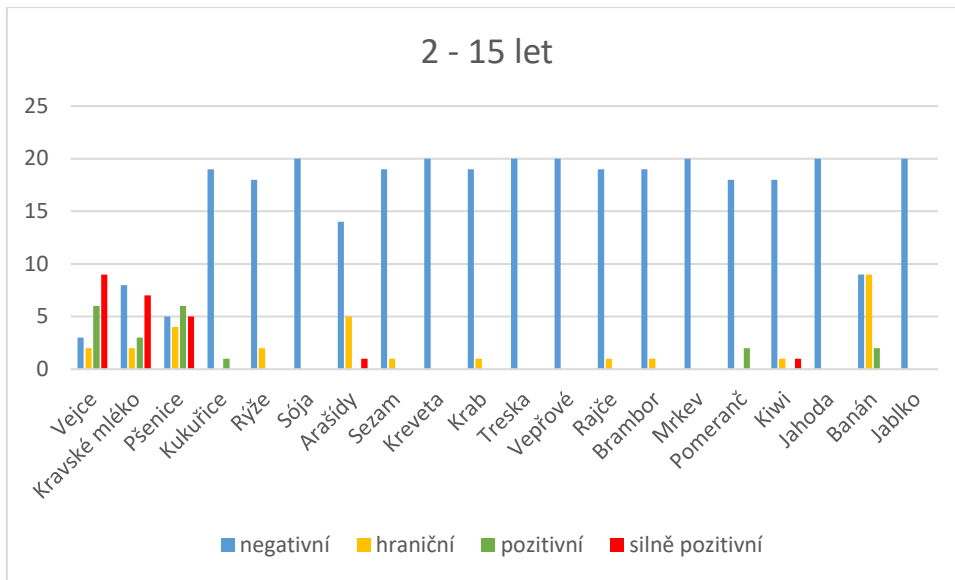
Přílohy:

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 2-15 let | 67 |
| Obrázek 2 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 16-20 let | 67 |
| Obrázek 3 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 21-35 let | 68 |
| Obrázek 4 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 36-50 let | 68 |
| Obrázek 5 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 51-65 let | 69 |
| Obrázek 6 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 66-80 let | 69 |
| Obrázek 7 Výsledky jednotlivých potravin podle pohlaví – ženy | 70 |
| Obrázek 8 Výsledky jednotlivých potravin podle pohlaví – muži..... | 70 |
| Tabulka 9 Vazby mezi jednotlivými potravinami..... | 71 |

