

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2012**

**Tereza SYCHROVSKÁ**

**Univerzita Pardubice**  
**Fakulta chemicko-technologická**

**CHEMICKÉ ALERGENY POTRAVIN**

**Tereza Sychrovská**

**Bakalářská práce**

**2012**

**University of Pardubice**  
**Faculty of Chemical Technology**

**CHEMICAL SUBSTANCES AS FOOD ALLERGENS**

**Tereza Sychrovská**

**Bachelor work**

**2012**

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2011/2012

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tereza Sychrovská**  
Osobní číslo: **C09155**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**  
Název tématu: **Chemické alergenů potravin**  
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši zabývající se problematikou potravinových alergií se zaměřením na chemické alergenů.
2. Uveďte základní přehled nejběžnějších chemických alergenů a potravin jako potenciálních zdrojů těchto látek. Popište i základní metodiky používané při zjišťování výskytu alergenů v potravinách. Provéřte i možnosti nahrazení alergizujících zdrojů za potraviny hypoalergenní.
3. Diskutujte zdravotní aspekty související s alergiemi, případná rizika spojená s výskytem alergenů a s konzumací potravin tyto látky obsahujících. Popište zásady první pomoci při alergických reakcích.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího práce.**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.**

Katedra analytické chemie


Konzultant bakalářské práce:

**Ing. Petra Pavlíková**

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.

  
prof. Ing. Karel Ventura, CSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2012

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 12.6.2012

Tereza Sychrovská

Na tomto místě bych chtěla poděkovat mému vedoucímu práce doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za odborné rady a vstřícné jednání. Zvláštní poděkování patří mé rodině za všestrannou podporu během mého studia.

## SOUHRN

Tato bakalářská práce je zaměřena na chemické alergeny potravin. V první části je uvedena charakteristika potravinové alergie, pojmenování a diagnostika alergenů, klinické projevy alergií a způsoby léčby. Je zde popsána příslušná legislativa České republiky, která se týká potravinových alergenů a jejich uvádění na obalech potravin.

V druhé části je uveden přehled nejběžnějších alergenních potravin živočišného a rostlinného původu. Jedná se například o kravské mléko, vejce, ryby, obiloviny, sóju nebo jablka.

Třetí část je věnována metodám, které se používají při zjišťování výskytu alergenů v potravinách. Nejčastěji používanými technikami jsou enzymová imunoanalýza a polymerázová řetězcová reakce.

**Klíčová slova:** potravinové alergeny

anafylaktický šok

prick test

ELISA



## **SUMMARY**

This Bachelor thesis is focused on chemicals as food allergens. Characteristics of food allergy, nomenclature and diagnosis of allergens, clinical signs of allergy and methods of treatments are mentioned in the first part. This part also describes the relevant legislation of the Czech Republic, which relates on food allergens and putting them on food labels.

The second part provides an overview of the most common allergenic foods of animal and vegetable origin (cow's milk, eggs, fish, cereals, soy or apples).

The third part is devoted to methods that are used for identification of allergens in food. The most commonly used techniques are enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction.

Keywords: Food allergens  
Anaphylactic shock  
Prick test  
ELISA

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

APT	atopický epikutánní test (atopy patch test)
BSA	hovězí sérový albumin (bovine serum albumin)
DBPCFC	provokační test potravinami (double blind placebo controlled food challenge)
ELISA	enzymová imunoanalýza (enzyme-linked immunosorbent assay)
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IUIS	Mezinárodní unie imunologických společností (International Union of Immunological Societies)
LTP	lipid transfer protein
MS	hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)
OAS	orální alergický syndrom
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
RIE	raketová imunoelektroforéza (rocket immuno-electrophoresis)

# OBSAH

1.	Úvod .....	11
2.	Potravinová alergie .....	12
2.1.	Historie alergických onemocnění .....	14
2.2.	Nomenklatura alergenů.....	15
2.3.	Hlavní a minoritní alergeny .....	15
2.4.	Zkřížená reakce.....	16
2.5.	Klinické projevy potravinové alergie .....	16
2.5.1.	Anafylaktická reakce .....	17
2.5.2.	Orální alergický syndrom .....	17
2.5.3.	Atopická dermatitida .....	18
2.5.4.	Kopřivka .....	18
2.5.5.	Gastrointestinální reakce .....	18
2.5.6.	Astma.....	18
2.5.7.	Celiakie.....	19
2.6.	Diagnostika potravinové alergie.....	20
2.6.1.	Prick test .....	20
2.6.2.	Vyšetření krve .....	21
2.6.3.	Otevřený orální expoziční test.....	22
2.6.4.	Provokační test potravinami .....	22
2.6.5.	Atopický epikutánní test.....	23
2.6.6.	Eliminační dieta.....	23
2.7.	Léčba potravinové alergie – balíček první pomoci .....	23
2.8.	Legislativa – označování potravin.....	24
2.9.	Snižování alergenicity – hypoalergenní potraviny .....	25
2.10.	Alergeny potravin živočišného původu.....	26
2.10.1.	Alergeny kravského mléka .....	26
2.10.2.	Alergeny vajec .....	27
2.10.3.	Alergeny ryb, koryšů a měkkýšů.....	28
2.10.4.	Alergeny masa a masných výrobků.....	29
2.11.	Alergeny potravin rostlinného původu .....	30
2.11.1.	Alergeny sóji .....	30
2.11.2.	Alergeny ořechů .....	31

2.11.2.1.	Arašídny	31
2.11.2.2.	Stromové ořechy	32
2.11.2.3.	Nepravé ořechy	32
2.11.3.	Alergeny obilovin	33
2.11.4.	Alergeny ovoce	34
2.11.4.1.	Tradiční české ovoce	34
2.11.4.2.	Kiwi	35
2.11.4.3.	Meloun, ananas, citrusy	35
2.11.5.	Alergeny zeleniny	35
2.12.	Metody detekce potravinových alergenů	36
2.12.1.	Enzymová imunoanalýza	37
2.12.2.	Polymerázová řetězová reakce	38
2.12.3.	Imunoblotting	39
2.12.4.	Raketová imunoelektroforéza	39
2.12.5.	Vysokouıinna kapalinová chromatografie	40
2.12.6.	Hmotnostní spektrometrie	40
3.	Závěr	42
4.	Seznam použité literatury	43

# 1. Úvod

Tato bakalářská práce se zabývá chemickými alergeny potravin. Alergie se stala fenoménem několika posledních desetiletí i přesto, že první záznamy o projevech tohoto onemocnění pocházejí již ze starověku. V dnešní době se alergie řadí mezi civilizační choroby. Masové rozšíření této nemoci, do které lze zařadit i potravinovou alergii, je zejména kvůli změně životního stylu s převahou stresu a změně stravovacích návyků (exotické potraviny, chemické látky).<sup>1</sup>

V odborné literatuře se uvádí, že potravinovou alergií trpí okolo 20 % světové populace. Toto číslo je ve skutečnosti nižší. Mnoho lidí netrpí skutečnou alergií. Jedná se o psychický vliv nebo nechutenství k určité potravíně. Pravou potravinovou alergií nebo potravinovou intolerancí je postiženo zhruba 10 % populace. Tato onemocnění postihují celosvětovou populaci napříč všemi věkovými kategoriemi.<sup>2,3</sup>

Alergie je definována jako stav přecitlivělosti na určitý alergen. Potravinové alergeny jsou obvykle glykoproteiny, které vyvolávají vznik imunitní reakce. Klinické projevy alergie jsou od lehkých až po život ohrožující projevy (anafylaktický šok). Nalezení alergie způsobující potraviny je doslova detektivní práce. Lékař nejprve stanoví anamnézu pacienta a následně se provádějí různé testy (kožní prick testy, krevní testy, orální expoziční testy atd.). Jedinou účinnou léčbou je vyhýbat se alergenní potravíně.<sup>4</sup>

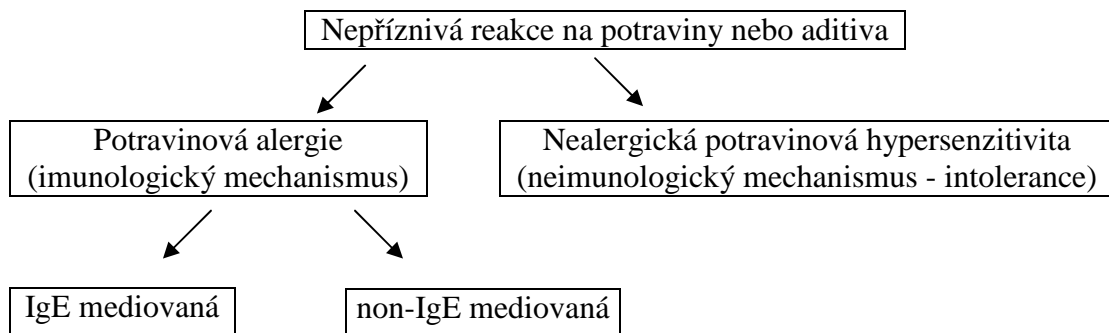
Touto problematikou se v posledních letech začala zabývat Evropská unie a jednotlivé členské státy. Bylo schváleno několik kvalitních vyhlášek s přísnějšími kritérii. Jedná se hlavně o vyhlášku č. 113/2005 Sb.<sup>5</sup> Tyto vyhlášky zpřísnily označování potravin. Na obalu musejí být uvedeny nejrizikovější alergeny. Tyto legislativní změny ulehčily a denně ulehčují život nejednomu alergikovi.

## 2. Potravinová alergie

Potravinová alergie (přecitlivělost) je nepřiměřená, imunologická reakce organismu na podněty z vnějšího prostředí. Látky schopné vyvolat tuto reakci se nazývají alergeny. Jedná se obvykle o glykoproteiny o molekulové hmotnosti 5 až 70 kDa, jejichž zdrojem jsou rostlinné i živočišné potraviny. Nejrizikovější alergeny jsou odolné vůči kyselému prostředí žaludku, štěpení trávícími enzymy (trypsin, pepsin) i vůči tepelnému zásahu. Potravinové alergeny mohou vyvolávat kožní, respirační a zažívací obtíže. K vyvolání těchto příznaků mnohdy stačí jen stopové množství alergenu.<sup>2,6,7</sup>

