



1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

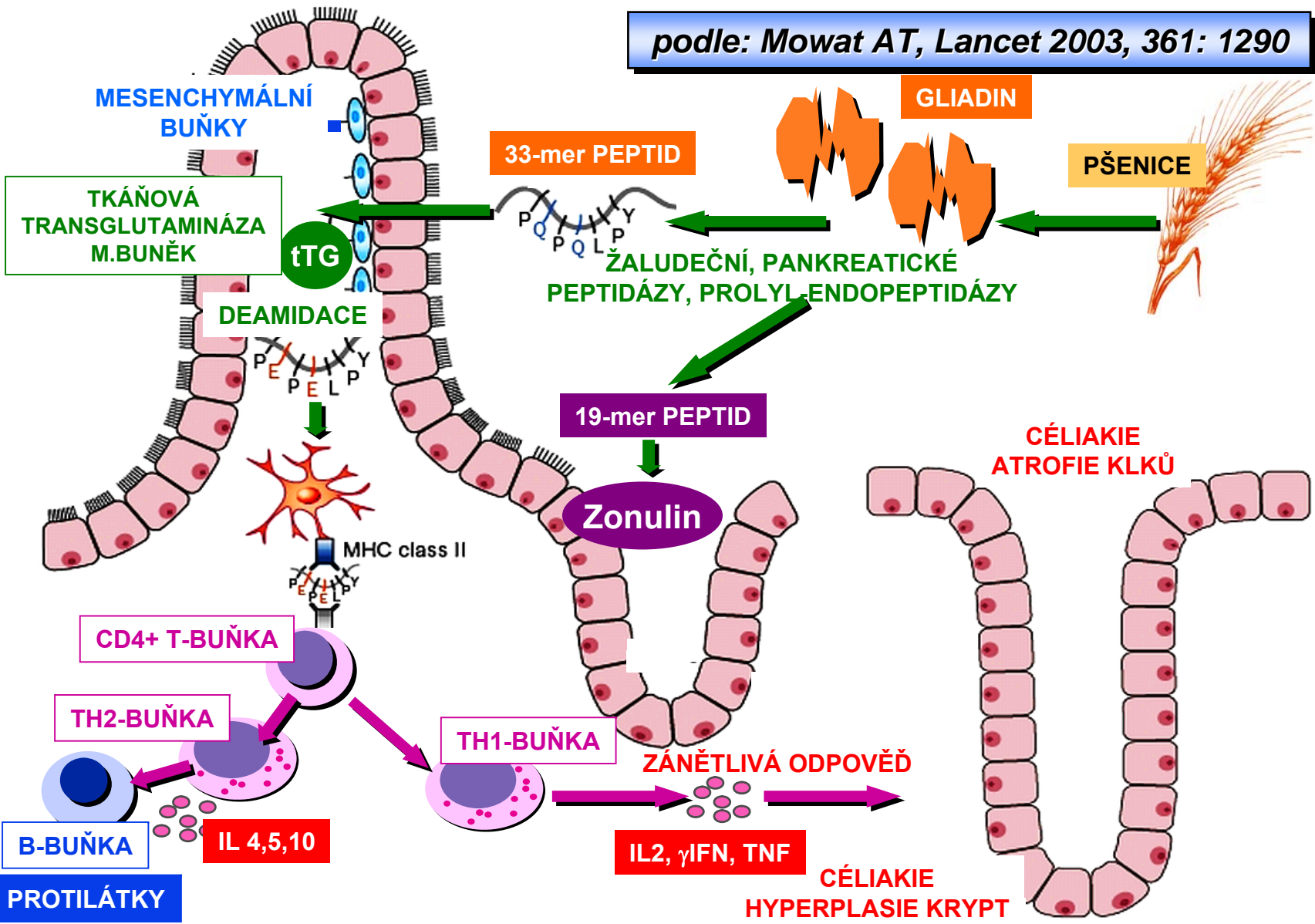


Laboratorní metody pro monitoring celiakie Kocna P.