9 Seznam zkratek

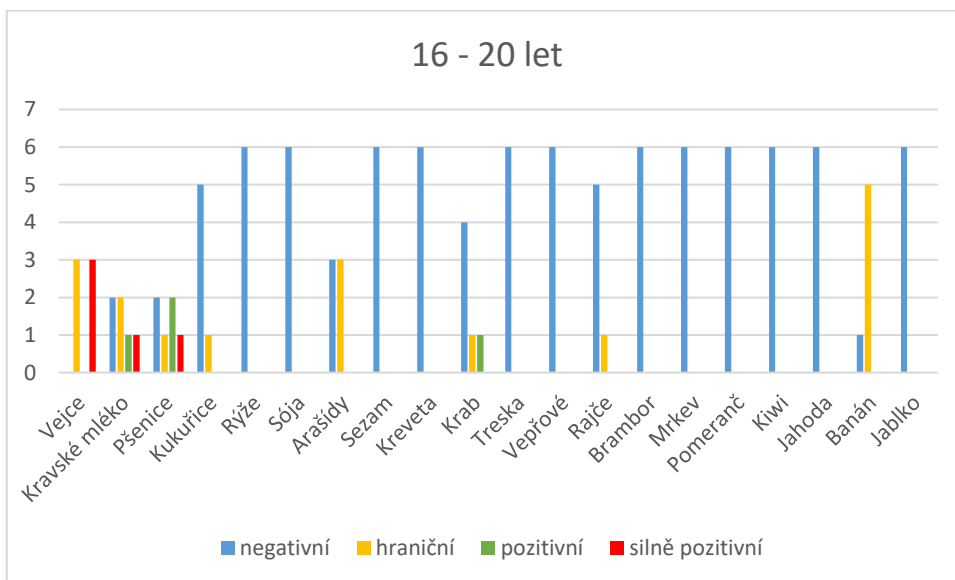
| | |
|----------|---|
| AAAAI | Americká akademie pro astma a imunologii |
| AP | alkalická fosfatáza |
| BCIP/NBT | 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium |
| BSA | bovinní sérový albumin |
| CD | Crohnova choroba |
| CSACI | Kanadská Společnost pro alergii a klinickou imunologii |
| CT | počítačová tomografie |
| EAACI | Evropská akademie pro alergii a klinickou imunologii |
| EIA | enzymatický imunologický test |
| ELISA | enzymový imunisorbentní test |
| ESR | rychlost sedimentace erytrocytů |
| IBS | syndrom dráždivého tračníku |
| IBS-C | IBS s převládající zácpou |
| IBS-D | IBS s převládajícím průjmem |
| IBS-M | smíšený IBS |
| IgA | imunoglobuliny třídy A |
| IgE | imunoglobulin třídy E |
| IgG | imunoglobulin třídy G |
| IgG1 | 1. podtřída imunoglobulinu G |
| IgG4 | 4. podtřída imunoglobulinu třídy G |
| mCDAI | skóre indexu aktivity CD |
| PBS | fosfátem pufovaný fyziologický roztok |
| TBS | Tris pufovaný fyziologický roztok |
| UC | ulcerózní kolitida |

10 Příloha



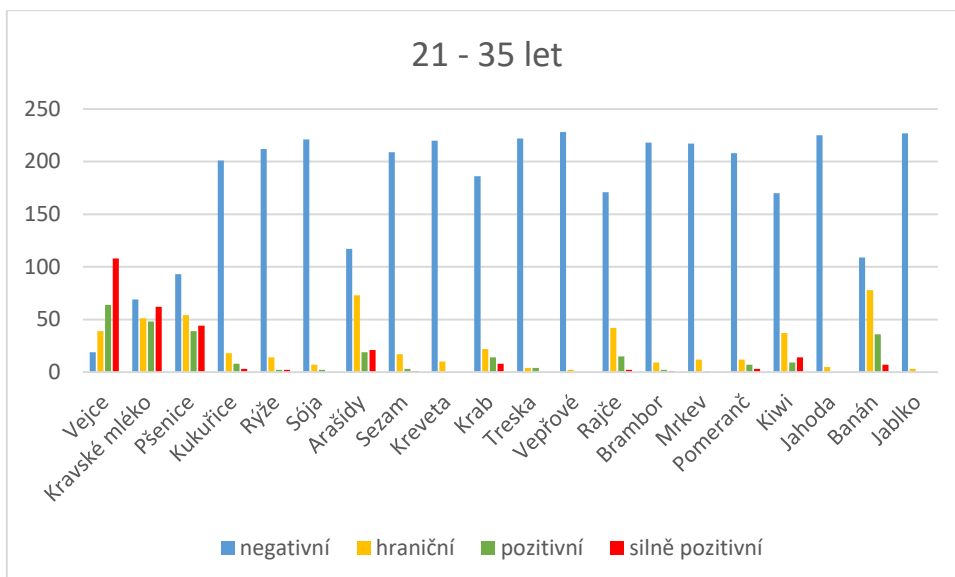
Obrázek 1 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 2-15 let