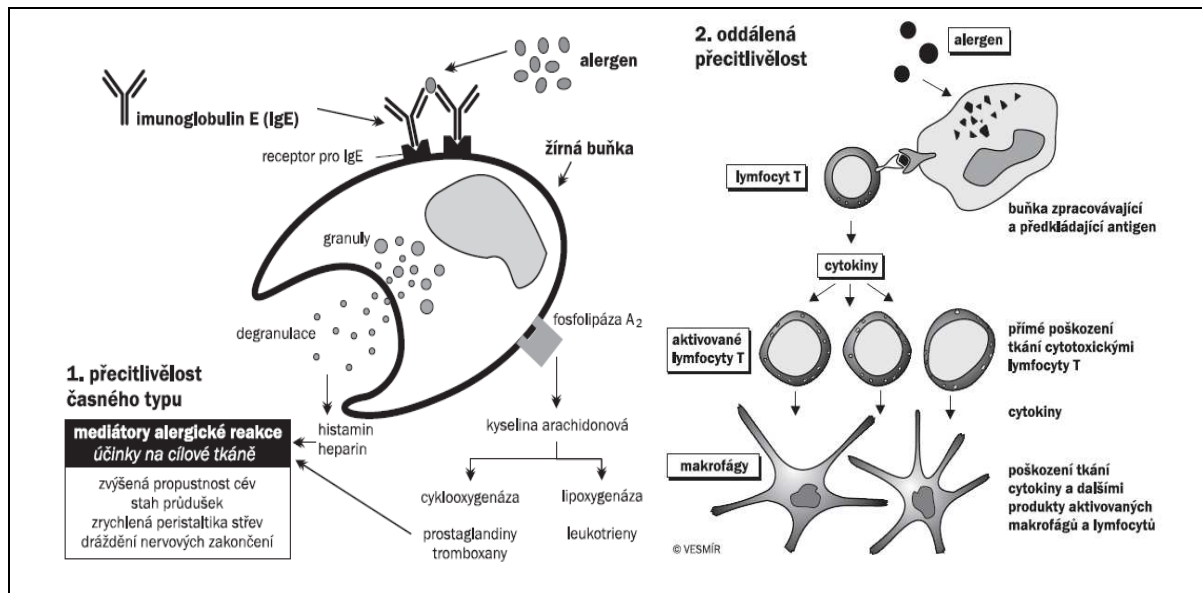
Potravinová přecitlivělost postihuje osoby všech věkových kategorií. Tento typ alergie se vyskytuje u 5 – 7 % dětí, ale ve většině případů s přibývajícím věkem vymizí. Typickými dětskými alergenními potravinami jsou kravské mléko, vejce, sója, podzemnice, pšenice a ořechy. Alergie postihuje zhruba 2 % dospělých osob a typickými ohrožujícími potravinami jsou podzemnice, ořechy, sója, ryby, korýši, kravské mléko a výrobky z něj.<sup>4,6</sup>

Nepříznivá reakce na potraviny a aditiva se dělí na potravinovou alergii a nealergickou přecitlivělost na potraviny. Potravinová alergie je vyvolaná imunitním mechanismem. Jedná se o přecitlivělost zprostředkovanou protilátkami imunoglobuliny E (IgE). Tato třída protilátek se u zdravé osoby vyskytuje ve stopovém množství nebo vůbec. Jako příklad lze uvést anafylaxi po arašíděch. Potravinová přecitlivělost může být vyvolaná i patogenetickým mechanismem, který je označován jako non – IgE. Tento typ reakce nastává po konzumaci potraviny v rámci hodin až dnů (pozdvolný nástup). Příkladem non-IgE přecitlivělosti je celiakie. U většiny případů nealergické přecitlivělosti na potraviny není znám přesný mechanismus. Typickým příkladem je laktózová intolerance. Toto onemocnění je způsobeno metabolickým defektem (chybí enzym laktáza na štěpení laktózy).<sup>2,8</sup> Výše popsané rozdělení nepříznivých reakcí na potraviny a aditiva je znázorněno na obrázku 1.



**Obrázek 1:** Potravinová hypersenzitivita<sup>9</sup>

Na přecitlivělosti časného typu se podílejí IgE protilátky, které jsou navázané na žírné buňky a reagují s alergenem. Tato interakce pak vyvolává uvolnění velkého množství mediátoru (např. histamin). Klinické příznaky u časné přecitlivělosti nastávají chvilku po požití potravin. Druhým typem je oddálená přecitlivělost, při které se příznaky alergie projevují později. Na pozdní přecitlivělosti se podílejí T-buňky a makrofágy.<sup>2,6</sup> Časná a oddálená přecitlivělost jsou znázorněny na obrázku 2.



**Obrázek 2:** Přecitlivělost časného a oddáleného typu<sup>2</sup>

## 2.1. Historie alergických onemocnění

Alergie je často považována za moderní onemocnění, z části proto, že se neustále zvyšuje počet alergiků, ale také proto, že v několika posledních desetiletích došlo k nebývalému rozvoji alergologie.

Záznamy o výskytu alergických onemocnění pocházejí již ze starověku. V Egyptě zakladatel I. dynastie, který byl znám pod jmény Narmer či Menej, zemřel po bodnutí vosou.<sup>10</sup>

Ve středověku lidé trpěli křečemi břicha, zvraceli, dusili se, otekl nebo jim zrudl obličej a po těle se jim objevila kopřivka. Lidé si často mysleli, že jim do jídla někdo dal jed. Bylo to období rozšířeného travičství. Určitě však některé reakce na jídlo či pití bylo už tehdy vyvoláno alergií.<sup>1</sup>

V roce 1819 londýnský lékař John Bostock přesně popsal sennou rýmu jako nemoc, která ovlivňuje horní cesty dýchací. O padesát let později Charles Blackey provedl první kožní testy s použitím pylu a dokázal, že příčinou senné rýmy je pyl. Dnešní metody kožních testů se liší ve způsobu, jakým je alergen extraktu zaváděn do kůže, ale princip zůstává pořád stejný.<sup>10</sup>

Termín „alergie“ (*allos ergos* – jiná reakce) pochází z roku 1906, kdy ho zavedl vídeňský pediatr Clemens von Piquet. Ten jako první předpokládal i antigen – protilátkovou odpověď.<sup>10</sup>

V roce 1913 Charles Richet obdržel Nobelovu cenu za výzkum v oblasti anafylaxe. Vymyslel a popsal anafylaxi jako celkovou zánětlivou imunitní reakci na cizí protein u senzibilizovaného jedince.<sup>11</sup>

V roce 1923 A.F. Coca a R.A. Cooke definovali termín atopie, který vysvětlili jako vrozenou geneticky podmíněnou dispozici ke vzniku alergických onemocnění v rodinných společenstvích.<sup>12</sup>

Za zakladatele alergologie na území České republiky je považován MUDr. Josef Liška. V roce 1933 provedl první kožní testy a sledoval prvních 14 pylových alergiků. K velkému rozvoji alergologie dochází až po druhé světové válce, kdy vznikají různé organizace (Komise pro alergologii, Alergologická společnost a Společnost alergologie a klinické imunologie).<sup>12</sup>



## 2.2. Nomenklatura alergenů

První verze názvosloví byla zveřejněna roku 1980 Mezinárodní unií imunologických společností (IUIS) a Světovou zdravotnickou organizací (WHO). V této době bylo k dispozici 26 definovaných alergenů. V dnešní době je databáze alergenů neustále doplňována a zodpovídá za ni komise IUIS – Allergen Nomenclature Subcommittee. Seznam všech definovaných alergenů je zveřejněný na oficiální webové adrese ([www.allergen.org](http://www.allergen.org)).<sup>13,14</sup>

Alergeny se označují zkratkou, která se skládá z písmen a čísla. První tři písmena zkratky označují rod, následuje první písmeno druhu a arabská číslice, která vyjadřuje pořadí, v němž byl alergen identifikován. Jako příklad lze uvést Gal d 1 (ovomukoid). Písmena obsažená ve zkratce tohoto alergenu pocházejí z latinského názvu kura domácího (*Gallus domesticus*). V roce 2009 IUIS vydalo nařízení, že se k názvu alergenu přidalo ještě jedno písmeno (n = přírodní alergen, r = rekombinantní alergen, s = syntetický alergen).<sup>4,13</sup>

## 2.3. Hlavní a minoritní alergen

Alergeny se rozdělují na hlavní a minoritní. Jako hlavní alergen jsou označovány proteiny, na něž má více než 50 % přecitlivělých jedinců specifický IgE. Hlavním alergenem podzemnice (*Arachis hypogea*) je Ara h 1, u para ořechu (*Bertholletia excelsa*) je to Ber e 1, u sóji (*Glycine max*) je to Gly m 1 a další. Tento typ alergenů se v potravinách může vyskytovat ve velkém, ale i malém množství.<sup>4,13</sup>

Minoritní alergen mohou mít strukturu podobnou hlavnímu alergenu, mohou vznikat pozměněním struktury hlavních alergenů. Tyto proteiny mají schopnost vazby s IgE, nejsou schopné vyvolat uvolnění histaminu, ale mohou způsobit významnou alergickou reakci. Minoritním alergenem u kravského mléka je  $\alpha$ -laktalbumin a hovězí sérový albumin (BSA – bovine serum albumin). U vajec to jsou lysozym, ovomucin a fosvitin.<sup>4,13</sup>

## 2.4. Zkřížená reakce

Z chemického hlediska jsou alergeny bílkoviny, které se skládají z různých aminokyselin. V přírodě se mohou vyskytnout dva i více alergenů, které mají shodnou určitou aminokyselinovou sekvenci. Takové místo je velmi důležité v uplatnění zkřížené alergie. Zkřížená reakce je tedy jev, při kterém osoba citlivá na jeden alergen může reagovat i na jiný alergen.<sup>2,9</sup>

Podle množství shodných sekvencí aminokyselin se alergeny rozdělují na homologické a panalergeny. Podobnost úseků aminokyselin je u homologických proteinů až 50 %. Zkřížené reakce vyvolané homologickými alergeny mohou nastat mezi inhalačními, potravinovými, hmyzími a lékovými alergeny (bříza – ovoce – ořechy). Panalergeny jsou bílkoviny, u kterých je až 80 % podobnost aminokyselinových úseků. Mezi tři hlavní panalergeny se řadí profilin, trompomyosin a bílkovina transportující tuky (LTP – lipid transfer protein). Zkřížené reakce vyvolané těmito alergeny mohou vzniknout například mezi břízou – lískou – olší – ovocem – arašídem (profilin) nebo korýši – měkkýši – suchozemští hlemýždi – roztoči (trompomyosin).<sup>1,2,9</sup>

Zkřížená reakce se vyskytuje mezi potravinami botanicky a zoologicky příbuznými, ale i mezi inhalačními a potravinovými alergeny. Zvláštním příkladem je reakce mezi latexem a ovocem nebo zeleninou (avokádo, banán nebo brambor). Zkřížená alergie se u pacientů může projevovat typickými alergickými příznaky. Některé osoby mají pozitivní laboratorní testy na přítomnost protilátek IgE, ale nedochází u nich k žádným klinickým projevům.<sup>1,2</sup>

## 2.5. Klinické projevy potravinové alergie

Alergické projevy zprostředkované IgE protilátkou se dělí na neatopické a atopické. Neatopické choroby jsou geneticky nepodmíněné, lze mezi ně zařadit anafylaktický šok a angioedém. U atopických projevů je zvýšená tvorba IgE protilátek geneticky podmíněná. Citlivý jedinec v sobě nese jisté riziko vzniku alergie. Mezi atopické choroby patří alergická rýma, astma, atopická dermatitida nebo alergická gastroenteropatie. Typickým onemocněním, které není zprostředkované IgE protilátkou, je celiakie. Jedná se o glutenovou intoleranci.<sup>4</sup>

