



**CYTOTOXIC TEST®**



# CYTOTOXIC TEST®

## Prove Tossiche Alimentari sul sangue

### SOMMARIO

La storia del metodo citotossico	4
Famiglie biologiche	8
Vantaggi e svantaggi del Cytotest®	10
Differenza tra allergia ed intolleranza	12
Materiale occorrente	18
Preparazione del campione	18
La lettura al microscopio	20
Gradi di reazione	22
Composizione kit 51 alimenti	26
Composizione kit 21 sostanze chimiche	28
Composizione kit 51 sostanze alimentari e chimiche	30
Composizione kit per uso in veterinaria specifico per cane-gatto	32
Composizione kit per uso in veterinaria specifico per bovino-cavallo	34
Speciali precauzioni	36
Informazioni per i centri che vogliono utilizzare la metodica del Cytotest®	36
Test effettuato presso i propri laboratori	38
Bibliografia	40

# CYTOTOXIC TEST®

## Food toxic test on blood

### SUMMARY

History of the Cytotoxic method	5
Biological groups	9
Advantages and disadvantages of Cytotest®	11
Difference between allergy and intolerance	13
Required materials	19
Sample preparation	19
Reading through the microscope	21
Grades of reactions	23
Composition of 51 foods kit	27
Composition of 21 chemical substances kit	29
Composition of 51 foods and chemical substance kit	31
Composition kit for food intolerance in veterinary specific for dog-cat	33
Composition kit for food intolerance in veterinary specific for cow-horse	35
Special precautions	37
Indications for centres interested in using Cytotoxic method	37
Indications for the execution of the test at one's own laboratory	39
Bibliography	40

## LA STORIA DEL METODO CITOTOSSICO

Il fenomeno della modificazione dei leucociti attraverso reazione antigene-anticorpo è stato oggetto di numerosi studi ed è stato osservato sotto diversi aspetti.

Già nel 1947 alcuni importanti immunologi anglosassoni, tra i quali Squier e Lee, osservarono in vitro una diminuzione del numero dei leucociti (fino ad un massimo del 33%) in pazienti allergici dopo che essi erano stati posti a contatto con reagenti alimentari.

Il lavoro di Arthur Black nel 1956 suggerì in modo determinante che le modificazioni morfologiche dei leucociti indicavano reazioni allergiche.

Le sue osservazioni riguardavano il comportamento dei leucociti in vitro in presenza dell'allergene a cui gli individui risultavano sensibili.

In presenza di anticorpi specifici verso l'allergene, i leucociti polimorfonucleati presentavano reazioni tossiche con morte cellulare che sopraggiungeva nell'arco di un periodo compreso tra i 15 minuti e qualche ora.

Se le reazioni erano forti e immediate, si sospettava la sensibilità clinica dell'allergene.

Nel 1959 uno tra i più noti immunologi, il prof. Byron Waksman, pubblicò diversi studi sugli effetti tossici delle reazioni antigene-anticorpo sulle cellule ed in particolare il testo "Aspetti cellulari e umorali in condizioni di ipersensibilità".

Ulteriori progressi nello studio e nella determinazione del metodo di indagine furono conseguiti da vari studiosi, in particolare da Bryan e Bryan, agli inizi degli anni '60. Essi codificarono la metodica rendendola semplice, affidabile e ripetibile.

## HISTORY OF THE CYTOTOXIC METHOD

The modification of leukocytes caused by the reaction antigen-antibody has been subject of several studies and it was observed under different aspects.

In 1947 some important Anglo-Saxon immunologists, Squier and Lee between the others, observed in vitro a decrease of the number of leukocytes (until a maximum of 33%) in allergic patients after being in contact with food reagents.

In 1956 Arthur Black, during his studies, determined that the alteration of the leukocytes indicates an allergic reaction; he observed the modifications of leukocytes in vitro as a reaction to allergens toxic for some sensitised patients.

If in contact with an allergen, leukocytes showed toxic reactions with the cells' expiry, in a lapse of time from 15 minutes to few hours.

In 1959 one of the most well-known immunologists, Byron Waksman, published different studies about the toxic effects of the reaction antigen-antibody on the cells and specially the text "Cellular and humoral aspects in hypersensitivity conditions".

In the sixties, thanks to the studies of different researchers (Bryan and Bryan between them), there were further progresses in the study and standardisation of this method of research.

Bryan and Bryan codified this methodology making it easier, reliable and repeatable.

## CONSIGLI PRATICI

Ai pazienti risultati positivi ad una o più sostanze viene suggerito di eliminarle completamente dall'alimentazione per un periodo che dipende dal grado di reazione riscontrato.

L'eliminazione ha come obiettivo quello della disintossicazione dell'organismo ed in particolare permette di ottenere la perdita di memoria da parte dei globuli bianchi che quel particolare alimento è tossico per l'individuo.

Viene consigliato al paziente di eliminare parallelamente anche gli alimenti che appartengono alla stessa famiglia biologica o che contengono sostanze simili, per evitare fenomeni di cross-reaction.



Le intolleranze alimentari non sono perenni, normalmente, dopo un periodo di astinenza gli alimenti risultati positivi vengono reintrodotti nella dieta evitando assunzioni quotidiane che potrebbero facilitare un nuovo accumulo di tossine nell'organismo.

La tabella della pagina seguente riassume le principali famiglie biologiche esistenti.

## PRACTICAL ADVICE

Patients with positive results to one or more substances are suggested to eliminate them completely from their diet, for a period of time depending on the degree of reaction.

The purpose of the elimination is to detoxify the human body: it helps white blood cells to “lose memory” that a food is toxic for the patient.

Patient must eliminate also foods belonging to the same biological family or foods containing similar substances, in order to avoid a cross-reaction.



Food intolerances are not perennial; usually after a period of abstinence, the toxic foods can be introduced again in the diet, but avoiding to eat them daily, because they could cause a new accumulation of toxins in the body.

The following schedule reassumes the most important biological groups:

## FAMIGLIE BIOLOGICHE

ALIMENTO	ALIMENTO COLLATERALE	ALIMENTO	ALIMENTO COLLATERALE	ALIMENTO	ALIMENTO COLLATERALE
<b>GRANO T.</b>	AVENA GRANO SARACENO		ARACHIDI FAVE	<b>PESCA</b>	MELA MANDORLA
	MAIS		PISELLI		FRAGOLA
	MIGLIO	<b>PISELLI</b>	LIQUIRIZIA		CILIEGIA
	ORZO		LENTICCHIE		ALBICOCCA
	SEGALE		FAGIOLI		PRUGNA
	GRANO DURO		CECI	<b>MANDORLA</b>	PERA
	FARRO		SOIA		MELA
	RISO		ARACHIDI		PESCA
<b>GRANO D.</b>	AVENA		FAVE		FRAGOLA
	GRANO SARACENO		LIQUIRIZIA		CILIEGIA
	MAIS	<b>OLIVA</b>			ALBICOCCA
	MIGLIO	<b>TONNO</b>	PESCE SPADA		PRUGNA
	ORZO		SPIGOLA		PERA
	SEGALE		ARINGA	<b>NOCE</b>	NOCCIOLE
	GRANO TENERO		MERLUZZO	<b>CAMOMILLA</b>	CARCIOFO
	FARRO		TROTA		LATTUGA
	RISO		SALMONE		GIRASOLE
<b>LIEVITO</b>	FUNGHI	<b>GAMBERI</b>	ARAGOSTA		CICORIA
	ACETO		CROSTACEI		RADICCHIO
<b>RISO</b>	AVENA		GRANCHIO	<b>ORZO</b>	GRANO T.
	GRANO SARACENO		SCAMPI		GRANO D.
	MAIS				AVENA
	MIGLIO	<b>CAROTA</b>	SEDANO		GRANO SARACENO
	ORZO		PREZZEMOLO		MAIS
	SEGALE		FINOCCHIO		MIGLIO
	GRANO T.		ANICE		SEGALE
	GRANO D.	<b>CAFFÈ</b>	CORIANDOLO		RISO
	FARRO		THE	<b>GRANO SARACENO</b>	FARRO
<b>MAIS</b>	AVENA		CACAO		GRANO T.
	GRANO SARACENO		COLA		GRANO D.
	GRANO T.		KARKADÈ		AVENA
	GRANO D.		MATÈ		ORZO
	MIGLIO	<b>THE</b>	ROSA CANINA		MAIS
	ORZO		CAFFÈ		MIGLIO
	SEGALE		CACAO		SEGALE
	RISO		COLA		RISO
	FARRO		KARKADÈ	<b>LENTICCHIE</b>	FARRO
<b>SOIA</b>	LENTICCHIE		MATÈ		PISELLI
	FAGIOLI	<b>CACAO</b>	ROSA CANINA		FAGIOLI
	CECI		CAFFÈ		CECI
	PISELLI		THE		SOIA
	FAVE		COLA		ARACHIDI
	ARACHIDI		KARKADÈ	<b>AGLIO</b>	FAVE
	LIQUIRIZIA		MATÈ		LIQUIRIZIA
<b>LATTE A.</b>	BOVINI		ROSA CANINA		ASPARAGO
	AGNELLO	<b>MELA</b>	MANDORLA		CIPOLLA
<b>LATTE C.</b>	BOVINI		PESCA	<b>TROTA</b>	PORRO
	AGNELLO		FRAGOLA		SALMONE
<b>BOVINI</b>	LATTE A.		CILIEGIA		ARINGA
	LATTE C.		ALBICOCCA		MERLUZZO
	AGNELLO		PRUGNA		TONNO
<b>UOVA A.</b>	POLLO	<b>BANANE</b>	PERA		SPIGOLA
	GALLETTO	<b>ARANCIO</b>	BERGAMOTTO	<b>SALMONE</b>	PESCE SPADA
	FARAONA		CEDRO		MERLUZZO
<b>UOVA R.</b>	POLLO		LIMONE		ARINGA
	GALLETTO		MANDARINO		TROTA
	FARAONA		POMPELMO		TONNO
<b>POLLO</b>	UOVA A.	<b>LIMONE</b>	BERGAMOTTO	<b>MERLUZZO</b>	SPIGOLA
	UOVA R.		CEDRO		PESCE SPADA
	GALLETTO		LIME		SALMONE
	FARAONA		ARANCIO		TONNO
<b>MAIALE</b>			MANDARINO		ARINGA
<b>CONIGLIO</b>			POMPELMO		PESCE SPADA
<b>ZUCCHERO</b>	BARBABIETOLA	<b>ANANAS</b>	COCCO		SPIGOLA
	SPINACI		DATTERI	<b>TACCHINO</b>	TROTA
	BIETA	<b>UVA</b>	RIBES NERO	<b>CIPOLLA</b>	AGLIO
	PATATE		RIBES ROSSO		ASPARAGO
<b>POMODORO</b>	MELANZANE		UVA SPINA		PORRO
	PEPERONI	<b>FRAGOLA</b>	MANDORLA	<b>PEPERONI</b>	POMODORO
	PEPERONCINO		PESCA		PATATE
	POMODORO		CILIEGIA		MELANZANE
<b>PATATE</b>	MELANZANE		ALBICOCCA		PEPERONCINO
	PEPERONI		PRUGNA	<b>CAVOLFIORE</b>	VERZA
	PEPERONCINO		PERA		CRESCIONE
<b>CARCIOFO</b>	LATTUGA		MELA		MOSTARDA
	GIRASOLE	<b>CILIEGIA</b>	MANDORLA		RAPA
	CICORIA		PESCA		RAVANELLO
	CAMOMILLA		FRAGOLA	<b>CICORIA</b>	RUCOLA
	RADICCHIO		ALBICOCCA		CARCIOFO
	LENTICCHIE		PRUGNA		CAMOMILLA
<b>FAGIOLI</b>	CECI		PERA		GIRASOLE
	SOIA				LATTUGA
					RADICCHIO