Zdroj: autor



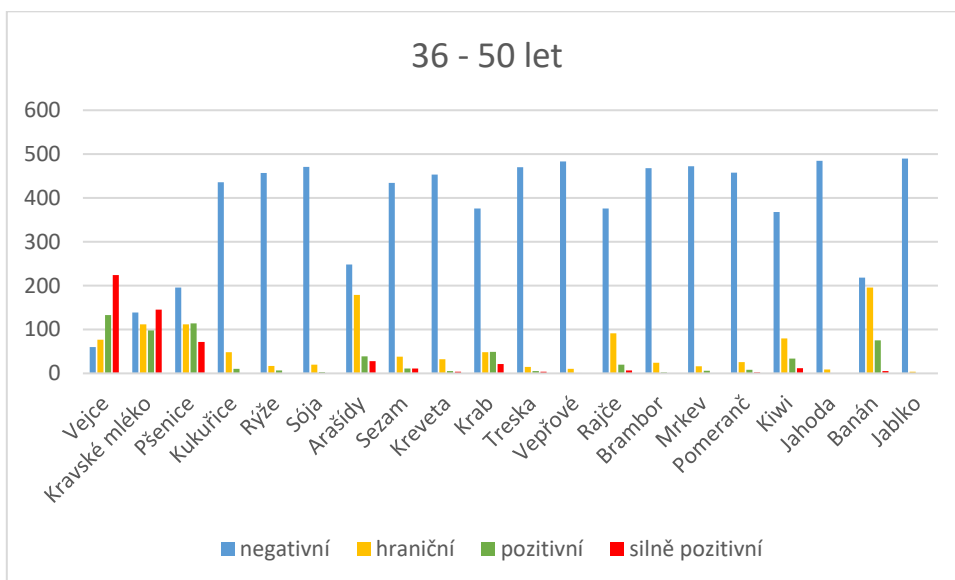
Obrázek 2 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 16-20 let

Zdroj: autor



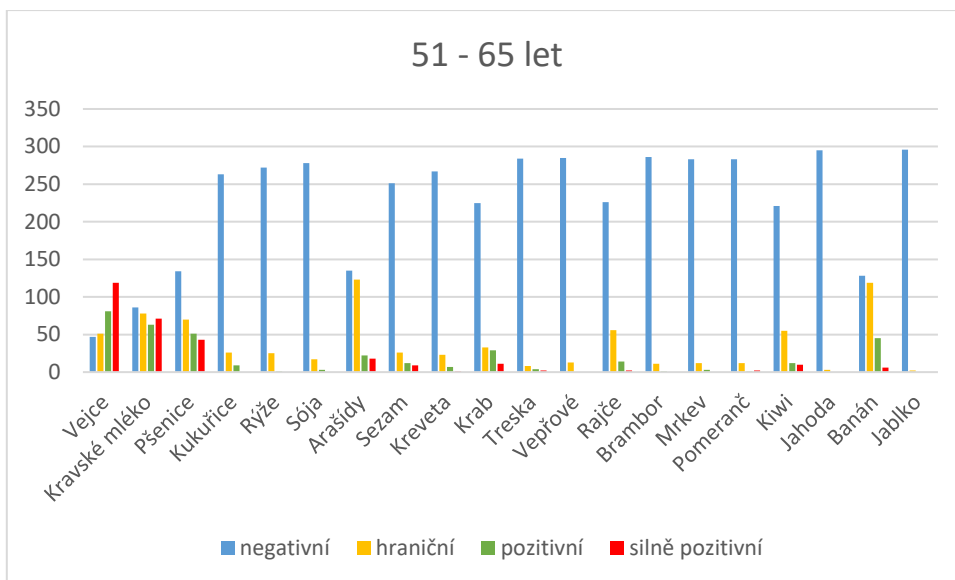
Obrázek 3 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 21-35 let