XXI. celostátní setkání Sdružení celiaků - Emauzy - 4. 9. 2021

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



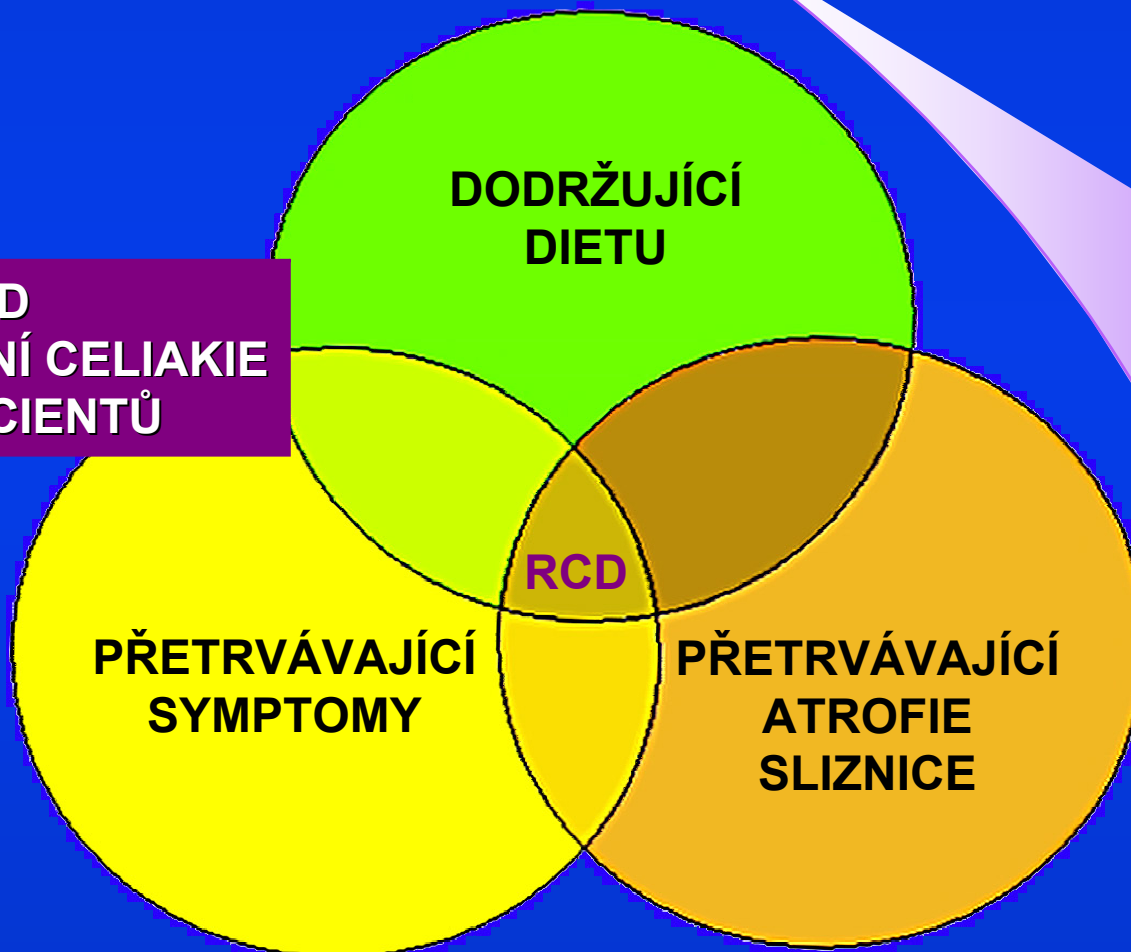


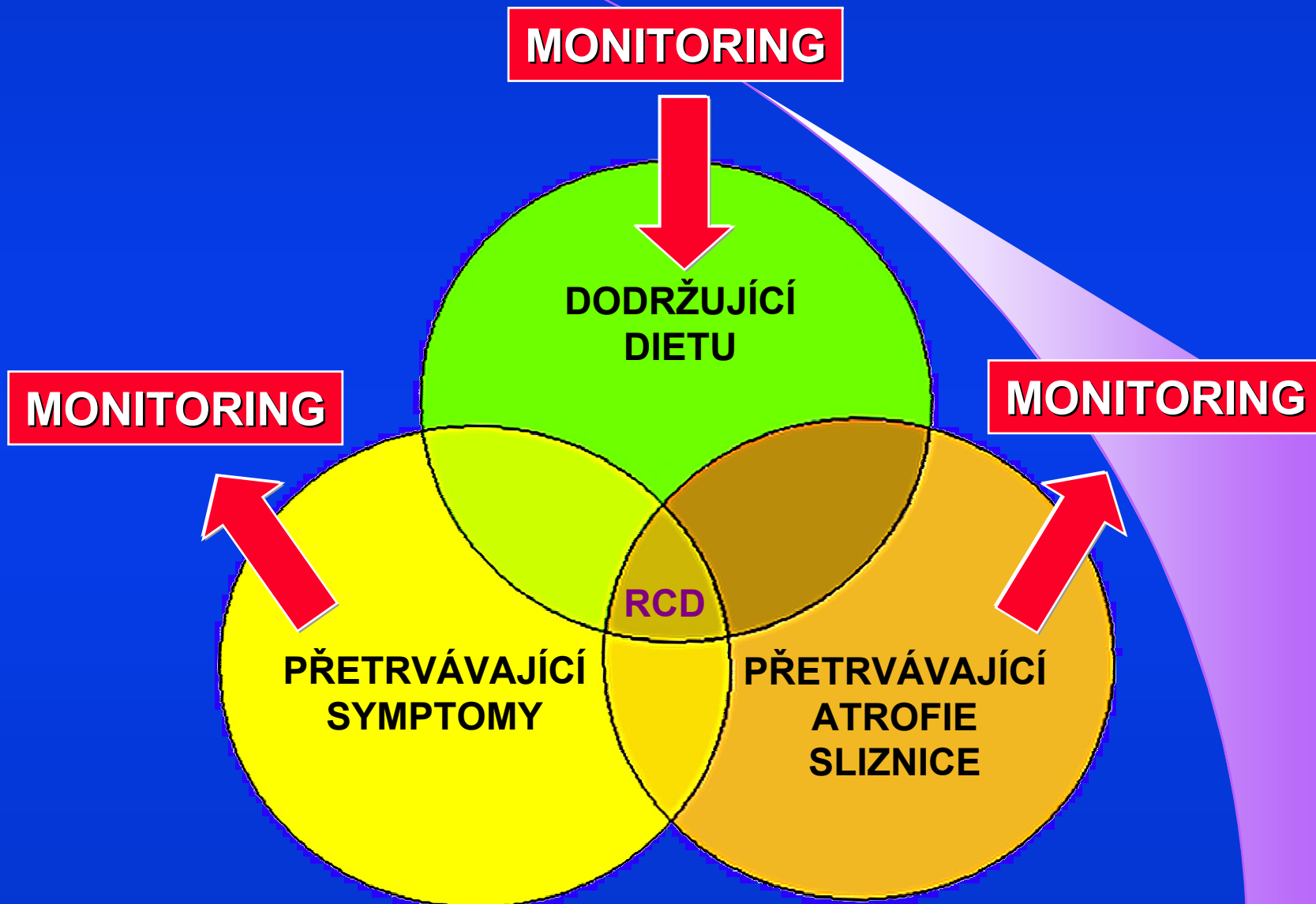
NELÉČENÁ CELIAKIE

**BELZEPKOVÁ
DIETA (GFD)**

CELIAKIE LÉČENÁ

**RCD
REFRAKTERNÍ CELIAKIE
1-2% PACIENTŮ**







DENNÍ PŘÍJEM GLIADINU

Tzv. „bezpečné“ hladiny lepku

Denní příjem < 10 mg

nemá žádný účinek na sliznici tenkého střeva

Denní příjem 100 mg

již způsobuje pozorovatelné změny v histologii

Denní příjem 500 mg

vede k zásadním histologickým změnám

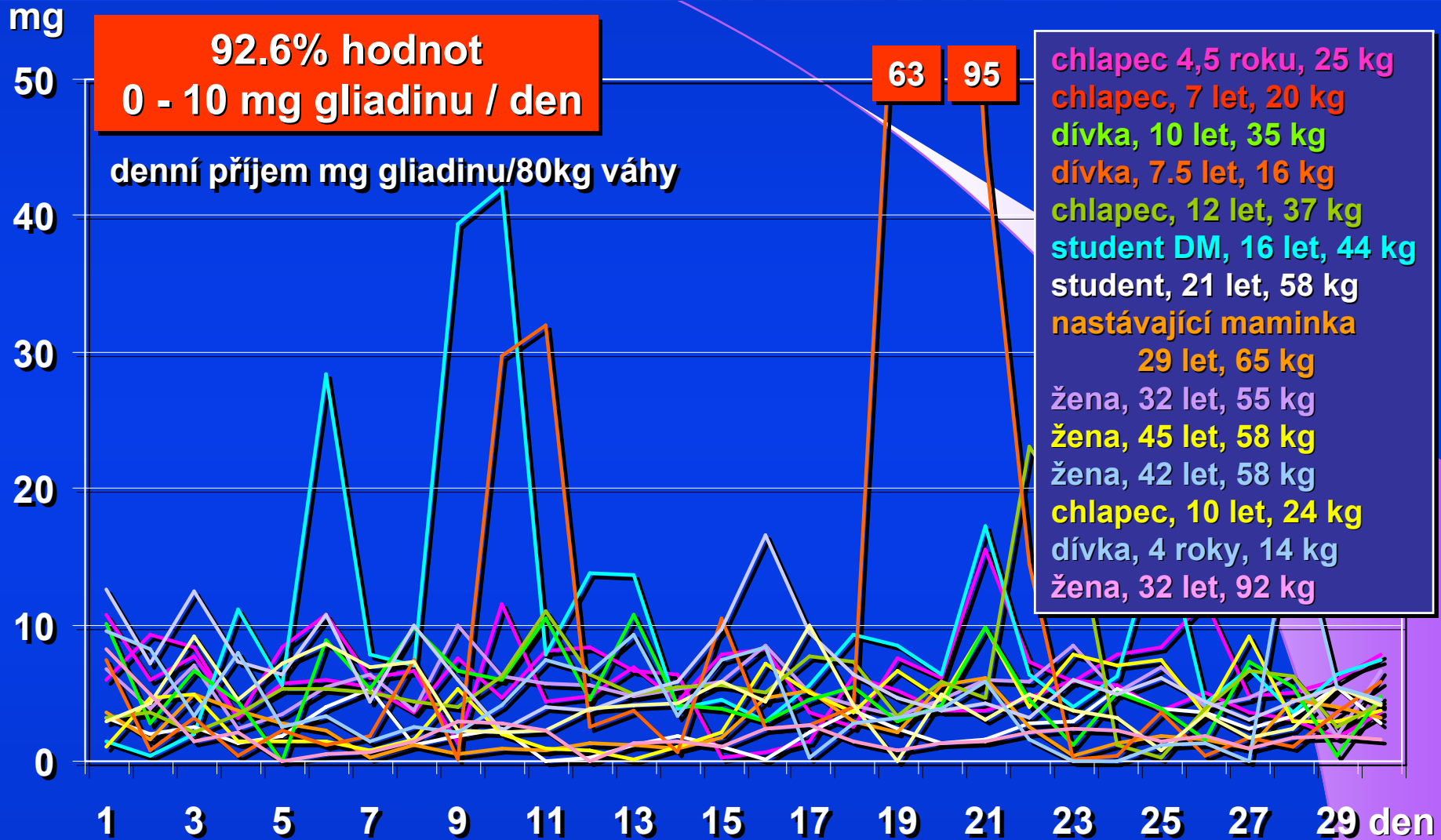
Bezpečný limit

by mohl být nastaven mezi 10 až 100 mg

*European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline
for coeliac disease and other gluten-related disorders.*

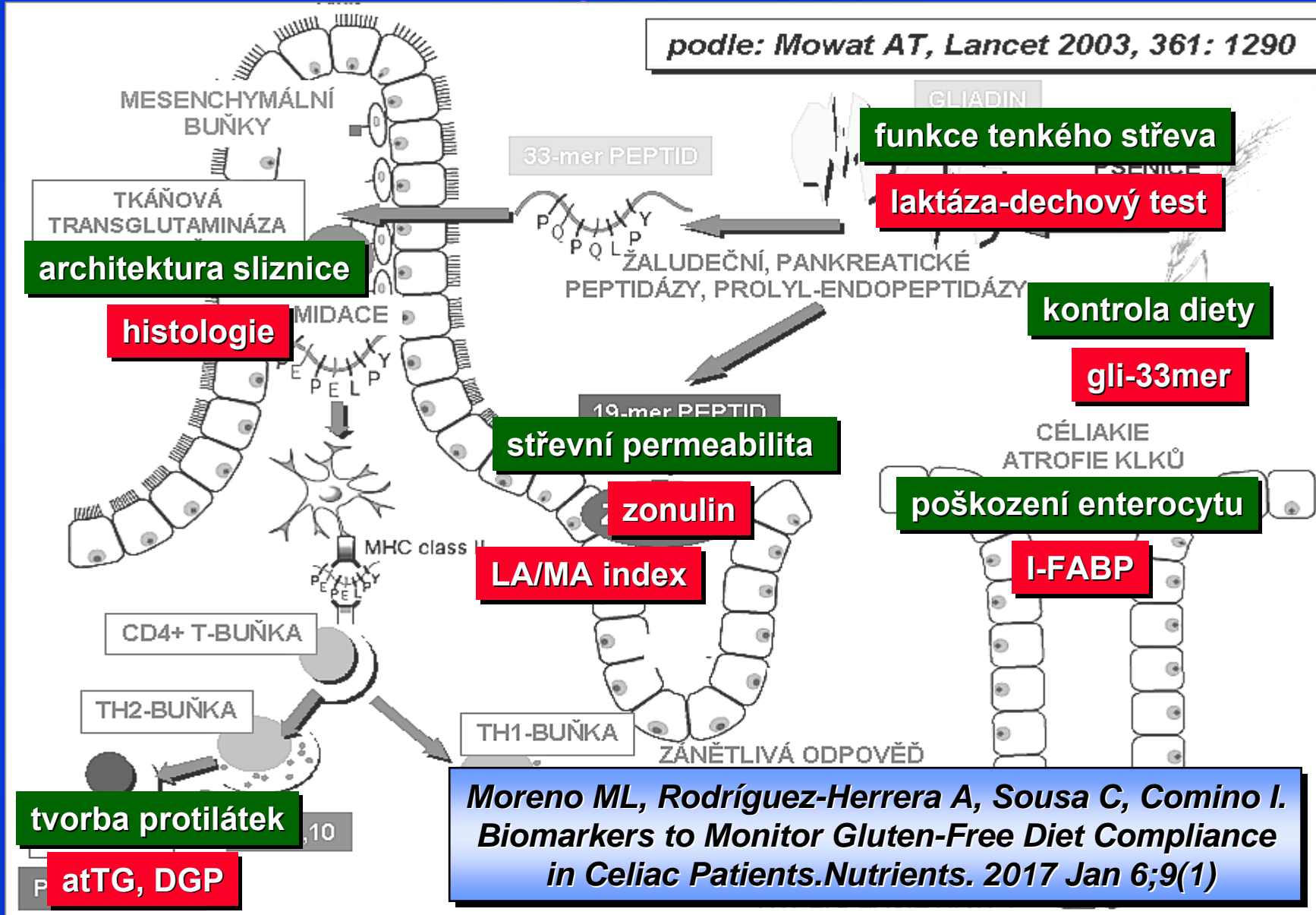
Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, et al.

United European Gastroenterol J. 2019; 7(5):583-613



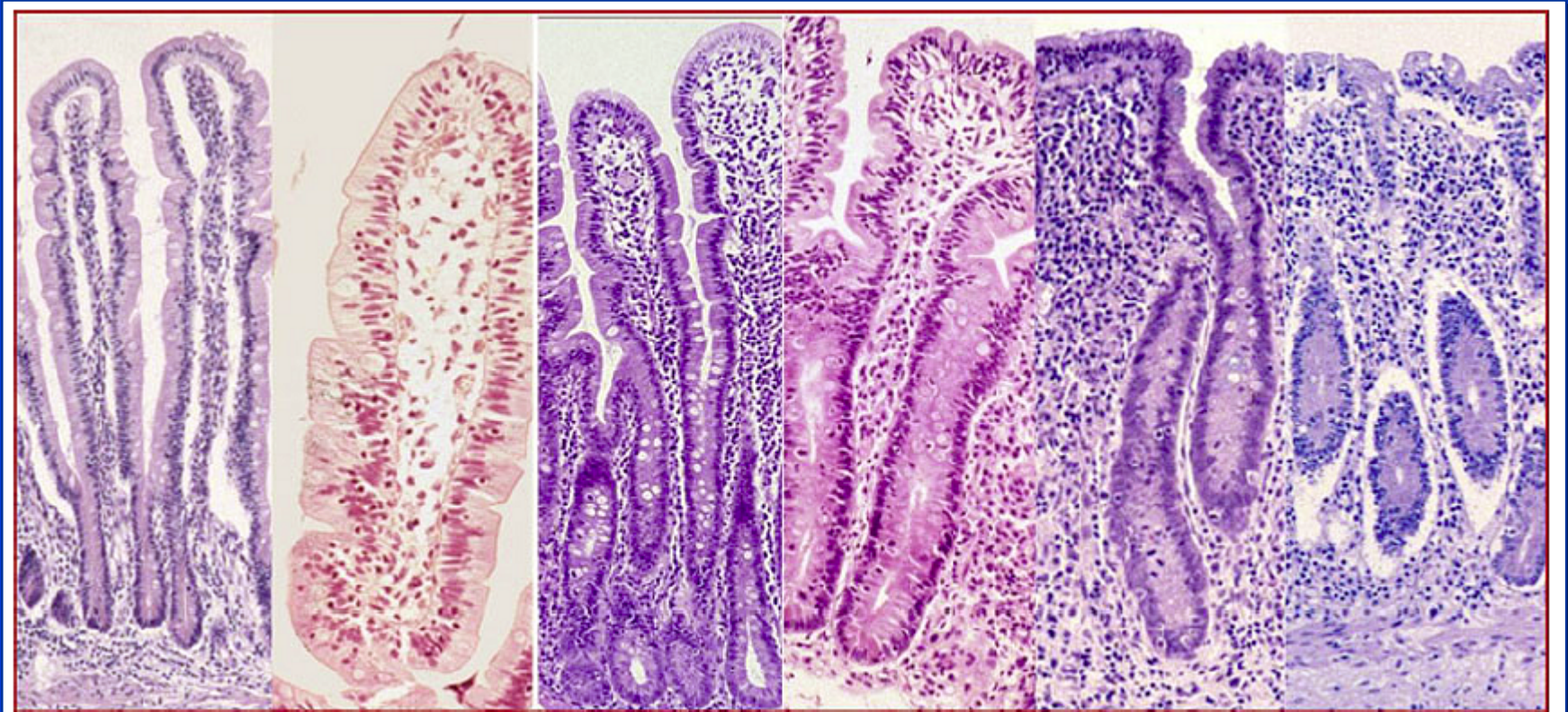
Monitoring of Daily Gliadin Intake in Patients on Gluten-free Diets.
Gabrovská D., Kocna P., et al.: Prague Medical Report 2011, 112 (1): 5 – 17

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



Moreno ML, Rodríguez-Herrera A, Sousa C, Comino I. Biomarkers to Monitor Gluten-Free Diet Compliance in Celiac Patients. *Nutrients*. 2017 Jan 6;9(1)

BIOPSIE TENKÉHO STŘEVA – KLASIFIKACE CELIAKIE



Marsh 0

Marsh 1

Marsh 2

Marsh 3a

Marsh 3b

Marsh 3c

*Clinical practice - Coeliac disease. Kneepkens C. M., von Blomberg B. M.
Eur J Pediatr. 2012; 171(7) : 1011 - 1021*