## BIOLOGICAL GROUPS

FOOD	COLLATERAL FOODS	FOOD	COLLATERAL FOODS	FOOD	COLLATERAL FOODS
<b>FLOWER-WHEAT</b>	OAT BUCKWHEAT CORN MILLER BARLEY SEGAL WHOLE-WHEAT SPELT RICE	<b>PEAS</b>	PEANUTS BROAD BEANS PEAS LIQUORICE LENTIL BEANS CHICK-PEA SOY PEANUTS BROAD BEANS LIQUORICE	<b>PEACH</b>	APPLE ALMOND STRAWBERRY CHERRY APRICOT PLUM PEAR APPLE PEACH
<b>WHOLE-WHEAT</b>	OAT BUCKWHEAT CORN MILLER BARLEY SEGAL FLOWER-WHEAT SPELT RICE	<b>OLIVE TUNA</b>	SWORDFISH BASS HERRING COD TROUT SALMON	<b>ALMOND</b>	STRAWBERRY CHERRY APRICOT PLUM PEAR
<b>YEAST</b>	MUSHROOMS VINEGAR	<b>CRAYFISH</b>	SEA CRAYFISH (LOBSTER) CRUSTACEANS CRAB SHRIMPS	<b>WALNUT CHAMOMILE</b>	HAZEL-NUT ARTICHOKE LETTUCE SUNFLOWER CHICORY
<b>RICE</b>	OAT BUCKWHEAT CORN MILLER BARLEY SEGAL FLOWER-WHEAT WHOLE-WHEAT SPELT	<b>CARROT</b>	CELERY PARSLEY FENNEL ANISE CORIANDER	<b>BARLEY</b>	FLOWER-WHEAT WHOLE-WHEAT OAT BUCKWHEAT CORN MILLER SEGAL RICE SPELT
<b>CORN</b>	OAT BUCKWHEAT FLOWER-WHEAT WHOLE-WHEAT MILLER BARLEY SEGAL RICE SPELT	<b>COFFEE</b>	TEA COCOA COLA KARKADÉ MATÉ DOG-ROSE COFFEE COCOA COLA KARKADÉ MATÉ DOG-ROSE	<b>BUCKWHEAT</b>	FLOWER-WHEAT WHOLE-WHEAT OAT CORN MILLER SEGAL RICE SPELT BARLEY PEAS BEANS CHICK-PEA SOY PEANUTS BROAD BEANS LIQUORICE
<b>SOY</b>	LENTIL BEANS CHICK-PEA PEAS BROAD BEANS PEANUTS LIQUORICE	<b>TEA</b>	TEA COFFEE COLA KARKADÉ MATÉ DOG-ROSE	<b>LENTIL</b>	ONION LEEK SALMON HERRING COD TUNA BASS SWORD FISH
<b>MILK A.</b>	BEEF LAMB	<b>COCOA</b>	TEA COFFEE COLA KARKADÉ MATÉ DOG-ROSE ALMOND PEACH STRAWBERRY CHERRY APRICOT PLUM PEAR	<b>GARLIC</b>	ASPARAGUS LEEK
<b>MILK C.</b>	BEEF LAMB	<b>APPLE</b>	PEACH STRAWBERRY CHERRY APRICOT PLUM PEAR	<b>TROUT</b>	SALMON HERRING COD TUNA BASS SWORD FISH
<b>BEEF</b>	MILK A. MILK B. LAMB	<b>BANANA ORANGE</b>	BERGAMOT CEDAR LIME MANDARIN GRAPEFRUIT BERGAMOT CEDAR LIME ORANGE MANDARIN GRAPEFRUIT COCONUT DATE	<b>SALMON</b>	LEEK SALMON HERRING COD TUNA BASS SWORD FISH
<b>EGGS A.</b>	CHICKEN COCKEREL	<b>LEMON</b>	BERGAMOT CEDAR LIME ORANGE MANDARIN GRAPEFRUIT COCONUT DATE	<b>COD</b>	SALMON TUNA HERRING SWORDFISH BASS TROUT
<b>EGGS R.</b>	CHICKEN COCKEREL GUINEA FOWL	<b>PINEAPPLE</b>	RED CURRANT BLACK CURRANT GOOSEBERRY	<b>TURKEY ONION</b>	GARLIC ASPARAGUS LEEK
<b>CHICKEN</b>	EGGS A. EGGS R. COCKEREL GUINEA FOWL	<b>GRAPES</b>	RED CURRANT BLACK CURRANT GOOSEBERRY	<b>PEPPER</b>	TOMATO POTATO AUBERGINE CHILI PEPPER
<b>PORK RABBIT SUGAR</b>	BEETROOT SPINACH BEET	<b>STRAWBERRY</b>	APPLE ALMOND PEACH CHERRY APRICOT PLUM PEAR APPLE ALMOND PEACH STRAWBERRY APRICOT PLUM PEAR	<b>CAULIFLOWER</b>	SAVOY CABBAGE WATERCRESS MUSTARD TURNIP RADISH
<b>TOMATO</b>	POTATO EGG-PLANT PEPPER CHILI PEPPER	<b>CHERRY</b>	APPLE ALMOND PEACH STRAWBERRY APRICOT PLUM PEAR	<b>CHICORY</b>	ARTICHOKE CHAMOMILE SUNFLOWER LETTUCE CHICORY
<b>POTATO</b>	TOMATO EGG-PLANT PEPPER CHILI PEPPER				
<b>ARTICHOKE</b>	LETTUCE SUNFLOWER CHICORY CHAMOMILE CHICORY				
<b>BEANS</b>	LENTIL CHICK-PEA SOY				

## VANTAGGI E SVANTAGGI DEL CYTOTEST®

Nella diagnosi delle intolleranze alimentari l'utilizzo del Cytotest® permette di avvalersi di numerosi vantaggi che sono di seguito sintetizzati:

- è un test in vitro, non vi è quindi alcun rischio per il paziente;
- è molto rapido;
- i risultati non sono falsati dalla gravità o dalla molteplicità delle intolleranze del paziente;
- è molto sensibile e quindi in grado di rilevare intolleranze anche lievi;
- è economico se paragonato ad altre tecniche;
- è molto selettivo ed accurato e la risposta dà una positività per uno-due-tre alimenti per volta.

Gli svantaggi del Cytotest® sono sintetizzabili in tre punti fondamentali:

- la preparazione dei vetrini che compongono i kit è lunga e complessa;
- sono necessarie cellule vive, i campioni di sangue quindi devono essere utilizzati in tempo relativamente breve (72 ore circa);
- la lettura delle reazioni è soggettiva, dipende quindi dall'accuratezza del laboratorio e dalla bravura del tecnico. Per questa ragione la Cytodiagnostic s.r.l. fornisce i kit diagnostici per l'esecuzione del test solo a seguito di un training intensivo di un giorno con pratica di lettura di almeno 10 test e fornisce una consulenza continua sulla tecnica di lettura e sulla interpretazione dei risultati.

## ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF CYTOTEST®

The use of Cytotest® in the diagnosis of food intolerances allows to make use of several advantages, here summarised:

- a. it's a test in vitro, so there is any risk for the patient;
- b. it's rapid;
- c. results are not altered by the gravity or the variety of intolerances;
- d. it's very sensitive and it can point out even the slightest intolerances;
- e. it's economical if compared to other techniques;
- f. it's very selective and precise and it can give at the same time the positive-ness for one - two - three foods.