Zdroj: autor



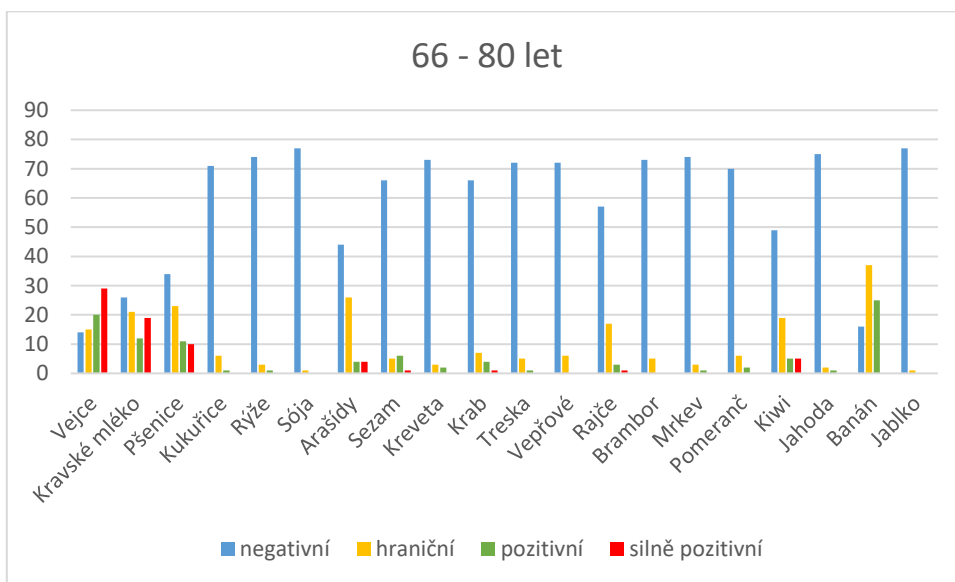
Obrázek 4 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 36-50 let

Zdroj: autor



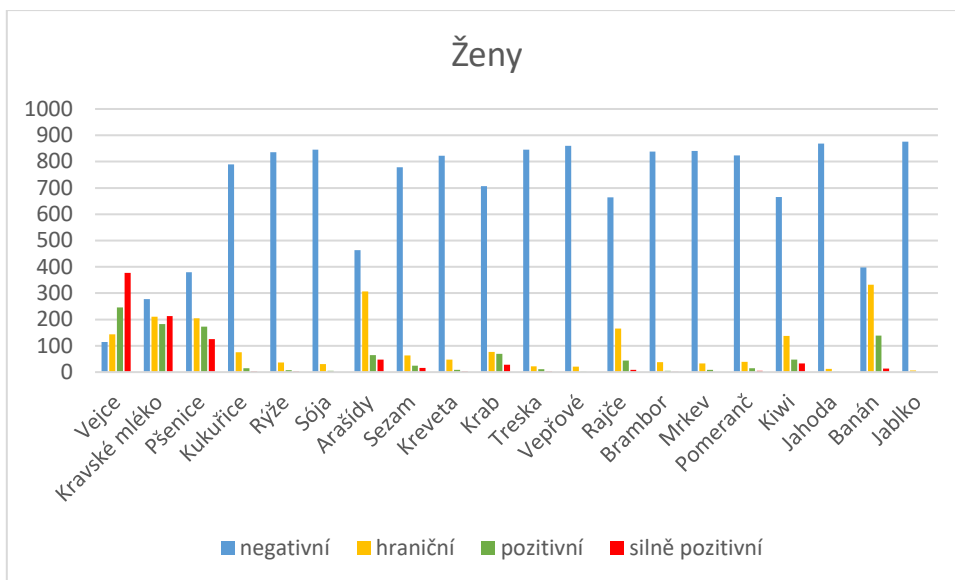
Obrázek 5 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 51-65 let

