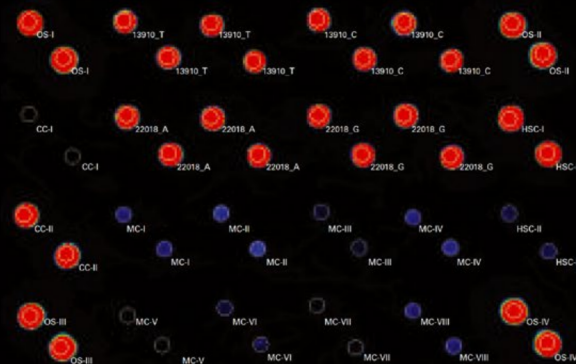


EUROArray laktózová intolerance – přímý test

- ◆ Paralelní detekce polymorfismů spojených s primární intolerancí laktózy, 13910 C/T a 22018 G/A v jednom testu
- ◆ Přímé použití krve stabilizované v EDTA: nevyžaduje se samostatná izolace DNA
- ◆ Nejvyšší spolehlivost výsledků díky velkému množství zahrnutých kontrol



Technická data

| | |
|-------------------------|--|
| Substrát: | jednořetězcové DNA próby, délka: 15 až 50 nukleotidů |
| Postup testu: | izolace DNA/PCR (cca. 60 min) / hybridizace (60 min) / plně automatizované vyhodnocení celkového pracovního času cca. 2 min/vzorek včetně extrakce DNA pomocí přímé metody (se 40 vzorky na běh) |
| Reagencie: | připraveny k použití |
| Kontroly: | negativní kontrola DNA a další integrované kontroly |
| CE IVD: | kompletní postup včetně izolace DNA je validován |
| Formát soupravy: | 5, 10 nebo 20 sklíček, každé obsahuje 5 testovacích polí nebo 8 sklíček obsahujících 3 testovací pole |
| Objednací číslo: | MN 5351 - 0505-V, - 1005-V, - 2005-V, - 0803-V |

Klinická významnost

Souprava “EUROArray laktózová intolerance – přímý test” poskytuje molekulárně-genetické stanovení dvou polymorfismů nejčastěji spojených s primární intolerancí laktózy - 13910 C/T a 22018 G/A, které jsou lokalizovány v promotorové oblasti genu laktázy (LCT). Primární intolerace laktózy je založena na geneticky podmíněném nedostatku zažívacího enzymu laktázy ve stěvě, který je zodpovědný za štěpení disacharidu laktózy na cukerné monomery glukózu a galaktózu. Nerozštěpená laktóza je fermentována v tenkém a tlustém střevě, což vede ke vzniku fermentačních produktů, které způsobují zažívací poruchy a typické symptomy nesnášenlivosti laktózy. Patří mezi ně bolest břicha, nevolnost, meteorismus a průjem. Sekundární projevy nemoci mohou zahrnovat nedostatky živin (například nedostatek vitamínů) a v důsledku toho nespecifické příznaky jako je únava, chronická únava a deprese. Přibližně 20 % Evropanů a téměř 100 % běžné populace ve velké části Asie a na jihu Afriky trpí primární intolerancí laktózy. Existují však mutace, které vedou ke kontinuálně zvýšené tvorbě laktázy a následně k toleranci laktózy (persistence laktázy). Na základě současných vědomostí vykazují homo-

zygotní nositelé 13910 C/C a 22018 G/G příznaky intolerance laktózy, zatímco heterozygotní nositelé 13910 C/T- a 22018 G/A vykazují pouze symptomy v situacích stresu nebo intestinální infekci. Homozygotní nositelé 13910 T/T a 22018 A/A produkují zvýšené množství laktázy a nevykazují žádné příznaky. Vzhledem k tomu, že existuje nejen geneticky podmíněná forma (primární) intolerance laktózy (vykazující méně než 50 % aktivity laktázy), ale také sekundární laktózová intolerace, která může být obvykle překonána během několika měsíců, je důležité, aby byla definována přesná příčina onemocnění. Vedle systémů molekulárně genetických testů jsou prováděny nepřímé metody sérologické detekce, jako je H₂ dechový test, test protilátek IgE nebo IgG nebo testy krevního cukru. Ty však nedokáží rozlišit mezi primární a sekundární formou intolerance laktózy kvůli jejich nízké specifitě a extrémně nízké citlivosti. V důsledku toho je genetická diagnostika vyžadována pro objasnění laktózové intolerance jako spolehlivá a přesná diagnostika, společně s hodnocením klinických příznaků.

Diagnostická aplikace

Souprava “EUROArray laktózová intolerace - přímý test” umožňuje rychlé a jednoduché stanovení dvou polymorfismů 13910 C/T a 22018 G/A v regulační oblasti genu LCT v jediném testu. Přímou metodou lze použít krevní vzorky bez nutnosti izolace DNA, což šetří čas a náklady.