FUNKČNÍ TESTY TENKÉHO STŘEVA



Hydrogen analyzátor
Lactotest 202

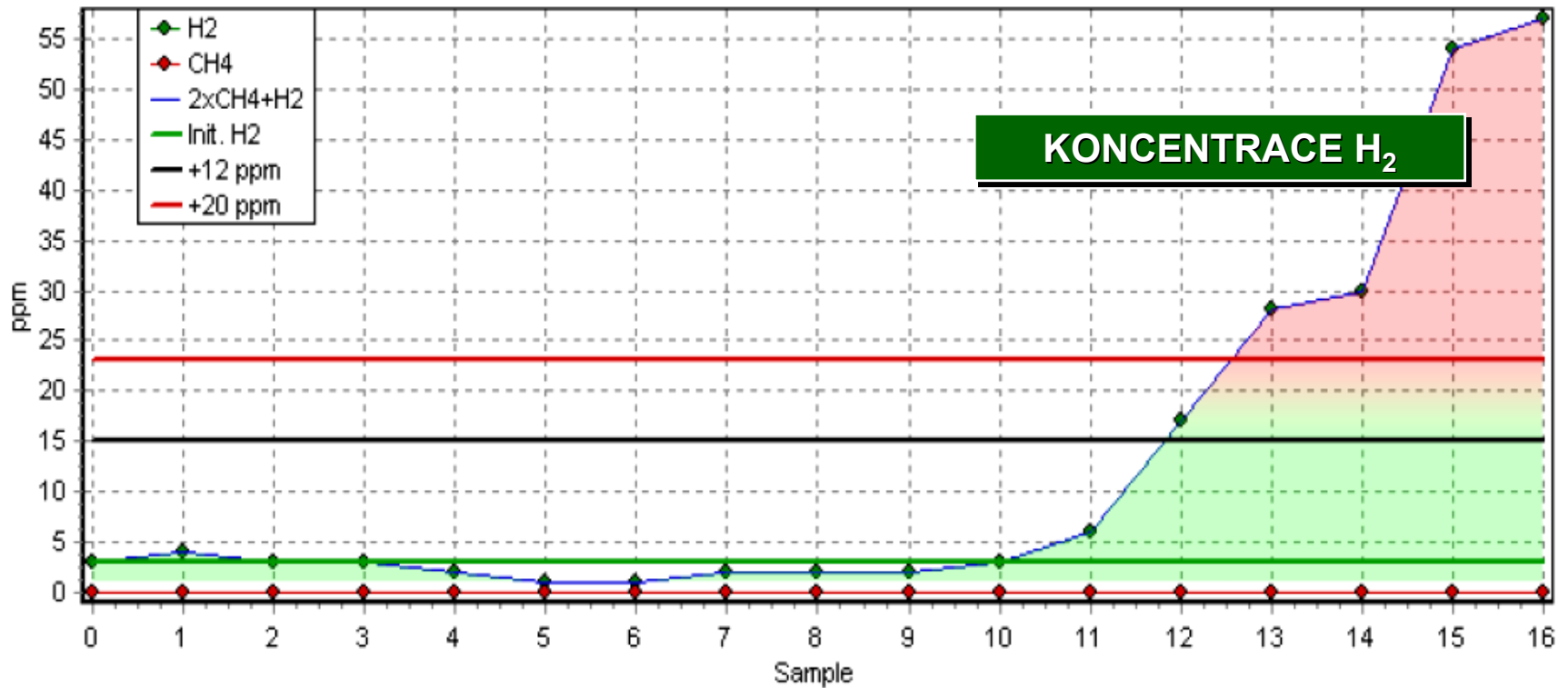
**LAKTÓZOVÝ DECHOVÝ TEST
ZATÍŽENÍ 20g LAKTÓZY
MĚŘENÍ VODÍKU / METANU 5 HODIN
CUT-OFF KRITERIUM 20 ppm
METANOGENNÍ BAKTERIE
PŘEMĚŇUJÍ VODÍK NA METAN
HODNOTIT LZE SOUČET H_2+2CH_4**

Regression of lactose malabsorption in coeliac patients after receiving a gluten-free diet. Ojetti V, Gabrielli M, Migneco A. et al.: Scand J Gastroenterol. 2008;43(2):174-177

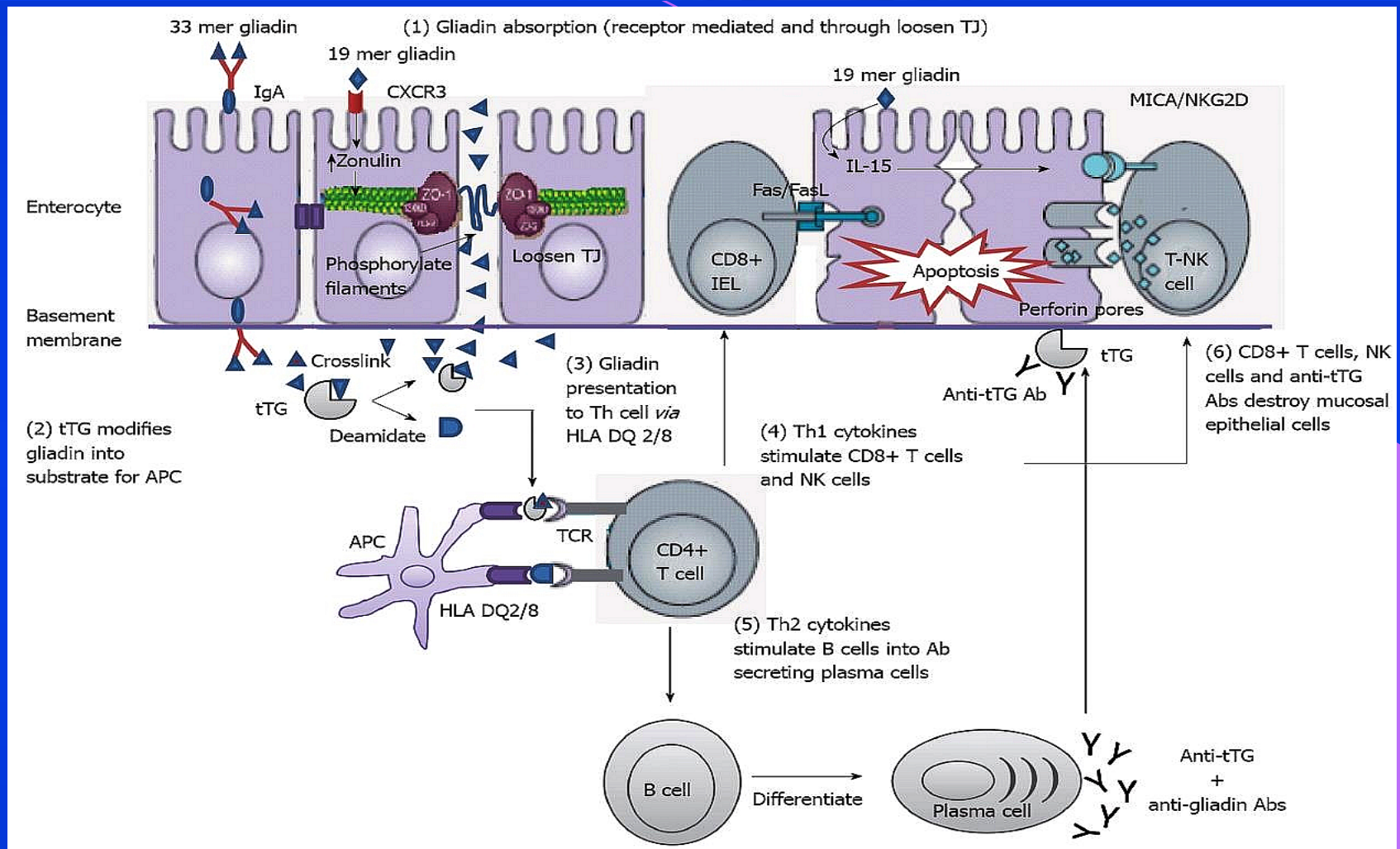


H₂/CH₄/CO₂ - TEST LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE

H₂/CH₄ppm



20 g LAKTÓZY

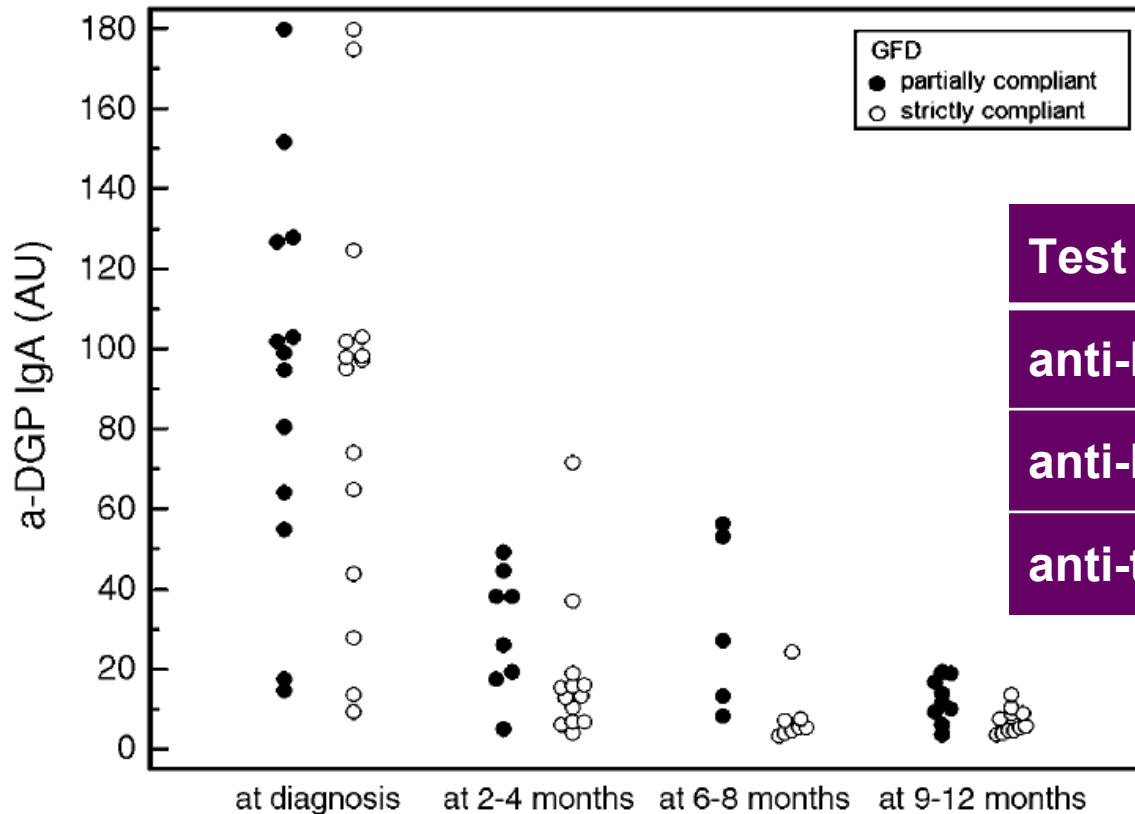


Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment.

Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB.

World J Gastroenterol. 2012 Nov 14;18(42):6036-6059

MONITORING DIETY - anti-DGP IgA PROTILÁTKY



Test	Senzitivita %
anti-DGP IgA	60 (40.7-76.6)
anti-DGP IgA+G	76 (57.6-88.5)
anti-tTG IgA	24 (11.5-43.4)

Use of deamidated gliadin peptide antibodies to monitor diet compliance in childhood celiac disease. Monzani A, Rapa A, Fonio P. et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2011 Jul;53(1):55-60



PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ

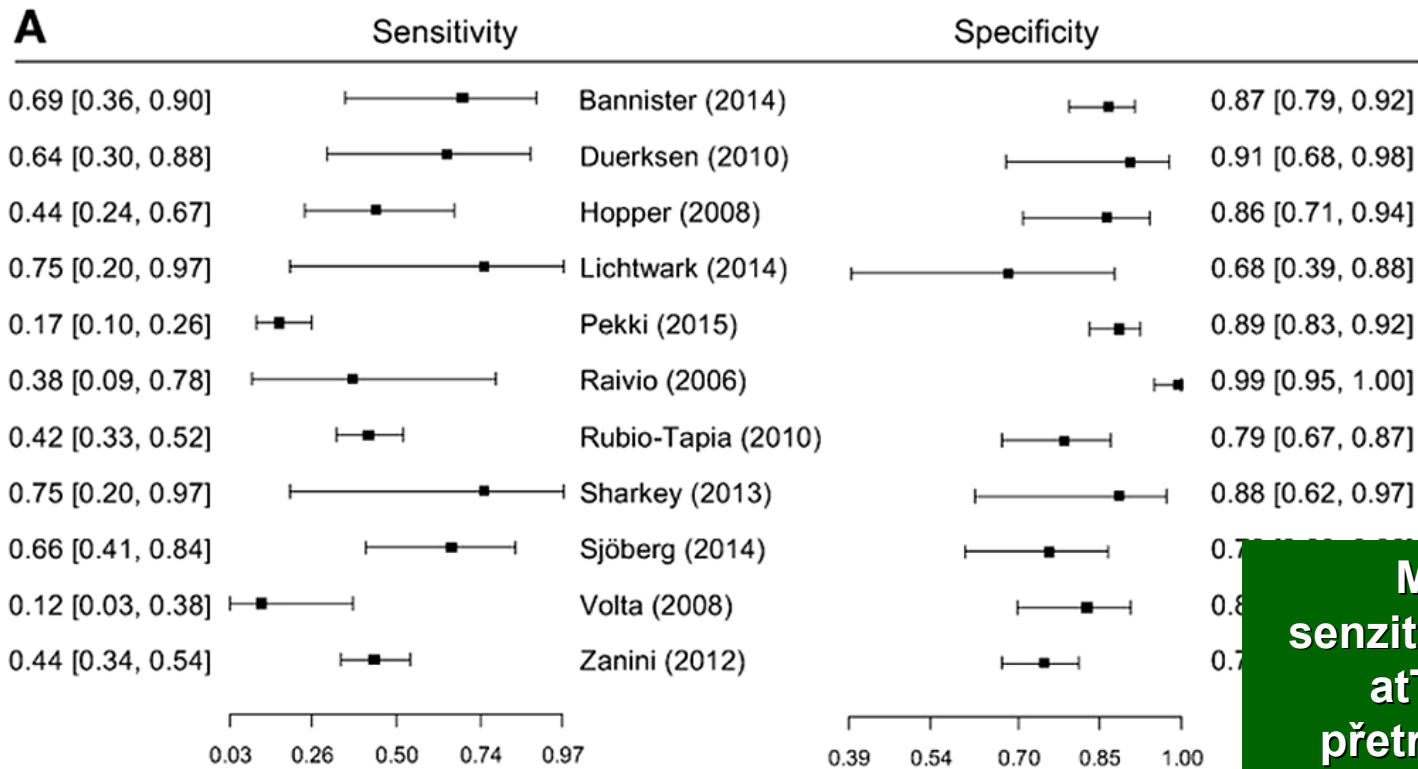
cut-off kriterium atTG

Naples	Anti-Tissue Transglutaminase IgA (Delta Biologicals)	7 U/mL
Spain	Elia Celikey IgA (Phadia, Thermofisher)	7 U/mL
Messina	Transglutaminasi Umana IgA (IPR - Immuno Pharmacology Research s.r.l)	3 U/mL
Albania	Celiac Ttg IgA (Immco Diagnostic, Hague Netherlands)	25 EU/mL
Slovenia	Eu-Ttg IgA (Eurospital)	16 U/mL
Tunisia	Quanta Lite [®] R H-Ttg Elisa (Inova Diagnostics)	10 U/mL
Turkey	Anti-Tissue Transglutaminase IgA (Orgentec)	10 U/mL
Greece	Quanta Lite [®] H-Ttg Elisa (Inova Diagnostics)	20 U/mL