Zdroj: autor



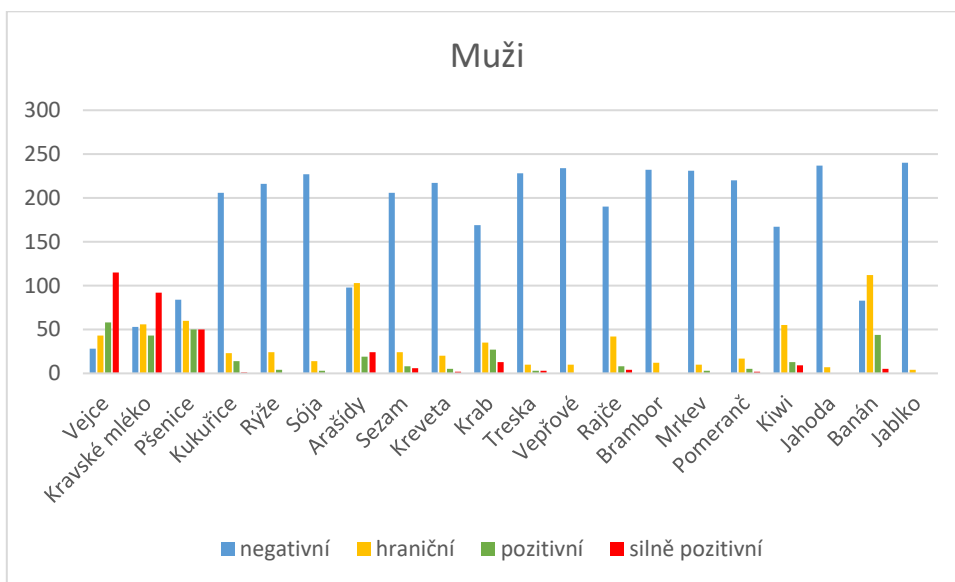
Obrázek 6 Výsledky jednotlivých potravin podle věkových kategorií – kategorie 66-80 let