## 2.5.1. Anafylaktická reakce

Anafylaxe je nejobávanějším klinickým projevem alergické reakce. Ze všech případů anafylaxe je 33 – 50 % těchto případů způsobeno potravinami. Jedná se o reakci zprostředkovanou specifickými protilátkami IgE. Tuto reakci mohou vyvolávat cizorodé bílkoviny, polysacharidy, léky a hapteny.<sup>1,15</sup>

Anafylaxe postihuje jak děti, tak i dospělé osoby. Toto onemocnění může u citlivého jedince vyvolat kopřivku, otok hrtanu, nízký krevní tlak, srdeční arytmii, průjmy, úzkost a křeče břicha. V některých případech může být anafylaxe až fatální. Tato reakce organismu může být vyvolána po požití burských oříšků, stromových ořechů, ryb, koryšů, měkkýšů, vajec, mléka, sóji nebo celeru. Průběh anafylaxe může být jednofázový nebo dvoufázový. Příznaky reakce se mohou objevit už během 1 hodiny, ale nejdéle do 72 hodin.<sup>1,2,4,15</sup>

## 2.5.2. Orální alergický syndrom

Orální alergický syndrom (OAS) patří mezi mírnější alergická onemocnění. Tento syndrom se projeví okamžitě po konzumaci alergenní potraviny. Nejsnáze k této alergické reakci dojde po požití syrové a čerstvé potraviny. Jedná se zejména o potraviny rostlinného původu, které mohou vyvolávat zkříženou reakci s pyly stromů, trav a plevelů. Mezi potraviny, které nejčastěji vyvolávají OAS, patří ovoce, kořenová zelenina, rajčata, hrášek a všechny druhy ořechů.<sup>2,4,8</sup>

Příznaky orálního alergického syndromu jsou otoky sliznic dutiny ústní a rtů, intenzivní svědění sliznic a dutiny ústní, vyrážka, porucha polykání a dušnost. Jen u velmi málo případů se tyto banální příznaky mohou vyvinout v život ohrožující příznaky (otok hrdla, celková anafylaxe).<sup>2,4,8</sup>

### **2.5.3. Atopická dermatitida**

Atopický ekzém je dlouhodobé postižení pokožky. Jedná se o vyrážku, která se nejčastěji tvoří na tváři, v krční rýze, na zápěstí, v loketních a podkolenních jamkách, ale může se rozšířit i po celém těle. Tento typ dermatitidy postihuje 10 až 30 % kojenců a batolat. S přibývajícím věkem dítěte ekzém ustupuje nebo zcela zmizí. Příčinou vzniku tohoto onemocnění mohou být různé alergeny, ale i některé nealergenní faktory. Atopická dermatitida je geneticky podmíněná. Je-li jeden z rodičů alergik, pravděpodobnost vzniku ekzému je 30 %. V případě, že oba rodiče jsou alergičtí, je pravděpodobnost až 60 %.<sup>1,3,4,16</sup>

### **2.5.4. Kopřivka**

Jedná se o kožní projev alergické reakce. Kopřivka může být akutní nebo chronická. Akutní kopřivka postihuje převážně děti, trvá několik hodin až několik dnů a příčinou mohou být různé alergeny (potravinové, vzdušné nebo lékové). Chronický typ postihuje především dospělé osoby, trvá týdny až měsíce a příčinou jsou potraviny a léky (jedná se o nepravou alergii). Projevem tohoto onemocnění je svědění a pupeny.<sup>3,16</sup>

### **2.5.5. Gastrointestinální reakce**

Jedná se o reakci zprostředkovanou specifickými protilátkami IgE. Tato reakce se projevuje svěděním a zduřením partií kolem úst, nevolností, zvracením, kolikou, průjmy, nadýmáním, poruchou vstřebávání živin a bolestí břicha.<sup>2,4</sup>

### **2.5.6. Astma**

Jedná se o onemocnění dýchacích cest a plic. Astma se projevuje dráždivým kašlem nebo dušností při výdechu. Astma u citlivých jedinců může být vyvolané různými alergeny (potravin, pylová zrna, zvířata, hmyz), cigaretový kouř, chladný a suchý vzduch, fyzická námaha atd.<sup>3,4</sup>

## 2.5.7. Celiakie

Celiakie, neboli glutenová enteropatie, je intolerance na lepek, který je hlavní bílkovinou obilovin (pšenice, ječmen, žito, oves). Celiakie není stejná jako pravá potravinová alergie na pšenici. Glutenová intolerance se projevuje jako zánět tenkého střeva po jeho kontaktu s lepem (neschopnost strávit potravinu obsahující lepek). Dochází k poškození vnitřní tkáně tenkého střeva a tím i k nesprávnému vstřebávání živin.<sup>4,9</sup>

Celiakií trpí zhruba 1 % světové populace. Jedná se o geneticky podmíněné onemocnění, které přetrvává po celý život nemocného jedince. Celiakie začíná často v dětském věku, ale může se projevit i v dospělosti. U dětí se projevuje průjemy, hypovitaminózou a neprospíváním. U dospělých je typickým projevem osteomalacie a anémie, jako důsledek hypovitaminózy. Neléčená celiakie může vést až k nádorovým onemocněním tenkého střeva.<sup>17,18</sup>

Neexistuje jednotný názor na původ glutenové enteropatie. Gastroenterologové zastávají spíše teorii o neimunologické intoleranci. Naopak alergologové se přiklánějí k myšlence, že se jedná o neatopický imunologický proces.<sup>1</sup>

Jedinou léčbou tohoto onemocnění je celoživotní bezlepková dieta. Lidé trpící celiakií se musejí vyvarovat produktům, které jsou vyrobeny z pšenice, ječmene nebo žita. Povolena je mouka z kukuřice, rýže či brambor. Podle nedávno zveřejněné vědecké studie mohou pacienti bezpečně jíst 10 až 100 mg glutenu denně. Komise Codex Alimentarius nedávno přezkoumala standardy pro bezlepkové potraviny. V revidované normě doporučují použití dvou kategorií – bezlepková strava s obsahem lepku nejvýše 20 mg/kg a potravina se sníženým obsahem lepku mezi 20 – 100 mg/kg.<sup>1,7,18,19</sup>

## 2.6. Diagnostika potravinové alergie

Diagnostiku potravinové alergie a následnou léčbu provádí lékař. Správně sestavená anamnéza pacienta může až z 50 % ulehčit diagnostiku příslušné alergie. Pro sestavení anamnézy je potřeba celá řada důležitých informací (popis klinických projevů, časové intervaly vzniku příznaků od požití potravin, výskyt jiných alergických onemocnění u pacienta i rodinných příslušníků atd.). Na základě správné anamnézy se velmi často dají vysledovat provokativní potraviny. Poté se podle podezřelých potravin sestaví další diagnostické postupy (kožní testy, vyšetření specifických IgE, eliminační dieta a další).<sup>3,6,9,20</sup>

### 2.6.1. Prick test

Prick test je nejčastější a nejlevnější metodu pro potvrzení potravinové alergie. Jedná se o kožní bodový test, který se provádí na předloktí. Tento test se provádí umělohmotným kopíčkem s jednomilimetrovým hrotem nebo kovovou lancetou opatřenou také hrotem. Používají se komerčně dodávané potravinové alergeny nebo čerstvé potraviny (ovoce, zelenina nebo výtažky z čerstvých potravin).<sup>3,8</sup>

Lanceta se hrotem ponoří do roztoku alergenu a provede se vpich do kůže na předloktí pacienta (viz. obrázek 3). Každý test se provádí jinou lancetou. Výsledky testů se odečítají po 15 až 20 minutách. Test je pozitivní, když v místě vpichu vznikne pupenec s okolním zarudnutím kůže, jehož velikost musí být minimálně 3 mm. Současně je proveden i kontrolní vpich kodeinu nebo histaminu pro zjištění reaktivity kůže.<sup>3,8,21</sup>

Tato diagnostická metoda patří mezi velmi spolehlivé. Někdy výsledky mohou být falešně negativní při použití potravinových diagnostických extraktů, které mohou obsahovat labilní alergeny. Pro správnost testů je lepší používat syrové potraviny. Prick testy jsou bezbolestné a vhodné pro všechny věkové kategorie.<sup>3,20</sup>



**Obrazek 3:** Prick test s použitím standardního kopíčka (vlevo), reakce v podobě papuly po prick testu (vpravo)<sup>8</sup>

## 2.6.2. Vyšetření krve

Krevní testy na specifické IgE protilátky jsou doplňujícím vyšetřením k základním kožním testům, které zachytí nejběžnější typy potravinových alergií. Tato diagnostická metoda je cenově velmi nákladná, a proto se nejčastěji provádí u dětí, seniorů, ekzematiků a pacientů ohrožených anafylaxií. Jedná se o velmi spolehlivou metodu, která je schopna rozpoznat potravinovou přecitlivělost malých dětí až v 70 % případů.<sup>3,21</sup>

Test měří sérově specifický IgE vůči potravinovým alergenům v konkrétních potravinách. Testy se provádějí pomocí speciálního přístroje autolyzátoru ImmunoCAP, který je schopen rozpoznat více než 150 potravinových alergenů. Nevýhodou tohoto způsobu vyšetření je nízká kvalita diagnostických potravinových extraktů, proto poskytují méně přesné výsledky než prick test využívající čerstvé potraviny.<sup>8,20</sup>

V poslední době se objevuje vyšetření specifického imunoglobulinu G (IgG), který poskytuje celkem spolehlivé výsledky. Pro diagnostiku alergií tato metoda nemá žádný velký význam, protože IgG je měřen proti potravinovým alergenům, které jsou ve vzájemném vztahu se střevní permeabilitou a závisí na zastoupení těchto potravin v jídelníčku. Tento test je používán převážně všeobecnými lékaři a v alternativní medicíně.<sup>8,20,22</sup>

### **2.6.3. Otevřený orální expoziční test**

Tento test je běžnou součástí diagnostického postupu. Provádí se v domácím prostředí pacienta, v ambulanci nebo v nemocnici při závažnějších projevech. Test je založen na postupném zařazování problémových potravin do jídelníčku pacienta s časovým odstupem 1 až 3 dny. Pokud u pacienta nevznikne žádný alergický příznak, problémová potravin může být zařazena do jeho běžného jídelníčku. V případě pozitivního testu a pro zpřesnění výsledků se provádí provokační test potravin.<sup>20</sup>

### **2.6.4. Provokační test potravinami**

Tento test je považován za zlatý diagnostický standard, protože je velmi snadno reprodukovatelný, není závislý na mechanismu alergické reakce a není ovlivňován psychickou potravinovou averzí pacientů. DBPCFC (double blind placebo controlled food challenge) je vhodný pro děti i dospělé jedince.<sup>2</sup>

Při tomto vyšetření pacient neví, na jaký alergen je testován, ani lékař neví, zda pacientovi podal alergen nebo placebo, proto se používá odpovídající název. K zamaskování potravin se používá maskovací nápoj, který je současně plácem nebo se používá lyofilizovaná potravin uzavřená do bílých želatinových kapslí. Jako placebo se využívá cukrů (glukóza, D-xylóza, dextróza). Pacientovi se dávají želatinové kapsle (placebo nebo alergen), postupně se zvyšuje dávka a sleduje se příslušná reakce. Test je zastaven při vážnějších alergických projevech. DBPCFC se provádí v nemocnici, kde je k dispozici potřebné vybavení pro zastavení vážnějších alergických příznaků (kyslík, adrenalin, vybavení pro resuscitaci atd.).<sup>8,20</sup>