We can summarise Cytotest® disadvantages in three basic points:

- the preparation of the slides of the kit is long-lasting and complicated;
- it can be made only with alive cells and the samples of blood must be used in a quite short time (about 72 hours);
- the reading of cell's reactions is subjective; it depends on the laboratory accuracy and on the researcher's skills. This is the reason why the Cyto-diagnostic s.r.l. supplies the diagnostic kit for the execution of the test only after an intensive training of a day, practising the reading of 10 tests at least, and it gives continuous advice in the reading technique and interpretation of results.

## DIFFERENZA TRA ALLERGIA ED INTOLLERANZA

Il termine “allergia”, cioè altra reazione, venne usato per la prima volta nel 1906 da Clemens Von Pirquet, un medico viennese, specialista in pediatria.

Egli definì l’allergia come un’alterata capacità acquisita e specifica, di reagire a sostanze estranee alle cellule dell’organismo.

La reazione si esplica tramite l’azione del sistema immunitario, che rappresenta un vero e proprio sistema di difesa dell’organismo da tutti gli agenti esterni all’organismo stesso; tali agenti estranei possono essere: nocivi, quali microrganismi tipo virus, batteri ecc., o innoqui, quali, per esempio, le sostanze chimiche e alimentari.

Molto semplicemente, il sistema immunitario è composto da diversi tipi di leucociti quali linfociti macrofagi, granulociti neutrofili, monociti, tutte chiamate fagociti, in quanto deputate all’inglobamento di sostanze tossiche e alla loro successiva eliminazione; i linfociti si dividono in due gruppi: linfociti T e linfociti B.

A loro volta i linfociti T si suddividono in: soppressori, ausiliari e killer.

I linfociti B sono molto importanti per la loro capacità di produrre le immunoglobuline, sostanze chimiche dirette contro il corpo estraneo, dette anticorpi specifici, che possono difendere l’organismo in diverse patologie infettive e allergiche.

La risposta immunitaria si articola sotto molteplici aspetti al livello delle varie componenti cellulari, sia con un contatto diretto intercellulare, sia con la produzione di immunoglobuline.

Quando si presenta un’infezione da microrganismi, il sistema immunitario, di solito, conserva la memoria del corpo estraneo che ha provocato l’infezione; si costituisce così il fenomeno dell’immunità.

Questo complesso fenomeno si realizza attraverso tappe ben precise nelle quali, in breve, alcuni linfociti contattano il corpo estraneo (detto antigene), passano informazioni ad altre cellule deputate a produrre specifiche sostanze, chiamate anticorpi, che aggrediranno a loro volta gli antigeni.

Gli anticorpi o immunoglobuline sono di cinque tipi principali: le IgA, le IgM, le IgD, le IgG (e sottotipi) e le IgE.

L’azione difensiva, oltre che con la produzione di immunoglobuline, si verifica mediante la liberazione di mediatori chimici, quali, tra i più importanti, l’istamina, la serotonina, gli enzimi lisosomiali, i fattori chemiotattici, il fattore di aggregazione piastrinica.

Vi sono quattro tipi ben distinti di reazioni difensive del sistema immunitario:

## DIFFERENCE BETWEEN ALLERGY AND INTOLERANCE

The word “allergy”, that means “other reaction”, has been used for the first time in 1906 by Clemens Von Pirquet, a Viennese doctor, specialist in paediatrician.

He defined the allergy as an altered capacity to react to substances that are extraneous to the body cells.

The reaction is expressed by the action of the immunological system, which represents a real defensive system used by the human body against all the extraneous agents.

These extraneous agents can be harmful, as microorganisms like virus, bacteria, etc., or innocuous, as for example, chemical substances and foodstuff.

In brief, the immunological system is composed of different kind of cells, white corpuscles (macrophages lymphocytes, granulocytes neutrophils, monocytes), called phagocytes, because they're assigned to enclose toxic substances and then to eliminate them.

Lymphocytes are divided in two groups: lymphocytes T and lymphocytes B.

We divide lymphocyte T in: eliminators, auxiliary and killer.

Lymphocyte B are very important because they produce the immunoglobulins, chemical substances acting against foreign substances; they're called specific antibody and they protect the organism in different infectious and allergic diseases.

The immunologic response consists in various aspects, depending on the different cellular components, either with a direct contact, or with the production of immunoglobulins.

In presence of an infection caused by microorganisms, usually the immunological system keeps memory of the foreign body responsible of the infection; in this way we can explain the “immunity” phenomenon.

This complex event happens through precise laps: in brief, some lymphocytes contact the foreign body (called antigen) and they transmit information to others cells deputed of the producing of specific substances, called antibodies, which will attack the antigens.

There are 5 principal types of antibodies or immunoglobulins: IgA, IgM, IgD, IgG and IgE.

The defensive action happens, as well as producing the immunoglobulins, also with the liberation of chemical mediators, as histamine, serotonin, lysosomal enzymes, chemo tactical factor, the factor of blood platelet.

There are 4 different kinds of defensive reaction of the immunitary system:

### Tipo I

La reazione è mediata dalle IgE che vengono prodotte dopo l'esposizione agli allergeni. Queste immunoglobuline si legano alla superficie dei mastociti, dei granulociti e dei linfociti basofili presenti a livello dei tessuti.

Quando l'allergene entrerà nell'organismo e vi sarà il contatto con le IgE, avverrà la liberazione istantanea, da parte delle cellule, dei mediatori chimici sopra menzionati, primo fra tutti l'istamina, spesso responsabile delle reazioni allergiche propriamente dette: eritema, edema, prurito, bruciore a livello cutaneo.

### Tipo II

La reazione è mediata dalle IgM-IgG e dalle cellule, in questo caso i linfociti killer. In questa reazione l'organismo combatte microrganismi viventi mediante la produzione di immunoglobuline IgM e IgG, che aderiscono alla parete cellulare dell'ospite in modo che i linfociti killer lo possano riconoscere.

Questo tipo di reazione si verifica, talvolta per errore, anche verso i costituenti stessi dell'organismo; in questo caso avremo le malattie autoimmunitarie; lo stesso fenomeno si può osservare con l'assunzione di farmaci tossici.

### Tipo III

La reazione è mediata da immunocomplessi. In questa reazione si formano le immunoglobuline IgG e IgM contro antigeni "solubili" come, per esempio, le tossine batteriche, gli alimenti, le sostanze chimiche e naturali.

Le immunoglobuline prodotte si uniscono agli antigeni, attivando il complemento (serie di proteine presenti nel siero). Ciò attrarrà i fagociti che distruggeranno i corpi estranei.

### Tipo IV

La reazione è mediata dai linfociti T.

In questa reazione, che si sviluppa solitamente due o tre giorni dopo la comparsa della sostanza estranea, i linfociti T, citotossici, che sono stati sensibilizzati in precedenza, attaccano le cellule organiche infettate.

Questo tipo di reazione è quello che si presenta in caso di rigetto di organi trapiantati e di malattie degenerative; è detto anche immunoreazione ritardata.

Da quando si sono "scoperti" gli anticorpi IgE e si è visto chiaramente che molti sintomi allergici (rinite naso chiuso, congiuntivite occhi che lacrimano, asma, ecc.) sono correlati alla quantità di questi anticorpi nel sangue, si definiscono *malattie allergiche* solo quelle dove vi è una presenza elevata dei suddetti anticorpi. Questo è stato di estrema importanza per definire i meccanismi alla base dei vari processi allergici ma contemporaneamente ha escluso dalla definizione di allergia tutti quei fenomeni di intolleranza alimentare che implicano un coinvolgimento del sistema immunitario ma senza la produzione di anticorpi IgE.

### **Type I**

The reaction is intermediated by the IgE produced after the exposition to the allergens; immunoglobulins connect to the surface of mastocytes, granulocytes and lymphocytes basophils.

When the allergen enters in the organism and there's the contact with the IgE, the cells liberate instantaneously the chemical mediators, first of all the histamine, responsible of the allergic reactions, in the proper sense of the word.

### **Type II**

The reaction is intermediated by the IgM-IgG and by the cells, in this case the killer lymphocytes; in this kind of reaction the organism fights against alive micro-organisms thanks to the production of immunoglobulins IgM and IgG, that adhere to the cellular wall of the "guest cells", so that the killer lymphocytes can recognise them.

This kind of reaction happens, sometimes erroneously, also towards the constituent parts of the organism; in this case we have the auto-immunitary diseases. It's the same event we can observe with the assumption of toxic medicines.

### **Type III**

The reaction is intermediated by immuno-complexes. In this reaction are formed immunoglobulins IgG and IgM against "soluble" antigens as, for example, bacterial toxins, aliments, chemical and natural substances. Immunoglobulins produced combine to the antigens, starting the complement (sequence of the proteins present in the serum), and this attracts the phagocytes, which will destroy the foreign bodies.

### **Type IV**

In this kind of reaction lymphocytes T act as mediators; it usually happens two or three days after the appearance of the extraneous substance; lymphocytes T, cytotoxics, that have been previously sensitised, attack the organic cells infected.

This is the same kind of reaction that happens in case of rejection in transplant of organs and degenerative diseases; it's also called "retarded immunoreaction".

Since from the discovery of antibodies IgE and after have verified that many allergic symptoms (as rhinitis, stuffy nose, conjunctivitis, watering eyes, asthma, etc.) are related to the quantity of these antibodies in the blood, we define *allergic diseases* only those with a high presence of the antibodies above-mentioned.

This discovery is very important, either to define the mechanisms that regulate the allergic processes, or to exclude from the definition of allergy the food intolerance phenomenon that involve the immunological system, but without the production of antibodies IgE.

Quindi in conclusione si può parlare di *allergie alimentari* solo quando ritroviamo nel sangue un eccesso di immunoglobuline E (IgE) che in presenza della sostanza estranea (allergene) sia essa polline o polvere o alimento, si agganciano su alcuni tipi di globuli bianchi che liberano l'istamina che causerà infiammazione, gonfiore dei tessuti, ecc.