Zdroj: autor



Obrázek 7 Výsledky jednotlivých potravin podle pohlaví – ženy

Zdroj: autor



Obrázek 8 Výsledky jednotlivých potravin podle pohlaví – muži

Zdroj: autor

Tabulka 9 Vazby mezi jednotlivými potravinami

| | Vejce | Kravné mléko | pšenice | Kukuřice | Rýže | Sója | Arašidy | Sezam | Kreveta | Krab | Treska | Vepřové | Rajče | Brambor | Mrkev | Pomeranč | Kiwi | Jahoda | Banán | Jablko | Celkový průměr % |
|--------------|-------|--------------|---------|----------|------|-------|---------|-------|---------|-------|--------|---------|-------|---------|-------|----------|-------|--------|-------|--------|------------------|
| Pozitivní* | 983 | 796 | 662 | 131 | 74 | 53 | 565 | 141 | 87 | 250 | 52 | 32 | 272 | 56 | 54 | 83 | 294 | 20 | 645 | 10 | |
| %** | 87,3 | 70,7 | 58,8 | 11,6 | 6,6 | 4,7 | 50,2 | 12,5 | 7,7 | 22,2 | 4,6 | 2,8 | 24,2 | 5,0 | 4,8 | 7,4 | 26,1 | 1,8 | 57,3 | 0,9 | |
| Vejce | x | 772,0 | 653,0 | 129,0 | 72,0 | 53,0 | 557,0 | 137,0 | 82,0 | 248,0 | 52,0 | 31,0 | 268,0 | 53,0 | 52,0 | 81,0 | 282,0 | 20,0 | 607,0 | 10,0 | |
| % | x | 97,0 | 98,6 | 98,5 | 97,3 | 100,0 | 98,6 | 97,2 | 94,3 | 99,2 | 100,0 | 96,9 | 98,5 | 94,6 | 96,3 | 97,6 | 95,9 | 100,0 | 94,1 | 100,0 | 97,5 |
| Kravné mléko | 772,0 | x | 600,0 | 124,0 | 67,0 | 53,0 | 540,0 | 123,0 | 76,0 | 245,0 | 46,0 | 30,0 | 246,0 | 52,0 | 49,0 | 69,0 | 257,0 | 20,0 | 539,0 | 10,0 | |
| % | 78,5 | x | 90,6 | 94,7 | 90,5 | 100,0 | 95,6 | 87,2 | 87,4 | 98,0 | 88,5 | 93,8 | 90,4 | 92,9 | 90,7 | 83,1 | 87,4 | 100,0 | 83,6 | 100,0 | 81,8 |
| Pšenice | 653,0 | 600,0 | x | 128,0 | 71,0 | 52,0 | 463,0 | 119,0 | 73,0 | 227,0 | 45,0 | 27,0 | 242,0 | 51,0 | 44,0 | 71,0 | 235,0 | 19,0 | 472,0 | 9,0 | |
| % | 66,4 | 75,4 | x | 97,7 | 95,9 | 98,1 | 81,9 | 84,4 | 83,9 | 90,8 | 86,5 | 84,4 | 89,0 | 91,1 | 81,5 | 85,5 | 79,9 | 95,0 | 73,2 | 90,0 | 77,1 |
| Kukuřice | 129,0 | 124,0 | 128,0 | x | 62,0 | 39,0 | 120,0 | 66,0 | 34,0 | 84,0 | 27,0 | 20,0 | 88,0 | 20,0 | 31,0 | 28,0 | 91,0 | 14,0 | 117,0 | 5,0 | |
| % | 13,1 | 15,6 | 19,3 | x | 83,8 | 73,6 | 21,2 | 46,8 | 39,1 | 33,6 | 51,9 | 62,5 | 32,4 | 35,7 | 57,4 | 33,7 | 31,0 | 70,0 | 18,1 | 50,0 | 37,9 |
| Rýže | 72,0 | 67,0 | 71,0 | 62,0 | x | 32,0 | 63,0 | 45,0 | 26,0 | 42,0 | 19,0 | 17,0 | 59,0 | 18,0 | 29,0 | 26,0 | 55,0 | 12,0 | 62,0 | 2,0 | |
| % | 7,3 | 8,4 | 10,7 | 47,3 | x | 60,4 | 11,2 | 31,9 | 29,9 | 16,8 | 36,5 | 53,1 | 21,7 | 32,1 | 53,7 | 31,3 | 18,7 | 60,0 | 9,6 | 20,0 | 26,0 |