Tento test je spolehlivý, ale časově velmi náročný. Pacient může být denně testován maximálně na 4 potravinové alergeny a měl by v nemocnici zůstat i po několik následujících dnů, kdyby náhodou došlo k oddálené reakci.<sup>8</sup>



### **2.6.5. Atopický epikutánní test**

Jedná se o diagnostiku atopie s použitím náplasti (APT - Atopy Patch Test). APT je vysoce specifický pro potravinovou alergii. Je vhodný pro děti trpící atopickým ekzémem, u kterých se stanovuje senzibilizace na kravské mléko, sóju, vejce a pšenici.<sup>8</sup>

Při APT je na kůži zad nanесena kapka každé čerstvé potraviny v řadě 12 mm Finnových komor na 48 hodin. Po uplynutí této doby se odtrhne náplast a po dobu dalších 24 hodin se kontroluje vznik zarudnutí nebo puchýřků.<sup>8</sup>

### **2.6.6. Eliminační dieta**

Eliminační dieta má důležitou úlohu v diagnostickém postupu. Uplatňuje se zejména při podezření na neimunologickou alergii, intoleranci nebo při negativních výsledcích kožních a krevních testů. Lékař pacientovi doporučí, aby z jídelníčku vyřadil nejvíce alergizující potraviny, potraviny bohaté na potravinářská aditiva nebo konkrétní podezřelou potravinu. Když se během určité doby zklidní příznaky a neprojeví se nové, přistupuje se k dalším diagnostickým testům. V případě, že pacient měl z jídelníčku vyřadit konkrétní potravinu a během eliminační diety nedošlo k žádným příznakům, měl by pacient tuto potravinu vyřadit ze svého jídelníčku nastálo.<sup>8,20</sup>

## **2.7. Léčba potravinové alergie – balíček první pomoci**

Jestliže se u citlivého jedince projeví příznaky potravinové alergie, musí se podrobit zdlouhavému diagnostickému procesu, aby se přišlo na příčinu přecitlivělosti. Jedinou účinnou léčbou potravinové alergie v současné době je odstranění konkrétní problémové potraviny z jídelníčku pacienta. Tento léčebný postup vyžaduje zodpovědný přístup pacienta, ale i veřejných stravovacích zařízení a potravinářských výrobců (přesné značení potravinářských produktů, pacient správně poučený o dietě a kontrola nutriční kvality potravin). Preventivně by měl lékař během 1 až 3 let pacienta vždy znovu vyšetřit. Týká se to zejména dětí, protože u nich je velká pravděpodobnost vymizení potravinové alergie.<sup>6,20</sup>

Každý potravinový alergik by měl mít u sebe balíček první pomoci s návodem k použití. Na prvním místě by tento balíček měl obsahovat autoinjektor. Jedná se o adrenalinovou laickou injekční stříkačku, která může být aplikována samotným pacientem nebo kýmkoliv jiným. Lékař by měl pacienta podrobně informovat o způsobu aplikace. Adrenalin musí být okamžitě píchnut do stehna člověka, u kterého propukne anafylaktický šok po konzumaci potravin, která ho může vyvolávat (burské ořechy, koryši, ryby nebo sója). V takovémto případě může adrenalin zachránit život. Další součástí balíčku by měly být tablety kortikoidů (prednison, metylprednison). Kortikoidů se musí užít potřebná dávka, mají ochranný i záchranný účinek. Další pomocí by měly být antihistamika II. generace. Potřebná dávka těchto léků by měla být v jedné tabletě. Dají se brát i preventivně a nemají mnoho nežádoucích účinků. Posledním léčivem, které může, ale nemusí být součástí balíčku, je kromoglykát sodný. Je vhodný pro malé děti a pacienty s mnohočetnou potravinovou alergií. Může se brát preventivně, ale při dlouhodobém užívání se jeho efekt snižuje až vymizí.<sup>3,20,21,23</sup>

## **2.8. Legislativa – označování potravin**

Jedinou účinnou léčbou potravinové alergie je vyhýbání se alergizujícím potravinám (eliminační dieta). Potravinový alergik musí být informován o přesném složení potravin. Zde nastává problém správného označování alergenních látek, které jsou obsaženy v balených i nebalených potravinách. Z hlediska národní legislativy tento problém řeší zákon číslo 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, který je doplněn provádějící vyhláškou č. 113/2005 Sb., o způsobu označování potravin a tabákových výrobků. Tyto dva předpisy jsou nejdůležitější z hlediska označování potravin. Doplnující vyhláška č. 113/2005 Sb. je harmonizována se směrnicí č. 2000/13/ES o sblížení právních předpisů členských států Evropské unie týkajících se označování potravin, jejich obchodní úpravy a související reklamy.<sup>2,5,24,25,26</sup>

Komise Codex Alimentarius stanovila 12 nejrizikovějších alergenních složek (skupin) potravin. Evropské společenství zahrnuje toto doporučení do své legislativy a tím i do legislativy jednotlivých členských států. Jedná se například o obiloviny obsahující lepek, koryše a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, mléko a výrobky z něj (včetně laktózy), celer a výrobky z něj, oxid siřičitý a siřičitany v koncentracích vyšších než 10 mg/kg nebo 10 mg/l. Jmenovitě musejí být označeny všechny alergizující složky nebo

jakákoli látka z ní pocházející, která byla použita při výrobě potravin a je v konečném výrobku stále obsažena, a to i ve změněné formě a bez ohledu na množství alergizující složky. Stanovení prahových hodnot téměř jakékoliv alergizující látky se zatím nepodařilo, protože jsou různě citliví jedinci, u kterých alergii může vyvolávat jeden mikrogram až několik gramů osudového alergenu.<sup>1,2</sup>

V poslední době se stále více na obalech potravin objevuje dobrovolné označení. Jedná se o sdělení typu: „Může obsahovat arašídy“ nebo „Může obsahovat stopy lepku“, apod. Dobrovolné značení může být použito v případě, kdy potravina byla nevědomě kontaminována alergizující složkou. Jako příklad lze uvést mléčné jogurty nebo ovocné nápoje, které mohou obsahovat stopové množství lepku, bílku či sóji. Tímto způsobem označování se potravinářský podnik nezbavuje veškeré odpovědnosti za bezpečnost potravin ve vztahu k obsahu alergizující složky a dodržování správné výrobní a hygienické praxe.<sup>1,2</sup>

## **2.9. Snižování alergenicity – hypoalergenní potraviny**

V několika posledních desetiletích se různé vědecké organizace pokoušejí objevit různé způsoby, jak snížit alergenitu některých potravin a zároveň vyrobit speciální dietní hypoalergenní potraviny. Tyto metody by neuvěřitelným způsobem ulehčili život potravinového alergika.

Mezi nejúčinnější metody pro snižování alergenicity potravin patří tepelné a enzymatické zásahy na potravinu nebo její složku a odstraňování slupek pomocí chemikálií u některých rostlinných potravin. V praxi se používá kombinace tepelného a enzymatického zásahu například u mléčných a sójových výrobků. Co se týče mléka, je velmi oblíbená výroba fermentovaných výrobků (acidofilní mléka, jogurty) pomocí vhodných mikrobiálních kultur. Další variantou jsou hypoalergenní mléčné produkty vyrobené na bázi hydrolýzy proteinů, které jsou určené pro kojence nebo malé děti alergické na kravské mléko.<sup>2,7</sup>

Na trhu jsou v dnešní době dostupné i bezlepkové výrobky. Tyto produkty obsahují méně než 0,01 % glutenu. Toto množství je dostačující pro osoby trpící celiakií, ale nemusí být dostačující pro alergiky.<sup>2</sup>

Další řešením je vývoj geneticky modifikovaných potravin. Tato metoda by do budoucna mohla být slibným řešením pro alergiky. Před uvedením na trh jsou tyto

potraviny podrobovány přísným kontrolám. Mohly by obsahovat alergen z původního zdroje genetického materiálu nebo by mohlo dojít k vytvoření zcela nového alergenu.<sup>2</sup>

Jak je vidět z výše uvedených odstavců, tak existuje několik možností, jak alergikům ulehčit život a mnoho metod je teprve ve vývoji. Bohužel řada finálních výrobků je díky své technologii velice drahá a pro většinu citlivých jedinců finančně nedostupná.<sup>2</sup>

## **2.10. Alergeny potravin živočišného původu**

Mezi potraviny živočišného původu patří mléko a mléčné výrobky, vejce, ryby, koryši, měkkýši, maso a masné výrobky. Největší počet alergenů se nachází v mléce a zároveň je to nejčastější potravinová alergie u dětí, která ale s věkem může vymizet. Nejrizikovější potraviny u dospělých osob jsou ryby, koryši, měkkýši, vejce a mléko.

### **2.10.1. Alergeny kravského mléka**

Přecitlivělost na kravské mléko zprostředkovaná IgE je celoevropsky nejrozšířenější potravinovou alergií. Ne každá nesnášenlivost mléka je ve skutečnosti alergickou reakcí. Kravské mléko je významným zdrojem alergenů hlavně pro kojence a malé děti. Souvisí to s nezralostí jejich imunitního systému, trávicího traktu a střevní mikroflóry. U malých dětí se častěji jedná o alergickou (imunologickou) reakci, která se může projevit už do tří měsíců věku dítěte a kolem 3 let u mnoha dětí vymizí. U dětí se projevuje zvracením, průjmy a kožními problémy (dermatitida, kopřivka atd.). Naopak u dospělých je častější intolerance způsobená enzymovou nedostatečností (neimunologická reakce, neschopnost strávit mléko).<sup>1,3,4,27</sup>

Kravské mléko je přírodou určené pro výživu telat. V neupravené podobě odpovídá potřebám růstu a zdravého vývoje hovězího dobytka, ne lidí. Telata zdvojnásobí svoji váhu už během několika týdnů, naopak děti až za několik měsíců. Lze usuzovat, že možná proto je v kravském mléce třikrát více bílkovin než v mateřském mléce.<sup>1</sup>

Kravské mléko obsahuje celou řadu proteinů, přičemž 80 % celkového proteinu tvoří kaseiny a 20 % proteiny syrovátky. Kaseiny tvoří majoritní složku celkového proteinu, přesto jsou pro člověka hůře stravitelné. Kaseiny jsou fosfoproteiny, které se ze

syrového odstředěného mléka vysrážejí po okyselení na pH 4,6 při teplotě 20 °C. Proteiny syrovátky zůstávají po vysrážení kaseinu v séru. Kaseiny jsou mnohem odolnější než bílkoviny syrovátky, a to jak z hlediska trávení, tak i tepelné úpravy.<sup>1,4</sup>

Syrovátka kravského mléka je tvořena z větší části  $\alpha$ -laktoalbuminem, z menší části  $\beta$ -laktoglobulinem a BSA. Agresivní syrovátkový globulin je schopný při zvýšené konzumaci vyvolávat u člověka alergickou odpověď, prochází až do mateřského mléka a není lidskému mléčnému globulinu příliš podobný.<sup>1</sup>