DYNEX - exkluzivní distributor produktů EUROIMMUN pro ČR a SR



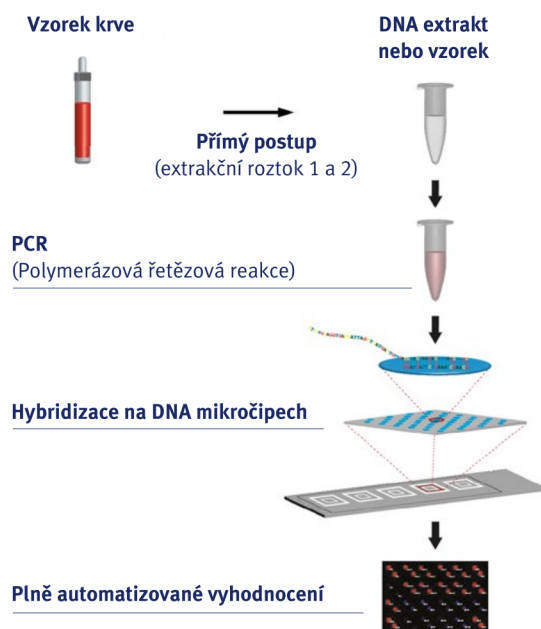
ČR: DYNEX LabSolutions, s.r.o.
tel.: +420 220 303 600, e-mail: office@dynex.cz

SR: DYNEX Servis, spol. s r.o.
tel.: +421 484 155 045, e-mail: dynex@isternet.sk
www.dynex.cz



Princip testu

Tato testovací souprava poskytuje molekulárně genetické in vitro stanovení dvou polymorfismů 13910 C/T (rs4988235) a 22018 G/A (rs182549) v regulační oblasti genu LCT. Krev s EDTA (při přímé metodě) nebo izolovaná genomová DNA od pacienta jsou použity jako vzorek materiálu. V přímé metodě se pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR) připraví genomová DNA zředěním krve extrakčními roztoky, které jsou součástí testovací soupravy. V prvním reakčním kroku se několik oblastí genu LCT amplifikuje pomocí PCR z extraktu nebo alternativně z DNA vzorku pacienta. PCR produkty jsou značeny fluorescenčním barvivem při výrobě. V druhém reakčním kroku se produkty analyzují za použití DNA microarray, která obsahuje alela-specifické imobilizované sondy ve formě malých kulatých bodů, které jsou komplementární k amplifikované DNA. Specifická vazba (hybridizace) fluorescenčního PCR produktu na odpovídající bod microarray je detekována pomocí EUROArray skeneru (EUROIMMUN). Všechny bodové signály jsou automaticky vyhodnocovány softwarem EUROArrayScan a genotyp je odvozen ze signálů generovaných alela-specifickými sondami.



Výkonnost testu

Pro přímé použití krve s EDTA se vzorek nejprve inkubuje s extrakčním roztokem 1 po dobu jedné minuty a poté se přidá extrakční roztok 2. Pro PCR se část extraktu nebo alternativně purifikovaný vzorek DNA smísí s hotovými reakčními činidly PCR. Po proběhnutí PCR se produkty reakce inkubují (hybridizují) pomocí techniky TITERPLANE na EUROArray sklíčkách obsahujících čipy. Skenování a vyhodnocení se provádí pomocí skeneru EUROArray (skener, včetně softwaru EUROArrayScan). To poskytuje plně automatizované vyhodnocení analýz EUROArray a podrobnou dokumentaci výsledků.

Citlivost a specifita

Citlivost a specifita testovacího systému byly stanoveny pomocí předem charakterizovaných vzorků molekulárně genetickými metodami.

| Referenční vzorky | Referenční metoda | Citlivost vzhledem k referenční metodě | Specifita vzhledem k referenční metodě |
|---|-----------------------|--|--|
| 85 EDTA krevních vzorků ¹ od dárců krve, Německo | Molekulárně genetická | 100 % | 100 % |

Robustnost

U 203 analyzovaných vzorků¹ od dárců krve bylo stanovení úspěšné ve všech případech (100 %).

Prevalence

Při vyšetřování 152 náhodně vybraných vzorků od dárců krve byly stanoveny následující genotypy:

| Genotyp | Prevalence | Genotyp | Prevalence |
|------------|---------------------|------------|---------------------|
| 13910 C/T: | T/T (homozygotní T) | 22018 G/A: | A/A (homozygotní A) |
| | C/T (heterozygot) | | C/A (heterozygot) |
| | C/C (homozygotní C) | | G/G (homozygotní G) |
| | 31,60 % | | 32,20 % |
| | 48,00 % | | 48,00 % |
| | 20,40 % | | 19,70 % |

¹ Analýzy byly provedeny jak s krví stabilizovanou EDTA (přímým postupem), tak i s DNA vzorky izolovanými z krevních vzorků s EDTA za použití soupravy "QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit" (QIAGEN) dle instrukcí výrobce.

Literatura

- Deng Y, Misselwitz B, Dai N, Fox M. Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management. *Nutrients*. 2015 Sep 18;7(9):8020-35.
- Dzialanski Z, Barany M, Engfeldt P, Magnuson A, Olsson LA, Nilsson TK. Lactase persistence versus lactose intolerance: Is there an intermediate phenotype? *Clin Biochem*. 2016 Feb;49(3):248-52.