| Sója | 53,0 | 53,0 | 52,0 | 39,0 | 32,0 | x | 51,0 | 27,0 | 18,0 | 36,0 | 16,0 | 16,0 | 37,0 | 12,0 | 16,0 | 13,0 | 35,0 | 10,0 | 43,0 | 2,0 | |
| % | 5,4 | 6,7 | 7,9 | 29,8 | 43,2 | x | 9,0 | 19,1 | 20,7 | 14,4 | 30,8 | 50,0 | 13,6 | 21,4 | 29,6 | 15,7 | 11,9 | 50,0 | 6,7 | 20,0 | 18,0 |
| Arašidy | 557,0 | 540,0 | 463,0 | 120,0 | 63,0 | 51,0 | x | 105,0 | 59,0 | 235,0 | 40,0 | 29,0 | 192,0 | 41,0 | 40,0 | 46,0 | 203,0 | 20,0 | 385,0 | 10,0 | |
| % | 56,7 | 67,8 | 69,9 | 91,6 | 85,1 | 96,2 | x | 74,5 | 67,8 | 94,0 | 76,9 | 90,6 | 70,6 | 73,2 | 74,1 | 55,4 | 69,0 | 100,0 | 59,7 | 100,0 | 67,2 |
| Sezam | 137,0 | 123,0 | 119,0 | 66,0 | 45,0 | 27,0 | 105,0 | x | 60,0 | 67,0 | 36,0 | 26,0 | 82,0 | 26,0 | 34,0 | 34,0 | 78,0 | 16,0 | 107,0 | 2,0 | |
| % | 13,9 | 15,5 | 18,0 | 50,4 | 60,8 | 50,9 | 18,6 | x | 69,0 | 26,8 | 69,2 | 81,3 | 30,1 | 46,4 | 63,0 | 41,0 | 26,5 | 80,0 | 16,6 | 20,0 | 40,0 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|
| Kreveta | 82,0 | 76,0 | 73,0 | 34,0 | 26,0 | 18,0 | 59,0 | 60,0 | x | 42,0 | 32,0 | 23,0 | 53,0 | 21,0 | 21,0 | 23,0 | 54,0 | 8,0 | 68,0 | 2,0 | m |
| % | 8,3 | 9,5 | 11,0 | 26,0 | 35,1 | 34,0 | 10,4 | 42,6 | x | 16,8 | 61,5 | 71,9 | 19,5 | 37,5 | 38,9 | 27,7 | 18,4 | 40,0 | 10,5 | 20,0 | 25,1 |
| Krab | 248,0 | 245,0 | 227,0 | 84,0 | 42,0 | 36,0 | 235,0 | 67,0 | 42,0 | x | 35,0 | 26,0 | 102,0 | 20,0 | 29,0 | 23,0 | 108,0 | 17,0 | 187,0 | 3,0 | |
| % | 25,2 | 30,8 | 34,3 | 64,1 | 56,8 | 67,9 | 41,6 | 47,5 | 48,3 | x | 67,3 | 81,3 | 37,5 | 35,7 | 53,7 | 27,7 | 36,7 | 85,0 | 29,0 | 30,0 | 43,3 |
| Treska | 52,0 | 46,0 | 45,0 | 27,0 | 19,0 | 16,0 | 40,0 | 36,0 | 32,0 | 35,0 | x | 22,0 | 34,0 | 11,0 | 15,0 | 11,0 | 37,0 | 10,0 | 43,0 | 1,0 | |
| % | 5,3 | 5,8 | 6,8 | 20,6 | 25,7 | 30,2 | 7,1 | 25,5 | 36,8 | 14,0 | x | 68,8 | 12,5 | 19,6 | 27,8 | 13,3 | 12,6 | 50,0 | 6,7 | 10,0 | 19,7 |
| Vepřové | 31,0 | 30,0 | 27,0 | 20,0 | 17,0 | 16,0 | 29,0 | 26,0 | 23,0 | 26,0 | 22,0 | x | 26,0 | 9,0 | 13,0 | 7,0 | 21,0 | 8,0 | 27,0 | 2,0 | |
| % | 3,2 | 3,8 | 4,1 | 15,3 | 23,0 | 30,2 | 5,1 | 18,4 | 26,4 | 10,4 | 42,3 | x | 9,6 | 16,1 | 24,1 | 8,4 | 7,1 | 40,0 | 4,2 | 20,0 | 13,1 |
| Rajče | 268,0 | 246,0 | 242,0 | 88,0 | 59,0 | 37,0 | 192,0 | 82,0 | 53,0 | 102,0 | 34,0 | 26,0 | x | 40,0 | 47,0 | 57,0 | 137,0 | 15,0 | 217,0 | 5,0 | |