Hlavními alergeny kravského mléka jsou kaseiny (Bos d 8) a  $\beta$ -laktoglobulin (Bos d 5). K minoritním alergenům patří  $\alpha$ -laktalbumin (Bos d 4) a BSA (Bos d 6). Ostatní složky mléka jsou alergenní jen podružně. Patří sem hovězí imunoglobuliny,  $\beta_2$ -mikroglobulin, transferrin, laktoferrin, laktoperoxidázy, alkalická fosfatáza a kataláza.<sup>4,14</sup>

Kravské mléko může u alergiků vyvolat akutní alergickou reakci, atopický ekzém, chronické střevní záněty a fatální anafylaktickou reakci.<sup>2</sup>

## 2.10.2. Alergeny vajec

Alergie na vejce kura domácího patří celosvětově mezi nejrozšířenější alergie. Alergií na vaječný bílek trpí přibližně 1 % populace ve střední Evropě. U dětí je pravděpodobnost výskytu ještě vyšší. V některých případech u malých dětí může alergie na vajíčka přeskocit na alergii kravského mléka. Slepíčí vejce jsou více alergenní než například vejce kachní.<sup>1,4</sup>

Vejce je tvořeno z 56 – 61 % bílkem a z 27 – 32 % žloutkem. Bílek obsahuje zhruba 10 % bílkovin, zbytek je voda a zanedbatelné množství tuků. Naopak žloutek se skládá až z 34 % tuků, 50 % vody a 16 % bílkovin. Fenomémem dnešní doby je cholesterol. Denní spotřeba cholesterolu je právě obsažena v jednom vajíčku. Na druhou stranu vajíčko je i důležitým zdrojem vitamínů (A, E, B<sub>2</sub> a B<sub>12</sub>), železa a lecitinu. Lecitin má za úkol snižovat hladinu cholesterolu v krvi. Bílek je více alergenní než žloutek.<sup>1,4</sup>

Hlavními alergeny bílku jsou ovomukoid (Gal d 1), ovalbumin (Gal d 2), ovotransferin (Gal d 3) a minoritními alergenami jsou lysozym (Gal d 4) a ovomucin (Gal d ovomucin). Hlavním alergenem žloutku je apovitelin (Gal d Apo) a minoritními alergeny jsou fosvitin (Gal d Phosvitin) a livetin (Gal d 5).<sup>1,4,14</sup>

U jedinců citlivých na vaječný bílek mohou alergickou reakci vyvolat i některé očkovací látky, k jejichž výrobě byla použita kuřecí embria. Jedná se například o vakcíny proti chřipce nebo proti virové encefalitidě. Nejdůležitější alergeny bílku mohou vyvolávat zkříženou reakci mezi jednotlivými drůbežími vejci (slepičí, kachní, husí nebo křepelčí). Takže u alergie na slepičí vejce nelze konzumovat vejce jiné drůbeže.<sup>1,3</sup>

Nejdůležitější alergeny žloutku mohou vyvolávat onemocnění s názvem syndrom „pták – vejce“, který se může projevovat u lidí citlivých na ptačí peří. Ptačí sérum, žloutky i peří obsahují stejné bílkoviny. Tento syndrom byl popsán u dětí, které žijí na venkově, ale i ve městě. Zdrojem alergenů ve městě mohou být kanáři, andulky či peří v lůžkovinách. Kurníky a holubníky mohou být zdrojem alergenů pro děti žijící na venkově. Tento syndrom je však nejrozšířenější u profesionálů (profesní astma), kteří pracují v drůbežárnách nebo laboratořích.<sup>1,3</sup>

Vajíčko je považováno za nenahraditelnou potravinu při přípravě pokrmů, zejména při pečení moučných nebo masových těst. Vejce se dá nahradit práškem do pečiva (1 sáček odpovídá 1 – 2 vajíčkům), droždím, želatinou (1 sáček nahradí až 3 vejce) nebo bramborovým škrobem.<sup>1</sup>

### **2.10.3. Alergeny ryb, korýšů a měkkýšů**

V České republice byl tento typ alergie omezen na úzkou skupinu lidí citlivých na sladkovodní ryby. Jednalo se o kapry, pstruhy, úhoře, štiky, candáty, okouny atd. Koncem 20. století se do České republiky začaly dovážet levnější produkty z moře (filé – lisované kousky masa z tresky, olejovky, slanečci a zavináče, uzené ryby, konzervované rybí maso a další). V posledním desetiletí se začaly importovat langusty, humři, ústřice, krevety, chobotnice a nejrůznější podoby lososa. V důsledku tohoto importu do České republiky dochází k rychlému růstu alergických reakcí po požití mořských živočichů.<sup>1</sup>

U České republiky je okolo 0,5 % alergiků na mořské živočichy, zatímco v přímořských státech (Itálie, Španělsko, Severské země nebo Japonsko) postihuje tento typ alergie okolo 2 % tamní populace.<sup>1</sup>

Důležitými alergeny ryb jsou například  $\beta$ -parvalbumin (Thu a 1) v tuňákoví,  $\beta$ -parvalbumin (Gad c 1) v tresce a  $\beta$ -parvalbumin 1 (Sal s 1) v lososovi. Patří do skupiny proteinů svaloviny známých jako parvalbuminy. Svou podstatou jde o panalergeny. Parvalbumin se nevyskytuje u měkkýšů, korýšů, ale ani u vyšších obratlovců. Jedná se

o bílkovinu, která reguluje vstup vápníku do buňky i jeho výstup. Jedná se o velmi odolný protein vůči tepelnému zpracování i vůči trávicím enzymům. Tento protein může vyvolat i anafylaxi. Alergickou reakci může vyvolat i olíznutí známky či nálepky ještě před nalepením, protože klasické lepidlo používané k těmto účelům se vyrábí z rybích kostí.<sup>1,3,4,14</sup>

Hlavní alergen koryšů a měkkýšů je tropomyosin. U kraba je tropomyosin označován kódem Chaf f 1, u krevet Pen a 1 nebo u humra Hom a 1. Jedná se o panalergen. Tento protein je obsažen ve svalové tkáni, kde se účastní stahu svalové tkáně. U nesvalových tkání rozhoduje o tvaru buněk. V méně častých případech se jedná o alergii izolovanou na jeden druh měkkýšů nebo koryšů. Mnohem častěji se vyskytuje zkřížená alergie s tropomyosiny roztočů. U člověka s alergickou rýmou citlivého na roztoče se při konzumaci koryšů může objevit alergická reakce.<sup>1,4,14</sup>

#### **2.10.4. Alergeny masa a masných výrobků**

Alergie na maso je velmi vzácná, a pokud se vyskytne, způsobí ji zejména vepřové maso. Za dominantní alergeny v mase jsou považovány sérový albumin,  $\gamma$ -globulin, aktin, IgG a jiné proteiny. Účinnost těchto alergenů se dá snížit tepelným zpracováním, homogenizací a mražením. Hovězí sérový albumin byl inaktivován po deseti minutách tepelné úpravy mletého masa při 80 °C a  $\gamma$ -globulin byl inaktivován již po třech minutách.<sup>6,28</sup>

Alergie na hovězí maso je způsobena BSA v potravíně. Tato reakce byla pozorována spíše u dospělých lidí. U dětí je tato reakce vzácná, spíše se jedná o zkříženou reakci s mlékem nebo vejci. Další zkřížené alergie mohou být způsobeny reakcí na srst zvířat, zbytky kůže nebo prach ze srsti. Byly prokázány i některé zkřížené alergie na různé druhy masa a masných výrobků. Spouštěcími impulzy alergické reakce mohou být i cizorodé látky, které jsou obsaženy v mase v různých koncentracích (např. penicilin nebo streptomycin).<sup>6,28</sup>

Příčinou alergie nebo intolerance u masných výrobků mohou být i různé druhy koření, aditiva potravin, zbytky léčiv, zůstatek chemických látek používaných k ochraně nebo konzervaci krmiv. U lidí se velmi často vyskytuje reakce na přídatné látky v potravinách ze skupiny barviv, konzervačních látek nebo antioxidantů. Tyto látky mohou způsobovat bolesti hlavy, břicha, ekzém a neklid.<sup>2</sup>

## 2.11. Alergeny potravin rostlinného původu

Alergická reakce na potraviny rostlinného původu se nejčastěji projevuje u starších dětí a dospělých. Rostlinné alergenní potraviny se liší mezi jednotlivými státy, kvůli místním stravovacím návykům a pylové expozici. Mezi celosvětově nejrizikovější potraviny rostlinného původu patří ořechy a sója. Ořechy, zejména arašídy, mohou vyvolávat život ohrožující anafylaktický šok. Významnými alergeny jsou také ovoce a zeleniny, které alergologové dělí do jednotlivých botanických čeledí. Tento způsob řazení je důležitý kvůli zkříženým reakcím příbuzných druhů. Alergenicitu většiny rostlinných potravin lze snížit tepelnými úpravami, protože tyto alergeny jsou termolabilní. Alergeny burských oříšků jsou termostabilní, tj. jejich alergenicitu nelze snížit tepelnými úpravami.<sup>1,7,29</sup>

### 2.11.1. Alergeny sóji

Sója z výživového hlediska patří mezi nejvýznamnější potraviny, ale zároveň patří mezi pět nejvýznamnějších potravinových alergenů.<sup>7</sup> Alergie na sóju je nejrozšířenější v Asii, protože více než 50 % potravinářských výrobků z této oblasti je vyráběno právě z této potraviny.<sup>21</sup> Sója v sušině obsahuje okolo 38 % bílkovin, 30 % sacharidů, 20 % tuků a 10 % vlákniny. Tato potravina je zdrojem cenných aminokyselin, nenasycených tuků, ale zároveň má nízký obsah vápníku, fosforu, zinku a zcela postrádá vitamín C a B<sub>12</sub>. Sója je v současné době velmi populární potravinou mezi vegetariány, ale nikdy absolutně nenahradí proteiny živočišného původu.<sup>1</sup>

Hlavními bílkovinami sóji jsou globuliny, které se dají rozdělit ultraodstředěním na různé frakce, které slouží ke klasifikaci složek sójového proteinu. Hlavním alergenem je sójový hydrofobní protein (Gly m 1). Minoritním alergenem je profilin (Gly m 3), který může způsobovat zkříženou reakci s profilinem břízy (Bet v 2).<sup>1,4,14</sup>

Alergeny obsažené v sóji mohou vyvolávat těžkou až fatální anafylaktickou reakci. Nejčastěji se to stává po požití potravin, ve kterých se sója běžně nevyskytuje (masné výrobky, pizza, kořenící směsi nebo rybí konzervy).<sup>1,2</sup>



## 2.11.2. Alergeny ořechů

Ořechy jsou významným zdrojem nenasycených mastných kyselin, které tvoří více než 50 % váhového množství ořechů a jsou bohaté na tokoferoly (vitamín E). Negativní vlastností ořechů je proces rychlého žluknutí (oxidace) a vysoká alergenita ořechových bílkovin. Alergie na ořechy se vyskytuje minimálně u 1 % světové populace. Nejrozšířenější alergie na arašídy je v Severní Americe. Souvisí to s tamními výživovými zvyklostmi. U nás je hlavně rozšířená alergie na lískové oříšky.<sup>1,6</sup>

