

# Microarray – Food - Screen

## Microarray für die qualitative Bestimmung von spezifischem IgG4 gegen Nahrungsmittel-Antigene in humanem Serum oder Plasma

### Microarray Spezifikationen

- ▲ Hoher Probendurchsatz
  - 96 Patienten mit bis zu 96 Allergenen in einer ELISA Platte
- ▲ Reduzierter Proben- und Reagenzienverbrauch
  - 96 mal reduzierter Reagenzienverbrauch
  - nur 10µL Probenmaterial wird benötigt
- ▲ Reduzierte Arbeitszeit aufgrund von parallelem Handling von 96 Proben

Immunglobuline (Ig) der IgG4-Untergruppe scheinen eine wichtige Rolle in der humanen Immunreaktion gegen Nahrungsmittelantigene zu spielen. Beim Reizdarmsyndrom (engl.: Irritable bowel syndrome; IBS) zeigen sich Symptome, welche vergleichbar mit Reaktionen sind, die durch IgE hervorgerufen werden, ohne dass IgE-Antikörper gefunden werden konnten. Stattdessen konnten spezifische IgG4-Antikörper nachgewiesen werden. Auch konnte gezeigt werden, dass IBS-Patienten eine signifikante Verbesserung der Symptome nach einer „Nahrungsmittelspezifisches IgG4“-gerichteten Ausschluss-Diät verspürten. Serum-IgG4-Antikörper-Tests könnten eine objektive und schnelle Methode für die Auswahl der Ausschluss-Diät zur Behandlung dieser Patienten darstellen. Daher gewinnt die Messung von Nahrungsmittel-spezifischen IgG4-Antikörpern immer mehr an Bedeutung.

Das Prinzip des Microarray-Food-Screen basiert auf dem ELISA kombiniert mit der Microarray-Technologie. 96 Nahrungsmittel-Antigene wurden in jede Kavität der Mikrotiterplatte gespottet. Verdünntes Patientenserum oder -plasma wird in den Antigen-gespotteten Kavitäten inkubiert. Das spezifische IgG4 der Patientenproben bindet nun an die auf die Oberfläche gekoppelten Antigene. Nach der Zugabe von anti-IgG4-Enzym-Konjugat bildet sich an der Oberfläche ein Antigen/IgG4/Anti-IgG4-HRP-Komplex. Dabei entspricht die Menge des gebundenen Antikörpers der Menge an Peroxidase an der entsprechenden Position, welche durch Inkubation mit präzipitierendem Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat als blau gefärbte Antigen-Punkte detektiert werden können.

Microarray REF 10106-M  96

Nach einem Waschschrift kann die Optische Dichte jedes Spots mit einem speziellen Microarray-Plattenleser gemessen werden. Parallel zu den Patientenproben wird eine Kalibrierkurve ermittelt, an welcher die Konzentration der Nahrungsmittel-spezifischen IgG4-Antikörper ausgelesen werden kann. Die Konzentration ist innerhalb des Messbereichs direkt proportional zur Intensität der gefärbten Punkte.

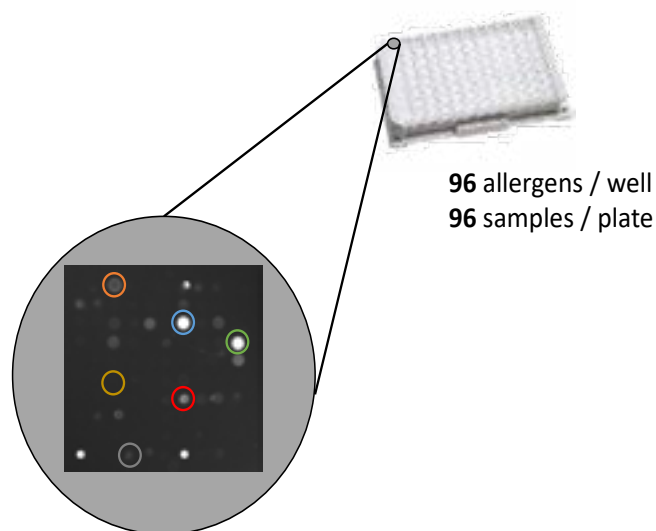


Abbildung 1  
Microarray System



Abbildung 2  
Gespottete Mikrotiterplatte

## Leistungsmerkmale

Die Intra-Assay, Inter-Assay und Lot-to-Lot Variationen wurden innerhalb der folgenden Spezifikationen gefunden:

Intra-Assay Variation	< 15%
Inter-Assay Variation	< 25%
Inter-Batch Variation	< 30%

## Evaluierung der Ergebnisse

Unter Nutzung der Kalibrierkurve werden die Konzentrationen der Proben folgendermaßen berechnet und evaluiert:

- < 2000 U/mL IgG4 Nahrungsmittel kann unbeschränkt konsumiert werden
- > 2000 < 5000 U/mL IgG4 Nahrungsmittel ist ein- bis zweimal pro Woche erlaubt, wechselnd
- > 5000 U/mL IgG4 Nahrungsmittel für mindestens 3 Monate meiden

Die Interpretation der Ergebnisse muss individuell für jeden Patienten und unter Beratung eines Arztes oder eines professionellen Ernährungswissenschaftlers erfolgen!

## Literatur

1. Jarvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA: IgE and IgG Binding Epitopes on alpha-Lactalbumin and beta-Lactoglobulin in Cow's Milk Allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2001, 126:111-118.
2. Chatchatee P, Jarvinen KM, Bardina L, Vila L, Beyer K, Sampson HA: Identification of IgE- and IgG-binding epitopes on alpha(s1)-casein: Differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 107:379-383.
3. Kruszewski J, Raczka A, Klos M, Wiktor-Jedrzejczak W: High Serum Levels of Allergen Specific IgG-4 (asIgG-4) for Common Food Allergens in Healthy Blood Donors. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 1994, 42:259-261.
4. Zar S, Mincher L, Benson MJ, Kumar D: Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2005, 40:800-807.
5. Zar S, Benson MJ, Kumar D: Food-specific serum IgG4 and IgE titers to common food antigens in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005, 100:1550-1557.
6. Noh G, Ahn HS, Cho NY, Lee S, Oh JW: The clinical significance of food specific IgE/OgG4 in food specific atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2007, 18: 63-70

## Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die Ergebnisse des Testes sollten immer im Zusammenhang mit der klinischen Situation des Patienten und seiner Anamnese beurteilt werden.

In der Evaluierung wurden eine Gesamtsensitivität und -spezifität (im Vergleich zu einem kommerziell erhältlichen ELISA für die Bestimmung von Nahrungsmittelspezifischem IgG4) von jeweils 94% ermittelt.

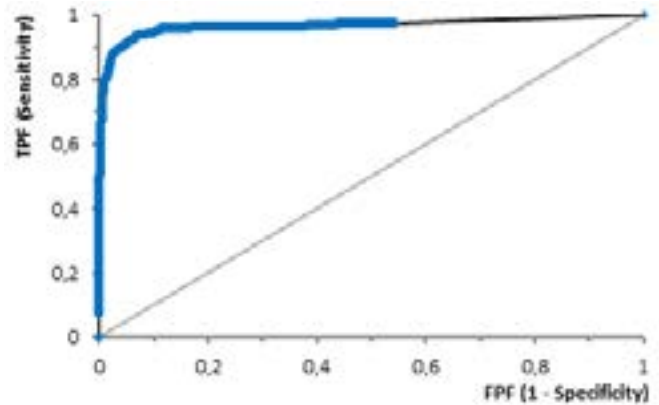


Abbildung 3

ROC Analyse für den Microarray Nahrungsmittel-Screen (Dr. Fooke Laboratorien GmbH) gegen einen kommerziell erhältlichen ELISA mit n=3009 Ergebnissen.