

**BIOHIT HealthCare**

Innovating for Health

## **GastroPanel<sup>®</sup>** ***Helicobacter pylori***

Sada ELISA pro detekci lidských protilátek IgG proti *H. pylori* v plazmě s EDTA jako součást soupravy GastroPanel

### **POKYNY K POUŽITÍ**

**GastroPanel<sup>®</sup>**

Product Family  
606 400

**REF** 606 040






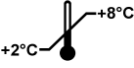










**IVD**

**CE**

For *in vitro* diagnostic use  
Store at 2-8 °C upon receipt

**Biohit Oyj** Laippatie 1, FI-00880 Helsinki, Finland  
Tel. +358 9 773 861, info@biohit.fi, www.biohithealthcare.com

## VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ POUŽITÝCH NA ŠTÍTCÍCH

	Česky
	Pro diagnostické použití <i>in vitro</i>
	Katalogové číslo
	Kód šarže
	Použít do
	Seznamte se s pokyny k použití
	Omezení při skladování Uchovávejte při teplotě +2...+8 °C
	96 stanovení
	Nepoužívejte opakovaně
	Značka CE
	Koncentrát promývacího pufu (10x)
	Pufr k ředění vzorků
	Kalibrátor
	Kontrola
	Konjugát
	Substrát
	Zastavovací roztok

**Poznámka!** Další jazyky jsou k dispozici na [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)**GastroPanel<sup>®</sup> *Helicobacter pylori*****Kat. č. 606 040**

1. ÚVOD K SOUPRAVĚ GASTROPANEL <sup>®</sup> .....	5
2. HELICOBACTER PYLORI JAKO SOUČÁST SOUPRAVY GASTROPANEL <sup>®</sup> .....	7
3. URČENÉ POUŽITÍ.....	7
4. ZÁKLADNÍ INFORMACE O PROTILÁTKÁCH IgG PROTI HELICOBACTER PYLORI.....	7
5. PRINCIP TESTU.....	8
6. VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ .....	8
7. SLEDOVATELNOST HODNOT .....	8
8. OBSAH SOUPRAVY, PŘÍPRAVA REAGENCIÍ A STABILITA DODANÝCH MATERIÁLŮ .....	9
8.1. Mikrotitrační destička .....	9
8.2. Koncentrát promývacího pufru (10x) .....	9
8.3. Pufr k ředění vzorků.....	9
8.4. Kalibrátory.....	9
8.5. Kontrola .....	9
8.6. Konjugát.....	9
8.7. Roztok substrátu.....	9
8.8. Zastavovací roztok.....	10
8.9. Inkubační kryty.....	10
8.10. Pokyny k použití.....	10
9. ODBĚR VZORKŮ A MANIPULACE S NIMI .....	10
9.1. Zmrazení vzorku .....	10
9.2. Stimulace gastrinu-17 .....	10
10. POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ SE NEDODÁVAJÍ .....	10
10.1 Ruční metoda .....	10
10.2 Automaty.....	11
11. UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA.....	11
12. PROVEDENÍ TESTU .....	11
12.1. Ruční metoda .....	12
12.2. Automatická metoda .....	14
13. VÝSLEDKY .....	14
13.1. Hodnoty kontrol kvality.....	14
13.2. Výpočet výsledků.....	14
13.3. Interpretace výsledků.....	15
13.4. Biologický referenční interval .....	15

14. OMEZENÍ POSTUPU .....	15
15. ANALYTICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU .....	15
16. DIAGNOSTICKÉ CHARAKTERISTIKY .....	17
17. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ STANOVENÍ GASTROPANEL® .....	17
17.1. Zdravý žaludek .....	17
17.2. Nadměrné vylučování kyseliny v žaludku .....	18
17.3. Snížené vylučování kyseliny např. v důsledku užívání inhibitoru protonové pumpy (PPI) .....	18
17.4. Povrchová (neatrofická) gastritida související s <i>Helicobacter pylori</i> .....	18
17.5. Atrofická gastritida těla žaludku .....	19
17.6. Atrofická gastritida antra žaludku .....	19
17.7. Atrofická gastritida antra a těla žaludku .....	19
17.8. Podávání léků ze skupiny PPI .....	19
18. LITERATURA .....	23
19. DATUM VYDÁNÍ .....	26
20. ZÁRUKA .....	26
21. INFORMACE O OBJEDNÁVÁNÍ .....	26
POZNÁMKY .....	27
22. STRUČNÝ PŘEHLED POSTUPU .....	28

## 1. ÚVOD K SOUPRAVĚ GASTROPANEL®

Souprava GastroPanel® je diagnostickým testem první linie na infekci *Helicobacter pylori* (*Hp*) (vyskytuje se u 5–80 % světové populace) a používá se k vyšetření všech pacientů s dyspepsií (20–40 % západní populace) i ke screeningu atrofické gastritidy (AG) se souvisejícími riziky, jako je karcinom žaludku a jícnu (1–3). Aτροφická gastritida rovněž zesiluje riziko malabsorpce vitamínu B12, železa, hořčíku, zinku, vápníku a některých léků. Souprava GastroPanel zahrnuje testy klíčových biomarkerů specifických pro žaludek, které jsou klíčovými regulátory normální žaludeční fyziologie. Tyto čtyři biomarkery zahrnují pepsinogen I (PGI), pepsinogen II (PGII), amidovaný gastrin-17 (G-17) a protilátky proti *Hp*, jejichž kombinace poskytuje informace o struktuře a funkci žaludeční sliznice (1–6). Nejdůležitější je, že tento panel poskytuje přesný odhad kapacity žaludečního těla a antra pro sekreci žaludeční kyseliny a G-17 a rovněž o důležitých žaludečních patologiích, jako je zánět, stupeň a topografie atrofické gastritidy (7–9), která může představovat zvýšené riziko rakoviny žaludku (1). Normální plazmatické hladiny všech čtyř biomarkerů znamenají, že žaludeční sliznice má normální strukturu a funkci, zatímco abnormální hladiny jsou známkou nezdravého žaludku a svědčí pro poruchy v mechanismech zpětné vazby mezi tvorbou kyseliny v těle žaludku, oběma PG a G-17. Pro vyšetření G-17 jsou k dispozici dvě možnosti: bazální hodnoty G-17 (G-17b) a hodnoty G-17 po stimulaci (G-17s), přičemž ty druhé jsou zvláště důležité pro rozlišení mezi funkční poruchou antra (normální hladiny G-17s) a AG v antru (G-17s se při AG nezvyšuje) (10,11).

GastroPanel je prvním neinvazivním diagnostickým testem zdraví žaludeční sliznice a je jedinečný v tom, že jeho výsledky interpretuje softwarová aplikace (GastroSoft) (<http://www.GastroPanel.com>), která byla specificky navržena pro tento účel. Výsledky vyšetření pomocí soupravy GastroPanel jsou zařazeny do jedné z pěti možných diagnostických kategorií morfologie žaludku: 1) normální sliznice, 2) povrchová nebo neatrofická gastritida (*Hp*), 3) AG těla, 4) AG antra a 5) AG antra i těla (pangastritida) (11,12). Souprava GastroPanel je optimalizována pro použití v kombinaci s aktualizovaným sydneyjským systémem pro klasifikaci gastritidy (Updated Sydney System, USS), který používá stejných pět diagnostických kategorií (13). Navíc používá tři další profily markerů specifické pro funkční poruchy žaludku, při nichž je morfologie normální (podrobnosti viz oddíl 17).

Souprava GastroPanel byla validována v několika velkých hodnoceních založených na biopticky potvrzených gastrokopiích (14,15), přičemž všechny byly zahrnuty do metaanalýzy subjektu (16). Tyto studie byly použity k vytvoření validovaných referenčních hodnot (hraničních, „cut-off“ hodnot) pro každý jednotlivý biomarker panelu tak, aby vzniklo pět histologických koncových bodů. Tyto studie také potvrzují vysokou přesnost soupravy GastroPanel při zjišťování nejdůležitějšího koncového bodu, středně závažné až těžké AG (14–16). Proto normální hodnoty PGI, PGII a jejich poměru (PGI/PGII) vylučují AG těla žaludku s negativní prediktivní hodnotou (NPV) přes 95 %. Naopak hodnoty PGI a PGII stejně jako jejich poměr pod stanovenými hraničními hodnotami svědčí pro přítomnost středně závažné až těžké AG při hodnotách plochy pod křivkou ROC (tj. AUC) vyšších než 0,950 v adekvátně mohutných sériích validovaných podle USS (1, 2, 3, 16, 17).

Stručně řečeno hladiny PGI se při AG žaludečního těla (a pangastritidě) snižují, ale za všech dalších podmínek zůstávají v normálním rozsahu. Zvýšené hladiny PGII jsou známkou zánětu sliznice, nejvyšší hodnoty byly spojeny s přítomností *Hp* bez AG. Hodnoty G-17b jsou nejvyšší při AG žaludečního těla z důvodu chybějící negativní zpětné vazby zprostředkované vytvářenou kyselinou při atrofii žaludečního těla, takže ve výsledku sekrece G-17b normální sliznicí antra není inhibována. Totéž platí pro situaci, kdy je vylučování kyseliny inhibováno dlouhodobým

užíváním léků ze skupiny inhibitorů protonové pumpy (PPI). Podle definice pokud je sliznice antra atrofická a G-buňky jsou vyčerpány, sekrece G-17 zůstává velmi nízká i po stimulaci proteiny (G-17s)(17).

Protilátky IgG proti *Hp* dodávají třem biomarkerům významnou přidanou diagnostickou hodnotu. Měření hladiny protilátek IgG proti *Hp* umí rozlišit dva potenciálně odlišné stavy: 1) probíhající infekci *Hp*, nebo 2) předchozí expozici *Hp*. Pokud je pozitivní *Hp* jediný abnormální marker, svědčí ve prospěch povrchové gastritidy (non-AG) související s *Hp*, zatímco při sdružení s abnormalitami ostatních tří markerů zvýšené hladiny protilátek proti *Hp* potvrzují diagnózu AG spojené s infekcí *Hp* (v antru nebo v těle) (1, 3, 18, 19).

#### **Test GastroPanel dokáže detekovat následující onemocnění:**

- 1) Infekce *H. pylori*, která je nezávislým rizikovým faktorem jak rakoviny žaludku, tak onemocnění peptickým vředem (žaludečním či duodenálním vředem).
- 2) Atrofická gastritida (AG) vyvolaná *H. pylori*, která je ve většině případů asymptomatická, s topografickým umístěním AG v žaludečním těle nebo antru. Kromě infekce *H. pylori* může AG v žaludečním těle a její klinické následky vzniknout také prostřednictvím autoimunitního mechanismu.
- 3) AG v těle žaludku, vedoucí k nízkému vylučování kyseliny nebo žaludeční achlorhydrii. Tím se zvyšuje riziko rakoviny žaludku nebo jícnu a rovněž malabsorpce vitamínu B12, vápníku, hořčíku a zinku. Navíc je při žaludeční achlorhydrii narušena absorpce některých léků, jako je dipyridamol, některé přípravky obsahující železo a protiplísňové léky (flukonazol, itraconazol), tyroxin a atazanovir. Nedostatek vápníku může způsobit osteoporózu a nedostatek vitamínu B12 může přispět k rozvoji megaloblastické anémie, Alzheimerově nemoci, demenci, depresi nebo periferním neuropatiím. Snížené vylučování kyseliny v žaludku může zvýšit riziko závažných infekcí gastrointestinálního a respiračního systému, včetně giardiázy, malárie, *Clostridium difficile*, *E. coli* EHEC – enterohemoragická *E. coli*) a pneumonie.
- 4) AG antra, která zvyšuje riziko onemocnění peptickým vředem a rakovinou žaludku. Současná přítomnost AG v těle a antru je jediným významným rizikovým faktorem rakoviny žaludku.
- 5) Infekce *H. pylori* také u subjektů s AG, lymfomem MALT nebo krvácejícím peptickým vředem, užívajícím PPI nebo antibiotika. V těchto případech jsou výsledky dechových testů s ureou 13C (urea breath tests, UBT) nebo testy na antigen *Hp* ve stolici často falešně negativní a infekce *H. pylori* (se všemi jejími následky) zůstává nezjištěna.
- 6) Nadměrné vylučování kyseliny žaludeční sliznicí, které predisponuje k onemocnění ezofageálním refluxem s potenciálními komplikacemi (ulcerativní ezofagitida, Barrettův jícen nebo rakovina dolní části jícnu).

AG, nadměrné vylučování žaludeční kyseliny a symptomatická infekce *H. pylori* jsou indikacemi pro gastrokopii.

Globálně zůstává rakovina žaludku třetí nejčastější příčinou úmrtí na rakovinu a žaludeční achlorhydrie je jejím nejdůležitějším rizikovým faktorem. Podle nedávno provedené metaanalýzy je chronické užívání PPI rovněž spojeno se zvýšeným rizikem rakoviny žaludku (20). Společnou příčinou obou těchto onemocnění je karcinogenní (třída I) acetaldehyd, který vzniká v achlorhydrickém žaludku (21). Karcinogenita acetaldehydu je nejlépe zdokumentována na jednom z modelů onemocnění u člověka, tj. u exponovaných osob s mutacemi metabolizujícího enzymu aldehyddehydrogenázy (ALDH), který jej metabolizuje a jehož mutace v některých populacích vykazují náhodnou distribuci (22). Tato informace je důležitá, protože odhalení této specifické karcinogenní látky umožňuje provést opatření, která sníží expozici horní části gastrointestinálního systému acetaldehydu jak na úrovni populace, tak na úrovni jednotlivce (23). Aby bylo možné dosáhnout této ochrany, doporučuje se, aby všechny subjekty s achlorhydrickým žaludkem, AG těla žaludku a subjekty pravidelně užívající

PPI užívaly přípravek Acetium tobolky, který mění karcinogenní acetaldehyd v žaludku na neškodnou sloučeninu a tím snižuje riziko rakoviny žaludku nebo jícnu ([www.acetium.com](http://www.acetium.com)).

Další podrobnosti o interpretaci výsledků vyšetření se soupravou GastroPanel naleznete v Tabulce 1 a na [www.gastropanel.com](http://www.gastropanel.com).

## 2. HELICOBACTER PYLORI JAKO SOUČÁST SOUPRAVY GASTROANEL®

GastroPanel je panel testů na principu kvantitativní enzymové imunoabsorpční analýzy (ELISA), který měří koncentraci čtyř biologických markerů struktury a funkce žaludeční sliznice v krevní plazmě: pepsinogenu I (PGI), pepsinogenu II (PGII), gastrinu-17 (G-17) a protilátek IgG proti *Helicobacter pylori*. Indikací pro použití soupravy GastroPanel je pomoc při diagnostice dospělých pacientů s příznaky (dyspeptickými) a screeningu asymptomatických subjektů za účelem zjištění skupin ohrožených rakovinou žaludku, tj. osob s 1) infekcí *H. pylori* 2) atrofickou gastritidou (AG). PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*

## 3. URČENÉ POUŽITÍ

Test *Helicobacter pylori* ze soupravy GastroPanel je test na principu kvantitativní enzymové imunoabsorpční analýzy (ELISA), který slouží ke kvantitativní detekci lidských protilátek ze třídy IgG proti *Helicobacter pylori* v plazmě s EDTA. Tento test je určen pro diagnostiku infekce *Helicobacter pylori* u dospělých pacientů s horními abdominálními symptomy (dyspepsií). Tato sada se používá jako součást soupravy GastroPanel. PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ *IN VITRO*.

## 4. ZÁKLADNÍ INFORMACE O PROTILÁTKÁCH IgG PROTI HELICOBACTER PYLORI

Infekce bakterií *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) je nejvýznamnější příčinou chronické gastritidy vedoucí k atrofii sliznice, tj. k atrofické gastritidě (AG). Vzácnější příčinou AG je autoimunitní mechanismus (24, 25). Tento test na principu ELISA je určen pro diagnostiku infekce *H. pylori* ve vzorku plazmy, založenou na detekci protilátek třídy IgG.

*H. pylori* je gram-negativní bakterie spirálovitého tvaru, která kolonizuje lidský žaludek. Tento organismus se vyskytuje v mukózní vrstvě pokrývající žaludeční epitel a rovněž v mukózních žlázách, ale nezdá se, že by pronikal do epitelálních buněk. Sliznice pod oblastmi kolonizovanými *H. pylori* a obklopující tyto oblasti je však vždy postižena zánětem; toto onemocnění se nazývá chronická superficiální neboli neatrofická gastritida, a pokud není léčeno, celoživotně přetrvává (1). Bez dostatečné eradikace bakterií vede tento chronický zánětlivý proces k AG. AG naopak zvyšuje riziko peptické ulcerace a rakoviny žaludku, což jsou dva významné následky infekce *H. pylori* (26–29). Přítomnost protilátek proti kmenům *H. pylori* je spojena s rozvojem AG v těle žaludku (30). Epidemiologické známky svědčí o propojení mezi infekcí *H. pylori* a adenokarcinomem žaludku a lymfomem typu MALT (mucosa-associated lymphatic tissue) (18, 31, 32).

## 5. PRINCIP TESTU

Test GastroPanel *Helicobacter pylori* je založen na metodě sendvičové enzymové imunoabsorpční analýzy s částečně purifikovaným bakteriálním antigenem *H. pylori* adsorbovaným na mikrotitrační destičce a detekční protilátkou označenou křenovou peroxidázou (horseradish peroxidase, HRP).

Stanovení postupuje v následujících reakcích:

1. Částečně purifikovaný bakteriální antigen *H. pylori* navázaný na polystyrenový povrch jamek váže protilátky třídy IgG proti *H. pylori* přítomné ve vzorku.
2. Jamky se promyjí, aby se odstranil zbytek vzorku.
3. Monoklonální protilátka proti lidskému IgG konjugovaná s HRP se naváže na protilátky IgG proti *H. pylori*.
4. Jamky se promyjí a přidá se substrát, kterým je tetramethylbenzidin (TMB). Substrát je oxidován enzymem HRP, což vede ke tvorbě modrého koncového produktu.
5. Enzymová reakce se ukončí zastavovacím roztokem. Vzorky pozitivní na *H. pylori* změni barvu na žlutou při vypočítaných hodnotách > 30 EIU.

## 6. VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ

**Pro diagnostické použití *in vitro*.**

UPOZORNĚNÍ: Zacházejte se vzorky plazmy jako s potenciálně biologicky nebezpečným materiálem.

Všechny vzorky by měly být považovány za potenciálně kontaminované a mělo by se s nimi zacházet jako s infekčními. Viz publikace U. S. Department of Health and Human Services (Ministerstvo zdravotnictví a sociálních služeb USA), Bethesda, MD., USA, nazvaná Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích), 1999, 4. vydání (CDC/NIH) a č. (CDC) 88-8395, kde jsou uvedeny bezpečné laboratorní postupy pro různé nemoci, nebo jakékoli další místní či národní předpisy.

Tato sada obsahuje reagenty vyrobené z částí lidské krve. Zdrojové materiály obsažené v této sadě byly testovány na přítomnost protilátek proti hepatitidě B a C i na protilátky proti HIV a bylo zjištěno, že jsou negativní. Protože však žádná testovací metoda nemůže zaručit absolutní jistotu, že tyto patogeny nejsou přítomny, je nutné dodržovat všechna doporučená bezpečnostní opatření pro manipulaci s krevními deriváty.

Při manipulaci se vzorky pacientů vždy noste rukavice. K pipetování vždy používejte zařízení pro bezpečné pipetování. Nikdy nepipetujte ústy. Před provedením tohoto testu si vždy přečtěte všechny pokyny.

Komponenty obsahující činidlo ProClin mohou způsobovat alergické kožní reakce (viz bezpečnostní list). Roztoky obsahující ProClin likvidujte v souladu s místními předpisy o zacházení s odpady.

## 7. SLEDOVATELNOST HODNOT

Pro antigen *H. pylori* není k dispozici žádný mezinárodní referenční materiál. Hodnoty kalibrátorů a kontrol jsou vztaženy k interním vzorovým kalibrátorům společnosti Biohit.



## 8. OBSAH SOUPRAVY, PŘÍPRAVA REAGENCIÍ A STABILITA DODANÝCH MATERIÁLŮ

Reagencie dostačují pro 96 jamek a tři samostatné cykly. Reagencie ze sad z různých šarží se nemají směšovat.

### 8.1. Mikrotitrační destička

**Obsah:** 12 x 8 stripů v destičce, potažených částečně purifikovaným bakteriálním antigenem *H. pylori*.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti. Po použití stripy zlikvidujte.

### 8.2. Koncentrát promývacího pufru (10x)

**Obsah:** 120 ml 10x koncentrovaného fosfátem pufovaného fyziologického roztoku (pufru PBS) obsahujícího Tween 20 a 0,1% ProClin 300 jako konzervační látku.

**Příprava:** Naředte v poměru 1 ku 10 (např. 100 ml + 900 ml) destilovanou vodou a dobře promíchejte.

**Stabilita:** Koncentrát je stabilní do data použitelnosti. Naředěný roztok je stabilní po dobu dvou týdnů, pokud je uchováván v chladničce (při teplotě 2–8 °C).

### 8.3. Pufr k ředění vzorků

**Obsah:** 100 ml fosfátového pufru obsahujícího kasein, Tween 20, 0,1% ProClin 300 jako konzervační látku a červené barvivo.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti.

### 8.4. Kalibrátory

**Obsah:** Čtyři lahvičky obsahující 1,5 ml kalibrátoru IgG proti *H. pylori* na bázi lidského séra a 0,1% ProClin 300 jako konzervační látku. Hodnota EIU kalibrátoru specifická pro danou šarží je vytištěna na štítku na lahvičce.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti.

### 8.5. Kontrola

**Obsah:** Jedna lahvička obsahující 1,5 ml kontroly IgG proti *H. pylori* na bázi lidského séra a 0,1% ProClin 300 jako konzervační látku. Hodnota EIU kontrolního séra je uvedena na štítku na lahvičce.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti.

### 8.6. Konjugát

**Obsah:** 15 ml monoklonální protilátky proti lidskému IgG konjugované s HRP ve stabilizačním pufru s 0,02% methylisothiazolonem, 0,02% bromonitrodioxinem a 0,002% jinými aktivními isothiazolony jako konzervačními látkami.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti.

### 8.7. Roztok substrátu

**Obsah:** 15 ml tetramethylbenzidinu (TMB) ve vodném roztoku.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti. Chraňte před přímým světlem.

## 8.8. Zastavovací roztok

**Obsah:** 15 ml kyseliny sírové 0,1 mol/l.

**Příprava:** Připraveno k okamžitému použití.

**Stabilita:** Stabilní do data použitelnosti.

## 8.9. Inkubační kryty

Tři plastové kryty pro přikrytí mikrotitračních destičky během inkubace.

## 8.10. Pokyny k použití

Přiloženy ke každé sadě.

# 9. ODBĚR VZORKŮ A MANIPULACE S NIMI

Doporučuje se odebrat vzorek krve po lačnění přes noc (přibližně 10 hodin), nejméně však po 4 hodinách lačnění, do zkumavky s EDTA bez přídavných látek. Zkumavky s krví pro přípravu plazmy ihned promíchejte tak, že je 5–6krát převrátíte. Plazmu oddělte odstředěním, buď ihned, nebo nejpozději do 2 hodin (např. centrifuga StatSpin® Express 2, odstředování po dobu 2 minut při 4440 g; pokyny k oddělení plazmy najdete v návodu k použití centrifugy od výrobce).

Po oddělení plazmy přidejte ke vzorku GastroPanel Stabilizer (50 µl/1 ml plazmy; Biohit Oyj, GastroPanel Stabilizer, kat. čísla 606 050 a 606 051). Přidání stabilizátoru ke vzorku plazmy ihned po separaci umožňuje uchovávání vzorku po dobu 7 dnů v chladničce při teplotě 2–8 °C a 3 dnů při pokojové teplotě (20–25 °C).

### 9.1. Zmrazení vzorku

Ihned po separaci a přidání činidla GastroPanel Stabilizer vzorek zmrazte. Při dočasném skladování lze vzorky plazmy uchovávat zmrazené při teplotě -20 °C, avšak při dlouhodobém skladování přesahujícím dobu dvou týdnů musí být skladovány při teplotě -70 °C. Po rozmrazení vzorky důkladně promíchejte. Vzorky nesmí být opakovaně zmrazovány a rozmrazovány. Výrazně hemolyzované, lipemické nebo zakalené vzorky je nutno zlikvidovat.

### 9.2. Stimulace gastrinu-17

Pokud je potřebný postprandiální vzorek krve odebraný po stimulaci proteiny, je třeba, aby pacient po minimálně 4–10hodinovém lačnění vypil nápoj z proteinového prášku (Biohit Oyj, kat. č. 601 037 nebo 601 038). Za dvacet minut po vypití proteinového nápoje se odebere krev do zkumavky s EDTA.

# 10. POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ SE NEDODÁVAJÍ

## 10.1 Ruční metoda

Destilovaná nebo deionizovaná voda, mikropipety a jednorázové špičky pro přesné dávkování 10–1000 µl, pipety pro přesné dávkování 1–10 ml, 8kanálová pipeta pro dávkování 100 µl, odměrný válec na 1000 ml, třepačka Vortex pro ředění vzorků, zkumavky pro ředění vzorků, promývačka mikrotitračních destiček, papírové utěrky nebo absorpční papír, časovač, čtečka mikrotitračních destiček při vlnové délce 450 nm s vertikálním měřením (33), např. plastové zkumavky na odběry krve s EDTA pro plazmu, nádoba na ledovou vodní lázeň, třepačka destiček.

## 10.2 Automaty

Destilovaná nebo deionizovaná voda pro ředění promývacího pufru. Souprava GastroPanel umožňuje automatizaci. Další přístroje, vybavení ani spotřební materiál nejsou pro provádění analýz pomocí souprav GastroPanel na komerčně dostupných automatech ELISA se čtečkou mikrotitračních destiček s vertikálním měřením zapotřebí (33).

## 11. UCHOVÁVÁNÍ A STABILITA

Sadu GastroPanel *Helicobacter pylori* uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Sada uchovávaná při těchto teplotách je stabilní do data použitelnosti uvedeného na štítku na krabici a na štítku na každé jednotlivé komponentě soupravy. Chraňte soupravu před mrazem a nevystavujte vysokým teplotám ani neuchovávejte při teplotách nad 8 °C, pokud právě není používána. Roztok substrátu je citlivý na světlo. Mikrotitrační destička ani jednotlivé stripy se nesmí vyjmout z fóliového pouzdra, dokud nejsou vytemperovány na pokojovou teplotu (20–25 °C). Nepoužité stripy se musí vrátit do fóliového pouzdra, neprodyšně uzavřít a uskladnit při teplotě 2–8 °C.

Nepoužívejte reagentie po uplynutí data použitelnosti uvedeného na štítku. Nepoužívejte reagentie ze souprav s odlišnými čísly šarží ani je nenahrazujte reagentiemi ze souprav od jiných výrobců. Používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu. Komponenty soupravy jsou dodávány s přesnými koncentracemi. Další ředění nebo jiné změny reagentií mohou vést k nesprávným výsledkům.

### Známky zhoršené kvality souprav

Tekuté komponenty by neměly být viditelně zakalené ani by neměly obsahovat vysrážený materiál. Při teplotě 2–8 °C může koncentrát promývacího pufru částečně krystalizovat, krystaly se však rozpustí mícháním při pokojové teplotě (20–25 °C). Ředící pufr je mírně zakalený. Kalibrátory a kontrola se také mohou jevit mírně zakalené. Roztok substrátu by měl být bezbarvý nebo světle modrý. Jakákoli jiná barva je známkou zhoršené kvality roztoku substrátu.

## 12. PROVEDENÍ TESTU

### PŘEDBĚŽNÉ PŘÍPRAVY

Nechte všechny reagentie a mikrotitrační destičku vytemperovat na pokojovou teplotu (20–25 °C). Naředte koncentrát promývacího pufru v poměru 1 ku 10 (např. 100 ml + 900 ml) destilovanou vodou nebo deionizovanou vodou. Zmrazené vzorky je nutno rychle rozmrazit ve vodní lázni při pokojové teplotě za občasného míchání. Až budou téměř rozmrazené, vložte je do lázně s drceným ledem. **Než začnete, přečtěte si celý postup testu. Doporučuje se, aby kalibrátory a kontrola byly na destičkách použity duplicitně. Při každém provedení testu musí být použity kalibrátory a kontrola.**

**Těsně před použitím všechny reagentie dobře promíchejte.** Poznámka! Všechny inkubace musí být provedeny při teplotě 20–30 °C (= teplota okolí), nepřekračujte specifikovanou teplotu.

## 12.1. Ruční metoda

Před analýzou celé soupravy GastroPanel, která se provádí současně, postupujte podle pokynů ohledně ředění vzorků.

### KROK 1: ŘEDĚNÍ VZORKŮ

Pufr k ředění vzorků, promývací pufr, zastavovací roztok a substrát lze mezi sadami zaměňovat, pokud jsou ze stejné šarže. Všechny ostatní komponenty ze soupravy jsou specifické pro každou jednotlivou sadu.

Ředění vzorků ze soupravy GastroPanel

Ředění	Analyt
1:5	G-17
1:20	PGI
1,20	PGII
1:400	<i>H. pylori</i>

Pořídte tři samostatná ředění vzorku. Příklad ředění je uveden níže:

1. Postup pro zhotovení ředění na stanovení G-17: smíchaný vzorek plazmy s EDTA naředte v poměru 1:5 (např. 100 µl plazmy + 400 µl ředícího pufru). Promíchejte zkumavku.
2. Postup pro zhotovení ředění na stanovení PGI a PGII: dále naředte výše zmíněné ředění 1:5 v poměru 1:4, aby vzniklo ředění 1:20 (např. 180 µl naředěných v poměru 1:5 + 540 µl ředícího pufru). Promíchejte zkumavku.
3. Postup pro zhotovení ředění na stanovení *H. pylori*: dále naředte výše zmíněné ředění 1:20 v poměru 1:20, aby vzniklo ředění 1:400 (např. 20 µl naředěných v poměru 1:20 + 380 µl ředícího pufru). Promíchejte zkumavku.

### KROK 2: VZOREK

Promíchejte a napipetujte 100 µl roztoku blanku (roztoku pro slepé stanovení neboli BS pro G-17, PGI a PGII) nebo pufru k ředění vzorků (blank pro *H. pylori*), kalibrátorů, kontroly a naředěných vzorků do jamek mikrotitrační destičky (viz Obrázek 1 pro *H. pylori*, Obrázek 2 pro G-17 a Obrázek 3 pro PGI/PGII). Destičku můžete při inkubaci přikrýt inkubačním krytem, aby nedošlo k rozstříkávání. Inkubujte po dobu 60 minut při okolní teplotě za současného třepání (750 ot./min.). Poznámka: Doporučuje se nadávkovat vzorky do jamek na jedné destičce během 20 minut, aby nedocházelo k posunům hodnot testu v rámci destičky.

	1	2	3	4
<b>A</b>	Blank	Blank	Vzorek	Vzorek
<b>B</b>	CAL 1	CAL 1	atd.	atd.
<b>C</b>	CAL 2	CAL 2		
<b>D</b>	CAL 3	CAL 3		
<b>E</b>	CAL 4	CAL 4		
<b>F</b>	Kontrola	Kontrola		
<b>G</b>	Vzorek	Vzorek		
<b>H</b>	Vzorek	Vzorek		

Obrázek 1. Pořadí pipetování pro *H. pylori*

	1	2	3	4
<b>A</b>	BS (slepé)	BS (slepé)	atd.	atd.
<b>B</b>	CAL1	CAL1		
<b>C</b>	CAL2	CAL2		
<b>D</b>	CAL3	CAL3		
<b>E</b>	CAL4	CAL4		
<b>F</b>	Kontrola	Kontrola		
<b>G</b>	Vzorek	Vzorek		
<b>H</b>	Vzorek	Vzorek		

Obrázek 2. Pořadí pipetování pro G-17

	1	2	3	4
<b>A</b>	BS (slepé)	BS (slepé)	atd.	atd.
<b>B</b>	CAL1	CAL1		
<b>C</b>	CAL2	CAL2		
<b>D</b>	CAL3	CAL3		
<b>E</b>	Kontrola	Kontrola		
<b>F</b>	Vzorek	Vzorek		
<b>G</b>	Vzorek	Vzorek		
<b>H</b>	Vzorek	Vzorek		

Obrázek 3. Pořadí pipetování pro PGI a PGII

### KROK 3: PROMYTÍ

Promyjte stripy mikrodestičky 3 x 350 µl zředěného (1 ku 10) promývacího pufru a několikrát jemně poklepejte na obrácenou destičku na čistém papírovém ubrousku.

### KROK 4: KONJUGÁT

Poznámka! Každá jednotlivá sada má vlastní konjugát (nelze je zaměňovat). Napipetujte 100 µl roztoku konjugátu do vyprázdněných jamek mikrotitrační destičky 8kanálovou pipetou. Destičku můžete při inkubaci přikrýt inkubačním krytem. Inkubujte po dobu 60 minut při okolní teplotě za současného třepání (750 ot./min.).

### KROK 5: PROMYTÍ

Promyjte stripy mikrodestičky 3 x 350 µl zředěného (1 ku 10) promývacího pufru a několikrát jemně poklepejte na obrácenou destičku na čistém papírovém ubrousku.

### KROK 6: SUBSTRÁT

Napipetujte 100 µl roztoku substrátu do jamek mikrotitrační destičky 8kanálovou pipetou. Napipetováním roztoku substrátu do prvního stripu na mikrotitrační destičce začíná inkubace; pokračujte v inkubaci po dobu 30 minut při okolní teplotě. Během inkubace zabraňte expozici přímému slunečnímu světlu.

### KROK 7: ZASTAVENÍ REAKCE

Napipetujte 100 µl zastavovacího roztoku do jamek mikrotitrační destičky 8kanálovou pipetou.

### KROK 8: MĚŘENÍ VÝSLEDKŮ S POUŽITÍM VERTIKÁLNÍHO PRINCIPU

Změřte absorbanci v jamkách mikrotitrační destičky při 450 nm do 30 minut (33).

## 12.2. Automatická metoda

Souprava GastroPanel byla navržena pro automatizované stanovení. Jakmile byly vytvořeny protokoly specifické pro daný test a bylo ověřeno jejich použití, je výhodné používat soupravu GastroPanel na otevřeném automatu ELISA, který pracuje bez zásahu laboranta – šetří to zdroje, je to snadné a přátelské k uživateli, neboť to brání zdravotním komplikacím při dlouhodobém pipetování (RSI).

Jediným potřebným ručním krokem je naředění koncentráту promývacího pufru v poměru 1:10 před dalším cyklem. Celý proces stanovení, od naředění vzorků až po výpočet a nahlášení konečného výsledku, je od začátku až do konce proveden automaticky.

## 13. VÝSLEDKY

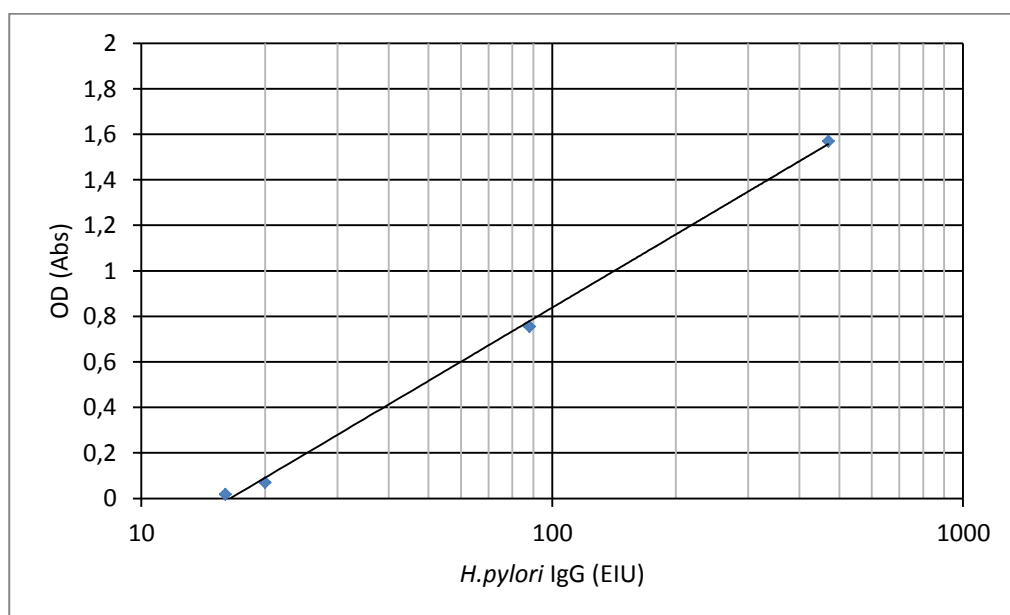
### 13.1. Hodnoty kontrol kvality

Podle správné laboratorní praxe je potřeba používat vhodné kontroly kvality, aby bylo jisté, že všechny reagentie a protokoly fungují tak, jak bylo určeno. Součástí sady GastroPanel *Helicobacter pylori* je kontrola. Údaje o kontrole kvality v rámci šarže z příslušné tabulky by měly být dodržovány a charakteristiky kontroly sledovány. Jinou možností je použít vhodné statistické metody pro analýzu hodnot interních laboratorních kontrol, které by měly spadat do příslušných intervalů spolehlivosti používaných jednotlivými laboratořemi. Aby bylo možné schválit výsledky, musí být dosaženo předpokládaných výsledků kontrol.

### 13.2. Výpočet výsledků

Naměřené hodnoty absorbance se převádějí na koncentrace imunologických jednotek (EIU) IgG proti *H. pylori* interpolací neznámých na optimálně proložené kalibrační křivce. Protože kalibrátory jsou připraveny k okamžitému použití, koncentrace vzorků pacientů se nenásobí faktorem ředění.

Odečtete průměrnou optickou hustotu (OD) blanku od hodnot OD pro všechny jamky. Vyneste do grafu průměrnou OD kalibrátorů proti jejich jednotlivým hodnotám EIU. Pro interpolaci neznámých koncentrací je vhodné logaritmické proložení. Typickou kalibrační křivku ukazuje Obrázek 4.



Obrázek 4. Příklad typické kalibrační křivky *H. pylori*.

Protože interpretace by měla být založena na všech markerech soupravy GastroPanel měřených na stejném vzorku pacienta, data testu je třeba shromáždit a analyzovat společně s doplňkovými informacemi z anamnézy, jako je užívání PPI a informace o eradikaci *H. pylori*.

Informace o interpretaci uvádí oddíl 17. Chcete-li interpretaci stanovení GastroPanel automatizovat, kontaktuje prosím společnost Biohit a požádejte o více informací o softwarových aplikacích a službách. Další informace jsou také k dispozici na produktových webových stránkách pro soupravu GastroPanel ([www.gastropanel.com](http://www.gastropanel.com)).

### 13.3. Interpretace výsledků

Negativní < 30 EIU

Pozitivní ≥ 30 EIU

Hodnota nižší než 30 EIU je známkou negativního výsledku, tj. svědčí pro nepřítomnost aktivní infekce *H. pylori*. Hodnota 30 EIU nebo více znamená, že byly zjištěny protilátky proti *H. pylori* a výsledek je pozitivní. Aby bylo možné tyto výsledky přijmout, musí být dosaženo očekávaných výsledků kontrol. Hraniční (cut-off) hodnoty byly stanoveny pomocí sady GastroPanel *Helicobacter pylori*. Pacientům, jejichž vzorky mají výsledky blížící se hraničním hodnotám, by se měl pokud možno s rozumným odstupem odebrat druhý vzorek. V klinických situacích, kde jsou hodnoty protilátek IgG proti *H. pylori* používány ke stanovení diagnózy, si každá laboratoř může stanovit vlastní rozsah očekávaných hodnot. Výsledky protilátek IgG proti *H. pylori* stanovených pro daný vzorek nebo pomocí testů od různých výrobců se navíc mohou lišit z důvodů rozdílů v metodách stanovení a specifičnosti reagií. Výsledky získané jinými metodami stanovení od jiných výrobců nelze považovat za zaměnitelné.

### 13.4. Biologický referenční interval

Hraniční (cut-off) hodnota je 30 EIU při referenčním intervalu < 30 EIU. Interval je založen na 7 000 finských subjektů (interní zpráva společnosti Biohit, nepublikovaná data).

U dalších osob vystavených *H. pylori* se vyvinou protilátky IgG proti tomuto organismu (25, 28, 29). Poměry protilátek proti *H. pylori* jsou věkově specifické a jsou podobné u mužů a žen. Prevalence infekce *H. pylori* je 30–40 % v USA, Kanadě a západní Evropě, přibližně 20 % v Austrálii a 70–90 % ve východní Evropě, Africe, Jižní Americe a Asii. Mnoho pacientů se zvýšenými hladinami protilátek proti *H. pylori* i přes kolonizaci *H. pylori* (15, 18) nemá příznaky. Proto hladiny protilátek nemusí nutně korelovat se závažností klinických symptomů.

## 14. OMEZENÍ POSTUPU

Stejně jako je tomu u jakéhokoli jiného diagnostického postupu, výsledky stanovení *Helicobacter pylori* pomocí soupravy GastroPanel musí být interpretovány společně s pacientovými klinickými údaji a veškerými dalšími informacemi, které jsou lékaři dostupné. Vzhledem ke dlouhému trvání (měsíce) rozkladu protilátek IgG v séru mohou být výsledky tohoto testu krátce po úspěšné eradikaci infekce *H. pylori* (falešně) pozitivní (*H. pylori* >30 EIU).

## 15. ANALYTICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU

Veškeré charakteristiky testu byly zjišťovány při pokojové teplotě (20–25 °C). Všechny vzorky byly analyzovány v jamkách mikrotitračních destiček duplicitně.

**Rozsah měření:**

Rozsah měření pro stanovení GastroPanel *Helicobacter pylori* je od 15 EIU do 670 EIU.

Bylo prokázáno, že opakovatelnost je  $\leq 10$  CV% při přesnosti v rámci stanovení  $\leq 20$  CV% a celkové chybě na úrovni LoQ  $\leq \pm 20$  %.

**Přesnost:**

Studie přesnosti byly provedeny podle směrnice CLSI EP5-A2. Panel složený ze sedmi vzorků plazmy s EDTA s různými hladinami koncentrací protilátek proti *H. pylori* – nízkou, střední a vysokou – byl analyzován v duplikátech během 20 provozních dnů (dva cykly za den, v každém cyklu dvě opakování od každého vzorku). Byly použity tři výrobní šarže, sedm operátorů a dva přístroje. Statistická analýza byla provedena podle směrnice CLSI EP5-A2 a byly stanoveny odhady opakovatelnosti (v rámci cyklu) a přesnosti v rámci laboratoře.

Přesnost při stanovení opakovatelnosti pro vzorky plazmy s EDTA byla v rozsahu 16,6 EIU až 669 EIU, směrodatné odchytky byly v rozsahu 0,59 EIU až 64,95 EIU a %CV byl v rozsahu 3,6 % až 9,8 %. Přesnost v rámci laboratoře pro vzorky plazmy s EDTA vykazovala rozsah směrodatné odchytky 0,89 EIU až 107,37 EIU a %CV byl v rozsahu 5,7 % až 16,5 %.

OPAKOVATELNOST					
Vzorek	Průměr (µg/l)	%CV	Celková SD	95% CI	n
1	16,6	3,60 %	0,59	0,485 až 0,756	80
2	22,9	3,70 %	0,85	0,695 až 1,084	80
3	38,2	5,10 %	1,96	1,605 až 2,502	78
4	72,6	6,10 %	4,42	3,626 až 5,651	78
5	133,5	7,80 %	10,36	8,505 až 13,255	78
6	261	9,80 %	25,6	21,018 až 32,756	80
7	669	9,70 %	64,95	53,322 až 83,099	78
V RÁMCI LABORATOŘE					
Vzorek	Průměr (µg/l)	%CV	Celková SD	95% CI	n
1	16,6	5,40 %	0,89	0,743 až 1,102	80
2	22,9	6,20 %	1,42	1,201 až 1,746	80
3	38,2	7,90 %	3,01	2,558 až 3,667	78
4	72,6	13,30 %	9,63	7,999 až 12,085	78
5	133,5	16,50 %	22,09	18,449 až 27,522	78
6	261	16,50 %	43,06	35,673 až 54,341	80
7	669	16,00 %	107,37	90,141 až 132,790	78

**Mez detekce a mez kvantifikace:**

Mez slepého stanovení (Limit of Blank, LoB) a mez detekce (Limit of Detection, LoD) pro stanovení *Helicobacter pylori* pomocí soupravy GastroPanel byly určeny podle směrnice CLSI EP17-S s podílem falešně pozitivních výsledků ( $\alpha$ ) méně než 5 % a falešně negativních výsledků ( $\beta$ ) méně než 5 % na základě 120 analýz 60 téměř slepých stanovení a 60 vzorků s nízkou hladinou analytu. Pro stanovení LoD byly použity čtyři vzorky plazmy s EDTA a sady ze tří šarží; pro stanovení LoB byl použit ředící pufr ze sady.



LoB byl stanoven na 13,1 EIU a LoD byl stanoven na 14,7 EIU.

Mez kvantifikace byla stanovena podle směrnice NCCLS EP17-S na základě 60 analýz čtyř vzorků plazmy s EDTA za použití sad ze tří šarží. Vzhledem k neexistenci referenční metody nebyl do výpočtů celkové chyby zahrnut odhad systematické chyby.

LoQ byl stanoven na 15,0 EIU při celkové chybě -10,7 % a CV% mezi měřeními 5,2 %.

#### **Interference:**

Byly hodnoceny interference při stanovení *Helicobacter pylori* pomocí soupravy GastroPanel podle směrnice CLSI EP07-A2. Bylo zjištěno, že systematické chyby způsobené hemoglobinem, nekonjugovaným bilirubinem, konjugovaným bilirubinem a triglyceridy v koncentracích 2 g/l, 5 mg/dl, 15 mg/dl a 500 mg/dl (v uvedeném pořadí) jsou při hladinách protilátek IgG proti *H. pylori* v plazmě přibližně 21 EIU a 70 EIU menší než 10 %. Tyto hodnoty jsou považovány za nevýznamnou interferenci. Výrazně hemolyzované, lipemické nebo zakalené vzorky je nutno zlikvidovat.

## **16. DIAGNOSTICKÉ CHARAKTERISTIKY**

Kohorta ověřovacího hodnocení zahrnovala 101 pacientů (71 žen a 30 mužů) kavkazského původu s gastroscopickým nálezem. Průměrný věk subjektů ve studii byl 50,1 roku, SD = 16,7 roku a rozsah byl 18–83 let.

Analýza ROC pro bioptickými vzorky potvrzený *H. pylori* podle testu GastroPanel *Helicobacter pylori* poskytla následující výsledek: AUC = 0,978 (95% CI 0,956–1,000). Nejlepší bilance senzitivity/specificity (SE/SP) je 90,8% SE a 88,6% SP, což odpovídá hraniční (cut-off) hodnotě 30 EIU.

## **17. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ STANOVENÍ GASTROPANEL®**

Souprava GastroPanel je optimalizována pro použití v kontextu aktualizovaného sydneyjského systému pro klasifikaci gastritidy (Updated Sydney System, USS). USS i software GastroSoft® používají pět diagnostických kategorií pro klasifikaci výsledků biopsie a panelu GastroPanel. Tyto kategorie jsou: 1) normální sliznice, 2) povrchová gastritida (*Hp*), 3) AG antra, 4) AG těla a 5) AG antra i těla (pangastritida) (13, 34, 35). Kromě těchto pěti kategorií souvisejících s žaludeční morfologií jsou v soupravě GastroPanel možné tři další profily markerů, které jsou specifické pro definované funkční poruchy s normální žaludeční morfologií. Všech osm diagnostických kategorií je uvedeno v Tabulce 1 a vysvětleno dále.

### **17.1. Zdravý žaludek**

Jestliže jsou všechny čtyři biomarkery v normálním referenčním rozsahu, žaludeční sliznice funguje normálně. Vzhledem k tomu, že funkce žaludeční sliznice kriticky závisí na specifických buňkách, které zodpovídají za vylučování kyseliny (parietální buňky), pepsinogenů (hlavní buňky) a G-17 (G-buňky), pro normální funkci této sliznice je nezbytná přítomnost těchto buněk v normálních množstvích (1, 3, 9, 11, 19). Funkce a struktura žaludeční sliznice spolu souvisejí a normální výsledek vyšetření pomocí soupravy GastroPanel je z definice známkou zdravého žaludku.

## 17.2. Nadměrné vylučování kyseliny v žaludku

Žaludeční kyselina (HCl) je vytvářena vysoce specializovanými parietálními buňkami žaludečního těla. Vylučování kyseliny je mimo jiné řízeno sekrecí G-17 v antru, což je výsledek pozitivní zpětné vazby stimulující vylučování kyseliny po jídle. Vylučování kyseliny s progresivně nižším pH v těle žaludku a prahová hodnota pH 2,5 spouští negativní zpětnou vazbu pro G-buňky antra, což jim signalizuje, že mají snížit vylučování G-17. Ve výsledku se vylučování G-17 snižuje paralelně s kyselým obsahem těla žaludku (1, 3, 14, 17). Jestliže z jakéhokoli důvodu zůstává vylučování kyseliny v těle žaludku abnormálně vysoké (kvůli jiným stimulačním mechanismům), konečným důsledkem je abnormálně nízké vylučování G-17b antrálními G-buňkami. Tento stav lze nejlépe diagnostikovat pomocí testovacího podávání PPI, při němž by se hladina G-17b měla normalizovat přibližně během dvou týdnů léčby. Za těchto okolností budou postprandiální (stimulované) hladiny G-17s v normálních limitech, protože G buňky jsou neporušené a jsou schopny sekrece G-17, pokud jsou dostatečně stimulovány (proteinový prášek, Biohit kat. č. 601038).

## 17.3. Snížené vylučování kyseliny např. v důsledku užívání inhibitoru protonové pumpy (PPI)

Výše zmíněná regulace funguje také v opačném směru. Pokud je vylučování kyseliny v těle žaludku sníženo (z jakéhokoli důvodu), pozitivní zpětná vazba vyvolá zvýšení sekrece G-17b v G buňkách antra, což povede ke zvýšeným hladinám G-17b v séru (3, 17). Dva stavy provázené nízkým vylučováním kyseliny jsou 1) AG v těle žaludku, a 2) dlouhodobé užívání léků ze skupiny PPI. První z nich je vyloučen normálními (nebo dokonce zvýšenými) hodnotami PGI, PGII a normální hodnotou poměru PGI/PGII, druhý lze diagnostikovat přerušením užívání PPI. V takovém případě by se měl antrální G-17b během dvou týdnů normalizovat (17.8).

## 17.4. Povrchová (neatrofická) gastritida související s *Helicobacter pylori*

Stejně jako všechny bakterie, *Helicobacter pylori* také vyvolává akutní zánět žaludeční sliznice, který obvykle začíná v antru (1, 3, 7, 13, 18, 36). V souvislosti s infekcí *Hp* se lze setkat se třemi různými profily markerů.

17.4a Při aktivní infekci *Hp* jsou hladiny protilátek proti *Hp* zvýšené, což může být jediným abnormálním nálezem soupravy GastroPanel a všechny ostatní markery mohou být v normálním rozsahu. Nezřídka však aktivní probíhající infekce *Hp* způsobí těžkou zánětlivou reakci, která vzhledem ke zvýšené permeabilitě buněk může vést ke zvýšenému úniku PGI, PGII a dokonce i G-17 z buněk a ke zvýšeným sérovým hladinám kteréhokoli nebo všech těchto tří biomarkerů v séru (3, 7, 36).

17.4b Úspěšná eradikace *Hp* aktivní léčbou by měla za několik týdnů až měsíců vést k normalizaci hodnot všech tří markerů. Hladina protilátek proti *Hp* může zůstat zvýšená po delší dobu, kterou nelze předvídat, a limitovat tak použitelnost soupravy GastroPanel jako přesného diagnostického testu ke kontrole eradikace *Hp* (36).

17.4c V případech, kdy pokus o eradikaci *Hp* selže, zůstane hladina protilátek proti *Hp* zvýšená (zpravidla mírně) a PGI a poměr PGI/PGII se obvykle vrátí do normálního rozsahu, zatímco PGII a/nebo G-17b mohou být mírně zvýšeny vzhledem k pokračující zánětlivé reakci (viz 17.4a). Výsledek lze potvrdit za 5–6 měsíců; poté může následovat nový pokus o léčbu, bude-li indikován (3, 36).

### **17.5. Atrofická gastritida těla žaludku**

Podle definice úbytek specifických buněk (hlavních buněk) v oxyntických žlázách ve sliznici těla žaludku, který je důsledkem atrofie sliznice, vede k progresivnímu snížení vylučování PGI a (v menší míře) PGII, který je produkován stejnými buňkami sliznice žaludečního antra. Toto disproporční snížení zmíněných dvou markerů vede ke snížení poměru PGI/PGII, což je další význačnou známkou AG těla žaludku (1, 3, 5–9, 14, 16). Toto snížení PGI a poměru PGI/PGII je progresivní a těsně koreluje se závažností atrofie těla žaludku, přičemž konečným stavem je totální atrofie a achlorhydrie žaludku. V případě intaktní (normální) sliznice antra to vede k výraznému zvýšení vylučování a sérových hladin G-17b (17, 19). V takové situaci není potřeba testovat G-17s. V chronických případech s protražovaným průběhem může *Hp* vymizet, což vede k postupné normalizaci hladin protilátek proti *Hp*.

### **17.6. Atrofická gastritida antra žaludku**

Jestliže atrofie sliznice postihne pouze antrum, všechny markery specifické pro tělo žaludku budou v normálním rozsahu. Podle definice je AG antra způsobena infekcí *Hp* a protilátky proti *Hp* jsou při testování pomocí soupravy GastroPanel trvale zvýšeny. Následkem atrofie antra se snižuje počet G-buněk, které nakonec vymizí, což vede k progresivnímu snižování hladin G-17b v plazmě. Při těžké atrofii antra není přítomna žádná odezva na stimulaci sekrece G-17s proteiny vzhledem k nedostatku (cílových) G-buněk ve sliznici (14, 15, 17).

### **17.7 Atrofická gastritida antra a těla žaludku**

Nejtěžší forma AG je známá jako atrofická pangastritida a postihuje antrum i tělo žaludku. Jejím následkem vymizí specifické buňky (hlavní buňky) v těle a antru žaludku (G-buňky), což povede k takovému vzorci exprese biomarkerů, v němž jsou oba pepsinogeny (PGI, PGII) a G-17 podstatně sníženy (1, 3, 5–9, 14, 16, 17, 19). To platí jak pro G-17b, tak pro G-17s, které zůstávají snižené i po stimulaci kvůli úbytku G-buněk. Stejně jako u AG těla žaludku (17.5) mohou být hladiny protilátek proti *Hp* normální nebo zvýšené. To proto, že u chronické AG může *Hp* z atrofické sliznice vymizet a při nepřítomnosti antigenních podnětů se normálním rozkladem protilátek IgG hladina protilátek proti *Hp* sníží pod hraniční (cut-off) hodnotu 30 EIU.

### **17.8. Podávání léků ze skupiny PPI**

Pokud pacient užívá léky po potlačení výdeje žaludeční kyseliny ze skupiny PPI, kontaktujte prosím osobu, která odebírá vzorky. Zadejte také informace z anamnézy pacienta, protože budou zahrnuty do výtisku softwaru GastroSoft. Inhibitory protonové pumpy (PPI) snižují vytváření žaludeční kyseliny v žaludku. Tím se zvyšuje produkce gastrinu-17 a následně hladiny pepsinogenu. Po ukončení léčby PPI trvá přibližně 4–10 dnů, než se produkce kyseliny chlorovodíkové a hladiny gastrinu-17 vrátí k normě. Hladiny pepsinogenu však zůstanou vysoké po relativně dlouhou dobu. Po ukončení dlouhodobého potlačení sekrece kyseliny podáváním PPI v typickém případě následuje tzv. rebound hypersekrece kyseliny (během 7–10 dní), což znamená, že se intenzivně vrátí příznaky pálení žáhy a hladiny gastrinu-17 budou velmi nízké. (1,3,11,17)

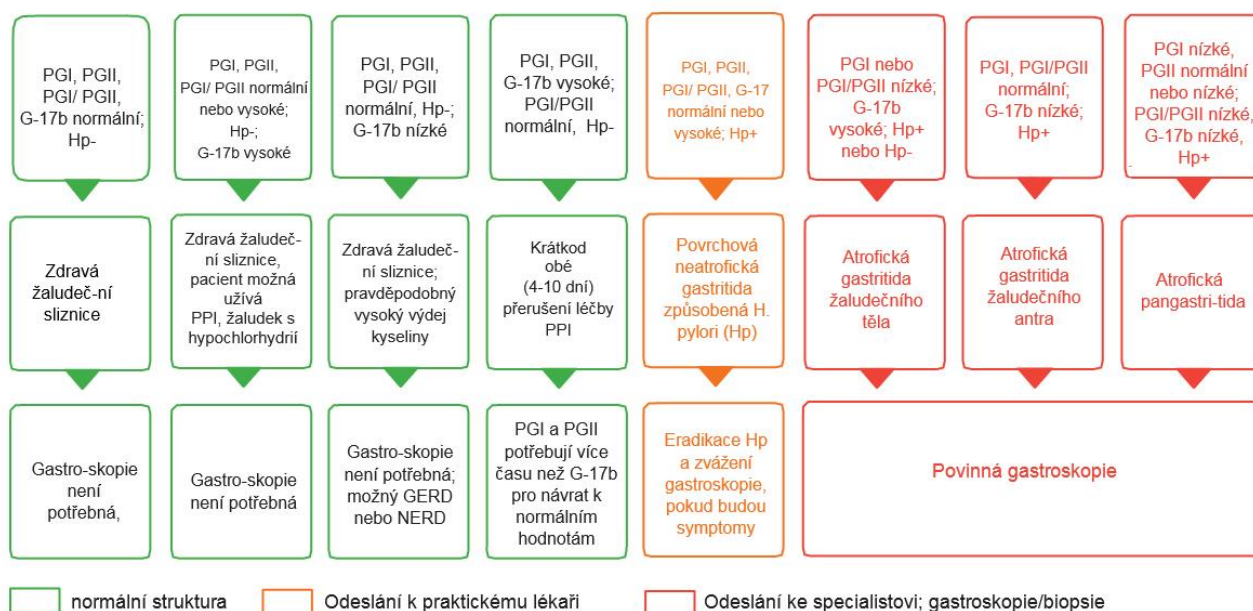
Tabulka 1. Osm diagnostických kategorií soupravy GastroPanel

Vyšetření biomarkerů pomocí soupravy GastroPanel							Interpretace
	Pepsinogen I (30–160 µg/l) <sup>®</sup>	Pepsinogen II (3–15 µg/l)	Poměr PGI/PGII (3–20)	Gastrin-17b (1–7 pmol/l)	Gastrin-17s (3–30 pmol/l)	Hladina protilátek IgG proti <i>H. pylori</i> (< 30 EIU)	
1	N	N	N	N	N	N	Zdravá sliznice (bez atrofie, bez infekce <i>H. pylori</i> )
2	N	N	N	L*	N	N	Zdravá sliznice. Nadměrné vylučování kyseliny v těle žaludku
3	N nebo H <sup>^</sup>	N nebo H <sup>^</sup>	N	H**	N	N	Zdravá sliznice. Snížené vylučování kyseliny např. v důsledku užívání PPI
4a	N nebo H <sup>^</sup>	N nebo H <sup>^</sup>	N	N nebo H <sup>^</sup>	ND	H	Aktivní infekce <i>H. pylori</i> , neléčená
4b	N	N	N	N	ND	N nebo H <sup>†</sup>	Úspěšně eradikovaná infekce <i>H. pylori</i>
4c	N	H	N	H	ND	H	Neúspěšná eradikace infekce <i>H. pylori</i>
5	L	L	L	H	ND	N <sup>^^</sup> nebo H	Atrofická gastritida těla žaludku
6	N	N	N	L	L	H	Atrofická gastritida antra
7	L	L	L	L	L	N <sup>^^</sup> nebo H	Atrofická gastritida antra a těla žaludku (pangastritida)
8	H	H	N	H	ND	N	Krátká (4–10 dnů) přestávka v léčbě PPI

N = normální; L = nízký; H = vysoký; \*Zkuste léčbu PPI po dobu dvou týdnů, hladina G17b by se měla normalizovat; \*\*Ukončete léčbu PPI, hladina G-17b by se měla za dva týdny normalizovat; ND = testování není potřebné; <sup>^</sup> = PGI, PGII a G-17 mohou být zvýšeny v důsledku zánětu sliznice; <sup>^^</sup> = Protilátky proti *H. pylori* mohou vymizet při atrofii sliznice s dlouhodobým průběhem; <sup>®</sup> = hraniční (cut-off) hodnota pro pepsinogen I 30 µg/l odpovídá středně závažné/těžké atrofické gastritidě; <sup>†</sup> = Hladiny protilátek proti *H.pylori* mohou zůstat zvýšené měsíce po úspěšné eradikaci *H.pylori*.

## GastroPanel® – pokyny k interpretaci snímků

Strukturální a funkční příčiny dyspeptických symptomů diagnostikovaných pomocí systému GastroPanel (PGI, PGII, PGI/PGII, G-17, Hp-Ab)



Infekci *H. pylori* nebo autoimunní atrofickou gastritidu (AG) spojenou s rizikem rakoviny žaludku a jiných následků nebo úroveň vylučování kyseliny v žaludku nelze diagnostikovat pomocí konvenčních testů používaných k diagnostice dyspepsie a infekce *H. pylori*, jako je např. dechový test s ureou 13C (UBT), stanovení antigenu ve stolici nebo test na protilátky. U subjektů s AG, lymfomem MALT nebo krvácejícím peptickým vředem a subjektů užívajících PPI nebo antibiotika jsou výsledky UBT nebo testů na antigen ve stolici často falešně negativní a infekce *H. pylori* (se všemi jejími následky) zůstává nezjištěna (37–41) ([www.biohithealthcare.com/additional-information](http://www.biohithealthcare.com/additional-information)).

Souprava GastroPanel je schopna diagnostikovat atrofickou gastritidu postihující tělo žaludku, antrum nebo oboje. Rozdíl oproti gastroscopii spočívá v tom, že z malého počtu bioptických vzorků reprezentujících pouze malou část plochy žaludeční sliznice dospělého člověka není vždy možné přesně stanovit diagnózu atrofické gastritidy. Navíc je atrofie sliznice (zejména mírná) subjektivní diagnózou, při jejímž stanovení existují významné odchylky mezi jednotlivými hodnotícími patologi. Podobně přesnost gastroscopie závisí na zkušenosti a odborných schopnostech lékaře, který provádí gastroscopii. Souprava GastroPanel tyto nedostatky nemá, protože je to automatizované laboratorní stanovení na principu ELISA. Histologické vyšetření endoskopicky získaného bioptického vzorku nepředstavuje spolehlivý zlatý standard (42), přestože je tak v současné době používáno. Je třeba vždy přihlížet k omezením jeho diagnostické přesnosti ve srovnání se stanovením sérových biomarkerů (2, 43).

Pokud histologické vyšetření žaludeční biopsie provádí erudovaný gastroenterolog a patolog, je shoda mezi soupravou GastroPanel a histologickým vyšetřením žaludeční biopsie velmi dobrá a při hodnocení váženým kappa testem dosahuje hodnoty více než 0,8 (limit pro téměř dokonalou shodu) (14). Je důležité vědět, že diagnóza atrofie žaludeční sliznice stanovená bez použití žaludeční biopsie, tj. pouze na základě samotné gastroscopie, je vysoce subjektivní (44). Jestliže souprava GastroPanel svědčí pro to, že sliznice žaludku je zdravá (nepřítomnost infekce *H. pylori* a/nebo atrofické gastritidy), klinické příznaky často bývají způsobeny funkční dyspepsií nebo jinou funkční poruchou bez organického onemocnění žaludeční sliznice.

## 18. LITERATURA

1. Agréus L, Kuipers EJ, Kupcinskis L, Malfertheiner P, Di Mario F, Leja M, Mahachai V, Yaron N, van Oijen M, Perez Perez G, Rugge M, Ronkainen J, Salaspuro M, Sipponen P, Sugano K, Sung J. Rationale in diagnosis and screening of atrophic gastritis with stomach-specific plasma biomarkers. *Scand J Gastroenterol* 2012;47:136-147.
2. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Sipponen P, Nyhlin H, Talley NJ. Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population: the Kalixanda study. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:1448-1455.
3. Wikström .: Assessment of stomach health by "chemical gastroscopy". *Eur Gastroenterol Rev* 2012;1-6.
4. Lomba-Viana R, Dinis-Ribeiro M, Fonseca F, Vieira AS, Bento MJ, Lomba-Viana H. Serum pepsinogen test for early detection of gastric cancer in a European country. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24:37-41.
5. Miki K. Gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method. *Gastric Cancer* 2006;9:245-253.
6. Bornschein J, Selgrad M, Wex T, Kuester D and Malfertheiner P. Serological assessment of gastric mucosal atrophy in gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2012;12:10. doi: 10.1186/1471-230X-12-10.
7. Germaná B, Di Mario F, Cavallaro LG, Moussa AM, Lecis P, Liatoupolou S, Comparato G, Carloni C, Bertiato G, Battistel M, Papa N, Aragona G, Cavestro GM, Iori V, Merli R, Bertolini S, Caruana P, Franzé A. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Dig Liver Dis* 2005;37:501-508.
8. Miki K, Ichinose M, Shimizu A, Huang SC, Oka H, Furihata C, Matsushima T, Takahashi K. Serum pepsinogens as a screening test of extensive chronic gastritis. *Gastroenterol Jpn* 1987;22:133-141.
9. Saoff IM, Varis K, Ihamaki T, Siurala M, Rotter JI. Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterol* 1982;83:204-209.
10. Korstanje A, den Hartog G, Biemond I, Lamers CB. The serological gastric biopsy: a non-endoscopic diagnostic approach in management of the dyspeptic patient: significance for primary care based on a survey of the literature. *Scand J Gastroenterol* 2002 236 (Suppl): 22–26.
11. Oksanen A, Sipponen P, Miettinen A, Sarna S, Rautelin H. Evaluation of blood tests to normal gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:791–795.
12. Varis K, Sipponen P, Laxen F, Samloff IM, Huttunen JK, Taylor PR, Helsinki Gastritis Study Group. Implications of serum pepsinogen I in early endoscopic diagnosis of gastric cancer and dysplasia. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:950–956.
13. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-1181.
14. Väänänen H, Vauhkonen M, Helske T, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicenter study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:885–891.
15. Telaranta-Keerie A, Kara R, Paloheimo L, Härkönen M, Sipponen P: Prevalence of undiagnosed advanced atrophic corpus gastritis in Finland: an observational study among 4,256 volunteers without specific complaints. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:1036-1041.
16. Dinis-Ribeiro M, Yamaki G, Miki K, Costa-Pereira A, Matsukawa M, Kurihara M: Meta-analysis on the validity of pepsinogen test for gastric carcinoma, dysplasia or chronic atrophic gastritis screening. *J Med Screen* 2004;11:141–147.
17. Sipponen P, Ranta P, Helske T, Kääriäinen I, Mäki T, Linnala A. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:785–791.

18. Benberin V, Bektayeva R, Karabayeva R, Lebedev A, Akemeyeva K, Paloheimo L, Syrjänen K. Prevalence of *H.pylori* infection and atrophic gastritis among symptomatic and dyspeptic adults in Kazakhstan. A hospital-based screening with a panel of serum biomarkers. *Anticancer Res* 2013;33:4595-4602.
19. Syrjänen KJ, Sipponen P, Härkönen M, Peetsalu A, Korpela S. Accuracy of GastroPanel testing in detection of atrophic gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27:102-104.
20. Ahn JS, Eom C-S, Jeon CY, Park MS. Acid suppressive drugs and gastric cancer: A meta-analysis of observational studies. *World J Gastroenterol* 2013;19:2560-8.
21. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Personal habits and indoor combustions volume 100E, 4.3.2 The Role of acetaldehyde in alcohol-induced carcinogenesis, 2012. Pp. 471. Available: <http://monogpahs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol/100E>.
22. Maejima R, Katsunori I, Kaihovaara P, Hatta W, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T, Salaspuro M. Effects of ALDH2 genotype, PPI treatment and L-cysteine on carcinogenic acetaldehyde in gastric juice and saliva after intragastric alcohol administration. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0120397.
23. Salaspuro M. Acetaldehyde and gastric cancer. *J Dig Dis* 2011; 12:51-59. doi: 10.1111/j.1751-2980.2011.00480.xPMID:21401890.
24. Varis K, Sipponen P. Gastritis. In: Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology. Gitnick G (ed.). Appleton & Lange, Connecticut, 1994; 85-197.
25. Sipponen P. *Helicobacter pylori* gastritis-epidemiology. *J Gastroenterol* 1997; 32:273-277.
26. Sipponen P, Marshall BJ. Gastritis and gastric cancer. Western countries. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29:579-592.
27. Wadström T. An update on *Helicobacter pylori* *Current Opinion in Gastroenterology* 1995; 11:69-75.
28. Northfield TC, Mendall M, Goggin PC. *Helicobacter pylori* Infection, Pathophysiology, Epidemiology and Management. Kluwer Academic Press; Dordrecht: 1994.
29. Sipponen P. Update on the Pathologic Approach to the Diagnosis of Gastritis, Gastric Atrophy, and *Helicobacter pylori* and its sequaleae. *J Clin Gastroenterol* 2001; 32:96-202.
30. Sande N, Nikulin M, Nilson I, Wadström T, Laxen F, Härkönen M, Suovaniemi O, Sipponen P. Increased Risk of Developing Atrophic Gastritis in Patients Infected with CagA+ *Helicobacter pylori*. *Scand. J Gastroenterol* 2001; 36:928-933.
31. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann JH, Orentreich N, Sibley RK. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325:1127-1131.
32. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, Orentreich N, Vogelmann JH, Friedman GD. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med* 1994; 330:1267-1271.
33. [www.biohithealthcare.com/About](http://www.biohithealthcare.com/About) US/History: Aggressive innovation and patenting strategy. [www.biohithealthcare.com/Scientific/Literature/Suovaniemi](http://www.biohithealthcare.com/Scientific/Literature/Suovaniemi) O: Automated instrumentation for clinical and research laboratories
34. Misiewicz JJ. The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991; 6:207-208.
35. Sipponen P, Price AB. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26: Suppl 1:31-34.
36. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. European Helicobacter Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012;61:646-664.



37. Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, El-Zimaity HM. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(5):1005-1009.
38. Savarinoa V, Vignerib S, Cella G. The 13C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999;45:118-122 doi:10.1136/gut.45.2008.i18.
39. Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Färkkilä M, Haapiainen R, Kosunen TU. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, 13C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol.* 2000;35(2):138-141.
40. Gisbert JP, Esteban C, Jimenez I, Moreno-Otero R. 13C-urea breath test during hospitalization for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer bleeding. *Helicobacter* 2007; 12(3):231-237.
41. Megraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(2):280–322.
42. Iijima K, Abe Y, Kikuchi R, Koike T, Ohara S, Sipponen P, Shimosegawa T. Serum biomarker tests are useful in delineating between patients with gastric atrophy and a normal, healthy stomach. *World J Gastroenterol* 2009;15 (7):853-859.
43. Ren JS, Kamangar F, Qiao YL, Taylor P, Liang H, Dawsey S, Liu B, Fan JH, Abnet C. Serum pepsinogens and risk of gastric and oesophageal cancers in the General Population Nutrition Intervention Trial cohort. *Gut* 2009;58:636–42. doi:10.1136/gut.2008.168641.
44. Yanaoka K, Oka M, Yoshimura N, Mukoubayashi C, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Aii K, Yamamichi N, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Risk of gastric cancer in asymptomatic, middle-aged Japanese subjects based on serum pepsinogen and *Helicobacter pylori* levels. *Int J Cancer* 2008;123: 917 – 926.

## 19. DATUM VYDÁNÍ

Příbalová informace k sadě GastroPanel® *Helicobacter pylori*.

Verze 4.0, září 2016.

## 20. ZÁRUKA

Výrobce napraví veškeré závady, které se u jakéhokoli výrobku („vadný výrobek“) projeví v důsledku použití nevhodných materiálů či nedbalého řemeslného zpracování a které znemožní mechanické fungování výrobků nebo jejich použití k určenému účelu, mimo jiné včetně účelů, jež jsou uvedeny ve specifikacích výrobce k daným výrobkům. POKUD VŠAK VYJDE NAJEVO, ŽE PŘÍČINOU ZÁVADY JE ŠPATNÉ ZACHÁZENÍ S VÝROBKY, NESPRÁVNÉ POUŽITÍ, NÁHODNÉ POŠKOZENÍ, NESPRÁVNÉ SKLADOVÁNÍ ČI POUŽÍVÁNÍ VÝROBKŮ MIMO SPECIFIKOVANÁ OMEZENÍ NEBO ZPŮSOBEM, JENŽ NEODPOVÍDÁ SPECIFIKACÍM, A V ROZPORU S POKYNY UVEDENÝMI V UŽIVATELSKÉ PŘÍRUČCE, VEŠKERÉ ZÁRUKY BUDOU POVAŽOVÁNY ZA NEPLATNÉ.

Záruční doba pro distributora je stanovena v uživatelské příručce k výrobkům a začíná datem odeslání výrobku výrobcem. V případě sporu o výklad je rozhodující anglická verze textu.

Všechny diagnostické soupravy společnosti Biohit byly vyrobeny v souladu s protokoly řízení kvality dle normy ISO 9001/ISO 13485 a vyhovují všem příslušným postupům zajištění kvality, které se vztahují na tyto výrobky.

## 21. INFORMACE O OBJEDNÁVÁNÍ

**GastroPanel®**

Kat. č. 606 400.

**Ústředí**

**BIOHIT OYJ**

Laippatie 1

00880 Helsinky, Finsko

Tel.: +358-9-773 861

Fax: +358-9-773 2867

E-mail: [info@biohit.fi](mailto:info@biohit.fi)

[www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

## POZNÁMKY

## 22. STRUČNÝ PŘEHLED POSTUPU

Nechte reagenty vytemperovat na okolní teplotu. Nezapomeňte všechny reagenty a vzorky těsně před pipetováním dobře promíchat

\*

Po promíchání napipetujte do jamek po 100 µl ředícího pufru (blanku), kalibrátorů 1–4, kontroly a naředěných (v poměru 1 ku 400) vzorků pacientů

\*

Inkubujte po dobu **60 minut při okolní teplotě za současného třepání (750 ot./min.)**.

\*

Promyjte stripy 3krát s použitím 350 µl zředěného promývacího pufru

\*

Napipetujte do jamek 100 µl promíchaného roztoku konjugátu

\*

Inkubujte po dobu **60 minut při okolní teplotě za současného třepání (750 ot./min.)**.

\*

Promyjte jamky třikrát s použitím 350 µl zředěného promývacího pufru

\*

Napipetujte do jamek 100 µl promíchaného roztoku substrátu

\*

Inkubujte po dobu **30 minut** při okolní teplotě

\*

Napipetujte do jamek 100 µl promíchaného zastavovacího roztoku

\*

Změřte při **450 nm** do 30 minut