Variability of anti-human transglutaminase testing in celiac disease across Mediterranean countries. Smarrazzo A, Magazzù G, Ben-Hariz M.et al.: World J Gastroenterol. 2017; 23(24): 4437 - 4443



PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ

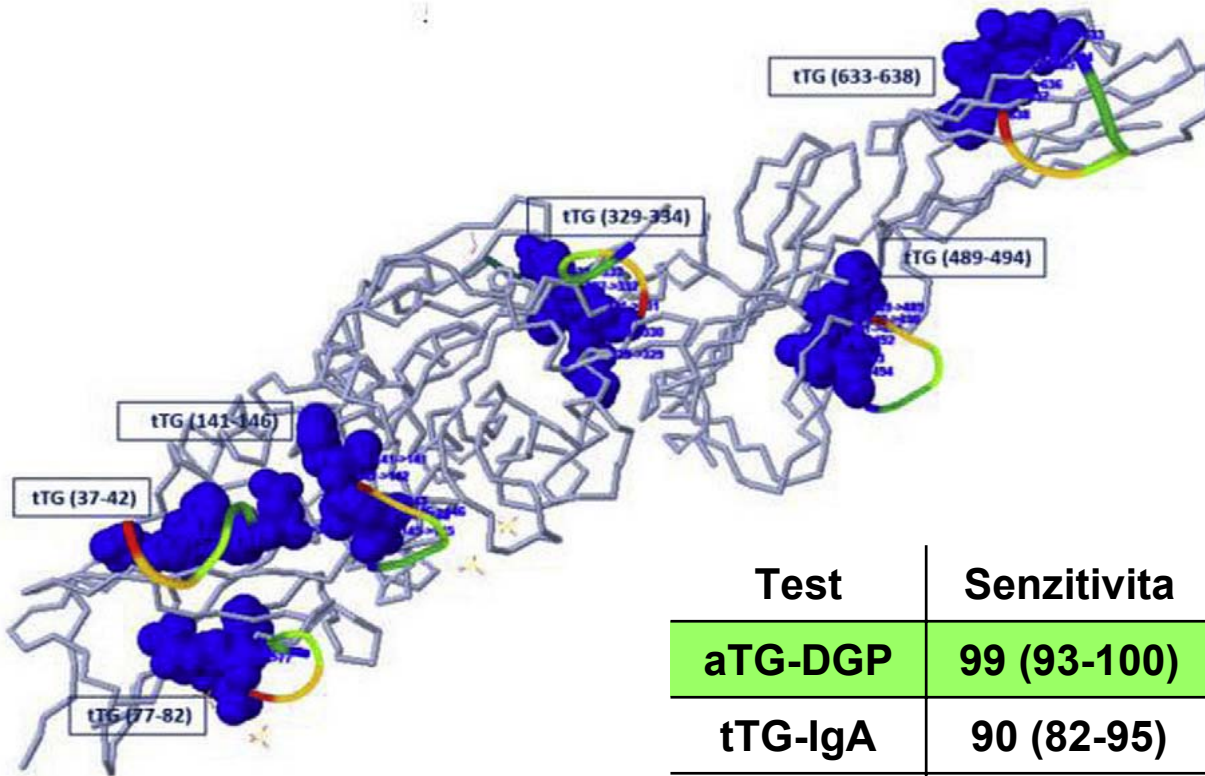


**Meta analýza
senzitivita - specificita
atTG protilátky
přetrvávající atrofie
celiakie na GFD**

Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets
Silvester JA, Kurada S, Szwajcer A. et al.: *Gastroenterology*. 2017; 153(3): 689 - 701

KOMPLEX TRANSGLUTAMINÁZY A DEAMIDOVANÉHO GLIADINU

2019

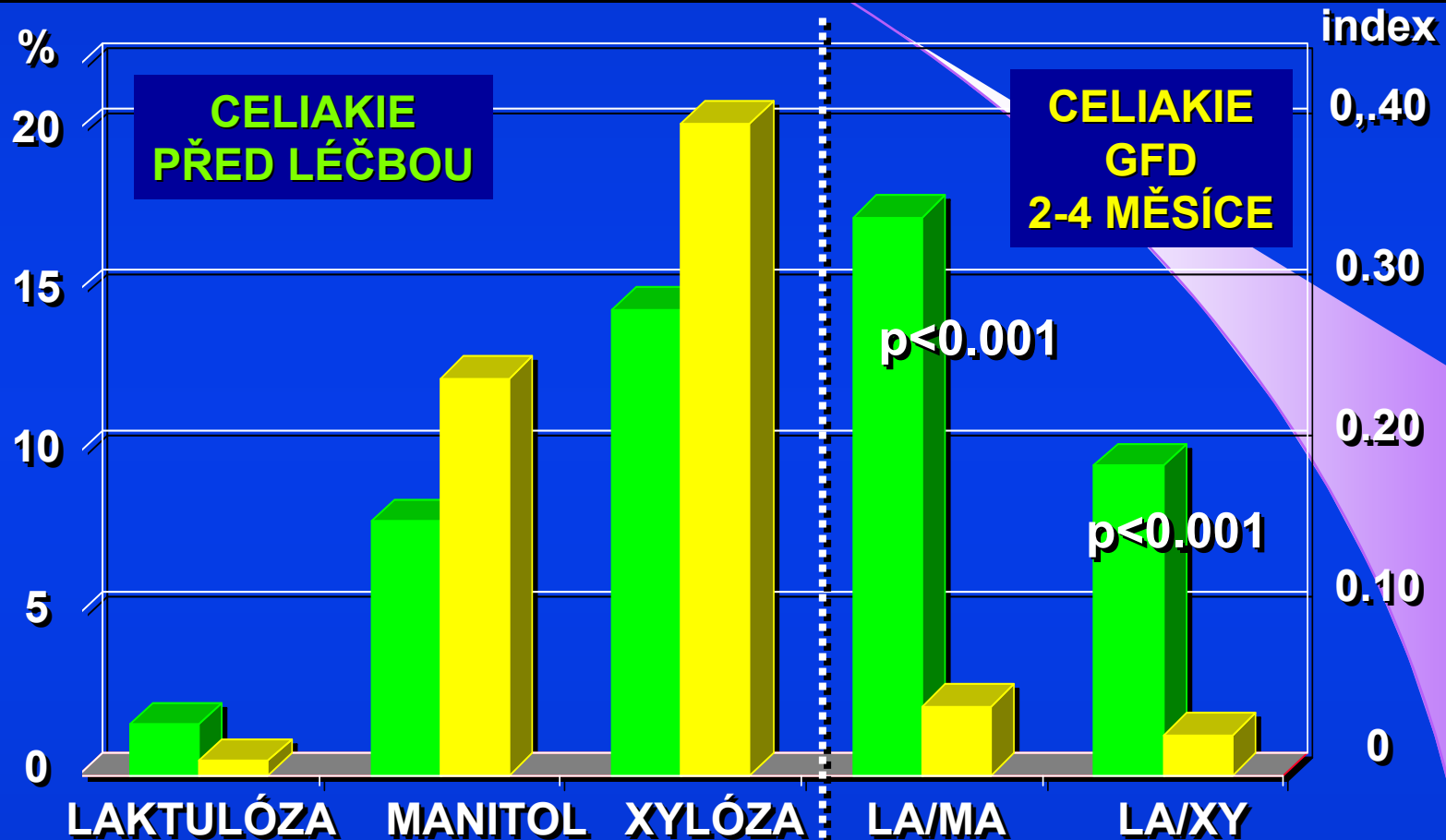


Test	Senzitivita	Specificita	Přesnost
aTG-DGP	99 (93-100)	100 (98-100)	99 (98-100)
tTG-IgA	90 (82-95)	99 (96-100)	97 (94-98)
DGP-IgA	91 (83-96)	97 (94-98)	97 (94-98)

Synthetic Neopeptides of the Transglutaminase-Deamidated Gliadin Complex as Biomarkers for Diagnosing and Monitoring Celiac Disease. Choung RS, Khaleghi Rostamkolaei S, Ju JM. et al.: Gastroenterology. 2019;156(3) :582 - 591



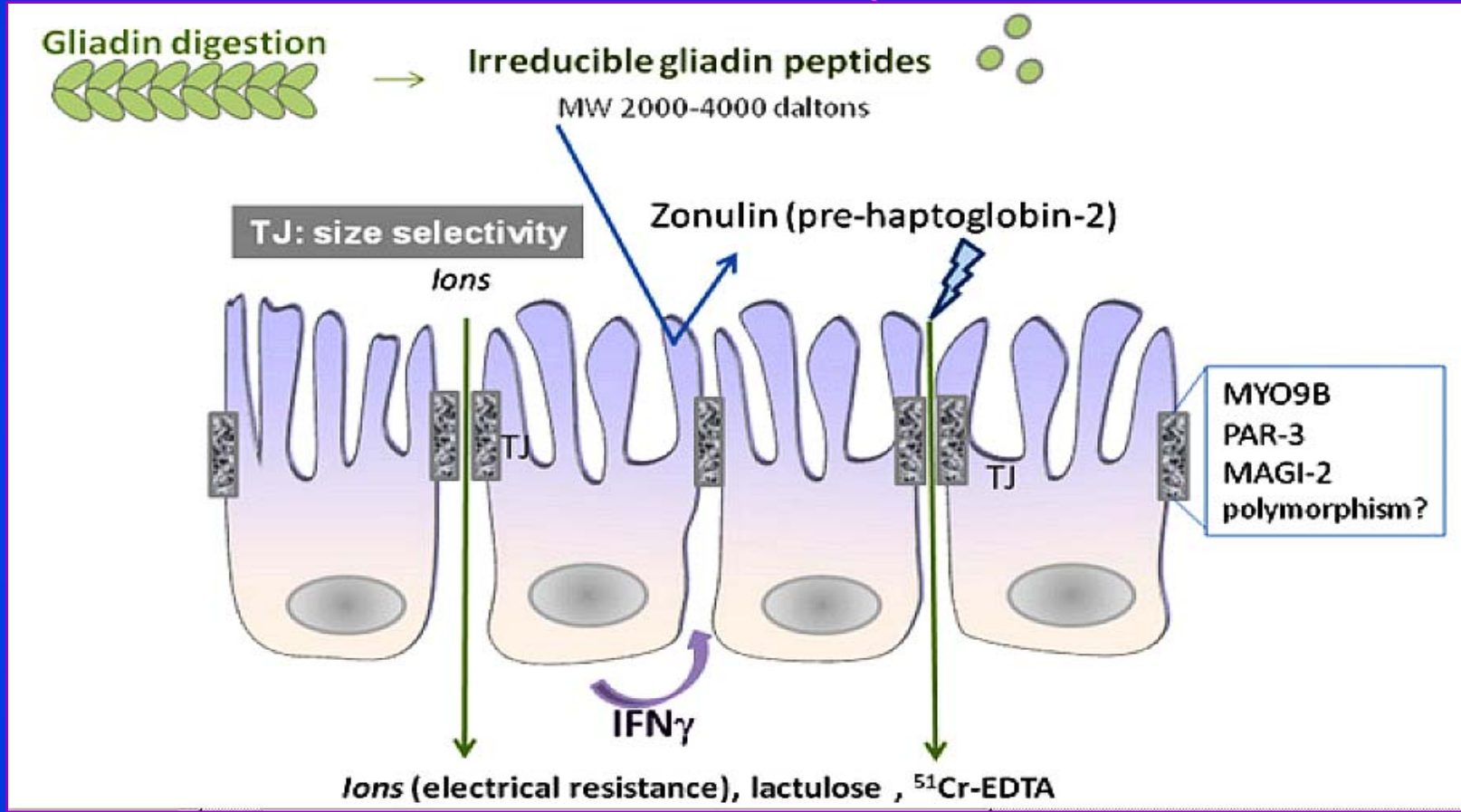
STŘEVNÍ PERMEABILITA - LA/MA a LA/XY INDEXY



Small bowel permeability in diagnosis of celiac disease and monitoring of compliance of a gluten-free diet.