Ořechy jsou velmi často klasifikovány do tří hlavních skupin<sup>1</sup>:

- Arašídy (burské ořechy)
- Stromové ořechy
- Nepravé ořechy

### 2.11.2.1. Arašídy

Arašídy jsou semena podzemnice olejné, která patří do čeledi bobovitých (*Leguminosae*). Alergie na burské ořechy u většiny alergiků přetrvává po celý život. Tento typ alergie je nejvíce rozšířený v USA a v Evropě, protože v těchto oblastech se konzumují pražené arašídy. Při pražení arašídů dochází ke zvyšování obsahu alergenů.<sup>1,2</sup>

Mezi proteiny podzemnice olejné jsou řazeny albuminy (rozpustné ve vodě) a globuliny (rozpustné v solném roztoku). V arašídech bylo popsáno zhruba deset bílkovin, které mohou vyvolat alergickou reakci. Nejdůležitější jsou vicilin (Ara h 1) – konglutin (Ara h 7). U všech těchto alergenů jsou známé i zkřížené reakce. Zkřížená alergie burských ořechů může být vyvolána alergií na ostatní luštěniny (sója, čočka a další), stromové ořechy, hořčičná semínka, sezamové oříšky i alergií na různé obiloviny.<sup>1,4,14</sup>

Alergie na arašídy může vyvolat průduškové onemocnění nebo atopický ekzém. Arašídy mohou vyvolat u citlivých osob i anafylaktický šok díky velmi nízké prahové dávce alergenů.<sup>2</sup>

### 2.11.2.2. Stromové ořechy

Tato skupina je složená z různých čeledí z různých klimatických pásem. Mezi stromové ořechy patří vlašské ořechy, pekan, lískové ořechy, para ořechy, kešu, pistácie a mandle. S touto skupinou ořechů se lze setkat v běžných potravinách (pekárenské a cukrářské výrobky, zmrzlina, čokolády, sušenky všech druhů, dressingy, ochucené nápoje a likéry. Alergik na ořechy by měl být opatrný i při výběru kosmetiky a při chovu domácích mazlíčků.<sup>1</sup>

Alergie na lískové ořechy je nejčastěji pozorována u jedinců citlivých na pyly stromů. Hlavní alergeny lískových ořechů jsou pathogenesis-related protein (Cor a 1) a profilin (Cor a 2). Typickou českou alergií je alergie na lískové a vlašské ořechy.<sup>1,4,14</sup>

Para ořechy jsou řazeny do čeledi hrníčkovitých a ve světě jsou označovány jako brazilské ořechy. Důležitými alergeny para ořechů jsou 2S albumin (Ber e 1) a legumin (Ber e 2). Pistácie patří do čeledi ledviníkovitých a bylo v nich popsáno pět alergenů. Jedná se o 2S albumin (Pis v 1) – 11S globulin (Pis v 5). Používají se při výrobě italského salámu mortadella a ze všech ořechů mají největší obsah aflatoxinů.<sup>1,4,14</sup>

Zkřížené alergie mezi jednotlivými druhy stromových ořechů se vyskytuje poměrně často. Velmi často jsou pozorovány kombinace alergií této skupiny ořechů s alergií na burské oříšky nebo alergií na pyly stromů.<sup>1,2</sup>

### 2.11.2.3. Nepravé ořechy

Tato skupina nemá nic společného s ořechy z předchozích dvou skupin, proto se nevyskytuje ani společná zkřížená alergie. Do této kategorie patří kokosový ořech, muškátový oříšek a piniové oříšky. Velmi často je sem řazen i jedlý kaštan, u kterého se vyskytuje zkřížená alergie s alergií na latex. Potravinové alergeny kaštanu jedlého jsou Cas s 5, Cas s 8 a Cas s 9.<sup>1,14</sup>

### 2.11.3. Alergeny obilovin

Mezi nejběžnější obiloviny se řadí pšenice, žito, ječmen, oves, rýže a kukuřice. Obsah bílkovin v obilovinách je zhruba 15 – 17 %. Hlavním obilným a zároveň moučným proteinem je lepek (gluten). Gluten lze rozdělit na dvě složky: gliadin a glutenin. Gliadin byl nejlépe popsán u pšenice, u žita (sekalin), u ječmene (hordein) a u ovsa (avenin). Tyto proteiny se řadí do skupiny prolaminů a jsou zodpovědné za onemocnění zvané celiakie. V pšenici se pak vyskytuje i glutenin, v kukuřici zein a v rýži oryzenin. Tyto bílkoviny patří do skupiny prolamin – glutelinů. Všechny výše uvedené bílkoviny jsou zároveň alergen obilovin.<sup>1</sup>

Alergie na mouku je alergie na různé proteiny, které se vyskytují v obilné mouce (ne pouze na lepek). Alergie na mouku se klasifikuje od 4 skupin:

- Typ A – alergie na lepek zprostředkovaná protilátkami izotopu IgE, tj. atopická přecitlivělost.
- Typ B – alergie na lepek zprostředkovaná bílými krvinkami, tj. neatopická přecitlivělost.
- Typ C – alergie na jiné bílkoviny mouky (ne lepek) přes izotop IgE, tj. atopická přecitlivělost.
- Typ D – alergie na jiné bílkoviny mouky (ne lepek) přes lymfocyty, tj. neatopická přecitlivělost.<sup>1</sup>

Pšenice a žito obsahují nejvýznamnější alergen obilovin. Alergie na pšeničnou mouku může u alergiků způsobovat OAS, střevní potíže (často zaměňované s celiakií), astmatické záchvaty, atopickou dermatitidu nebo ekzém. Profesionální alergie na mouku (respirační alergie) je nemoc, která je označována jako pekařské astma. Vzniká v důsledku inhalace moučného prachu. Tuto alergii vyvolávají inhibitory  $\alpha$ -amylázy, pšeničné gliadiny, LTP, inhibitory proteázy serinu a thioredoxin.<sup>1,7,30</sup>

## 2.11.4. Alergeny ovoce

V České republice je stále velmi oblíbené tradiční české stromové a lesní ovoce (jablka, hrušky, třešně, meruňky, broskve, maliny, jahody a borůvky). V posledních letech se importuje stále více oblíbené exotické ovoce (kiwi, citrusy, melouny, ananasy, manga a jiné). U nás stále ještě převládají alergie na české druhy ovoce, které ve většině případů mohou vyvolávat zkřížené reakce s pyly stromů a keřů, s pyly travin a bylin a se zeleninou. Naopak alergie na exotické ovoce není v naší zeměpisné šířce příliš častá.<sup>1</sup>

### 2.11.4.1. Tradiční české ovoce

Mezi tradiční české ovoce je velmi často řazena čeleď růžovitých, která se skládá ze tří podčeledí:

- jabloňovité – jabloň, hruška, kdoule
- slivoňovité – broskve, meruňka, třešeň, višěň
- růžové – jahoda, malina, ostružina.

Zhruba 50 % jedinců citlivých na nějaké ovoce z čeledi růžovitých je alergická i na jiné ovoce z této čeledi. U těchto pacientů je velmi obvyklá i zkřížená alergie na pyl rostlin z čeledi břízovitých a lískovitých. Tento typ alergií způsobuje ve většině případů OAS. Alergizující bílkoviny tohoto druhu ovoce jsou termolabilní a dají se snadno tepelně odstranit.<sup>1,29</sup>

Nejproblematictějším ovocem z této čeledi jsou jablka. Tento typ alergie je nejběžnější v Evropě. Nejznámějším alergenem je pathogenesis-related protein (Mal d 1). Dalším významným alergizujícím ovocem je broskev, která u citlivých jedinců může vyvolávat OAS až anafylaxi. Mezi důležité alergeny broskve patří pathogenesis-related protein (Pru p 1), thaumatin-like protein (Pru p 2), LTP (Pru p 3) a profilin (Pru p 4).<sup>1,4,14,29</sup>

Známým alergenem jsou i jahody. U některých jedinců se po konzumaci jahod může vyvinout kopřivka, ale ve většině případů se nejedná o pravou alergii. Souvisí to s požitím většího množství jahod.<sup>6</sup>

#### **2.11.4.2. Kiwi**

Významným a velmi mladým alergenem je kiwi. V 1981 byla poprvé v Evropě popsána alergie na kiwi a od té doby se alergie na toto ovoce zdvojnásobila. V současnosti se kiwi řadí mezi deset nejvýznamnějších alergenů v Evropě.<sup>1,8</sup>

Nejznámějším alergen je actinidin (Act d 1), který může vyvolávat zkříženou reakci s jinými potravinami rostlinného původu (ananas, fíky nebo sója). Kiwi obsahuje i celou řadu dalších alergenních proteinů – thaumatin-like protein (Act d 2), profilin (Act d 9), kiwellin (Act d 5) a další. Nejčastějším příznakem alergie na kiwi je OAS.<sup>1,14</sup>

#### **2.11.4.3. Meloun, ananas, citrusy**

V posledních letech přibývá alergiků na meloun. Tradiční je konzumace vodního melounu, ale dostupné jsou i melouny žluté a zelené. Melouny vykazují zkříženou reakci s ostatními druhy melounů, okurkou, dýní, avokádem, kiwi, banánem a broskví. Melouny mohou příležitostně vyvolávat OAS u jedinců, kteří jsou citliví na pyl ambrosie.<sup>1,4</sup>

Vysoce alergizující bílkovinný enzym bromelain (Ana c 2) se vyskytuje v ananasu. Tento alergen je zodpovědný za zkříženou alergii s enzymy, které se vyskytují v kiwi a sóji. Opatrní by měli být i jedinci, kteří jsou alergičtí na latex.<sup>1,14</sup>

Alergenicitá citrusů (citróny, pomeranče, mandarinky a grapefruity) je velmi nízká, ale i přesto si laická veřejnost myslí pravý opak. Nejedná se o pravou alergii, ale o neimunologický typ přecitlivělosti. Při zvýšené konzumaci citrusů (trpkých a kyselých) může dojít k trávicím obtížím, ke kopřivce a zhoršení ekzémů.<sup>1</sup>

#### **2.11.5. Alergeny zeleniny**

Nejagresivnější zeleninou je syrový celer, protože jeho alergenicitá nevymizí ani po dostatečně dlouhé tepelné úpravě. Mezi nejvýznamnější alergeny celeru patří pathogenesis-related protein (Api g 1) a profilin (Api g 4), které mohou vyvolávat zkříženou alergii s pylem pelyňku a břízy. Zkřížená reakce může být i s petrželí, fenyklem, zeleným pepřem, kmínem a koriandrem. Alergie na celer u citlivých jedinců může vyvolat kopřivku na rukách, rýmu, OAS nebo anafylaktický šok.<sup>1,4,6,14</sup>