**Si parla di intolleranze alimentari, invece, quando non vi è la produzione di anticorpi IgE, quando le reazioni non sono immediate ma croniche, i disturbi infatti non sono in diretta relazione all'assunzione ma si possono verificare a distanza di tempo fino a 72 ore dopo, i sintomi e le malattie si possono sviluppare a carico di qualsiasi organo-apparato-sistema.**

Il meccanismo che causa lo scatenamento di queste manifestazioni si deve ricercare nell'alterata reazione del sistema immunitario, il sistema di difesa dell'organismo, che in presenza di alcuni alimenti li riconosce come dannosi ed estranei, e di conseguenza reagisce.

**Dobbiamo tenere presente alcuni punti fondamentali:**

- le Intolleranze Alimentari sono una reazione cronica ad alimenti assunti frequentemente (grano, latte, pomodoro, olivo, caffè e così via);
- il disturbo che provocano non è in relazione diretta all'assunzione ma può avvenire a distanza di tempo, anche fino a 72 ore dopo;
- si possono manifestare con sintomi e malattie a carico di qualsiasi organo-apparato-sistema;
- il fenomeno si può accompagnare a disturbi di assuefazione, dipendenza e relativa astinenza in caso di sospensione;
- i sintomi non sono proporzionali alla quantità dell'alimento intollerato introdotto, quindi non sono dose-dipendente, anche piccole quantità possono mantenere l'intolleranza;
- sono frequenti reazioni trasversali tra alimenti della stessa famiglia biologica o gruppo, quindi assumere alimenti collaterali vuol dire non disintossicare l'organismo e mantenere l'intolleranza;
- probabilmente sono dovute ad alterazioni del sistema immunitario (granulociti neutrofili - IgG 4 - interleukina 1) causate da agenti stressanti in genere, sostanze chimiche ed inquinanti.



In brief, we talk of *food allergies* only when we find in the blood a surplus of immunoglobulins E (IgE) that, in presence of the extraneous substance (allergen), pollen, dust or aliment, hook up some white corpuscles; they liberate the histamine that will cause inflammation, swelling of the tissue, etc.

**Instead, we talk of food intolerances when there is no production of antibodies IgE, when reactions are chronic and not immediate; in fact, diseases are not directly connected to the assumption, but they can even appear 72 hours after; symptoms and diseases can involve any organ-apparatus-system.**

The mechanism causing these symptoms is in the altered reaction of the immunological system, the system of defence of the body; in presence of some aliments, it recognises them as harmful and extraneous, and it react consequently.

**We have to remember some basic points:**

- **food Intolerances are a chronic reaction to foods frequently introduced (wheat, milk, tomato, olive, coffee and so on);**
- **they cause a disease that is not directly connected with the assumption, but it can appear in an interval of 72 hours after;**
- **they can appear with symptoms and diseases that involve any organ-apparatus-system;**
- **food intolerances can be accompanied by tolerance, dependence and abstinence in case of suspension;**
- **symptoms are not proportionate to the quantity of the toxic foods introduced; therefore they're not depending on the dose, even a little quantity can keep the intolerance;**
- **cross reactions can appear also in aliments belonging to the same biological family, so if the patient assumes collateral foods, he doesn't detoxicate the organism and he keeps the intolerance;**
- **food intolerances are probably caused by alterations of the immunological system (granulocytes neutrophils – IgG 4 – interleukin 1) caused by stressful agents, chemical and polluting substances.**

## MATERIALE OCCORRENTE

- Provetta con 0,5 ml di citrato di sodio al 3,8% (provette tempo di protrombina).
- Siringa da 5 ml.
- Centrifuga da 1000 a 2000 RPM con braccio oscillante o rotante.
- Micropipette da 200  $\mu$ l, da 50  $\mu$ l e da 2  $\mu$ l.
- Acqua distillata.
- Cuvette tipo EPPENDORF.
- Coprioggetti 18 x 18.
- Microscopio ottico con obiettivo 40 x.
- Guanti in lattice.

## PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il Cytotest® non è un test pasto/dipendente.

È controindicata l'assunzione di cortisonici nei 3 giorni precedenti al test. Gli antistaminici e le altre categorie di farmaci non alterano i risultati.

Si effettua un prelievo endovenoso di quantità compresa tra i 2 ed i 5 ml. Il sangue prelevato viene miscelato in una provetta con 0,5 ml di citrato di sodio al 3,8%. Se la quantità prelevata è inferiore ai 2 ml si consiglia di ridurre la quantità di citrato di sodio a 0,25 ml.

La miscela così ottenuta può essere centrifugata per 10 minuti ad una velocità variabile da 1000 a 2000 RPM o lasciata sieriare in frigo ad una temperatura compresa tra i 4 e gli 8 gradi C.

Il campione di sangue, conservato in frigo, deve essere analizzato entro 72 ore.

## REQUIRED MATERIALS

- Test-tube with 0.5 ml of sodium citrate 3.8%.
- 5 ml syringe with a 22G needle.
- Centrifuge from 1000 to 2000 RPM, with swinging or rotating arm.
- Micro pipette of 200  $\mu$ l, 50  $\mu$ l and 2  $\mu$ l.
- Distilled water.
- EPPENDORF Cuvette.
- Covers 18 x 18.
- Optical microscope with 40x objective.
- Examination gloves.

## SAMPLE PREPARATION

Cytotest<sup>®</sup> is not a meal depending test.

It is contra-indicated to take cortisone in the 3 days preceding the test; antihistaminic and other classes of medicines do not alter results.

We take an intravenous blood sample of a quantity from 2 to 5 ml and we mix it in a test-tube with 0.5 cc of sodium citrate 3.8%.

If the quantity of blood taken is lower than 2 ml we recommend reducing the sodium citrate to 0.25 cc; the mixture can be centrifuged for 10 minutes with a speed variable from 1000 to 2000 RPM or left in the refrigerator, at a temperature from 4 to 8 C°.

The sample of blood, kept in the refrigerator, must be analysed in 72 hours.

## LA LETTURA AL MICROSCOPIO

L'operatore che esegue il test deve seguire alcuni accorgimenti importanti:

1. Verificare che i leucociti sul controllo negativo (vetrino n. 0 - trattato nello stesso modo ma sul quale non è stato posto alcun allergene) non siano alterati.
2. Per ogni sostanza la lettura deve prevedere l'osservazione di più campi (5 - 8). Si può parlare di reazione positiva solo qualora l'osservazione evidenzi un danneggiamento cellulare con una frequenza superiore al 60-70% sia all'interno dello stesso campo e sia nella somma tra i campi osservati.

Qualora si riscontri un danneggiamento cellulare con una frequenza ampia su tutti i campi analizzati e relativamente a più di 5-6 sostanze che compongono la determinazione si può ipotizzare che:

- il prelievo sia stato eseguito precedentemente alle 72 ore;
- il montaggio del campione non sia stato eseguito in maniera corretta.

In questo caso il risultato del test non è attendibile. Ripetere il test utilizzando una nuova determinazione.

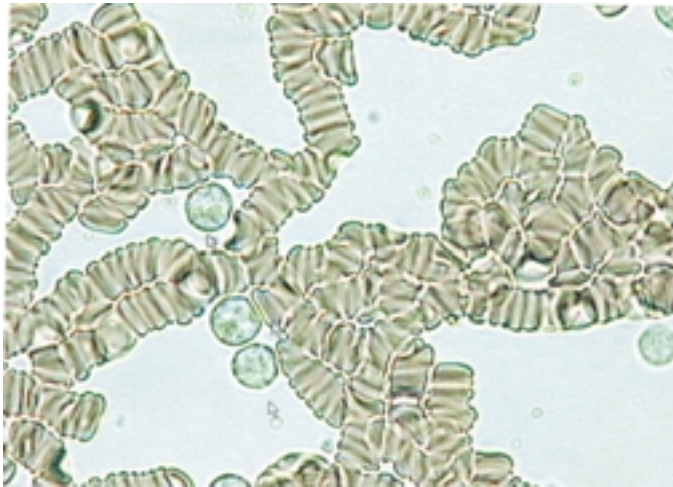
3. Qualora si riscontri una reazione positiva l'operatore deve poterla classificare in base al tipo di alterazione morfologica del leucocita.

## READING THROUGH THE MICROSCOPE

During the execution of the test, the operator has to follow some important advices:

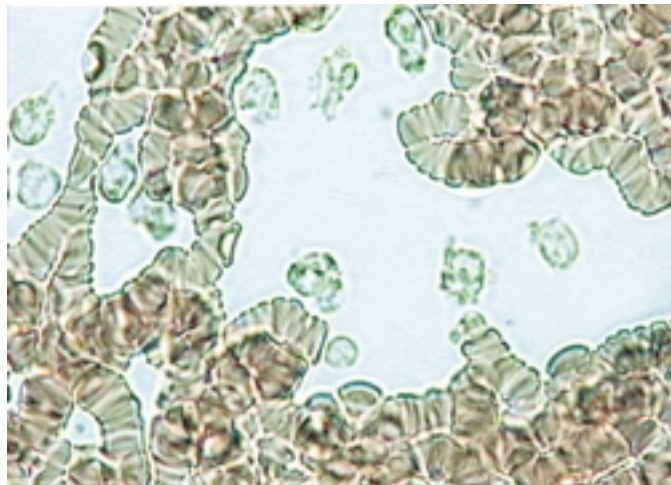
1. Check that leukocytes on the negative check (slide n° 0, without any allergen) are not altered;
2. The reading needs the observation of more fields (5-8) for each substance. We speak of positive reaction only when the observation reveals a cell damage with a frequency higher than 60%-70%, either in the same field or in the sum the analysed fields. If the cell damage has an higher frequency in all the analysed fields and with reference to more than 5 - 6 among the substances composing the kit, we can suppose that:
  - the blood test has been executed prior to the 72 hours.
  - the preparation of the slide was not done properly.In this case, results are not reliable.
3. In case of positive reaction the operator should classify it according to the morphological alteration of the leukocytes.