Kohout P. Acta Medica (Hradec Kralove). 2001; 44(3): 101-104

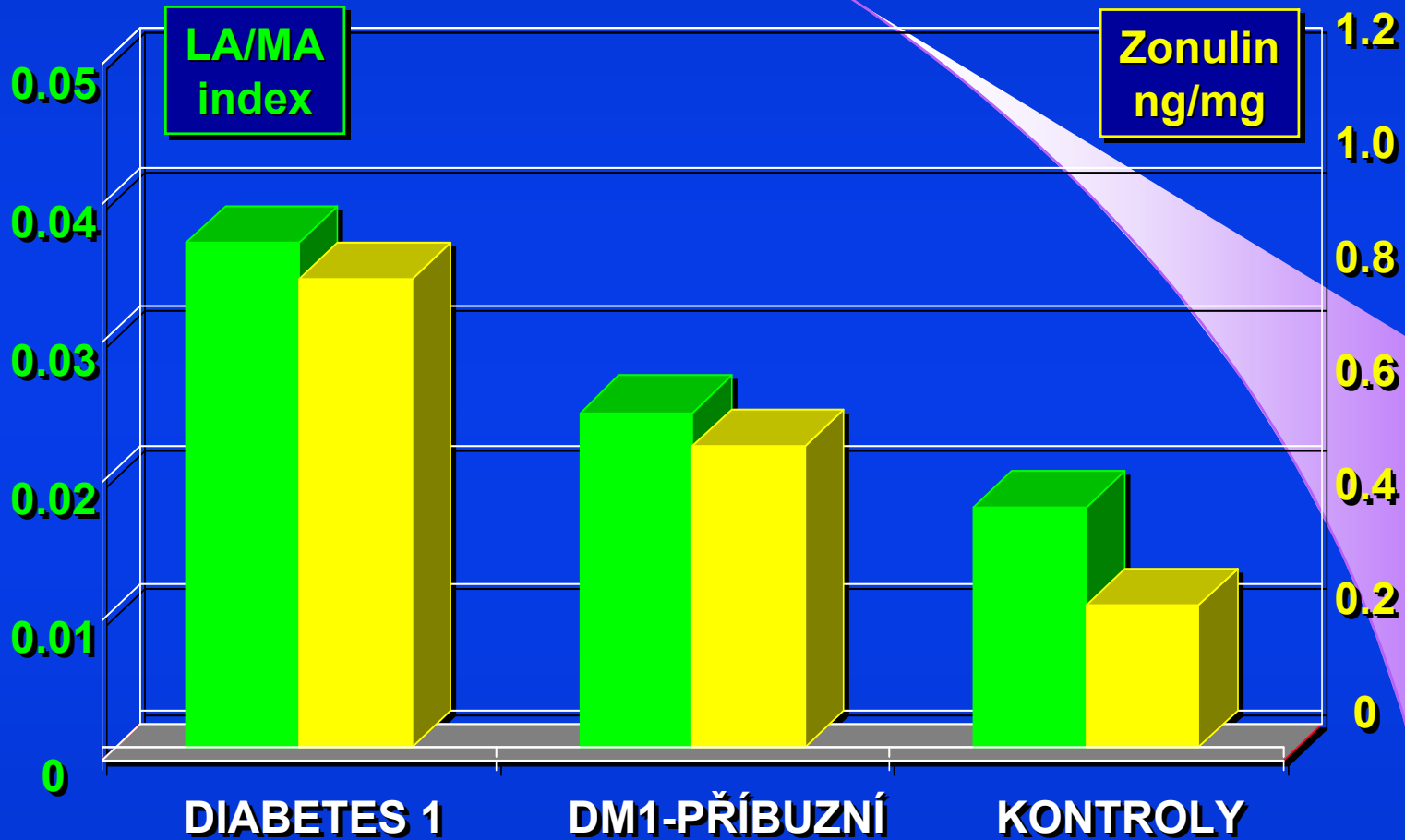
STŘEVNÍ PERMEABILITA - ZONULIN



Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. Heyman M, Abed J, Lebreton C, Cerf-Bensussan N. Gut. 2012 Sep;61(9):1355-1364



KORELACE STŘEVNÍ PERMEABILITY A KONCENTRACE ZONULINU

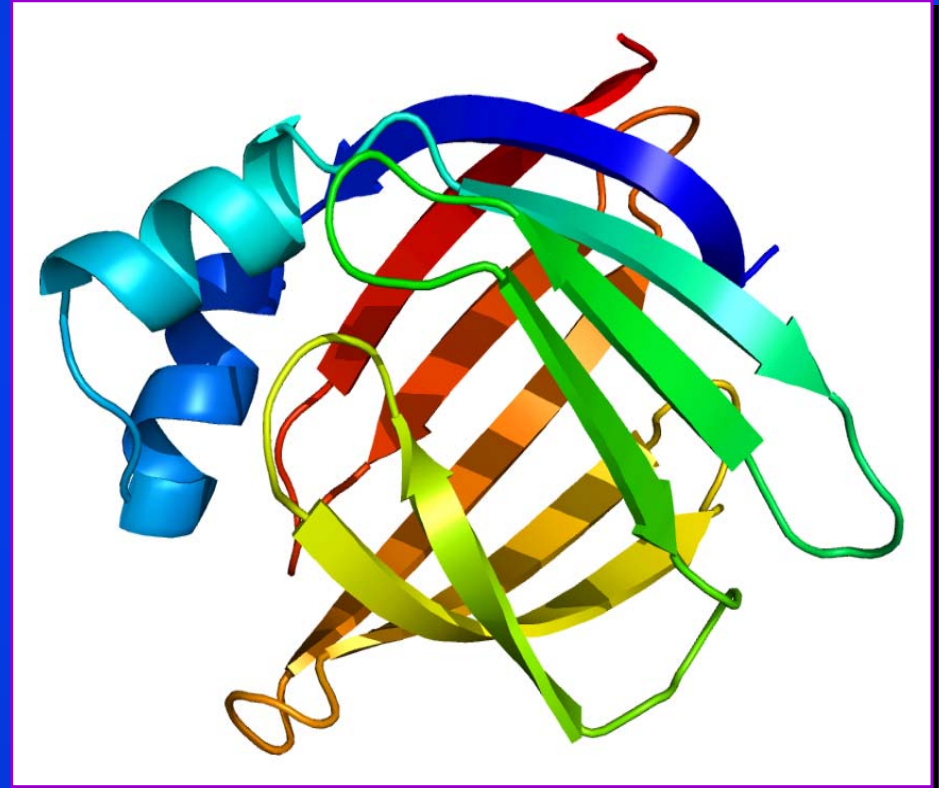


Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, et al. Diabetes. 2006; 55: 1443-1449

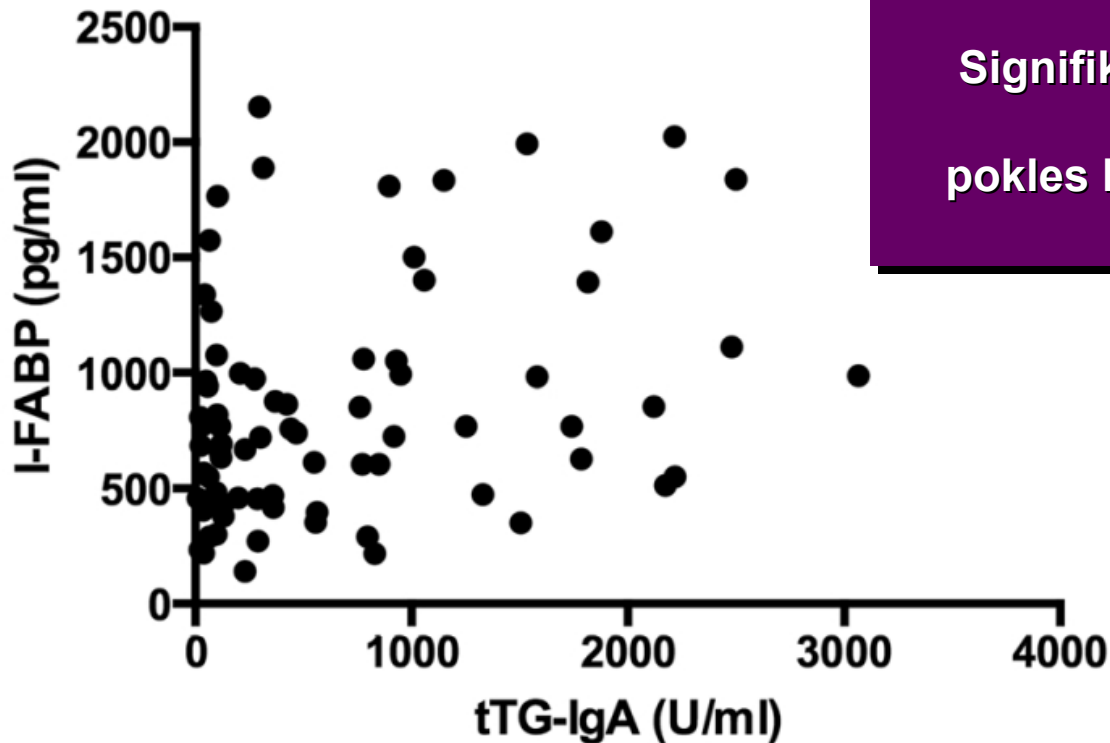


INTESTINÁLNÍ FABP (I-FABP), FABP2 PROTEIN

Fatty acid binding proteiny (FABP) jsou malé (14-15kDa), ve vodě rozpustné proteiny, v cytoplasmě buněk epitelu střevní sliznice. I-FABP (FABP2) je exprimován především ve zralých enterocytech přítomných na vrcholu klků, což je místo, kde je iniciována destrukce enterocytů u řady intestinálních chorob.



KORELACE I-FABP PROTEINU S atTG PROTI LÁTKAMI

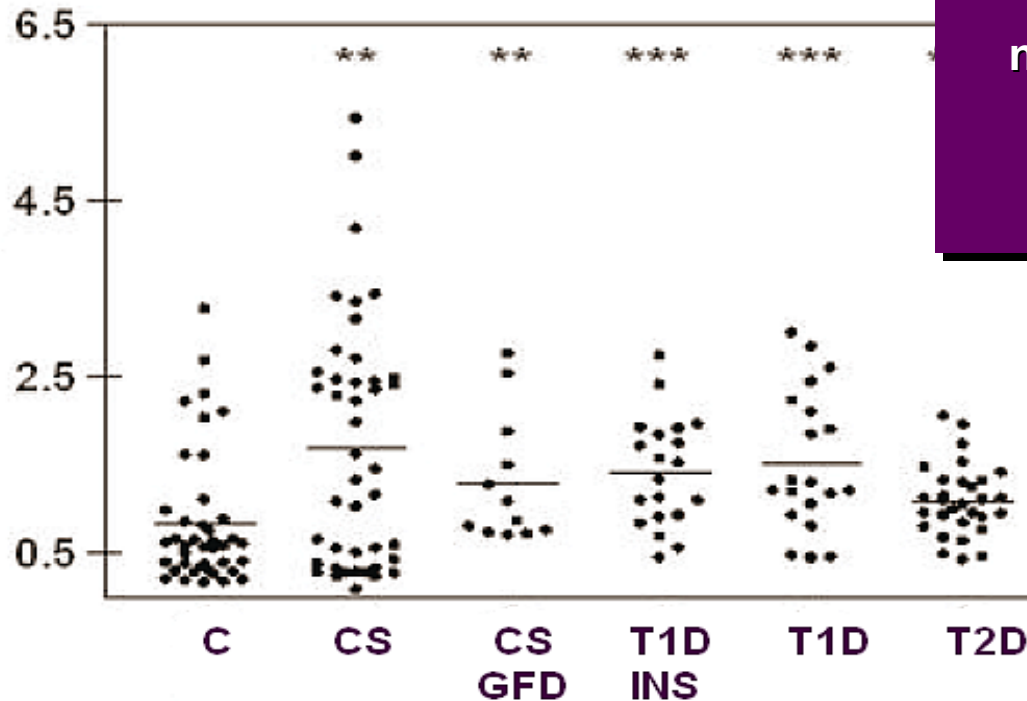


Korelace I-FABP s atTG
($r = 0.346$, $p < 0.01$)
Signifikantní pokles atTG při GFD
26 týdnů
pokles I-FABP je výrazně rychlejší,
a to již za 6 týdnů.