| % | 27,3 | 30,9 | 36,6 | 67,2 | 79,7 | 69,8 | 34,0 | 58,2 | 60,9 | 40,8 | 65,4 | 81,3 | x | 71,4 | 87,0 | 68,7 | 46,6 | 75,0 | 33,6 | 50,0 | 50,2 |
| Brambor | 53,0 | 52,0 | 51,0 | 20,0 | 18,0 | 12,0 | 41,0 | 26,0 | 21,0 | 20,0 | 11,0 | 9,0 | 40,0 | x | 20,0 | 21,0 | 37,0 | 8,0 | 50,0 | 2,0 | |
| % | 5,4 | 6,5 | 7,7 | 15,3 | 24,3 | 22,6 | 7,3 | 18,4 | 24,1 | 8,0 | 21,2 | 28,1 | 14,7 | x | 37,0 | 25,3 | 12,6 | 40,0 | 7,8 | 20,0 | 16,4 |
| Mrkev | 52,0 | 49,0 | 44,0 | 31,0 | 29,0 | 16,0 | 40,0 | 34,0 | 21,0 | 29,0 | 15,0 | 13,0 | 47,0 | 20,0 | x | 30,0 | 41,0 | 14,0 | 48,0 | 2,0 | |
| % | 5,3 | 6,2 | 6,6 | 23,7 | 39,2 | 30,2 | 7,1 | 24,1 | 24,1 | 11,6 | 28,8 | 40,6 | 17,3 | 35,7 | x | 36,1 | 13,9 | 70,0 | 7,4 | 20,0 | 20,6 |
| Pomeranč | 81,0 | 69,0 | 71,0 | 28,0 | 26,0 | 13,0 | 46,0 | 34,0 | 23,0 | 23,0 | 11,0 | 7,0 | 57,0 | 21,0 | 30,0 | x | 47,0 | 11,0 | 69,0 | 2,0 | |
| % | 8,2 | 8,7 | 10,7 | 21,4 | 35,1 | 24,5 | 8,1 | 24,1 | 26,4 | 9,2 | 21,2 | 21,9 | 21,0 | 37,5 | 55,6 | x | 16,0 | 55,0 | 10,7 | 20,0 | 18,9 |
| Kiwi | 282,0 | 257,0 | 235,0 | 91,0 | 55,0 | 35,0 | 203,0 | 78,0 | 54,0 | 108,0 | 37,0 | 21,0 | 137,0 | 37,0 | 41,0 | 47,0 | x | 19,0 | 255,0 | 5,0 | |
| % | 28,7 | 32,3 | 35,5 | 69,5 | 74,3 | 66,0 | 35,9 | 55,3 | 62,1 | 43,2 | 71,2 | 65,6 | 50,4 | 66,1 | 75,9 | 56,6 | x | 95,0 | 39,5 | 50,0 | 50,9 |
| Jahoda | 20,0 | 20,0 | 19,0 | 14,0 | 12,0 | 10,0 | 20,0 | 16,0 | 8,0 | 17,0 | 10,0 | 8,0 | 15,0 | 8,0 | 14,0 | 11,0 | 19,0 | x | 18,0 | 1,0 | |
| % | 2,0 | 2,5 | 2,9 | 10,7 | 16,2 | 18,9 | 3,5 | 11,3 | 9,2 | 6,8 | 19,2 | 25,0 | 5,5 | 14,3 | 25,9 | 13,3 | 6,5 | x | 2,8 | 10,0 | 10,0 |
| Banán | 607,0 | 539,0 | 472,0 | 117,0 | 62,0 | 43,0 | 385,0 | 107,0 | 68,0 | 187,0 | 43,0 | 27,0 | 217,0 | 50,0 | 48,0 | 69,0 | 255,0 | 18,0 | x | 10,0 | |
| % | 61,7 | 67,7 | 71,3 | 89,3 | 83,8 | 81,1 | 68,1 | 75,9 | 78,2 | 74,8 | 82,7 | 84,4 | 79,8 | 89,3 | 88,9 | 83,1 | 86,7 | 90,0 | x | 100,0 | 70,9 |
| Jablko | 10,0 | 10,0 | 9,0 | 5,0 | 2,0 | 2,0 | 10,0 | 2,0 | 2,0 | 3,0 | 1,0 | 2,0 | 5,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 5,0 | 1,0 | 10,0 | x | |
| % | 1,0 | 1,3 | 1,4 | 3,8 | 2,7 | 3,8 | 1,8 | 1,4 | 2,3 | 1,2 | 1,9 | 6,3 | 1,8 | 3,6 | 3,7 | 2,4 | 1,7 | 5,0 | 1,6 | x | 2,5 |

*počet osob s jakoukoliv pozitivní reakcí z celkového počtu vyšetřených osob; **procento osob s jakoukoliv pozitivní reakcí z celkového počtu vyšetřených osob
Zdroj: autor