Významným alergenem jsou také brambory. Tato alergie se běžně nevyskytuje. Mezi důležité alergeny brambor patří patatin (Solat t 1) až inhibitor proteázy serinu (Solat t 4). Tyto bílkoviny jsou termolabilní, po tepelné úpravě nevyvolávají u alergiků alergickou reakci. Projevy alergie se vyskytují pouze při zpracování syrových brambor, tj. při škrábání, loupání nebo strouhání. Surové brambory u citlivých jedinců vyvolávají kýchání, dušnost, slzení nebo kopřivku na rukách.<sup>1,4,6,14</sup>

Jako potenciální alergen je třeba zmínit i rajčata. Mezi alergeny rajčat patří profilin (Lyc e 1),  $\beta$ -fruktofuranosidáza (Lyc e 2), LTP 2 (Lyc e 3) a pathogenesis-related protein (Lyc e 4). Tepelnou úpravou a konzervací se alergeny rajčat pouze částečně inaktivují. Studená úprava (konzervace, mražení nebo sušení) alergeny neničí. Rajčata mohou vyvolávat zkříženou reakci s travinami a obilovinami.<sup>1,4,14</sup>

## 2.12. Metody detekce potravinových alergenů

Podle legislativy Evropské unie a České republiky musí být na obalech potravin označeno dvanáct nejrizikovějších alergenů. Jedná se o obiloviny obsahující lepek, koryše, vejce, ryby, arašíd, sóju, mléko, suché skořápkové plody, celer, hořčice, sezamová semena, oxid siřičitý a siřičitany. Detekce potravinových alergenů je důležitá pro potravinářské závody, kontrolní činnost příslušných inspekčních orgánů a zejména pro ochranu alergických spotřebitelů. Správné označování potravin může zachránit život citlivého jedince.<sup>1,31,32</sup>

Velkým problémem detekčních metod je citlivost, která závisí na množství příslušného alergenu vyvolávajícího alergickou reakci. Prahové koncentrace alergenů nejsou přesně známé a u každého alergika se mohou lišit. V současné době převažuje názor, že by detekční metody měly být schopny prokázat přítomnost 1 až 100 mg alergenní bílkoviny v 1 kg potravin v závislosti na příslušné potravine.<sup>31</sup>

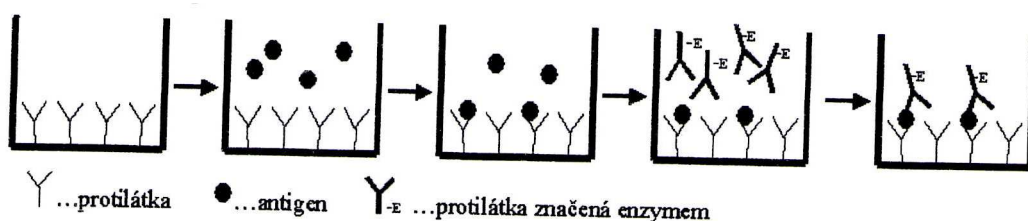
Nejpoužívanějšími metodami pro detekci potravinových alergenů jsou imunochemické metody. Jedná se například o radio-allergosorbent test, enzyme allergosorbent test, raketovou imunoelktroforézu, enzymovou imunoanalýzu nebo imunoblotting. Oblíbenou technikou je polymerázová řetězová reakce, která nepřímo stanovuje alergenní proteiny. Alternativními metodami jsou chromatografické techniky nebo hmotnostní spektrometrie.<sup>31</sup>

## 2.12.1. Enzymová imunoanalýza

Pro enzymovou imunoanalýzu se používá zkratka ELISA z anglického názvu enzyme-linked immunosorbent assay. Jedná se o nejčastěji používanou metodu pro kvantitativní stanovení potravinových alergenů. ELISA soupravy vyrábí celá řada firem. Výhodou je krátká doba analýzy a jednoduchá práce. Tato metoda může poskytovat falešně pozitivní výsledky. Komerčně dostupné soupravy jsou schopné provádět analýzu i více alergenů. Kity pro analýzu více alergenů jsou dostupné, ale zároveň cenově nákladné a výrazně se prodlužuje doba analýzy.<sup>31</sup>

Základní myšlenkou této metody je reakce antigenu s protilátkou, kdy je na antigen nebo protilátku kovalentně vázán vhodný enzym. K detekci potravinových alergenů se používají dva typy ELISA: kompetitivní a sendvičové (nekompetitivní).<sup>33</sup>

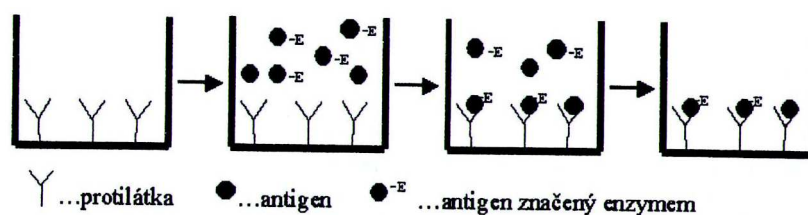
- Sendvičové uspořádání – tento typ metody je častěji využíván pro detekci alergenů. V prvním kroku reaguje protilátka zakotvená na nosiči s antigenem v analyzovaném vzorku. Nechá se ustavit rovnováha a celé se to promyje. Ve druhém kroku se na zachycený antigen váže další protilátka, která je značená enzymem. Zjišťovaná bílkovina je detekována enzymatickou barevnou reakcí a fotometricky se změří intenzita zbarvení, která je úměrná koncentraci sledovaného proteinu. Tato metoda se používá pro stanovení větších peptidů a bílkovin, které mají alespoň dva epitopy. Princip sendvičové ELISY je znázorněný na obrázku 4.<sup>31,34</sup>



**Obrázek 4:** Sendvičová enzymová imunoanalýza<sup>34</sup>

- Kompetitivní uspořádání – tento typ metody se používá pro stanovení relativně malých peptidů. Principem je soutěžení (kompetice) mezi enzymem značeného antigenu s nezačteným antigenem o vazebná místa na protilátkách, které jsou zakotveny na nosiči. Intenzita zbarvení reakce je tím menší, čím větší je množství

neznačeného antigenu ve vzorku. Princip kompetitivní ELISY je znázorněn na obrázku 5.<sup>31,34</sup>



**Obrázek 5:** Kompetitivní enzymová imunoanalýza<sup>34</sup>

ELISA metoda se nejčastěji používá pro stanovení alergenů mléka, vajec, obilovin a ořechů (para, lískové, vlašské nebo burské).<sup>31</sup>

## 2.12.2. Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce se označuje zkratkou PCR z anglického názvu Polymerase Chain Reaction. Tato metoda je založena na biochemické reakci, která využívá enzym DNA-polymerázu ke kopírování DNA, a to takovým způsobem, že se množství výsledného produktu hromadí geometrickou řadou. Nejprve se DNA musí vyextrahovat z potravinové matrice, poté se provede amplifikace DNA ve 25 až 45 cyklech a nakonec se provede specifický důkaz amplifikované DNA.<sup>31,33</sup>

Pro stanovení potravinových alergenů se používají dvě modifikace PCR. Metoda PCR – ELISA se používá pro semikvantitativní analýzu a PCR v reálném čase je využívána pro kvantitativní analýzu. Výběr metody závisí na zkoumané potravíně a na způsobu její výroby.<sup>31</sup>

PCR je vyhledávanou metodou pro svou vysokou přesnost, protože cílovou DNA lze efektivněji vyextrahovat z potravinové matrice než bílkovinu a je stabilnější než protein. Na druhou stranu DNA je citlivá na nízké pH a může být ovlivněna technologickým zpracováním během výroby dané potraviny.<sup>31</sup>

Metody založené na polymerázové řetězové reakci se používají pro detekci alergenů sóji, obilovin, mandlí, burských a lískových ořechů, kravského mléka a celeru. Komerčně dostupné jsou i soupravy pro stanovení více alergenů.<sup>31</sup>



### 2.12.3. Imunoblotting

Jedná se o biochemickou analytickou metodu, při které dochází k separaci a identifikaci proteinů. Principem metody je přenos molekul z pohyblivé fáze v gelu, kde jsou molekuly separovány elektroforézou nebo izoelektrickou fokusací, na vhodný nosič (nitrocelulózová membrána), na kterém je lze identifikovat. Jako pohyblivá fáze se využívá polyakrylamidový nebo agarózový gel. Přenos je umožněn difúzí nebo jednosměrným elektrickým proudem (electroblotting). Molekuly na nitrocelulózové membráně jsou vizualizovány pomocí barevných reakcí nebo reakcí se specifickými protilátkami.<sup>31,33</sup>

Imunoblotting se používá pro přenos molekul DNA, RNA, proteinů a glykoproteinů. Existuje několik modifikací imunoblottingu – Western (detekce bílkovin), Southern (detekce DNA), Northern blotting (detekce RNA) a tzv. Dot blot. Western blotting je velmi často využíván pro stanovení alergenů potravin, jejichž majoritní složkou je sója. Zatímco při stanovení výrobků, jejichž minoritní složkou je sója, musí být vzorek nejprve odučněn a teprve poté se provede detekce Western blottingem. Kdyby vzorek nebyl odučněn poskytovala by tato metoda slabou reakci.<sup>35,36</sup>

Imunoblotting je využíván pro identifikaci nových alergenů (kvalitativní analýza). Mez detekce při kvantitativní analýze je 5 mg/kg potravin. Hlavní nevýhodou imunoblottingu s IgE, který je využíván pro rutinní analýzu potravin, je časově náročný postup a závislost na lidském IgE. Jen v některých případech může být lidský IgE nahrazen zvířecím (králičí, kozí).<sup>31</sup>

### 2.12.4. Raketová imunoelektroforéza

Pro tuto metodu se používá zkratka RIE z anglického názvu rocket immunoelectrophoresis. Vzorek se aplikuje na agarózový nebo agarový gel, který obsahuje specifické protilátky proti zjišťovanému antigenu (proteinu). RIE je kombinací elektroforézy a radiální imunodifúze. Pohyb antigenů je urychlován elektrickým proudem. Antigen vytvoří s protilátkou obrazce, které se podobají raketám, proto dostala metoda tento název. Plocha rakety je úměrná koncentraci antigenu a přibližně odpovídá její výšce. Detekční limit metody je 2,5 – 30 mg/kg potravin. Raketová imunoelektroforéza není široce používaná pro stanovení alergenů v důsledku pracné přípravy gelu.<sup>31,33,37</sup>

## 2.12.5. Vysokoučinná kapalinová chromatografie

Vysokoučinná kapalinová chromatografie je označována zkratkou HPLC z anglického názvu high performance liquid chromatography. Jedná se o separační metodu, která je založena na rozdělování látek mezi dvě nemísitelné fáze. Stacionární fáze se skládá z malých pravidelných částic o stejné velikosti, které homogenně vyplňují kolonu. Tyto částice zajišťují vysokou účinnost této metody. Použitím vysokého tlaku (jednotky až desítky MPa) je zajištěn průtok mobilní fáze (kapalina). Separace látek je ovlivněna náplní kolony a složením mobilní fáze.<sup>38,39</sup>