Progress towards non-invasive diagnosis and follow-up of celiac disease in children; a prospective multicentre study to the usefulness of plasma I-FABP. Adriaanse MPM, Mubarak A, Riedl RG, et al. Sci Rep. 2017 Aug 17;7(1):8671

HLADINA I-FABP PŘI CELIAKII A DIABETU

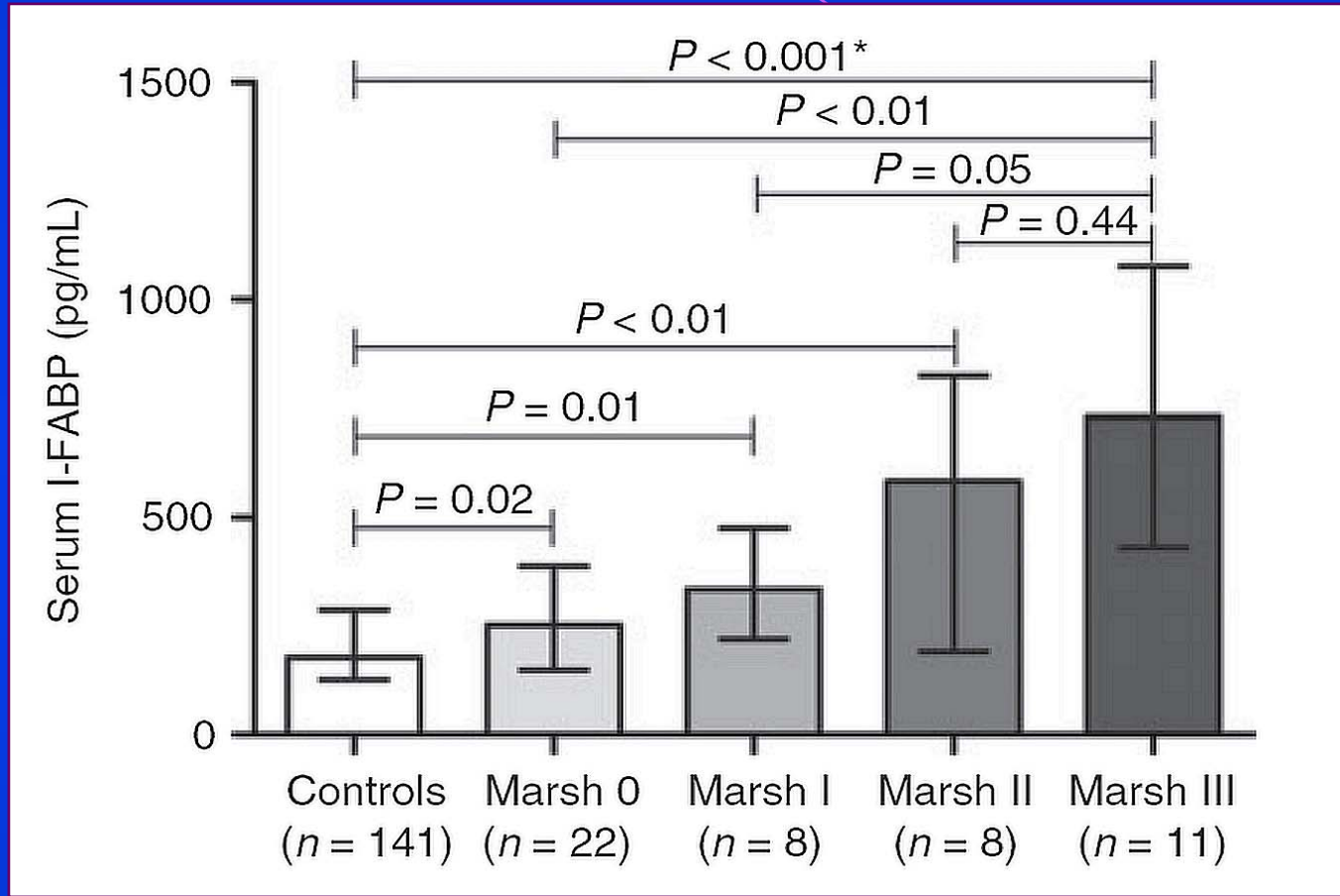
I-FABP (ng/ml)



Stanovení I-FABP
u nemocných s celiakií (CS),
na bezlepkové dietě (CS-GFD)
diabetiků 1.typu (T1D),
s insulitidou (T1D INS)
a diabetiků 2.typu (T2D)

Serological markers of enterocyte damage and apoptosis in patients with celiac disease, autoimmune diabetes mellitus and diabetes mellitus type 2. Hoffmanová I, Sánchez D, Hábová V. et al. Physiol Res. 2015;64(4):537-546

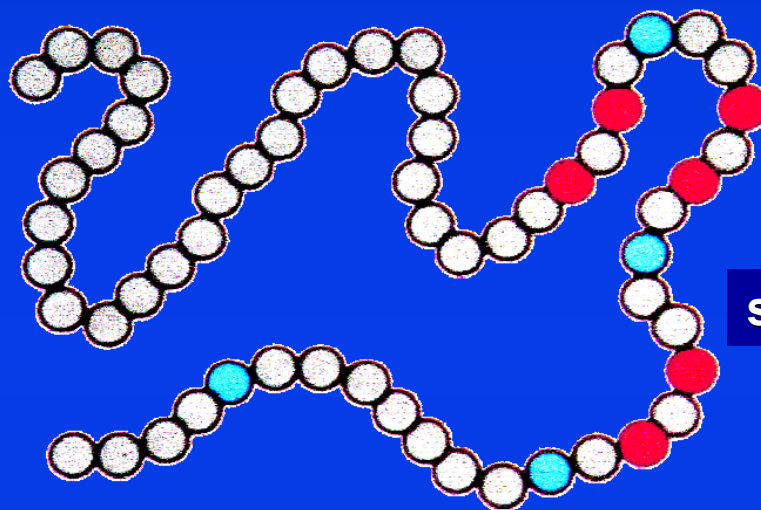
KORELACE HLADINY I-FABP S HISTOLOGII



Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. Adriaanse MP, Tack GJ, Passos VL. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2013 Feb;37(4):482-490



SEKVENCE REZISTENTNÍHO GLIADIN 33mer PEPTIDU



sekvence gliadinu

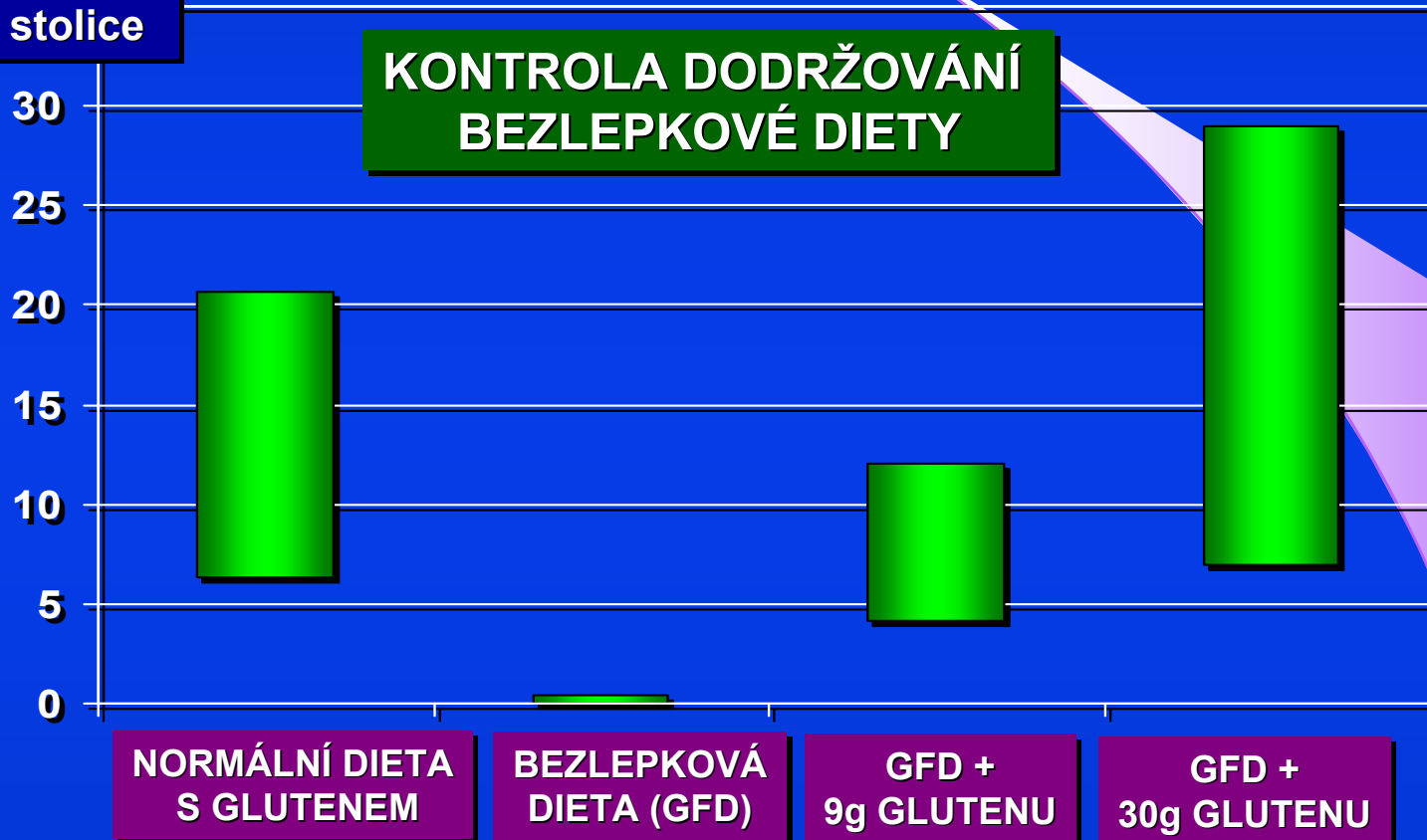
33-mer rezistentní peptid

LQLQPFPPQPQLPYPPQPQLPYPPQPQLPYPPQPQPF



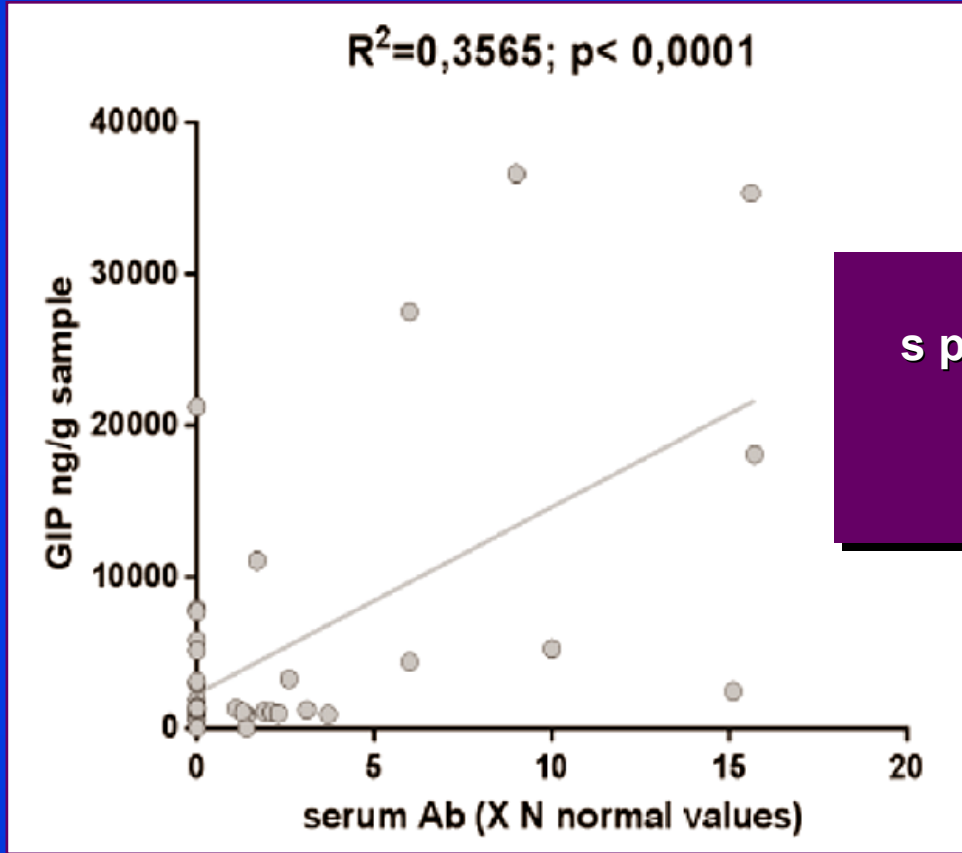
GLIADIN 33mer VE STOLICI

gli-33mer
ng/mg stolice



Monitoring of gluten-free diet compliance in celiac patients by assessment of gliadin 33-mer equivalent epitopes in feces. Comino I, Real A, Vivas S, et al. Am J Clin Nutr. 2012; 95: 670-677