## GRADI DI REAZIONE



*1° grado di reazione:*

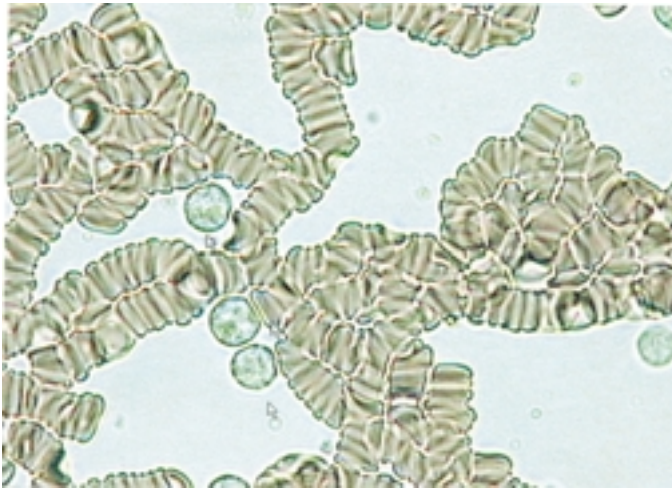
- *I leucociti non hanno assunto nessuna deformazione strutturale e morfologica*
- *Impilamento dei globuli rossi, normale*
- *Globuli rossi normocromici*
- *La membrana dei leucociti è ben conservata*



*2° grado di reazione: leucociti rigonfi*

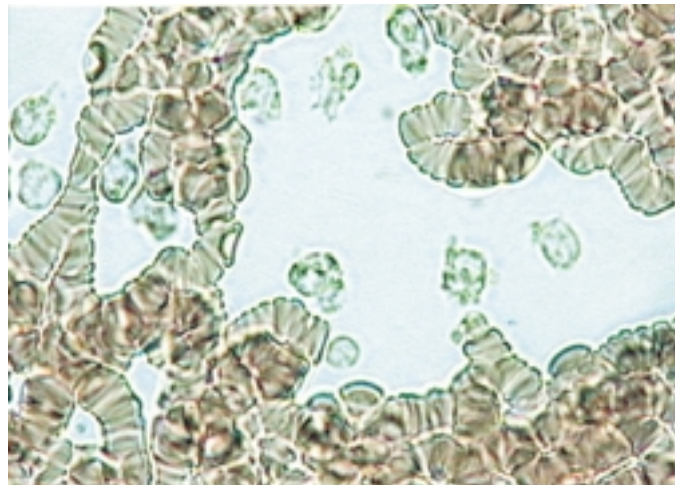
- *Impilamento dei globuli rossi normale*
- *Globuli rossi normocromici*
- *Leucociti vacuolizzati con leggera alterazione della membrana*

## GRADES OF REACTION



*1° degree reaction:*

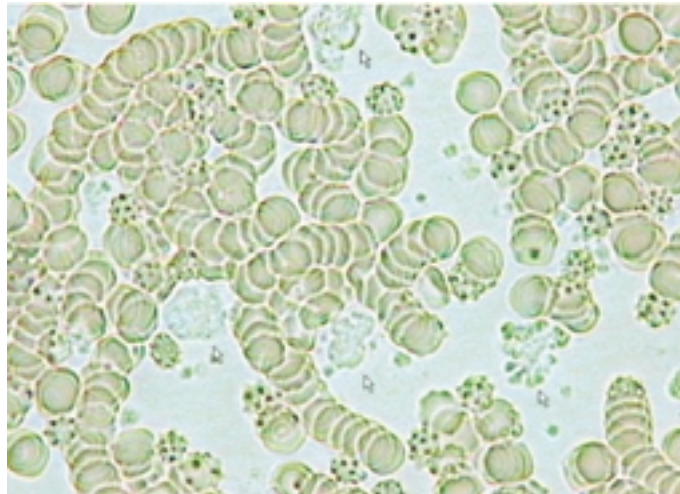
- *No modification in the leukocytes' structure*
- *Normal piling of the red blood cells (RBC)*
- *RBC normochromic*
- *The cells' membrane is well conserved*



*2° degree reaction: swollen leukocytes*

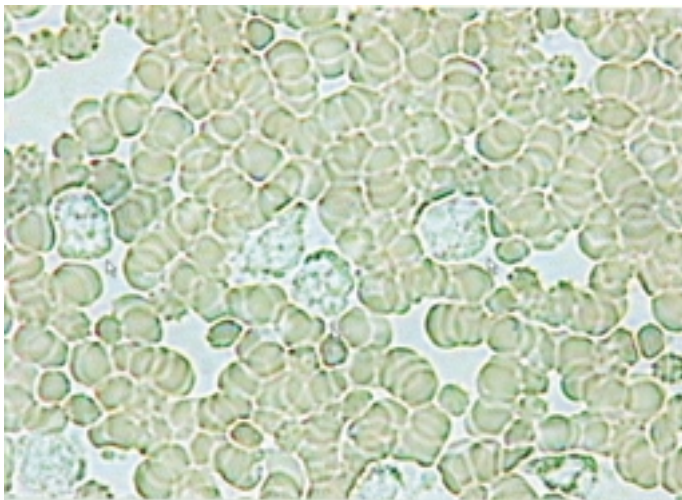
- *Normal piling of the RBC*
- *RBC normochromic*
- *Vacuoles and leukocytes with a light alteration of the membrane*





*3° grado di reazione: leucociti vacuolizzati*

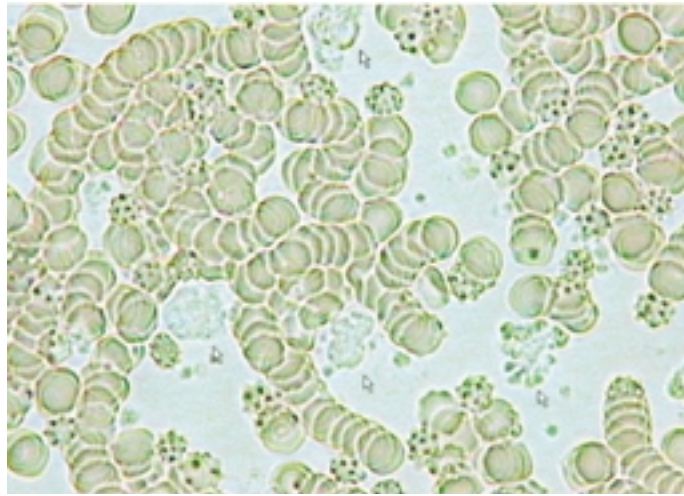
- *Non impilamento dei globuli rossi*
- *Globuli rossi tendenti all'ipocromia*
- *Leucociti vacuolizzati con una parziale rottura della membrana seguita da una perdita dei granuli citoplasmatici*



*4° grado di reazione: leucociti in disgregazione*

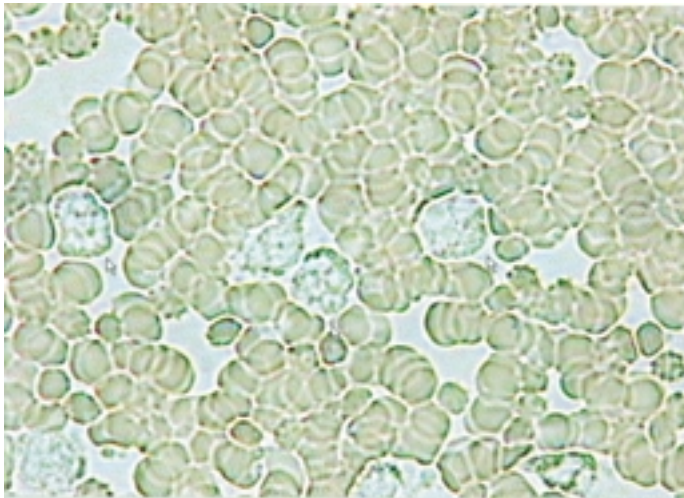
- *L'impilamento dei globuli rossi è sempre meno evidente*
- *I globuli rossi sono ipocromici*
- *I leucociti sono in disgregazione con una rottura totale della membrana*





*3° degree reaction: vacuoles in leukocytes*

- *No piling of the RBC*
- *RBC are hypochromic*
- *Vacuoles in leukocytes with a partial breaking of the membrane, followed from the loss of the cytoplasmic granules*



*4° degree reaction: disintegration of the leukocytes*

- *The piling of the RBC is less evident*
- *The RBC are hypochromic*
- *Disgregation of the leukocytes with the total breaking of the membrane*

## COMPOSIZIONE KIT 51 ALIMENTI (Cod. 5FHCT51)

La confezione commerciale è costituita da KIT contenente 5 determinazioni per intolleranze alimentari ognuna delle quali è composta da 17 vetrini contrassegnati da una etichetta che riporta il numero progressivo del vetrino (dall'1 al 17), il numero del lotto, e la marcatura CE.

Ai 17 vetrini con gli allergeni è stato aggiunto un vetrino n. 0, privo di allergeni, per il controllo negativo.

Su ogni vetrino sono stampati tre cerchi di vaselina nei cui centro è depositato l'allergene essiccato. Il totale delle sostanze che compongono ogni determinazione è di 51 (3 per vetrino).

Di seguito è riportato l'elenco dei vetrini e dei 51 allergeni depositati sui vetrini:

– Vetrino n. 0	Soluz. veicolante	Soluz. veicolante	Soluz. veicolante
– Vetrino n. 1	Grano	Grano controllo	Lievito
– Vetrino n. 2	Riso	Mais	Soia
– Vetrino n. 3	Latte	Latte controllo	Bovini
– Vetrino n. 4	Uova	Uova controllo	Pollo
– Vetrino n. 5	Maiale	Coniglio	Zucchero
– Vetrino n. 6	Pomodoro	Patata	Carciofo
– Vetrino n. 7	Fagioli	Piselli	Oliva
– Vetrino n. 8	Tonno	Gamberi	Carota
– Vetrino n. 9	Caffè	Thè	Cacao
– Vetrino n. 10	Mela	Banana	Arancio
– Vetrino n. 11	Limone	Ananas	Uva
– Vetrino n. 12	Fragola	Ciliegia	Pesca
– Vetrino n. 13	Mandorla	Noce	Camomilla
– Vetrino n. 14	Orzo	Grano saraceno	Lenticchie
– Vetrino n. 15	Aglio	Trota	Salmone
– Vetrino n. 16	Merluzzo	Tacchino	Cipolla
– Vetrino n. 17	Peperoni	Cavolfiore	Cicoria

## COMPOSITION OF THE 51 FOODS KIT (Code 5FHCT51)

The trade packaging of the kit for food intolerances is composed of 5 determinations, each of them containing 17 slides marked with a label with the number (from 1 to 17), the lot number and the CE mark. There is a n° 0 slide, without any allergen, to be used for the negative check.

Each slide is stamped with three vaseline rings and in the middle of them there is the food allergen; the substances composing the kit are 51 in all (3 for each slide).

Here is the list of the slides and of the 51 substances:

– Slide n. <b>0</b>	Vehicular solution	Vehicular solution	Vehicular solution
– Slide n. <b>1</b>	Wheat	Wheat check	Yeast
– Slide n. <b>2</b>	Rice	Corn	Soy
– Slide n. <b>3</b>	Milk	Milk check	Beef
– Slide n. <b>4</b>	Egg	Egg check	Chicken
– Slide n. <b>5</b>	Pork	Rabbit	Sugar
– Slide n. <b>6</b>	Tomato	Potato	Artichoke
– Slide n. <b>7</b>	Beans	Peas	Olive
– Slide n. <b>8</b>	Tuna	Shrimps	Carrot
– Slide n. <b>9</b>	Coffee	Tea	Cocoa
– Slide n. <b>10</b>	Apple	Banana	Orange
– Slide n. <b>11</b>	Lemon	Pineapple	Grapes
– Slide n. <b>12</b>	Strawberry	Cherry	Peach
– Slide n. <b>13</b>	Almond	Walnut	Chamomile
– Slide n. <b>14</b>	Barley	Buckwheat	Lentil
– Slide n. <b>15</b>	Garlic	Trout	Salmon
– Slide n. <b>16</b>	Codfish	Turkey	Onion
– Slide n. <b>17</b>	Pepper	Cauliflower	Chicory

## COMPOSIZIONE KIT 21 SOSTANZE CHIMICHE (Cod. 5AHCT21)

La confezione commerciale è costituita dal KIT contenente 5 determinazioni per l'intolleranza a sostanze chimiche, additivi, conservanti e coloranti delle sostanze alimentari, ognuna delle quali è composta da 7 vetrini contrassegnati da una etichetta che riporta il numero progressivo del vetrino (dall'1 al 7), il numero del lotto, e la marcatura CE.

Ai 7 vetrini con gli allergeni è stato aggiunto un vetrino n. 0, privo di allergeni, per il controllo negativo.

Su ogni vetrino sono stampati tre cerchi di vaselina nel cui centro è depositato l'allergene essiccato.

Il totale delle sostanze che compongono ogni determinazione è di 21 (3 per vetrino).

Di seguito è riportato l'elenco dei vetrini e dei 21 allergeni depositati sui vetrini:

– <b>Vetrino n. 0</b>	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante	Soluzione veicolante
– <b>Vetrino n. 1</b>	Glutine di grano	Acido acetil-salicilico	Acido L-ascorbico E300
– <b>Vetrino n. 2</b>	Potassio sorbato E202	Sodio benzoato E211	Paraossibenz. di metile E218
– <b>Vetrino n. 3</b>	Etilvanillina	Ammonio carbon. E503	Cremortartaro
– <b>Vetrino n. 4</b>	Lecitina di soia E322	Pirofosf. di sodio E450	Alginato di sodio E401
– <b>Vetrino n. 5</b>	Solfato di nichel	Tartrazina E102	Eritrosina E127
– <b>Vetrino n. 6</b>	Farina semi di carrube E410	Farina semi di guar E412	Pectina E440
– <b>Vetrino n. 7</b>	Lattosio	Sodio metabisolf. E223	Acido citrico E330

## COMPOSITION OF CHEMICAL SUBSTANCES KIT (Code 5AHCT21)

The kit containing 5 determinations for intolerance to chemical substances, additives, preservatives and colourings, composes the trade packaging.

A determination is composed of 7 slides marked by a label with the name, the numbers from 1 to 7, the lot number and the CE, mark.

There is also a n° 0 slide, without any allergen, for the negative check.

Each slide is stamped with three vaseline rings and it contains in the middle the dried allergen; the total number of substances for each determination is 21 (3 for each slide).

Here follows the list of slides and allergens:

– <b>Slide n. 0</b>	Vehicular solution	Vehicular solution	Vehicular solution
– <b>Slide n. 1</b>	Wheat gluten	Acetylsalicylic acid	L-ascorbic acid E 300
– <b>Slide n. 2</b>	Potassium Sorbate E202	Sodium Benzoate E211	Methyl Paraossibenz. E218
– <b>Slide n. 3</b>	Ethylvanilline	Ammonium Carbonate E 503	Cream of tartar
– <b>Slide n. 4</b>	Soy Lecithin E322	Sodium Pyrophosphate E450	Sodium Arginate E401
– <b>Slide n. 5</b>	Nickel Sulphate	Tartrazine E102	Erythrosine E127
– <b>Slide n. 6</b>	Carob Bean Flour E410	Guar Seed Flour E412	Pectin E 440
– <b>Slide n. 7</b>	Lactose	Metabisulphite Sodium E 223	Citric Acid E 330

## COMPOSIZIONE KIT 51 SOSTANZE ALIMENTARI E CHIMICHE (Cod. 5AFHCT51)

La confezione commerciale è costituita dal KIT contenente 5 determinazioni per intolleranze alimentari ognuna delle quali è composta da 17 vetrini contrassegnati da una etichetta che riporta il numero progressivo del vetrino (dall'1 al 17), il numero del lotto, e la marcatura CE.

Ai 17 vetrini con gli allergeni è stato aggiunto un vetrino n. 0, privo di allergeni, per il controllo negativo.

Su ogni vetrino sono stampati tre cerchi di vaselina nel cui centro è depositato l'allergene essiccato.

Il totale delle sostanze che compongono ogni determinazione è di 51 (3 per vetrino).

Di seguito è riportato l'elenco dei vetrini e dei 51 allergeni depositati sui vetrini:

– Vetrino n. 0	Soluz. veicolante	Soluz. veicolante	Soluz. veicolante
– Vetrino n. 1	Grano	Grano controllo	Lievito
– Vetrino n. 2	Riso	Mais	Soia
– Vetrino n. 3	Latte	Latte controllo	Bovino
– Vetrino n. 4	Uova	Uova controllo	Pollo
– Vetrino n. 5	Maiale	Coniglio	Zucchero
– Vetrino n. 6	Pomodoro	Patata	Carciofo
– Vetrino n. 7	Fagiolo	Pisello	Oliva
– Vetrino n. 8	Tonno	Gambero	Carota
– Vetrino n. 9	Caffè	The	Cacao
– Vetrino n. 10	Mela	Banana	Arancia
– Vetrino n. 11	Glutine di grano	Acido acetil-salicylico	Acido L-ascorbico E300
– Vetrino n. 12	Potassio sorb. E202	Sodio benz. E211	Paraossibenz. di metile E218
– Vetrino n. 13	Etilvanilina	Ammonio carbon. E503	Cremortartaro
– Vetrino n. 14	Lecitina di soia E322	Pirofosf. di sodio E450	Alginato di sodio E 401
– Vetrino n. 15	Solfato di nichel	Tartrazina E102	Eritrosina E127
– Vetrino n. 16	Farina semi carr. E410	Farina semi guar E412	Pectina E440
– Vetrino n. 17	Lattosio	Sodio metabisolfito E223	Acido citrico E330

## COMPOSITION OF 51 FOODS AND CHEMICAL SUBSTANCES KIT (Code 5AFHCT51)

The trade packaging is composed by a kit containing 5 determinations for food intolerances, each of them made of 17 slides marked by a label with the numbers (from 1 to 17), the number of the lot and the brand CE.

Each slide is marked with a number (from 1 to 17) placed on the top left side, the lot number, the expiration date and CE mark. The kit also includes a n° 0 slide, without any allergen, to be used for the negative check.

Each slide is marked with 3 vaseline rings and in the middle of them there are the dried allergens; each determination is composed by 51 substances in all (3 for each slide).

Here follows the list of the slides and their 51 allergens:

– Slide n. 0	Vehicular solution	Vehicular solution	Vehicular solution
– Slide n. 1	Wheat	Wheat check	Yeast
– Slide n. 2	Rice	Corn	Soy
– Slide n. 3	Milk	Milk check	Beef
– Slide n. 4	Egg	Egg check	Chicken
– Slide n. 5	Pork	Rabbit	Sugar
– Slide n. 6	Tomato	Potato	Artichoke
– Slide n. 7	Beans	Peas	Olive
– Slide n. 8	Tuna	Shrimps	Carrot
– Slide n. 9	Coffee	Tea	Cocoa
– Slide n. 10	Apple	Banana	Orange
– Slide n. 11	Wheat Gluten	Acetyl-Salicylic Acid	L-ascorbic Acid E300
– Slide n. 12	Potassium Sorbate E202	Sodium Benzoate E211	Methyl Paraossibenz. E218
– Slide n. 13	Ethylvanilline	Ammonium Carbonate	Cream of Tartar
– Slide n. 14	Soy Lecithin E322	Sodium Pyrophosphate E450	Sodium Alginate E401
– Slide n. 15	Nickel Sulphate	Tartrazine E102	Erythrosine E127
– Slide n. 16	Carob Bean Flour E410	Guar Seed Flour E412	Pectin E 440
– Slide n. 17	Lactose	Metabisulphite Sodium E 223	Citric Acid E 330

## COMPOSIZIONE KIT PER USO IN VETERINARIA SPECIFICO PER CANE-GATTO (Cod. 5DCCT29)

La confezione commerciale è composta dal KIT contenente 5 determinazioni per intolleranze alimentari in veterinaria ognuna delle quali è composta da 10 vetrini contrassegnati da una etichetta che riporta il numero progressivo del vetrino (dall'1 al 10), il numero del lotto e la marcatura CE.

Su ogni vetrino sono stampati tre cerchi di vaselina nel cui centro si trova l'allergene essiccato.

Il totale delle sostanze che compongono ogni determinazione è di 30 (3 per vetrino).

Il primo cerchio di vaselina del vetrino n. 1, privo di allergene, contiene la soluzione veicolante per il controllo negativo.

Di seguito è riportato l'elenco dei vetrini inseriti nel KIT e dei 29 allergeni depositati sui vetrini:

– <b>Vetrino n. 1</b>	Soluzione veicolante	Grano	Lievito
– <b>Vetrino n. 2</b>	Riso	Mais	Soia
– <b>Vetrino n. 3</b>	Latte	Bovino	Agnello
– <b>Vetrino n. 4</b>	Uova	Pollo	Tacchino
– <b>Vetrino n. 5</b>	Maiale	Coniglio	Equino
– <b>Vetrino n. 6</b>	Pomodoro	Patata	Oliva
– <b>Vetrino n. 7</b>	Tonno	Merluzzo	Salmone
– <b>Vetrino n. 8</b>	Trota	Barbabietola	Orzo
– <b>Vetrino n. 9</b>	Avena	Segale	Grano saraceno
– <b>Vetrino n. 10</b>	Potassio sorbato E202	Acido L-ascorbico	Eritrosina E127



## COMPOSITION KIT FOR FOOD INTOLERANCE IN VETERINARY SPECIFIC FOR DOG-CAT (Code 5DCCT29)

The trade packaging is composed by a kit containing 5 determinations for food intolerances in veterinary, each of them composed of 10 slides marked by a label with the numbers (from 1 to 10), the number of the lot and the brand CE.

Each slide is marked with 3 vaseline rings and in the middle of them there are the dried allergens.

Each determination is composed by 30 substances in all (3 for each slide). The first ring of the slide n° 1, without any allergen, contains the vehicular substance for the negative check.

Here follows the list of the slides and their 29 allergens:

– Slide n. 1	Vehicular solution	Wheat	Yeast
– Slide n. 2	Rice	Corn	Soy
– Slide n. 3	Milk	Beef	Lamb
– Slide n. 4	Egg	Chicken	Turkey
– Slide n. 5	Pork	Rabbit	Horse meat
– Slide n. 6	Tomato	Potato	Olive
– Slide n. 7	Tuna	Cod	Salmon
– Slide n. 8	Trout	Beetroot	Barley
– Slide n. 9	Oat	Rye	Buckwheat
– Slide n. 10	Potassium Sorbate E202	L-ascorbic Acid	Erythrosine E127

## COMPOSIZIONE KIT PER USO IN VETERINARIA SPECIFICO PER BOVINO-CAVALLO (Cod. 5CHCT29)

La confezione commerciale è composta dal KIT contenente 5 determinazioni per intolleranze alimentari in veterinaria ognuna delle quali è composta da 10 vetrini contrassegnati da una etichetta che riporta il numero progressivo del vetrino (dall'1 al 10), il numero del lotto e la marcatura CE.

Su ogni vetrino sono stampati tre cerchi di vaselina nel cui centro si trova l'allergene essiccato.

Il totale delle sostanze che compongono ogni determinazione è di 30 (3 per vetrino).

Il primo cerchio di vaselina del vetrino n. 1, privo di allergene, contiene la soluzione veicolante per il controllo negativo.

Di seguito è riportato l'elenco dei vetrini inseriti nel KIT e dei 29 allergeni depositati sui vetrini:

– Vetrino n. 1	Soluzione veicolante	Frumento	Lievito
– Vetrino n. 2	Riso	Mais	Soia
– Vetrino n. 3	Orzo	Avena	Segale
– Vetrino n. 4	Latte	Patata	Oliva
– Vetrino n. 5	Fava	Pisello	Girasole
– Vetrino n. 6	Carruba	Barbabietola	Carota
– Vetrino n. 7	Mela	Anice	Finocchio
– Vetrino n. 8	Lino	Cotone	Cicoria
– Vetrino n. 9	Erba medica	Trifoglio	Lupino
– Vetrino n. 10	Colza	Sorgo	Melassa

## COMPOSITION KIT FOR FOOD INTOLERANCE IN VETERINARY SPECIFIC FOR COW-HORSE (Code 5CHCT29)

The trade packaging is composed by a kit containing 5 determinations for food intolerances in veterinary, each of them composed of 10 slides marked by a label with the numbers (from 1 to 10), the number of the lot and the brand CE.

Each slide is marked with 3 vaseline rings and in the middle of them there are the dried allergens.

Each determination is composed by 30 substances in all (3 for each slide).

The first ring of the slide n° 1, without any allergen, contains the vehicular substance for the negative check.

Here follows the list of the slides and their 29 allergens:

– Slide n. 1	Vehicular solution	Wheat	Yeast
– Slide n. 2	Rice	Corn	Soy
– Slide n. 3	Barley	Oat	Rye
– Slide n. 4	Milk	Potato	Olive
– Slide n. 5	Broadbean	Peas	Sunflower
– Slide n. 6	Carob	Beetroot	Carrot
– Slide n. 7	Apple	Anise	Fennel
– Slide n. 8	Flax	Cotton	Chicory
– Slide n. 9	Herbs	Clover	Lupin
– Slide n. 10	Colza	Sorghum	Treacle

## SPECIALI PRECAUZIONI

### CONSERVAZIONE

Il KIT deve essere conservato ad una temperatura compresa fra 5 e 40°C.

E' importante tenere il kit lontano da fonti di calore che potrebbero sciogliere la vaselina.

Allo scopo di prevenire la contaminazione batterica del vetrino, che comporterebbe una maggiore difficoltà nella interpretazione della reazione degli allergeni, tenere i vetrini nella scatola che li contiene fino al loro utilizzo e maneggiarli con attenzione durante il test.

Deporre i vetrini sugli appositi vassoi portavetrini facendo attenzione a toccarli solo sulle estremità.

Depositi di polvere che si dovessero formare sulla superficie del vetrino potrebbero impedire la giusta aderenza del vetrino coprioggetto. Qualora ciò si verificasse, sollevare il vetrino coprioggetto, rimuovere il deposito o granello con un ago e riposizionarlo.

### SMALTIMENTO

Al termine del test il materiale utilizzato deve essere smaltito in conformità alle norme vigenti applicabili in materia di smaltimento dei rifiuti prodotti dal settore sanitario.

### SCADENZA

La data di scadenza (anno-mese) è riportata col simbolo grafico, sull'etichetta di ciascuna confezione commerciale e si riferisce al prodotto conservato secondo le modalità di cui al precedente punto.

Il KIT si considera scaduto 2 anni dopo la data di fabbricazione (vedi "Utilizzare entro" sull'etichetta) e/o se il KIT risulta essere stato conservato ad una temperatura fuori dai limiti indicati.

Il KIT scaduto non deve essere utilizzato.

## INFORMAZIONI PER I CENTRI CHE VOGLIONO UTILIZZARE LA METODICA DEL CYTOTEST®

### TEST EFFETTUATO IN SERVICE

Per effettuare il test sono necessari 2-5 ml. di sangue intero con 0,5 ml di citrato di sodio al 3,8%.

Il campione deve essere consegnato entro 48 ore presso il laboratorio di vostra scelta.

## **SPECIAL PRECAUTIONS**

### **PRESERVATION**

The kit must be preserved at a temperature from 5 and 40°C.

It is important to keep the kit away from heat, because vaseline could melt.

Keep the slides in their containers until they are used and handle them carefully, in order to avoid a bacterial contamination.

Put the slides on the laboratory special trays, paying attention to touch them only on borders.

Deposits of dust on the surface of the slides interfere with the correct adherence of the cover slide.

In this case, just pick up the cover slide, remove the deposit with a needle and then re-arrange it.

### **DISCHARGE**

After the execution of the test, materials must be discharged in accordance with the laws in force on the matter of the discharge of medical supplies.

### **EXPIRY DATE**

Expiry date is indicated with the graphic symbol on the label of each trade packaging and it is related to the product properly preserved.

The kit must be considered expired after two years from the manufacturing (see “To be used within” on the label) and if it has been preserved at a temperature exceeding the limits indicated.

Expired kit can't be reutilized.

## **INDICATIONS FOR CENTRES INTERESTED IN USING CYTOTEST®**

### **TEST ACHIEVED IN SERVICE**

We need 2-5 ml of blood mixed to 0.5 ml of sodium citrate at 3.8%.

The blood sample must reach the laboratory of your choice within 48 hours.

## TEST EFFETTUATO PRESSO I PROPRI LABORATORI

La Cytodiagnostic s.r.l. fornisce il know-how del Cytotest®:

- metodica per la lettura dei kit;
- training intensivo di un giorno (su prenotazione) con pratica di lettura al microscopio.

A seguito di tale corso viene rilasciato un attestato di partecipazione e l'autorizzazione ad eseguire il test:

- fornitura di dispense sulla metodica, bibliografia e foto illustrative dei gradi di reazione possibile riscontrabili al microscopio;
- fornitura di un CD-R con 100 immagini di possibili reazioni;
- consulenza continua tecnica e scientifica sulla lettura dei test e sulla interpretazione dei risultati.
- programma per la refertazione fornito con il primo ordine.

**L'acquisto dei kit diagnostici è riservato agli utilizzatori che avranno partecipato al corso teorico-pratico della metodica Cytotest®. Il corso di addestramento all'uso del kit diagnostico si rende necessario per evitare che un errato utilizzo del kit comprometta la validità risultato. I corsi sono organizzati a cura di Cytodiagnostic s.r.l., sono gratuiti e non comportano alcun obbligo di acquisto del kit.**

Cytodiagnostic s.r.l. si riserva di perseguire per legge qualsiasi speculazione commerciale e scientifica sul Cytotoxic Test®.

## **INDICATIONS FOR THE EXECUTION OF THE TEST AT ONE'S OWN LABORATORY**

Cytodiagnostic s.r.l. provides:

- the method for the reading of Cytotest®;
- training course (1 day) to teach the practical reading of results; after the course, Cytodiagnostic s.r.l. issues an attendance certificate and the authorization for the execution of the test;
- supply of scientific issues about the method, bibliography and pictures of the grade reactions;
- CD containing 100 images of the possible reactions;
- technical and scientific advice about the reading of test's results and their interpretation;
- program for archiving refertation.

**The sale of the kit is restricted only to people attending the training course. The practical training course for the use of the diagnostic kit is necessary for an optimal interpretation of the results of the test. The courses are arranged by Cytodiagnostic srl, they are free and it's not obligatory to buy the kit.**

Cytodiagnostic srl reserves the right to sue trade speculations of the Cytotoxic Test®.

## BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

- Albertini G.: *Protocollo diagnostico per i bambini che presentano lo "Spettro di disordini di tipo autistico*. 2002.
- Angrisano A.: *Esperienza preliminare con metodica Cytotest nelle intolleranze alimentari del bambino*. 2001.
- Bagnoli L., Mattei R., Paolini B., Vincenzi M.: *Utilizzo di un test d'intolleranza alimentare (Cytotoxic test) nella patologia da colon irritabile: risultati preliminari*. 2002.
- Bell I.: *Clinical Ecology*. Common K.P., Bolinas, 1982.
- Black A.P.: *A new diagnostic method of allergy disease*. Pediatrics 1956 17:716-724.
- Braly J.: *Food allergy and nutrition*. Keats, Connecticut, 1992.
- Bryan W.T.K., Bryan M.P.: *Cytotoxic reactions on the diagnosis of food allergy*. Laryngoscope 1969, 79:1453-1472.
- Bryan W.T.K., Bryan M.P.: *Diagnosis of food allergy by cytotoxic reactions*. Trans Am. Soc. Ophthalmol. Otolaryngol. Allerg. 1976; 15:14-23.
- Bryan W.T.K., Bryan M.P.: *The application of in vitro cytotoxic reaction to clinical diagnosis of food allergy*. Laryngoscope 1960; 70:810-824.
- Brostoff J.: Challacombe J., *Food Allergy*. Baillière Tindall, London 1987.
- Brostoff J.: Gamlin L., *Food Allergy and Intolerance*. Bloomsbury, London, 1989.
- Buist R.: *Food Intolerance*. Prisma, S. Leandro, 1984.
- Businco L.: *Allergia e Istologia immunoallergica*. Allergologica, Roma, 1983.
- Ceccarelli R.: *Ruolo delle intolleranze alimentari negli sport motoristici*. 2000.
- Cromwell H.W., Centeno J. A.: *The reaction of the white blood cells to specific precipitates*. Journal Immunology 1929 17:53.
- De Fulvio M.: *Intolleranze alimentari: l'esperienza pluriennale del Policlinico Militare Celio*. 2003.
- Dickey L. D.: *Clinical Ecology*. Charles C. Thomas, Illinois, 1976.
- Fennel P.G.S.: *Cytotoxic test for food intolerance*. The Lancet, April 30, 1983:989-990.
- Ferguson A.: *Food intolerance and allergy definitions and spectrum of clinical features*. Bibli. Nutr. Dieta 1991, 48:17-23.
- Giaccari S.: *Intolleranze alimentari nella patologia del colon irritabile*. 2001.
- Giaccari S.: *Intolleranze alimentari nella sindrome del colon irritabile e nell'obesità*. 2002.
- Giaccari S.: *Sindrome dell'intestino irritabile: approcci terapeutici a confronto*. 2003.
- Hill A.: *Against unsuspected Enemy*. New Orizon, Bognor Regis, 1980.
- Holopainen E., Palva T. et al.: *Cytotoxic leukocyte reactions*. Acta Otolaryngol 1980, 89:222-226
- Hughes B.C.: *Chemically defined diet in the diagnosis of food sensitivities*. trans. Am. Soc. Ophthalmol and otolaryngol Allergy 1977; 17:43-65.
- Jackson J.A., Riordan H.D., Neatherly S.: *Comparison of two cytotoxic food sensitivity tests* American Clinical Laboratory. March 1991, 20-21.
- La Bruna S.: *Presentazione di uno studio sulle alterazioni leucocitarie evidenziate comparando metodica citotossica e metodica analitica*. 2003.
- Lewith G.: Kenyon J., *Clinical Ecology*. Thorsons, Wellingborough, 1985.
- Lewith G.: Kenyon J., Dowson D., *Allergy and Intolerance*. Merlin Press, London 1992.
- Lombardi A.: *Intolleranza e metodica alimentare nella performance fisica*. 2000.
- Mackarness R.: *Non tutto è immaginazione*. Pan Books, London, 1976. Tradotto e stampato



- in Italia dallo Studio Medico Ecologia Clinica, Roma, 1988.
- Mandatori M., Rizzo C.: *Ecologia Clinica e Intolleranze Alimentari*. Tecniche Nuove, Milano, 1993.
- Mandatori M.: *Manuale delle allergie e intolleranze alimentari*. Tecniche Nuove, Milano, 1998.
- Mandatori M., Castaldi T.: *La dieta anti allergica*. Tecniche Nuove, Milano 2000.
- Mandatori M.: *La dieta metabolica*. Tecniche Nuove, Milano 2001.
- Mandatori M., Bettin A.: *Manuale della nutrizione olistica*. Tecniche Nuove, Milano 2002.
- Mandatori M.: *Quando l'ansia diventa panico*. 2000.
- Mandatori M.: *Reazioni avverse alimentari sindrome del colon irritabile*. 1999.
- Mandell M.: *Five Day Allergy*. Crowell, New York, 1979.
- Mazzuca Mari V.: *Importanza delle intolleranze alimentari nella steatosi epatica e nell'ipercolesterolemia*. 2003.
- Mazzuca Mari V.: *Malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) ed intolleranze alimentari*. 2002.
- Napoli G.: *Allergie alimentari a confronto in età pediatrica esperienze con metodica Cytotest presso la ASL 4 di Lavagna*. 2001.
- Napoli G.: *Otite sieromucosa ed allergie e/o intolleranze alimentari*. 2002.
- Omeomed: *Atti congressuali*. Nuova Ipsa, Palermo, 1997.
- Pedullà S., Strazzanti R., Sanfilippo G.: *Ruolo della idrocolonterapia in associazione ai probiotici nell'approccio terapeutico alle intolleranze alimentari*. 2003.
- Philpott W., Kalita D.: *Brain Allergies*. Keats, New Canaan, 1980.
- Podleski W.K.: Cytodestructive mechanisms provoked by food antisens allergy 1985, 40-166-172.
- Posabella G.: *Intolleranze alimentari*: 2001.
- Randolph G., Moss W.: *An Alternative Approach to Allergy*. Lippincott & Crowell, New York, 1980.
- Randolph T.G., Rawling F.F.A.: *Blood studies in allergy: variations of total leukocytes following test feeding of foods; an appraisal food test*. Ann Allergy 1946.
- Rapp D.: *The Impossible Child*. P.A.R.F., Buffalo, 1986.
- Rizzo C.: *Autismo come disordine metabolico*. 2002.
- Romiti A.: *Le intolleranze alimentari in alcune artroreumopatie*. 2002.
- Saben: *Atti congressuali*. Tecniche Nuove, Milano, 1998.
- Selye H.: *The Stress of Life*. Mc Graw Hill, New York, 1984.
- Sinkovics J., Horvath J.: *Cytotoxic Human lymphocytes; from in vitro testing to immunotherapy*. Acta microbiologica hongarica 1993, 40(3):165-79.
- Squier T.L., Lee H.J.: *Lysis in vitro of sensitized leukocytes by ragweed antigen*. Allergy 1947, 18:156-163.
- Stromp M.A.: *The beauty of the cytotoxic test*. Preventative Medicine Forum Fall 1981.
- Ulett G.A., Penry S.G.: *Cytotoxic food testing and leucocytes increase as an index to food sensitivity*. Ann Allergy 1974; 33:23-32.
- Updegraff T.R.: *Food Allergy and Cytotoxic tests*. Trans Am. Soc. Ophthalmol and otolaryngol Allergy 1977, 16:48-64.
- Watana J.C., Craig R.G., Hanks C.T.: *Precision of new methods for testing alloy cytotoxicity*. Dental materials. Jan 1992; 8(1):65-70.
- West W.G.: *Food sensitivities through the cytotoxic test*. The Bion 1981.