Mobilní fáze je ze zásobníku vedena přes odplyňovač, čerpadlo až do chromatografické kolony. Velmi malé množství vzorku (mikrolitry) se zavádí do systému přes dávkovací zařízení proti vysokému tlaku uvnitř systému. V koloně dochází k separaci vzorku mezi stacionární a mobilní fází. Ve většině případů je kolona spojena přímo s detektorem, z něhož bývá výstup do sběrače frakcí nebo jímače mobilní fáze. Detektor je spojen s počítačem, který slouží k zaznamenání dat a vyhodnocení chromatogramů.<sup>38,39</sup>

HPLC lze využít k separaci mnoha rozdílných látek (polární, nepolární, málo těkavé, tepelně stabilní nebo vysokomolekulární). Nevýhodou metody jsou relativně velké pořizovací náklady zařízení.<sup>38</sup>

Kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií je velmi žádanou metodou pro strukturální řešení a kvantifikaci alergenů a pro detekci změn alergenních bílkovin po technologickém zpracování potravin. Pomocí této metody byla prokázána silná zkřížená reakce mezi lískovými, vlašskými a pekanovými ořechy a střední zkřížená reakce mezi lískovými ořechy, mandlemi, para ořechy a pistáciemi.<sup>40,41</sup>

## 2.12.6. Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je označována zkratkou MS z anglického názvu mass spectrometry. Nejprve se nadávkuje vzorek, který je ionizován a příslušné ionty získají charakteristický náboj. V analyzátoru dochází k separaci iontů podle poměru  $m/z$  (hmotnost/náboj). Zkoumané ionty jsou detekovány na detektoru a po zpracování signálu lze získat spektrální výstup. MS má vakuový systém, aby se eliminovaly srážky iontů.<sup>34</sup>

Nevýhodou této techniky jsou velké pořizovací náklady zařízení. Velkou výhodou MS je schopnost detekce více nesouvisejících potravinových alergenů v jedné analýze. V praxi se využívá kombinace MS s kapalinovou chromatografií pro jednoznačnou detekci alergenů. Nejčastěji se používají k detekci arašídů a alergenů mléka. Metody využívající hmotnostní spektrometrii se uplatňují tam, kde PCR a ELISA selhávají. MS se zaměřuje přímo na alergen a není ovlivněna zkříženou reakcí jako ELISA. Jedná se o metodu s vysokou specifičností, čímž dochází k vyloučení falešně pozitivních výsledků.<sup>32,41</sup>

### 3. Závěr

Tato bakalářská práce je věnována chemickým alergenům potravin. Problém potravinové přecitlivělosti je v poslední době velmi diskutované téma kvůli neustále zvyšujícímu se počtu osob trpících touto nemocí. Alergie jako taková se řadí mezi civilizační choroby a postihuje jedince každého věku a na všech kontinentech.

Potravinové alergeny jsou nejčastěji glykoproteiny, které vyvolávají u citlivých jedinců alergickou reakci. Mezi nejrizikovější potraviny patří kravské mléko a výrobky z něj, vejce, měkkýši, koryši, ryby, kiwi, sója, arašídy a další. Alergickou reakci mohou také vyvolávat přídatné látky, které se do potravin přidávají za účelem technologické potřeby, zlepšení organoleptických vlastností nebo prodloužení trvanlivosti. Jako příklad lze uvést sulfity, dusičnany a dusitany, antioxidanty, glutamát sodný a další.

Alergická reakce se může projevovat mírnými příznaky (kopřivka, atopická dermatitida nebo orální alergický syndrom), ale při neposkytnutí první pomoci může způsobit i smrt (anafylaktický šok). Na potravinovou alergii neexistuje žádný farmakologický lék, který by zcela zabránil projevům tohoto onemocnění. V dnešní době je vyvinuto mnoho léků, které pouze zmírňují příznaky. Jedinou účinnou léčbou však je eliminace alergenní potraviny z jídelníčku citlivých osob.

Diagnostika potravin, které vyvolávají přecitlivělost, je doslova detektivní práce. Existuje celá řada diagnostických testů, jako jsou například kožní prick testy, krevní vyšetření specifického IgE, otevřené orální expoziční testy nebo provokační test potravinami.

Problematikou alergenních potravin se zabývá mnoho zdravotnických organizací, ale i legislativa Evropské unie a tím pádem i legislativa České republiky. Komise Codex Alimentarius sestavila seznam nejrizikovějších potravin. Jedná se o obiloviny obsahující lepek, koryše, vejce, ryby, burské ořechy, sóju, mléko, suché skořápkové plody, celer, hořčici, sezamová semena a sulfity. Tyto potraviny podle zákona musejí být uvedeny na obalech výrobků, které je obsahují.

Kvůli kontrole, zda výrobek neobsahuje alergenní složky, a kvůli dodržování zákona byly vyvinuty metody pro detekci potravinových alergenů. Nejrozšířenější metodou je ELISA, která slouží pro kvantitativní analýzu. Dále používané techniky jsou například PCR, imunoblotting nebo raketová imuno elektroforéza. Nově se ve velkém začíná používat hmotnostní spektrometrie, která je nejúčinnější v kombinaci s HPLC.

## 4. Seznam použité literatury

1. Fuchs M.: Alergie číhá v jídle a pití, 2. přepracovaní rozšířené vydání, Nakladatelství Adéla, Plzeň, 2007, 267 s.
2. Drápal J., Ettlerová K., Hajšlová J., Hlúbik P., Jechová M., Kozáková M., Malíř F., Ostrý V., Ruprich J., Sosnovcová J., Špelina V., Winklerová D.: Potravinová přecitlivělost: alergie a intolerance, VVP: ALERG/2003/3/deklas, Státní zdravotní ústav, Brno, 2003, 38 s.
3. Špičák V., Hrubíško M.: Alergie: čím více o ní budete vědět, tím méně vás bude trápit, Institut UCB pro alergie, Praha, 2005, 64 s.
4. Kvasničková A.: Alergie z potravin, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 1998, 60 s.
5. Vyhláška MZe č. 113/2005 Sb. o způsobu označování potravin a tabákových výrobků. Sbírka zákonů 2005, částka 37.
6. Bartůňková J.: Potravinové alergie, Vesmír 77, 1998, 612 – 614.
7. Rauchová H., Rauch P.: Alergeny potravin, Chem. listy 91, 1997, 189 – 193.
8. Morris A. J.: Potravinové alergie, UCB Institut pro alergie, Middelfart (Dánsko), 2006, 24 s.
9. Novotná B.: Alergie zažívacího traktu, Interní Med. 11, 2005, 492 – 495.
10. Bystroň J.: Alergie: průvodce alergickými nemocemi pro lékaře a pacienty, 1. vydání, Mirago, Ostrava, 1997, 228 s.
11. <http://www.nobelprize.org/>, staženo dne 19.2.2012.
12. V. Špičák: Alergie – alergologie – alergologové na konci 20. století, Alergie 4, 1999, 183 – 185.
13. Špičák V.: Alergeny, Alergie 1, 2011, 7 – 9.
14. <http://www.allergen.org>, staženo dne 1.5.2012.
15. Fuchs M.: Anafylaxe z potravin, Alergie 3, 2007, 202.
16. Drahoňovská H.: Víme si rady s alergií?, Státní zdravotní ústav, Praha, 1997, 28 s.
17. Fučíková T.: Základy klinické imunologie, Nakladatelství RDI´ PRESS a Agentura KRIGL, Praha, 1994, 148 s.
18. Hischenhuber C. et al.: Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease, Aliment. Pharm. Ther. 23, 2006, 559 – 575.

19. Codex Alimentarius Commission: Report of the 29<sup>th</sup> session of the Codex Commission on nutrition and foods for special dietary uses, Bad Neuenahr-Ahrweiler (Germany), 2007, 88 s.
20. Ettlerová K., Kohout P.: Diagnostické možnosti potravinové alergie a intolerance, *Alergie* 3, 2000, 190 – 196.
21. Fuchs M.: Potravinová alergie, *Practicus* 6, 2008, 30 – 34.
22. Beyer K., Teuber S. S.: Diagnostika potravinové alergie : vědecké i neověřené metody, *Curr. Opin. Allergy Cl. 2*, 2005, 25 – 30.
23. Petru V.: Adrenalin – lék první volby v léčbě anafylaxe, *Alergie* 1, 2009, 39 – 43.
24. [http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/uzei/rozsirena\\_informace\\_o\\_znacen\\_i\\_potr.1.pdf](http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/uzei/rozsirena_informace_o_znacen_i_potr.1.pdf), staženo dne 19.3.2012.
25. Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Sbírka zákonů 1997, částka 38.
26. Směrnice Evropského parlamentu a rady 2000/13/ES o sblížení právních předpisů členských států týkajících se označování potravin, jejich obchodní úpravy a související reklamy, *Úř. věst. L 109*, 6.5.2000, s. 29.
27. Ettlerová K.: Alergie na kravské mléko, *Dermatol. praxi* 3(4), 2009, 178 – 183.
28. Brychta J., Bulavová H., Klímová E.: Alergie na maso a masné výrobky, *Státní veterinární ústav, Jihlava*, 2010, 4 s.
29. Fernández-Rivas M., Benito C., González-Mancebo E., Alonso Díaz de Durana M. D.: Allergies to fruits and vegetables, *Pediatr. Allergy Immu.* 19, 2008, 675 – 691.
30. Pahr S., Constantin C., Mari A., Scheiblhofer S., Thalhamer J., Ebner C., Vrtala S., Mittermann I., Valenta R.: Molecular Characterization of wheat allergens specifically recognized by patients suffering from wheat – induced respiratory allergy, *Clin. Exp. Allergy* 42, 2012, 597 – 609.
31. Poms R. E., Klein C. L., Anklam E.: Methods for allergen analysis in food, *Food Addit. Contam.* 21(1), 2004, 1 – 31.
32. Van Hengel Arjon J.: Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers, *Anal. Bional. Chem.* 389, 2007, 111 – 118.
33. Lochmanová A.: *Základy imunologie*, Ostravská univerzita v Ostravě, 2006, 140 s.
34. Káš J., Kodíček M., Valentová O.: *Laboratorní techniky biochemie*, Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005, 285 s.
35. Lukáš Z., Dráberová E., Feit J., Vojtěšek B.: *Imunohistochemické metody v biologii a v bioptické diagnostice*, Masarykova univerzita Brno, 1997, 147 s.

36. Vavreinová S., Gabrovská D., Rysová J., Hanák P., Prošková A.: Alergeny v potravinách rostlinného původu, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 2009, 18 s.
37. Kopecká K.: Kvantifikace hlavních alergenů a standardizace alergenových extraktů, *Alergie* 3, 1999, 150 – 153.
38. Štulík K.: Analytické separační metody, Nakladatelství Karolinum, Praha, 2004, 264 s.
39. Holzbecher Z., Churáček J.: Analytická chemie, SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha, 1987, 662 s.
40. Ansari P., Stoppacher N., Baumgartner S.: Marker peptide selection for the determination of hazelnut by LC-MS/MS and occurrence in other nuts, *Anal. Bioanal. Chem.* 402, 2012, 2607 – 2615.
41. Costa J., Mafra I., Carrapatoso I., Oliveira M. B. P. P.: Almond Allergens – Molecular Characterization, Detection, and Clinical Relevance, *J. Agric. Food Chem.* 60, 2012, 1337 – 1349.