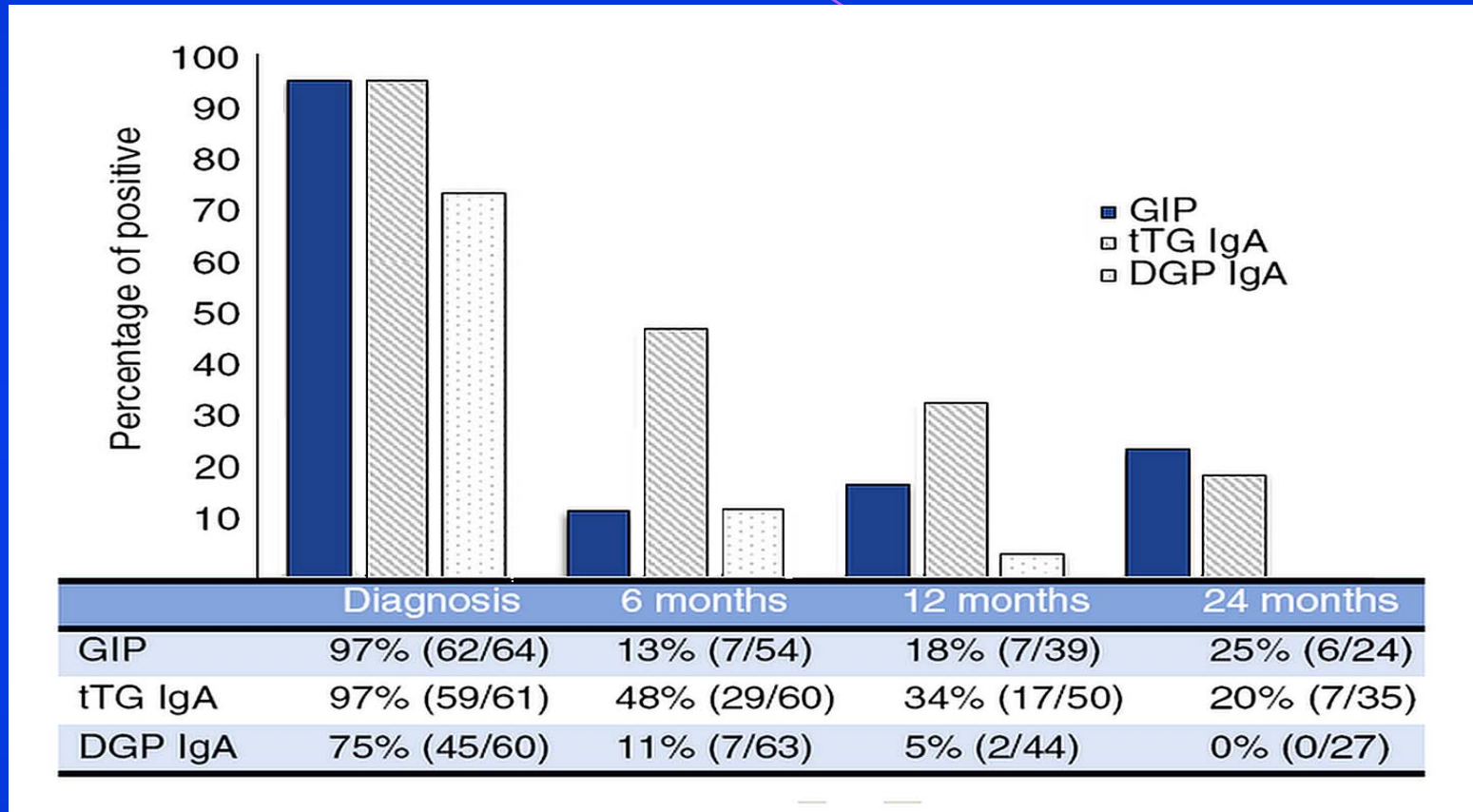
GLIADIN 33mer VE STOLICI - KORELACE s IgA tTG, IgG DGP



Korelace GLI 33mer ve stolici
s protilátkami IgA atTG a/nebo IgG DGP
v souboru 72 dětí s celiakií
Korelační koeficient $r = 0.3563$
Významnost korelace $p < 0.0001$

Detection of gluten immunogenic peptides (GIP) in stools as a method of monitoring the gluten-free diet in children. Gatti S, Guazzarotti A, Quattrini S. et al. Proceedings of the 28th Meeting Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity, Nantes, 2014: 113-118

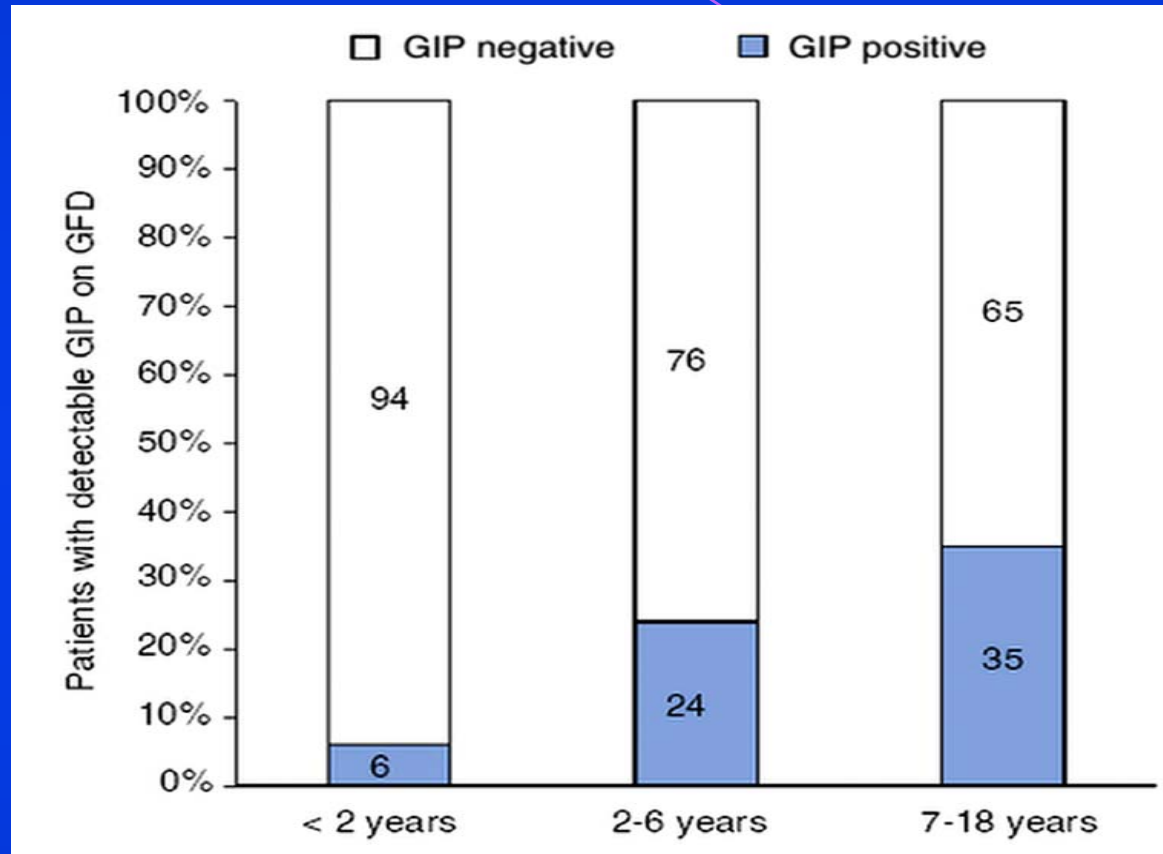
GLIADIN 33mer VE STOLICI



Prospective longitudinal study: use of faecal gluten immunogenic peptides to monitor children diagnosed with coeliac disease during transition to a gluten-free diet. Comino I, Segura V, Ortigosa L. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2019 Jun;49(12):1484-1492



GLIADIN 33mer VE STOLICI



Prospective longitudinal study: use of faecal gluten immunogenic peptides to monitor children diagnosed with coeliac disease during transition to a gluten-free diet. Comino I, Segura V, Ortigosa L. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2019 Jun;49(12):1484-1492



GLIADIN 33mer VE STOLICI

75 VZORKŮ STOLICE, INDIKACE CELIAKIE
iVYLISA GIP ELISA (Biomedal, Spain)
Rozsah detekce - 0.16-5 µg GIP/g stolice

20x **AKTIVNÍ CELIAKIE**
2x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
4x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
14x **STRAVA S LEPKEM**

12x **KONTROLY**
12x **NORMÁLNÍ
DIETA S LEPKEM**

27x **CELIAKIE V REMISI**
13x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
8x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
6x **STRAVA S LEPKEM**

8x **JINÉ GIT Dg**
6x **STRAVA S LEPKEM**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

5x **NON-RESPONSIBLE CS**
3x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

3x **NECELIAKÁLNÍ - NCGS**
2x **STRAVA S LEPKEM**
1x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**





atTG PROTILÁTKY - GLIADIN 33mer VE STOLICI

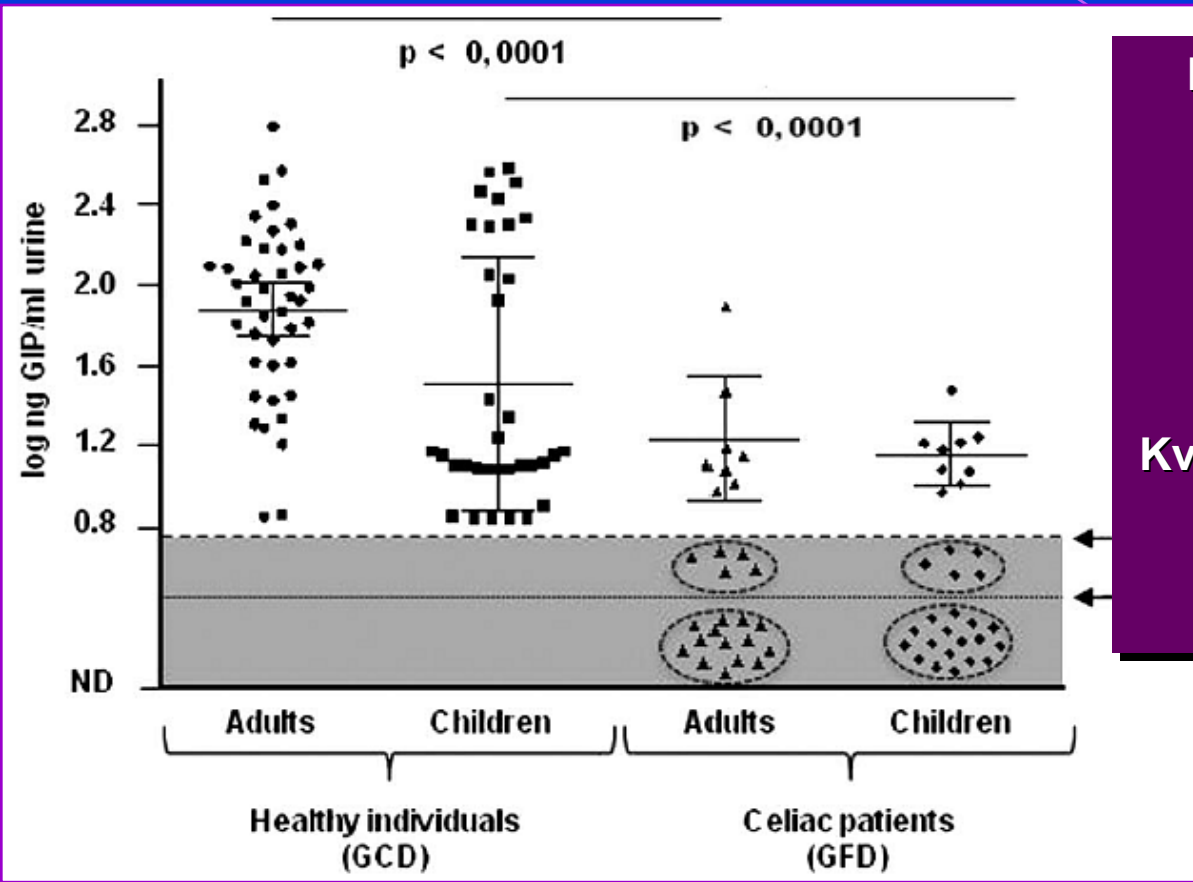
75 VZORKŮ STOLICE, INDIKACE CELIAKIE
iVYLISA GIP ELISA (Biomedal, Spain)
atTG PROTILÁTKY U 50 NEMOCNÝCH

14 OSOB S NOVÝM ZÁCHYTEM, AKTIVNÍ CELIAKIE
VYSOKÉ atTG U VŠECH 14 OSOB
GLI-33mer NAD 5g (NORMÁLNÍ DIETA U 10 OSOB
4x NÍZKÁ KONCENTRACE PŘI BEZLEPKOVÉ DIETĚ

24 OSOB S CELIAKIÍ V REMISI
3 OSOBY VYSOKÉ atTG
GLI-33mer 1x >5d - DIETU NEDRŽÍ
1x DIETA S NÍZKÝM OBSAHEM LEPKU
1x BEZLEPKOVÁ DIETA, atTG 32.4 - ŽENA 40 let, DUHRING
3 OSOBY MAJÍ NÍZKÉ atTG
ALE VYSOKÝ GLI-33mer >5d - DIETU NEDRŽÍ

NON-RESPONSIV CELIAKIE, ŽENA 72 LET
DIETA S NÍZKÝM OBSAHEM LEPKU, 1.69g LEPKU, atTG 19.4

DETEKCE GLIADIN 33meru V MOČI PŘI CELIAKII

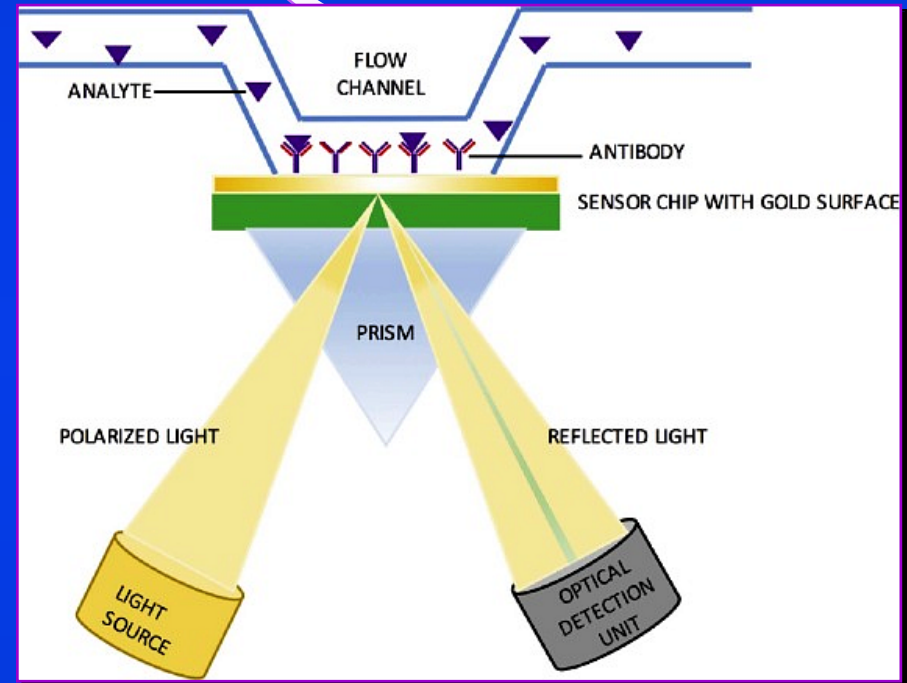


Detekce Gli-33meru v moči
imunochromatografickým
testem,
Vyhodnocení - GlutenTox
Reader - LFT analyzátor
Detekční limit:
25mg glutenu v potravě
Kvantifikovatelné množství GIP
signifikantně koreluje
se závažností CS
podle Marshovy škály.

Detection of gluten immunogenic peptides in the urine of patients with coeliac disease reveals transgressions in the gluten-free diet and incomplete mucosal healing. Moreno ML, Cebolla Á, Munoz-Suano A et al. Gut. 2017; 66(2): 250-257

SPR SENZOR PRO DETEKCI GLIADIN 33meru V MOČI

Label-free detekce gluten-toxic peptidů v moči osob s celiakií. Biosensor umožňuje přímou kvantifikaci bez předchozí purifikace. Principem je kompetitivní immunoassay s monoklonální protilátkou G12 proti gliadin-33-meru. Surface plasmon resonance (SPR) optické biosenzory založené na rezonanci povrchových plasmonů, Gold sensor chips (skleněný povrch krytý 1nm Ti a 45 nm Au) Citlivost metody je 1.72 GIT ng/ml.

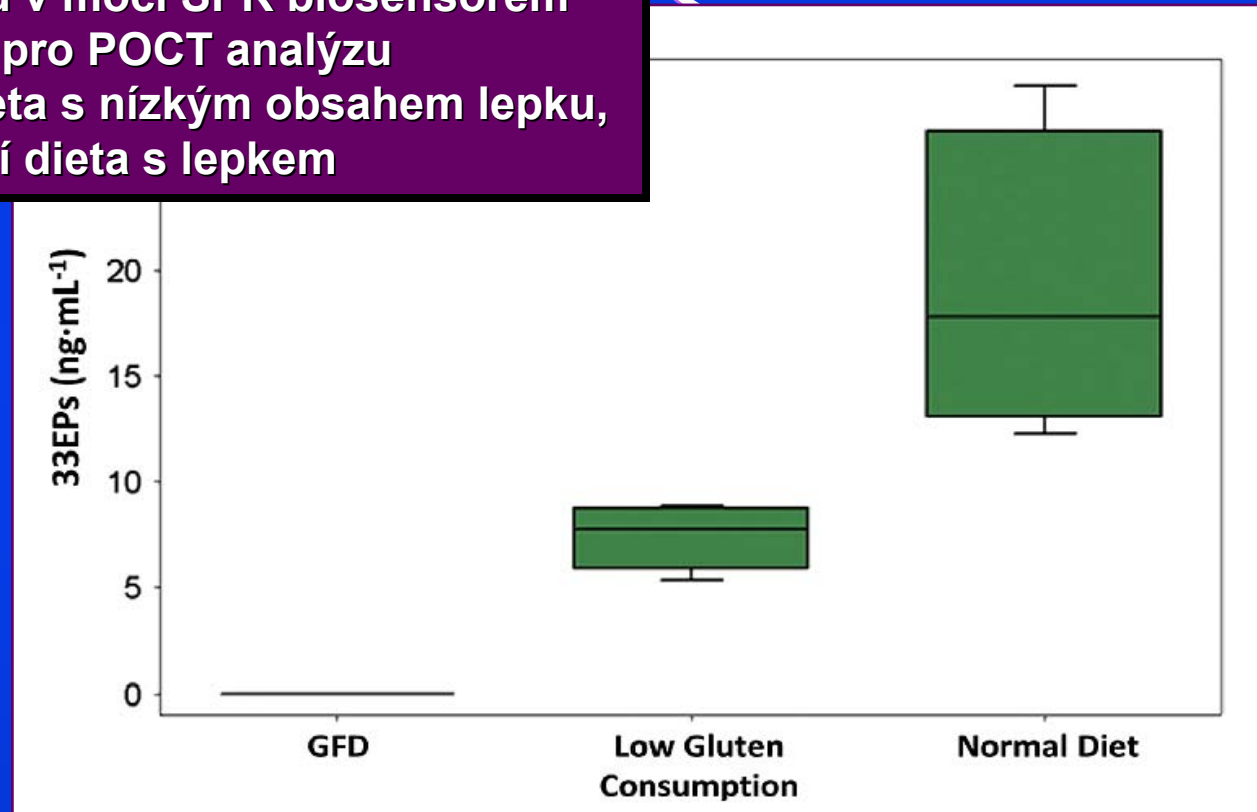


Label-free SPR detection of gluten peptides in urine for non-invasive celiac disease follow-up. Soler M, Estevez MC, Moreno Mde L et al. Biosens Bioelectron. 2016 May 15;79:158-64.



SPR SENZOR PRO DETEKCI GLIADIN 33meru V MOČI

Detekce Gli-33meru v moči SPR biosensorem
vyvinutým pro POCT analýzu
Bezlepková dieta, dieta s nízkým obsahem lepku,
normální dieta s lepkem



Label-free SPR detection of gluten peptides in urine for non-invasive celiac disease follow-up. Soler M, Estevez MC, Moreno Mde L et al. Biosens Bioelectron. 2016 May 15;79:158-64.

DETEKČNÍ SOUPRAVY (HOME-TEST) PRO CELIAKII

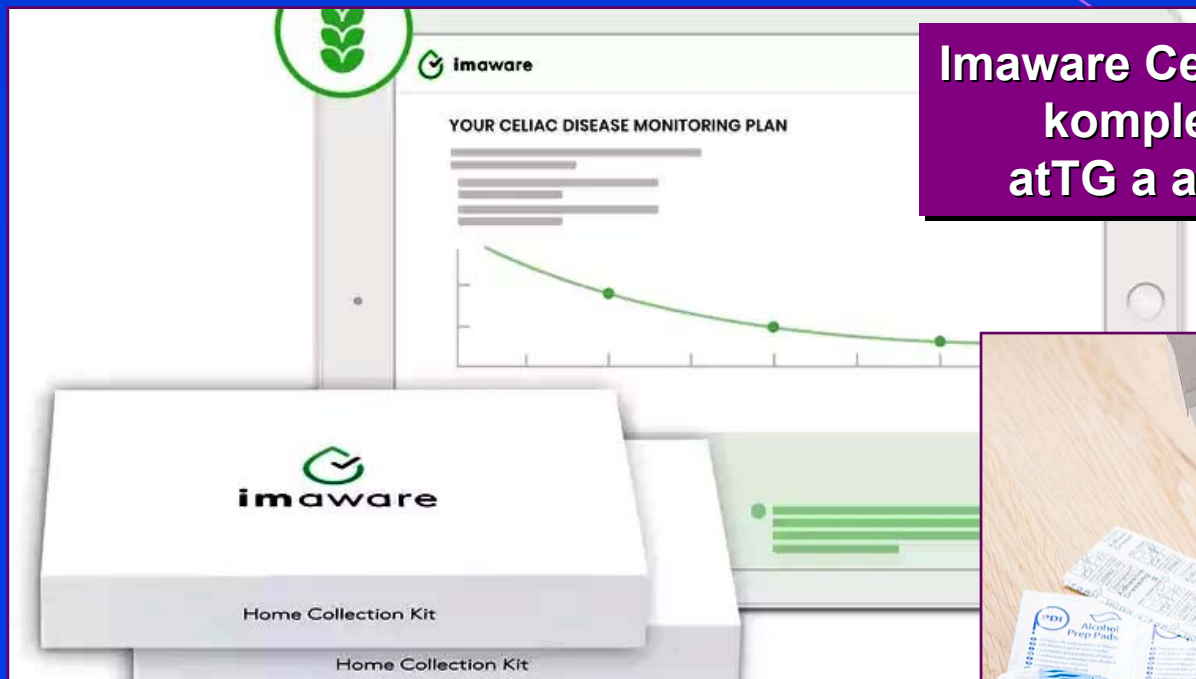
**RYCHLÉ, RAPID TESTY
Z PLNÉ KRVE**

**Biocard Celiac Test, GlutenCheck,
Coeliac Disease Test, Xeliac Test**



**Rychlý (5 minut), jednoduchý test
pro detekci protilátek IgA/IgG,
z krve odebrané ze špičky prstu**

DETEKČNÍ SOUPRAVY (HOME-TEST) PRO CELIAKII



Imaware Celiac Disease Screening Test
kompletní, laboratorní analýza
atTG a anti DGP v IgA a IgG třídě



Home-test, odběr krve ze špičky prstu
Vzorek krve se odesílá poštou do laboratoře
Výsledek odesílá laboratoř emailem do 5 dnů

DETEKČNÍ SOUPRAVY (HOME-TEST) PRO CELIAKII

**Citlivost GlutenDetective kitu
ve stolici – 50mg lepku
v moči – 500 mg lepku
(1 krajíc chleba je 1 500mg lepku)**



**GlutenDetective
domácí test dodržování diety
detekce gliadin-33meru
ve vzorku stolice, nebo moče**

DETEKČNÍ SOUPRAVY (HOME-TEST) PRO CELIAKII

GlutenTox® Pro

Snadná a rychlá kontrola přítomnosti lepku na výrobním zařízení, v surovinách a hotových produktech. Test obsahuje protilátky G12 reagující s gliadin-33-mer peptidem
Výsledky za méně než 20 minut



GlutenTox Home
Uživatelsky přívětivá testovací sada, umožňující během několika minut otestovat doma v potravinách znečištění lepkem
Citlivost – 5 ppm glutenu

DETEKČNÍ SOUPRAVY (HOME-TEST) PRO CELIAKII

Nima Gluten Sensor
Citlivost – 20 ppm glutenu
specifické protilátky 13F6 a 14G11
detekující gliadin-33-mer



Evaluation of a Handheld Gluten Detection Device. Taylor SL, Nordlee JA, Jayasena S, Baumert JL. J Food Prot. 2018 Oct;81(10):1723-1728.



TAKE HOME MESSAGE

- ✓ **Monitorování nemocných s celiakií**, dodržování bezlepkové diety je možno stanovením funkcí tenkého střeva, histologickou analýzou sliznice, detekcí tvorby protilátek, analýzou střevní permeability a aktivity zonulinu, stanovením markerů kvality enterocytů nebo detekcí gliadinu ve stolici.
- ✓ **Hladiny protilátek** klesají při bezlepkové dietě k normě během několika měsíců, vyšší senzitivitu než IgA atTG vykazuje kombinace anti-DGP IgA a IgG, **pokles I-FABP** je výrazně rychlejší, během 6 týdnů.
- ✓ **Stanovení střevní permeability** indexem La/Ma a La/Xy vykazuje velmi vysokou spolehlivost za 2-4 měsíce dodržování bezlepkové diety, a **koncentrace zonulinu** s La/Ma indexem signifikantně koreluje.
- ✓ Nejnovějším markerem je **detekce rezistentního gliadin-33meru** ve stolici nebo v moči a pro detekci Gli-33meru v moči POCT analýzou byl vyvinut SPR biosensor.



DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST