

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

GastroPanel[®]
Helicobacter pylori

Kit ELISA para la detección de anticuerpos humanos IgG contra *H. pylori* en plasma con EDTA como parte de GastroPanel

INSTRUCCIONES DE USO

GastroPanel[®]

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

EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LAS ETIQUETAS

	Español
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de almacenamiento Almacenar a 2-8 °C
	96 determinaciones
	No reutilizar
	Marca CE
	Concentrado de tampón de lavado (10x)
	Tampón de dilución de muestras
	Calibrador
	Control
	Conjugado
	Sustrato
	Solución de interrupción

Nota: En la página www.biohithealthcare.com hay disponibles otros idiomas.

GastroPanel® *Helicobacter pylori***N.º Cat. 606 040**

1. INTRODUCCIÓN SOBRE GASTROPANEL®	5
2. HELICOBACTER PYLORI COMO PARTE DE GASTROPANEL®	7
3. USO PREVISTO	7
4. ANTECEDENTES DE IgG ANTI-HELICOBACTER PYLORI	7
5. PRINCIPIO DE LA PRUEBA	8
6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	8
7. TRAZABILIDAD DE LOS RESULTADOS	8
8. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y ESTABILIDAD DE LOS MATERIALES SUMINISTRADOS	9
8.1. Microplaca	9
8.2. Concentrado de tampón de lavado (10x)	9
8.3. Tampón de dilución de muestras	9
8.4. Calibradores	9
8.5. Control	9
8.6. Conjugado	9
8.7. Solución de sustrato	9
8.8. Solución de interrupción	10
8.9. Tapas de cierre de incubación	10
8.10. Instrucciones de uso	10
9. OBTENCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS	10
9.1 Congelación de muestras	10
9.2 Estimulación de gastrina-17	10
10. MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN	10
10.1 Método manual	10
10.2 Analizadores automatizados	11
11. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD	11
12. MÉTODO ANALÍTICO	11
12.1. Método manual	11
12.2. Método automático	14
13. RESULTADOS	14
13.1. Valores del control de calidad	14
13.2. Cálculo de los resultados	14
13.3. Interpretación de los resultados	15
13.4. Intervalo de referencia biológico	16

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	16
15. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS RESULTADOS.....	16
16. RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO.....	18
17. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE GASTROPANEL®	18
17.1 Estómago sano.....	18
17.2 Alta secreción ácida.....	18
17.3. Baja secreción ácida debido a inhibidores de la bomba de protones (PPI)	19
17.4. Gastritis superficial (no atrófica) asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	19
17.5 Gastritis atrófica del cuerpo gástrico	19
17.6 Gastritis atrófica del antro	20
17.7 Gastritis atrófica del antro y del cuerpo gástrico.....	20
17.8 Medicación PPI.....	20
18. REFERENCIAS	24
19. FECHA DE PUBLICACIÓN	27
20. GARANTÍA.....	27
21. INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS.....	27
22. BREVE DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	28

1. INTRODUCCIÓN SOBRE GASTROPANEL®

GastroPanel® es la prueba de elección para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* (*Hp*) (5-80% de la población mundial), el examen de todos los pacientes dispépticos (20-40% de la población occidental) y la detección sistemática de gastritis atrófica (GA) y sus riesgos, como cáncer de estómago y esófago (1-3). La gastritis atrófica también aumenta el riesgo de hipoabsorción de vitamina B12, hierro, magnesio, zinc, calcio y algunos medicamentos.

GastroPanel contiene importantes biomarcadores estomacales específicos que regulan el funcionamiento normal del estómago. Los cuatro biomarcadores son pepsinógeno I (PGI), pepsinógeno II (PGII), gastrina-17 amidada (G-17) y anticuerpos *Hp*, y están diseñados para proporcionar información sobre la estructura y la función de la mucosa del estómago (1-6). Sobre todo, esta serie de pruebas analíticas permite determinar con precisión la capacidad de la mucosa del cuerpo gástrico y del antro para segregar ácido gástrico y G-17, respectivamente, además de importantes patologías gástricas, como inflamación, grado y topografía de la gastritis atrófica (7-9), que puede entrañar mayor riesgo de cáncer gástrico (1).

Los niveles normales de plasma de los cuatro biomarcadores indican que la estructura y la función de la mucosa del estómago son normales, mientras que los niveles atípicos son sintomáticos de trastornos de los mecanismos de autorregulación entre secreción ácida del cuerpo gástrico, PG y G-17. Las opciones de determinación de G-17 son dos: G-17 basal (G-17b) y G-17 estimulada (G-17s); este último valor es especialmente importante en la distinción entre el trastorno funcional del antro (G-17s normal) y GA del antro (G-17s no aumenta en el caso de GA) (10,11).

Además de ser la primera prueba diagnóstica no invasiva para determinar el estado de salud de la mucosa del estómago, GastroPanel es única debido a que los resultados se interpretan por medio de una aplicación de software (GastroSoft) (<http://www.GastroPanel.com>) que está específicamente diseñada para esto. Los resultados de GastroPanel se clasifican en una de las cinco posibles categorías de diagnóstico relacionadas con la morfología del estómago: 1) mucosa normal, 2) gastritis superficial o no atrófica (*Hp*), 3) GA del cuerpo gástrico, 4) GA del antro y 5) GA del antro y el cuerpo gástrico (pangastritis) (11,12). Por consiguiente, GastroPanel se ha optimizado para utilizarse con el sistema Sydney actualizado (USS) de clasificación de la gastritis, que se basa en estas mismas cinco categorías de diagnóstico (13). Además, existen otros tres perfiles de marcadores específicos de los trastornos funcionales del estómago con características morfológicas normales (detalles en la sección 17).

La eficacia de GastroPanel se ha corroborado en extensos ensayos basados en gastroscopias con biopsia (14,15), todo incluido en un metanálisis del paciente (16). Estos estudios se han aprovechado para establecer los valores de referencia (corte) aprobados de cada biomarcador de la serie de pruebas analíticas que corresponden a los cinco criterios de valoración histológicos. Estos estudios también confirman la gran precisión de GastroPanel en la detección del criterio de valoración más importante: GA de moderada a grave (14-16). Por consiguiente, los valores normales de PGI, PGII y relación PGI/PGII permiten descartar GA del cuerpo gástrico con VPN por encima del 95%. Sin embargo, los valores de PGI, PGII y relación PGI/PGII por debajo de los niveles de corte establecidos indican la existencia de GA de moderada a grave con valores de área bajo la curva (ABC) de rendimiento diagnóstico por encima de 0,950 en series con poder estadístico adecuado y confirmación USS (1, 2, 3, 16, 17).

En resumen, los niveles de PGI disminuyen en casos de GA del cuerpo (y de pangastritis), pero permanecen dentro del rango normal en las demás patologías. Los niveles altos de PGII reflejan la inflamación de la mucosa,

mientras que los valores más altos se detectan en casos de gastritis superficial asociada con *Hp*. Los valores de G-17b son más altos en casos de GA del cuerpo gástrico debido a la falta de autorregulación negativa por la secreción ácida de un cuerpo atrófico, lo que resulta en una secreción desinhibida de G-17b por la mucosa antral normal. Esto también es aplicable a situaciones en las que el uso prolongado de medicamentos PPI inhibe la secreción ácida. Por definición, cuando la mucosa antral está atrofiada y las células G disminuyen, la secreción de G-17 se mantiene muy baja, incluso tras la estimulación proteica (G-17s)(17).

Los anticuerpos IgG anti-*Hp* otorgan un importante valor diagnóstico añadido a los tres biomarcadores. El nivel de anticuerpos IgG anti-*Hp* sirve para determinar dos posibles situaciones: 1) una infección por *Hp* activa o 2) una exposición anterior a *Hp*. Cuando *Hp* es el único marcador atípico, existe una gastritis superficial asociada con *Hp*; sin embargo, si se relaciona con anomalías en los otros tres marcadores, los niveles elevados de anticuerpos anti-*Hp* confirman el diagnóstico de GA asociada con *Hp* (antro o cuerpo gástrico) (1, 3, 18, 19).

GastroPanel permite detectar las siguientes patologías:

- 1) Infección por *H. pylori*, que es un factor de riesgo independiente del cáncer de estómago y de la úlcera péptica (úlcera gástrica y duodenal).
- 2) Gastritis atrófica (GA) inducida por *H. pylori*, que es asintomática en la mayoría de casos, así como sitio topográfico de GA del cuerpo gástrico, el antro o de ambos. Aparte de *H. pylori*, la aparición de GA en el cuerpo gástrico con todas sus secuelas también puede deberse a un mecanismo autoinmunitario.
- 3) GA del cuerpo, que da lugar a un descenso de la secreción ácida o al estómago aclorhídrico. Esto aumenta el riesgo de cáncer gástrico o esofágico, así como de hipoabsorción de vitamina B12, calcio, magnesio y zinc. Además, el estómago aclorhídrico dificulta la absorción de algunos medicamentos, como dipiridamol, algunos preparados de hierro y fármacos antimicóticos (fluconazol, itraconazol), tiroxina y atazanavir. La carencia de calcio puede ocasionar osteoporosis, mientras que la carencia de vitamina B12 puede contribuir al desarrollo de anemia megaloblástica, enfermedad de Alzheimer, demencia, depresión o neuropatías periféricas. La reducción de la secreción ácida en el estómago puede aumentar el riesgo de infecciones graves en el tubo digestivo y en las vías respiratorias, incluidas giardiasis, malaria, *Clostridium difficile*, *E. coli enterohemorrágica* (EHEC) y neumonía.
- 4) GA del antro, que aumenta el riesgo de úlcera péptica y de cáncer gástrico. La coexistencia de GA del cuerpo gástrico y del antro constituye el mayor riesgo de cáncer gástrico.
- 5) Infección por *H. pylori* también en pacientes con GA, linfoma MALT o hemorragia por úlcera péptica, o pacientes que toman antibióticos o medicamentos PPI. En estos casos, las pruebas del aliento con urea marcadas con ¹³C (UBT) o los análisis de antígenos *Hp* en heces suelen arrojar falsos negativos y la infección por *H. pylori* (con todas sus consecuencias) sigue sin detectarse.
- 6) Alta secreción ácida de la mucosa gástrica, que predispone a padecer enfermedad por reflujo gastroesofágico con posibles complicaciones (esofagitis ulcerosa, síndrome de Barrett o cáncer de parte inferior del esófago).

La presencia de GA, alta secreción ácida e infección por *H. pylori* sintomática exige realizar una gastroscopia.

En general, el cáncer gástrico sigue siendo la tercera causa más común de muerte por cáncer y la aclorhidria es el factor de riesgo principal. Según un metanálisis reciente, el uso crónico de medicamentos PPI también se asocia con un aumento del riesgo de cáncer gástrico (20). Estas dos patologías tienen la misma causa: el acetaldehído cancerígeno (Clase I) presente en el estómago con aclorhidria (21). La mejor manera de documentar la carcinogénesis del acetaldehído es emplear un modelo de la enfermedad humana, como, por

ejemplo, en personas expuestas y distribuidas aleatoriamente en algunas poblaciones que experimentan mutaciones de la enzima del metabolismo, llamada aldehído deshidrogenasa (ALDH) (22). Esta información es importante porque el descubrimiento de una sustancia cancerígena concreta permite adoptar medidas para reducir la exposición de la porción alta del tubo digestivo al acetaldehído en poblaciones e individuos (23). Para conseguir esta protección, es recomendable que todos los pacientes con estómago aclorhídrico, GA del cuerpo y los que estén en tratamiento con PPI, utilicen cápsulas de Acetium para convertir el acetaldehído cancerígeno en una sustancia inocua y se reduzca el riesgo de cáncer gástrico y esofágico (www.acetium.com).

Para obtener más información sobre la interpretación de los resultados de GastroPanel, consulte la Tabla 1 y www.gastropanel.com.

2. HELICOBACTER PYLORI COMO PARTE DE GASTROPANEL®

GastroPanel consta de una serie de pruebas cuantitativas de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) en las que se analiza la concentración de plasma sanguíneo de cuatro marcadores biológicos de la estructura y la función de la mucosa gástrica: pepsinógeno I (PGI), pepsinógeno II (PGII), gastrina-17 (G-17) y anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori*. GastroPanel facilita el diagnóstico de pacientes adultos sintomáticos (dispépticos) y el examen de pacientes asintomáticos con el fin de detectar los grupos de riesgo de cáncer gástrico, es decir, los que presentan 1) infección por *H. pylori* y 2) gastritis atrófica (GA). PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

3. USO PREVISTO

GastroPanel *Helicobacter pylori* es un enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* en plasma con EDTA. La prueba está diseñada para diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes adultos que presentan síntomas en la parte superior del abdomen (dispepsia). El kit se utiliza como parte de GastroPanel. PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

4. ANTECEDENTES DE IgG ANTI-HELICOBACTER PYLORI

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es la causa más importante de gastritis crónica que deriva en atrofia de mucosa, es decir, gastritis atrófica (GA). Es poco frecuente que la causa de GA se encuentre en el sistema autoinmunitario (24, 25). Esta prueba ELISA está diseñada para diagnosticar la infección por *H. pylori* en muestras de plasma mediante la detección de anticuerpos IgG.

H. pylori es una bacteria gram negativa con forma espiral que coloniza el estómago humano. Este organismo se encuentra en la capa mucosa que recubre el epitelio gástrico, además de en las glándulas mucosas, y parece no invadir las células epiteliales. Sin embargo, la mucosa situada debajo y alrededor de las áreas de colonización por *H. pylori* se inflama de forma invariable; esto se denomina gastritis crónica superficial o gastritis no atrófica y, si no se trata, puede persistir de por vida (1). Si la bacteria no se erradica de forma adecuada, este proceso inflamatorio crónico puede dar lugar a una GA. A su vez, la GA aumenta el riesgo de úlcera péptica y cáncer gástrico, que son dos importantes secuelas de la infección por *H. pylori* (26-29). La presencia de anticuerpos contra las cepas de *H. pylori* se ha vinculado con el desarrollo de GA en el cuerpo gástrico (30). Las pruebas epidemiológicas indican que existe un vínculo entre la infección por *H. pylori* y el adenocarcinoma gástrico, así como el linfoma del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) (18, 31, 32).

5. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Este GastroPanel PGI se basa en la técnica de inmunoanálisis enzimático de tipo sándwich con un antígeno bacteriano *H. pylori* parcialmente purificado en microplaca y un anticuerpo de detección marcado con peroxidasa de rábano (HRP).

El análisis se realiza de acuerdo con las siguientes reacciones:

1. El antígeno bacteriano *H. pylori* parcialmente purificado adherido a la superficie de poliestireno de los pocillos se une a los anticuerpos IgG anti-*H. pylori* presentes en la muestra.
2. Los pocillos se lavan para eliminar los restos de muestra.
3. La IgG anti-humana monoclonal conjugada con HRP se une a los anticuerpos IgG anti-*H. pylori*.
4. Los pocillos se lavan y se agrega sustrato TMB. La enzima HRP oxida el sustrato, lo que da lugar a la formación de un producto final de color azul.
5. La reacción enzimática se termina con solución de interrupción. Las muestras positivas para *H. pylori* se vuelven amarillas con valores calculados de >30 EIU.

6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCIÓN: Trate las muestras de plasma como material con posible riesgo biológico.

Todas las muestras deben considerarse potencialmente contaminadas y tratarse como si fueran infecciosas. Consulte la publicación del Dr. Bethesda, «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories», 1999, 4ª ed. (CDC/NIH) y n.º (CDC) 88-8395, de la Agencia estadounidense de sanidad y servicios humanos; en ella se recogen informes sobre los procedimientos de seguridad del laboratorio relacionados con distintas enfermedades o sobre cualquier otra normativa local o nacional.

Este kit contiene reactivos fabricados a partir de componentes sanguíneos humanos. Los materiales originales proporcionados en el kit se han analizado para detectar la presencia de anticuerpos contra la hepatitis B y C, así como de anticuerpos contra el VIH, y se ha determinado que son negativos. Sin embargo, como ningún método de prueba puede garantizar la ausencia de estos patógenos con total certeza, se deben respetar todas las precauciones recomendadas para manipular los derivados de la sangre.

Utilice siempre guantes protectores cuando manipule muestras de pacientes. Utilice un dispositivo de seguridad durante el pipeteo. No use la pipeta con la boca. Lea las instrucciones en su totalidad antes de llevar a cabo este análisis.

Los componentes que contienen ProClin pueden provocar una reacción alérgica en la piel (consulte la ficha de datos de seguridad). Respete la legislación local en materia de gestión de residuos para desechar las soluciones que contienen ProClin.

7. TRAZABILIDAD DE LOS RESULTADOS

No existe ningún material de referencia internacional relacionado con el antígeno *H. pylori*. Los valores de control y del calibrador se asignan a calibradores maestros internos de Biohit.

8. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y ESTABILIDAD DE LOS MATERIALES SUMINISTRADOS

Hay suficientes reactivos para 96 pocillos y tres series analíticas separadas. No deben mezclarse reactivos de diferentes kits.

8.1. Microplaca

Contenido: 12 x 8 tiras en trama recubiertas con antígeno bacteriano *H. pylori* parcialmente purificado.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad. Deseche las tiras después de utilizarlas.

8.2. Concentrado de tampón de lavado (10x)

Contenido: 120 ml de tampón fosfato salino (PBS) con concentración 10x que contiene Tween 20 y ProClin 300 al 0,1% como conservante.

Preparación: Diluya en una proporción 1:10 (por ejemplo, 100 ml + 900 ml) con agua destilada y mezcle bien.

Estabilidad: El concentrado es estable hasta la fecha de caducidad. La solución diluida es estable durante dos semanas en refrigeración (2-8 °C).

8.3. Tampón de dilución de muestras

Contenido: 100 ml de tampón fosfato que contiene caseína, Tween 20, ProClin 300 al 0,1% como conservante y tinte rojo.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad.

8.4. Calibradores

Contenido: Cuatro frascos que contienen 1,5 ml de calibrador IgG anti-*H. pylori* en suero con ProClin 300 al 0,1% como conservante. El valor EIU del calibrador específico del lote está impreso en la etiqueta del frasco.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad.

8.5. Control

Contenido: Un frasco que contiene 1,5 ml de control IgG anti-*H. pylori* en suero con ProClin 300 al 0,1% como conservante. El valor EIU del suero de control está impreso en la etiqueta.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad.

8.6. Conjugado

Contenido: 15 ml de IgG anti-humana monoclonal conjugada con HRP en tampón estabilizador con 0,02% de metilisotiazolona, 0,02% de bromonitrodioxano y 0,002% de otras isotiazolonas activas como conservante.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad.

8.7. Solución de sustrato

Contenido: 15 ml de tetrametilbenzidina (TMB) en solución acuosa.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad. Evite la exposición directa a la luz.

8.8. Solución de interrupción

Contenido: 15 ml de ácido sulfúrico a 0,1 mol/l.

Preparación: Listo para el uso.

Estabilidad: Estable hasta la fecha de caducidad.

8.9. Tapas de cierre de incubación

Tres láminas de plástico para cubrir la microplaca durante la incubación.

8.10. Instrucciones de uso

Se suministran en cada kit.

9. OBTENCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Es aconsejable que el paciente no ingiera alimentos la noche anterior a la obtención de la muestra (aproximadamente 10 horas antes, mínimo de 4 horas), que se realiza en un tubo de EDTA sin aditivos. Invierta 5 o 6 veces los tubos con muestras de plasma de forma inmediata para mezclar el contenido. El plasma debe separarse mediante centrifugación al instante o 2 horas después como máximo (por ejemplo, StatSpin® Express 2, se centrifuga durante 2 minutos a 4440 x g; consulte las instrucciones de separación del plasma en las instrucciones del fabricante de la centrifugadora).

Tras separar el plasma, añade GastroPanel Stabilizer a la muestra (50 µl/1 ml de plasma; Biohit Oyj, GastroPanel Stabilizer, n.º Cat. 606 050 y 606 051). La adición del estabilizador a la muestra de plasma inmediatamente después de separar el plasma garantiza su conservación durante 7 días a 2-8 °C y durante 3 días a temperatura ambiente (20-25 °C).

9.1 Congelación de muestras

Las muestras deben congelarse inmediatamente después de separar el plasma y de añadir GastroPanel Stabilizer. Las muestras pueden conservarse congeladas a -20 °C de forma provisional, pero necesitan congelarse a -70 °C si se quieren conservar durante más de dos semanas. Mezcle bien las muestras después de descongelarlas. Evite los ciclos de congelación y descongelación repetidos. Las muestras altamente hemolizadas, lipémicas o turbias deben desecharse.

9.2 Estimulación de gastrina-17

Cuando se necesite una muestra de sangre posprandial con estímulo proteico, el paciente tendrá que ingerir una bebida hecha con proteína en polvo (Biohit Oyj, n.º Cat. (601 037 o 601 038) tras permanecer de 4 a 10 horas en ayunas. La sangre se extrae en un tubo de EDTA veinte minutos después de beber la proteína.

10. MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

10.1 Método manual

Agua destilada o desionizada, micropipetas y puntas desechables para dispensar con precisión 10 - 1000 µl, pipetas para dispensar con precisión 1 - 10 ml, pipeta de 8 canales que proporcione 100 µl, tubo graduado de 1000 ml, agitador vórtex para diluir muestras, tubos de ensayo para dilución de muestras, lavador de microplacas, toallas de papel o papel absorbente, cronómetro, lector de microplacas vertical de 450 nm (33); por ejemplo, tubo de extracción de sangre de plástico para muestras de plasma con EDTA, recipiente para baño de hielo, agitador de microplacas.

10.2 Analizadores automatizados

Agua destilada o desionizada para dilución de tampón de lavado. GastroPanel se puede automatizar. Para realizar los análisis GastroPanel en el lector de microplacas vertical con analizadores automatizados ELISA disponibles en el mercado no se requieren más instrumentos, accesorios ni elementos desechables (33).

11. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Mantenga el kit GastroPanel *Helicobacter pylori* refrigerado (2-8 °C). Si se mantiene a estas temperaturas, el kit permanece estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de la caja y en la etiqueta de cada componente del kit. No congele el kit ni lo exponga a altas temperaturas; tampoco lo almacene a más de 8 °C cuando no lo esté utilizando. La solución de sustrato es sensible a la luz. La microplaca o las tiras individuales no deben extraerse de la bolsa de aluminio hasta que se encuentren a temperatura ambiente (20-25 °C). Las tiras que no se usen tendrán que depositarse en la bolsa de aluminio, que debe sellarse y conservarse a 2-8 °C.

No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No utilice reactivos de kits pertenecientes a lotes diferentes ni sustituya por reactivos de kits de otros fabricantes. Utilice agua destilada o desionizada exclusivamente. Los componentes del kit suministrados tienen concentraciones precisas. Si los reactivos se diluyen o se alteran de otra forma, podrían obtenerse resultados incorrectos.

Indicación de deterioro del kit

Los componentes líquidos no deben estar visiblemente turbios ni contener precipitado. Aunque el concentrado de tampón de lavado puede cristalizar parcialmente a 2-8 °C, los cristales se disolverán al mezclar el tampón a temperatura ambiente (20-25 °C). El tampón de dilución es un poco opaco. Los calibradores y el control también pueden parecer ligeramente opacos. La solución de sustrato debe ser incolora o de color azul pálido. Cualquier otro color será indicio de que la solución se ha deteriorado.

12. MÉTODO ANALÍTICO

PREPARACIÓN PRELIMINAR

Permita que todos los reactivos y la microplaca alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C). Diluya el concentrado de tampón de lavado en una proporción 1:10 (por ejemplo, 100 ml + 900 ml) con agua destilada o desionizada. Las muestras congeladas deben descongelarse con rapidez en un baño maría a temperatura ambiente removiendo de forma esporádica. Una vez que estén prácticamente descongeladas, colóquelas en un baño de hielo triturado. **Lea el procedimiento de análisis completo antes de empezar. Se recomienda utilizar los calibradores y el control por duplicado en la placa.** Se requieren **calibradores y el control en cada serie analítica.**

Mezcle bien todos los reactivos antes del uso. Nota: Todas las incubaciones se realizan a 20-30 °C (=temperatura ambiente); no debe superarse la temperatura especificada.

12.1. Método manual

Siga las instrucciones de dilución de muestras que se indican abajo para hacer el análisis simultáneo de todo el GastroPanel.

PASO 1: DILUCIÓN DE MUESTRAS

Si los kits pertenecen al mismo lote, es posible intercambiar el tampón de dilución de muestras, el tampón de lavado, la solución de interrupción y la solución de sustrato entre kits. Los demás componentes son específicos de cada kit.

Dilución de muestras de GastroPanel

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

Haga tres diluciones separadas de la muestra. A continuación se incluye un ejemplo de dilución:

1. Para diluir G-17: Diluya la muestra de plasma con EDTA mezclada en una proporción 1:5 (por ejemplo, 100 µl de plasma + 400 µl de tampón de dilución). Mezcle el contenido del tubo.
2. Para diluir PGI y PGII: Diluya 1:4 más la dilución de 1:5 anterior hasta que la proporción sea 1:20 (por ejemplo, 180 µl de dilución anterior + 540 µl de tampón de dilución). Mezcle el contenido del tubo.
3. Para diluir *H. pylori*: Diluya 1:20 más la dilución de 1:20 anterior hasta que la proporción sea 1:400 (por ejemplo, 20 µl de dilución anterior + 380 µl de tampón de dilución). Mezcle el contenido del tubo.

PASO 2: MUESTRA

Mezcle y pipetee 100 µl de la solución blanco (BS, para G-17, PGI y PGII) o el tampón de dilución de muestras (blanco, para *H. pylori*), los calibradores, el control y las muestras diluidas en los pocillos de la microplaca (consulte la Figura 1 de *H. pylori*, además de las Figuras 2 y 3 de G-17 y PGI/PGII, respectivamente). Puede tapar la placa con la tapa de cierre de incubación para evitar salpicaduras. Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente con agitación (750 rpm). Nota: Se recomienda dispensar las muestras en los pocillos de una placa en un plazo de 20 minutos para evitar que se produzcan variaciones del resultado en la placa.

	1	2	3	4
A	Blanco	Blanco	Muestra	Muestra
B	CAL 1	CAL 1	etc.	etc.
C	CAL 2	CAL 2		
D	CAL 3	CAL 3		
E	CAL 4	CAL 4		
F	Control	Control		
G	Muestra	Muestra		
H	Muestra	Muestra		

Figura 1. Orden de pipeteo de *H. pylori*

	1	2	3	4
A	BS	BS	etc.	etc.
B	CAL1	CAL1		
C	CAL2	CAL2		
D	CAL3	CAL3		
E	CAL4	CAL4		
F	Control	Control		
G	Muestra	Muestra		
H	Muestra	Muestra		

Figura 2. Orden de pipeteo de G-17

	1	2	3	4
A	BS	BS	etc.	etc.
B	CAL1	CAL1		
C	CAL2	CAL2		
D	CAL3	CAL3		
E	Control	Control		
F	Muestra	Muestra		
G	Muestra	Muestra		
H	Muestra	Muestra		

Figura 3. Orden de pipeteo de PGI y PGII

PASO 3: LAVADO

Lave las franjas de la microplaca con 3 x 350 µl del tampón de lavado diluido (1:10) y golpee con suavidad la placa invertida unas cuantas veces en una toalla de papel limpia.

PASO 4: CONJUGADO

Nota: Cada kit tiene un conjugado específico (que no es intercambiable). Pipetee 100 µl de la solución de conjugado en los pocillos vacíos de la microplaca con una pipeta de 8 canales. Puede colocar la tapa de cierre de incubación en la placa para evitar salpicaduras. Incube durante 60 minutos a temperatura ambiente con agitación (750 rpm).

PASO 5: LAVADO

Lave las franjas de la microplaca con 3 x 350 µl del tampón de lavado diluido (1:10) y golpee con suavidad la placa invertida unas cuantas veces en una toalla de papel limpia.

PASO 6: SUSTRATO

Pipetee 100 µl de la solución de sustrato en los pocillos de la microplaca con una pipeta de 8 canales. Empiece a contar el tiempo de incubación desde el momento en que se pipetea la solución de sustrato en la primera franja de la microplaca y continúe con la incubación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Evite la exposición a la luz durante la incubación.

PASO 7: INTERRUPCIÓN DE LA REACCIÓN

Pipetee 100 µl de la solución de interrupción en los pocillos de la microplaca con una pipeta de 8 canales.

PASO 8: DETERMINACIÓN DE RESULTADOS MEDIANTE EL PRINCIPIO DE MEDICIÓN VERTICAL

Mida la absorbencia de los pocillos de la microplaca a 450 nm en 30 minutos (33).

12.2. Método automático

GastroPanel está diseñado para permitir la automatización. Una vez que se crean y aprueban protocolos específicos de ensayo, el empleo de GastroPanel con un analizador automatizado ELISA abierto y autónomo ahorra recursos y resulta fácil de usar porque, entre otros, evita alteraciones debidas al pipeteo, como RSI.

La única acción manual que se requiere es la preparación de una dilución de 1:10 del concentrado de tampón de lavado antes de la serie siguiente. El proceso de análisis entero, desde la dilución de la muestra hasta el cálculo del resultado final y la generación del informe, se realiza de forma totalmente automática.

13. RESULTADOS

13.1. Valores del control de calidad

Las buenas prácticas de laboratorio exigen el uso de controles apropiados que permitan determinar que todos los reactivos y protocolos funcionan según lo establecido. GastroPanel *Helicobacter pylori* se suministra con el control. Los gráficos de control de calidad de cada lote son necesarios para hacer un seguimiento de los resultados del control. También pueden emplearse métodos estadísticos adecuados para analizar los valores de control internos del laboratorio, que deben respetar los intervalos de confianza del laboratorio. Es preciso obtener los resultados de control previstos para que se puedan aceptar los resultados.

13.2. Cálculo de los resultados

Las lecturas de absorbencia se convierten en *unidades inmunoenzimáticas (EIU) de IgG contra H. pylori* mediante la interpolación de incógnitas de la curva de ajuste óptimo de los calibradores. Como los calibradores están listos para usar, las concentraciones de las muestras de los pacientes no se multiplican por el factor de dilución.

El valor de DO medio del blanco tiene que restarse de todos los valores de DO de los pocillos. Represente el valor de DO medio en función del valor EIU correspondiente. Para interpolar las concentraciones desconocidas se puede aplicar un ajuste logarítmico. En la Figura 4 se muestra una curva de calibración típica.

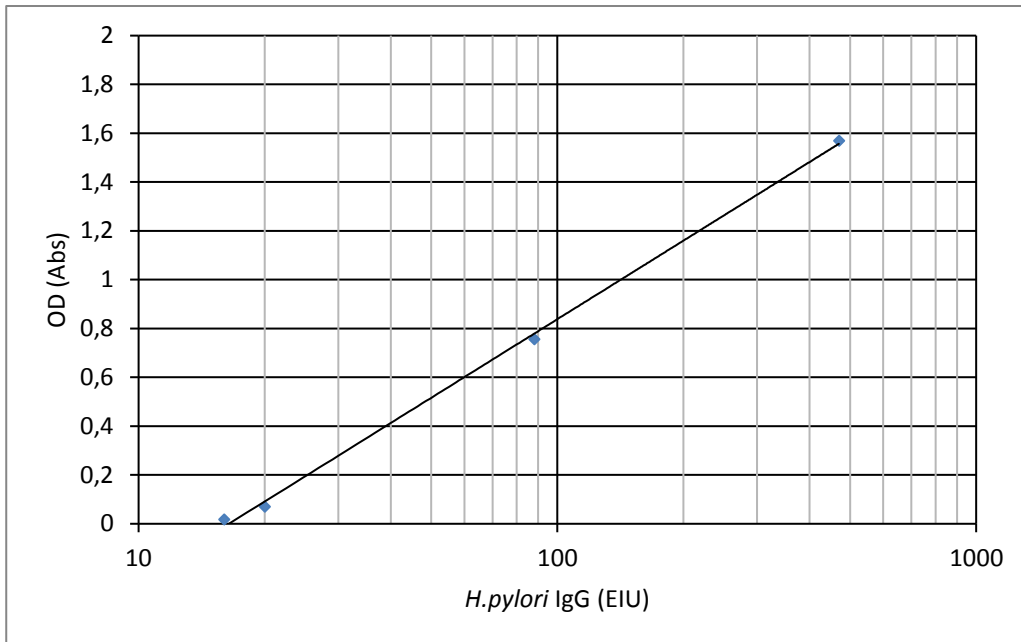


Figura 4. Ejemplo de curva típica del calibrador de *H. pylori*

Como la interpretación debe basarse en todos los marcadores GastroPanel medidos en la misma muestra del paciente, los datos de la prueba deben recopilarse y analizarse juntos, posiblemente con información del historial como la medicación PPI y la erradicación de *H. pylori*.

Consulte la información relacionada con la interpretación en la sección 17. Si desea automatizar la interpretación de GastroPanel, póngase en contacto con Biohit para obtener más información sobre los servicios y las aplicaciones de software. En la página del producto GastroPanel encontrará más información (www.gastropanel.com).

13.3. Interpretación de los resultados

Negativo < 30 EIU

Positivo ≥ 30 EIU

Los valores inferiores a 30 EIU indican que el resultado es negativo; es decir, indican que no existe infección activa por *H. pylori*. Un valor de 30 EIU o superior indica que se han detectado anticuerpos anti-*H. pylori* y, por consiguiente, el resultado es positivo. Para aceptar los resultados de la prueba, los resultados del control deben ser los previstos. En la determinación de los valores de corte se ha empleado el kit GastroPanel *Helicobacter pylori*. Cuando los valores obtenidos en la muestra del paciente están próximos al valor de corte, es preciso recoger una segunda muestra en un plazo de tiempo razonable, si es posible. Cada laboratorio debe establecer su propio rango de valores esperados para casos en los que los valores de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* se utilicen con fines diagnósticos. Además, los resultados de IgG anti-*H. pylori* determinados en una muestra concreta o con análisis de diferentes fabricantes pueden variar debido a diferencias en los métodos de análisis y a la especificidad de los reactivos. Los resultados obtenidos con métodos de análisis de otros fabricantes no son intercambiables.

13.4. Intervalo de referencia biológico

El valor de corte es 30 EIU, con un intervalo de referencia de < 30 EIU. El intervalo se basa en el estudio de 7000 pacientes finlandeses (informe interno de Biohit, datos no publicados).

La mayoría de las personas expuestas a *H. pylori* desarrollan anticuerpos IgG en el organismo (25, 28, 29). La relación entre la edad y la presencia de anticuerpos anti-*H. pylori* es similar en hombres y mujeres. La prevalencia de la infección por *H. pylori* es de un 30-40% en Estados Unidos, Canadá y Europa Occidental, casi un 20% en Australia y un 70-90% en Europa Oriental, África, Sudamérica y Asia. Muchos pacientes con niveles altos de anticuerpos anti-*H. pylori* son asintomáticos, aunque tengan colonias de *H. pylori* (15, 18). Por consiguiente, los niveles de anticuerpos no están necesariamente relacionados con la gravedad de los síntomas clínicos.

14. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Como ocurre con cualquier procedimiento diagnóstico, el resultado de la prueba GastroPanel *Helicobacter pylori* debe interpretarse junto con los datos clínicos del paciente y cualquier otra información a disposición del médico. A causa del prolongado descenso (meses) de los anticuerpos IgG en suero, la prueba puede dar resultados positivos (falsos) (*H. pylori* >30 EIU) poco después de erradicar satisfactoriamente la infección por *H. pylori*.

15. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS RESULTADOS

Todas las pruebas de rendimiento se llevaron a cabo a temperatura ambiente (20-25 °C). Todas las muestras se analizaron en pocillos de microplacas por duplicado.

Intervalo de medición:

El intervalo de medición de GastroPanel *Helicobacter pylori* está comprendido entre 15 EIU y 670 EIU.

En este rango se ha demostrado que existe una repetibilidad ≤ 10 CV%, una precisión intranalítica ≤ 20 CV% y un error total $\leq \pm 20\%$ en el nivel de LoQ.

Precisión:

Los estudios de precisión se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices EP5-A2 del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI). Un panel con siete muestras de plasma con EDTA con concentración de anticuerpos anti-*H. pylori* baja, media y alta se analizó por duplicado durante 20 días (dos series por día, con dos repeticiones por muestra y serie analítica). En los análisis se emplearon tres lotes de producción y dos instrumentos, e intervinieron siete operadores. Para determinar la repetibilidad (precisión) dentro de una misma serie y la precisión dentro de un mismo laboratorio se realizó un análisis estadístico según las directrices EP5-A2 del CLSI.

En cuanto a la precisión (repetibilidad) de las muestras de plasma con EDTA, el rango fue de 16,6 EIU a 669 EIU, con una desviación estándar de 0,59 EIU a 64,95 EIU y un coeficiente de variación del 3,6% al 9,8%. La precisión de las muestras de plasma con EDTA dentro de un mismo laboratorio presentó un rango de desviación estándar de 0,89 EIU a 107,37 EIU, con un coeficiente de variación del 5,7% al 16,5%.

REPETIBILIDAD					
Muestra	Media (EIU)	% CV	DE total	IC 95%	n
1	16,6	3,60%	0,59	0,485 a 0,756	80
2	22,9	3,70%	0,85	0,695 a 1,084	80
3	38,2	5,10%	1,96	1,605 a 2,502	78
4	72,6	6,10%	4,42	3,626 a 5,651	78
5	133,5	7,80%	10,36	8,505 a 13,255	78
6	261	9,80%	25,6	21,018 a 32,756	80
7	669	9,70%	64,95	53,322 a 83,099	78
EN LABORATORIO					
Muestra	Media (EIU)	% CV	DE total	IC 95%	n
1	16,6	5,40%	0,89	0,743 a 1,102	80
2	22,9	6,20%	1,42	1,201 a 1,746	80
3	38,2	7,90%	3,01	2,558 a 3,667	78
4	72,6	13,30%	9,63	7,999 a 12,085	78
5	133,5	16,50%	22,09	18,449 a 27,522	78
6	261	16,50%	43,06	35,673 a 54,341	80
7	669	16,00%	107,37	90,141 a 132,790	78

Límite de detección y límite de cuantificación:

El límite del blanco (LoB) y el límite de detección (LoD) de GastroPanel *Helicobacter pylori* se determinaron con arreglo a las directrices EP17-S del CLSI con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y de falsos negativos (β) por debajo del 5% a partir de 120 determinaciones en 60 muestras próximas al blanco y 60 muestras con bajo nivel de concentración. Para establecer el LoD se emplearon cuatro muestras de plasma con EDTA y tres lotes de kits diferentes. Para establecer el LoB se utilizó el tampón de dilución del kit.

El LoB fue de 13,1 EIU, mientras que el LoD se estableció en 14,7 EIU.

El límite de cuantificación se determinó con arreglo a las directrices EP17-S de NCCLS a partir de 60 determinaciones realizadas en cuatro muestras de plasma con EDTA con tres lotes de kits diferentes. Debido a la falta de método de referencia, la estimación del sesgo no se incluyó en el cálculo total de errores.

El LoQ hallado fue de 15,0 EIU con un error total del -10,7% y un coeficiente de variación entre mediciones del 5,2%.

Interferencia:

Para evaluar la interferencia de GastroPanel *Helicobacter pylori* se aplicaron las directrices EP07-A2 del CLSI. El sesgo ocasionado por la hemoglobina, la bilirrubina sin conjugar, la bilirrubina conjugada y los triglicéridos en concentraciones de 2 g/l, 5 mg/dl, 15 mg/dl y 500 mg/dl, respectivamente, fue inferior al 10% en niveles plasmáticos de IgG anti-*H. pylori* de 21 EIU y 70 EIU. La interferencia no se consideró significativa. Las muestras altamente hemolizadas, lipémicas o turbias deben desecharse.

16. RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO

La cohorte de validación constó de 101 pacientes caucásicos derivados para gastroscopia, incluidos 30 hombres y 71 mujeres. La edad media de los pacientes del estudio fue de 50,1 años, con una desviación estándar (DE) de 16,7 años en un rango de 18 a 83 años.

El análisis ROC de *H. pylori* confirmada mediante biopsia por la prueba GastroPanel *Helicobacter pylori* arrojó un valor de ABC=0,978 (IC 95% de 0,956-1,000). El mejor balance de sensibilidad/especificidad (SE/ES) es 90,8% de SE y 88,6% de ES, correspondiente al valor de corte de 30 EIU.

17. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE GASTROPANEL®

GastroPanel se ha optimizado para utilizarse con el sistema Sydney actualizado (USS) de clasificación de la gastritis. Tanto el sistema USS como el software GastroSoft® emplean cinco categorías de diagnóstico para clasificar los resultados de la biopsia y de GastroPanel, respectivamente. Esto incluye: 1) mucosa normal, 2) gastritis superficial (*Hp*), 3) GA del antro, 4) GA del cuerpo gástrico y 5) GA del antro y del cuerpo gástrico (pangastritis) (13, 34, 35). Además de estas cinco categorías relacionadas con la morfología del estómago, en GastroPanel se pueden emplear otros tres perfiles de marcador que son específicos de trastornos funcionales con morfología estomacal normal. Las ocho categorías de diagnóstico se describen en la Tabla 1 y se explican a continuación.

17.1 Estómago sano

La mucosa gástrica funciona con normalidad cuando los cuatro biomarcadores se encuentran en el rango de referencia normal. Como el funcionamiento de la mucosa estomacal depende fundamentalmente de células específicas responsables de la secreción ácida (células parietales), pepsinógenos (células principales) y G-17 (células G), el funcionamiento normal exige la presencia de estas células en cantidades normales (1, 3, 9, 11, 19). Como la función estomacal y la estructura de la mucosa van de la mano, un resultado normal de GastroPanel es indicador de un estómago sano, por definición.

17.2 Alta secreción ácida

Las células parietales altamente especializadas del cuerpo gástrico producen el ácido gástrico (HCl). Entre otros, la secreción ácida se controla mediante la secreción de G-17 en el antro como resultado de la autorregulación positiva que estimula la producción de ácido tras una comida. La secreción ácida ocasiona un descenso progresivo del pH del cuerpo gástrico y el umbral de pH 2.5 envía una señal de autorregulación negativa a las células G del antro que les indica que deben inhibir la producción de G-17. A consecuencia de esto tiene lugar un descenso de la secreción de G-17 paralelo al contenido ácido del cuerpo gástrico (1, 3, 14, 17). La secreción de G-17b por las células G antrales es demasiado baja cuando la secreción ácida del cuerpo gástrico se mantiene en un valor anormalmente alto por algún motivo (otros mecanismos de estimulación). La mejor manera de hacer el diagnóstico es emplear la medicación PPI en estudio, puesto que el valor de G-17b debería normalizarse aproximadamente dos semanas después de comenzar el tratamiento. En esta situación, la G-17 posprandial (estimulada) estará dentro de los límites normales debido a que las células G están intactas y pueden secretar G-17 si se estimulan de manera adecuada (proteína en polvo, Biohit, n.º Cat. 601038).

17.3. Baja secreción ácida debido a inhibidores de la bomba de protones (PPI)

La regulación anterior también funciona a la inversa. Cuando la secreción ácida del cuerpo gástrico se reduce (por cualquier motivo), el bucle de autorregulación positiva hace que las células G antrales aumenten la secreción de G-17b con el consiguiente incremento de los niveles séricos de G-17b (3, 17). Las dos patologías en las que se produce una secreción ácida baja son 1) GA del cuerpo gástrico y 2) uso a largo plazo de medicamentos PPI. La existencia de valores normales (o incluso elevados) de PGI y PGII, así como una relación PGI/PGII normal, excluye la existencia de la primera, mientras que es mejor interrumpir el tratamiento con PPI para diagnosticar la segunda. En ese caso, el valor de G-17b antral debería normalizarse en dos semanas (17.8).

17.4. Gastritis superficial (no atrófica) asociada a *Helicobacter pylori*

Igual que ocurre con cualquier bacteria, *Helicobacter pylori* produce una inflamación aguda de la mucosa gástrica que suele comenzar en el antro (1, 3, 7, 13, 18, 36). Se pueden encontrar tres perfiles de marcadores distintos asociados con la infección por *Hp*.

17.4a En caso de infección por *Hp* activa, los niveles de anticuerpos anti-*Hp* aumentan; sin embargo, esta puede ser la única anomalía encontrada en GastroPanel, puesto que los demás marcadores se encuentran en el rango normal. Sin embargo, con cierta frecuencia, una infección por *Hp* activa persistente puede causar una reacción inflamatoria severa que, debido al aumento de la permeabilidad de las células, puede incrementar la filtración de PGI, PGII e incluso G-17 de las células y resultar en niveles séricos elevados de cualquiera de estos tres biomarcadores o de todos ellos (3, 7, 36).

17.4b La erradicación satisfactoria de *Hp* mediante el tratamiento activo debería conllevar la normalización de los valores de los tres marcadores, aunque sea con un retraso de unas semanas o meses. Los niveles de anticuerpos anti-*Hp* pueden permanecer elevados durante un periodo de tiempo mayor; esto es impredecible y limita la eficacia de GastroPanel como prueba de diagnóstico precisa para el control de la erradicación de *Hp* (36).

17.4c El fracaso del intento de eliminar *Hp* se identifica por la presencia de niveles de anticuerpos anti-*Hp* elevados (aumento ligero por norma general), de valores de PGI y relación PGI/PGII dentro del rango normal, y de valores de PGII o G-17b ligeramente altos a causa de la reacción inflamatoria persistente (consulte 17.4a). El resultado puede confirmarse después de 5-6 meses y acompañarse de un nuevo intento de tratamiento si es indicado (3, 36).

17.5 Gastritis atrófica del cuerpo gástrico

Por definición, la pérdida de células específicas (principales) de las glándulas oxínticas de la mucosa del cuerpo gástrico a causa de la atrofia de la mucosa supondrá una reducción progresiva de la secreción de PGI y de PGII (en menor medida), que segregan las mismas células de la mucosa antral. Esta reducción desproporcionada de estos dos marcadores dará lugar a una relación PGI/PGII reducida, que es característica de GA del cuerpo (1, 3, 5-9, 14, 16). La reducción de PGI y de la relación PGI/PGII es progresiva y está estrechamente relacionada con criterios de valoración como gravedad de la atrofia del cuerpo gástrico, atrofia total y la ausencia de ácido en el estómago. En el caso de la mucosa antral intacta (normal), esto provoca un aumento marcado de la secreción y de los niveles séricos de G-17b (17, 19). En este caso no es necesario realizar un análisis de G-17s. En casos crónicos con curso prolongado, la infección por *Hp* puede desaparecer y producir una normalización gradual de los niveles de anticuerpos anti-*Hp*.

17.6 Gastritis atrófica del antro

Cuando la atrofia de la mucosa solo afecta al antro, todos los marcadores específicos del cuerpo gástrico están dentro de la normalidad. Por definición, la existencia de GA del antro se debe a infección por *Hp* y se obtienen niveles de anticuerpos anti-*Hp* altos en las pruebas GastroPanel. A consecuencia de la atrofia del antro, el número de células G se reduce hasta desaparecer, lo que conlleva una reducción progresiva de los niveles de G-17b en plasma. Si la atrofia del antro es grave, no existe reacción a la estimulación proteica de la secreción de G-17s por la falta de células G (diana) en la mucosa (14, 15, 17).

17.7 Gastritis atrófica del antro y del cuerpo gástrico

La GA más grave que se conoce es la pangastritis atrófica, que afecta tanto al antro como al cuerpo gástrico. Como consecuencia última, las células específicas (principales) del cuerpo gástrico y el antro (células G) desaparecen, lo que da lugar a un patrón de expresión de biomarcadores caracterizado por una reducción importante de los pepsinógenos (PGI, PGII) y G-17 (1, 3, 5-9, 14, 16, 17, 19). Esto es aplicable a G-17b y G-17s, cuyos niveles se mantienen bajos incluso tras la estimulación por la falta de células G. Al igual que la GA del cuerpo (17.5), los niveles de anticuerpos anti-*Hp* pueden ser normales o elevados. Esto se debe a la desaparición de la *Hp* de la mucosa atrófica que puede producirse en casos de GA crónica; en ausencia de estímulos antigénicos, un descenso normal de anticuerpos IgG reducirá los niveles de anticuerpos *Hp* a valores por debajo del nivel de corte de 30 EIU.

17.8 Medicación PPI

Si el paciente utiliza cualquier medicamento PPI para suprimir la acidez gástrica, póngase en contacto con la persona que obtiene las muestras. Introduzca también información en la historia clínica del paciente, ya que se incluirá en la copia impresa de GastroSoft. Los inhibidores de la bomba de protones (PPI por sus siglas en inglés) reducen la secreción de ácido gástrico en el estómago. Esto aumenta la producción de gastrina-17, con el consiguiente incremento de los niveles de pepsinógeno. Cuando finaliza el tratamiento con PPI, la producción de ácido clorhídrico y los niveles de gastrina-17 tardan de 4 a 10 días aproximadamente en volver a la normalidad. Sin embargo, los niveles de pepsinógeno se mantienen altos durante un periodo de tiempo relativamente largo. La suspensión de la supresión ácida con PPI a largo plazo produce un rebote hipersecretor (en 7-10 días), lo que significa que los síntomas de ardor de estómago volverán a aparecer y que los niveles de gastrina-17 serán muy bajos. (1, 3, 11, 17).

Tabla 1. Las ocho categorías de diagnóstico de GastroPanel

	Biomarcadores de GastroPanel						Interpretación
	Pepsinógeno I (30-160 µg/l) [@]	Pepsinógeno II (3-15 µg/l)	Relación PGI/PGII (3-20)	Gastrina-17b (1-7 pmol/l)	Gastrina-17s (3-30 pmol/l)	Nivel de anticuerpos IgG anti- <i>H. pylori</i> (<30 EIU)	
1	N	N	N	N	N	N	Mucosa sana (sin atrofia ni infección por <i>H. pylori</i>)
2	N	N	N	L*	N	N	Mucosa sana. Alta secreción ácida en el cuerpo gástrico
3	N o H [^]	N o H [^]	N	H**	N	N	Mucosa sana. Baja secreción ácida a causa de medicación PPI, por ejemplo
4a	N o H [^]	N o H [^]	N	N o H [^]	ND	H	Infección por <i>H. pylori</i> activa, sin tratar
4b	N	N	N	N	ND	N o H [†]	Infección por <i>H. pylori</i> , erradicada satisfactoriamente
4c	N	H	N	H	ND	H	<i>H. pylori</i> no erradicada
5	L	L	L	H	ND	N ^{^^} o H	Gastritis atrófica del cuerpo gástrico
6	N	N	N	L	L	H	Gastritis atrófica del antro
7	L	L	L	L	L	N ^{^^} o H	Gastritis atrófica del cuerpo gástrico y el antro (pangastritis)
8	H	H	N	H	ND	N	Breve interrupción del tratamiento con PPI (4-10 días)

N=normal; L=bajo; H=alto; *Con medicación PPI durante dos semanas, G17b debería normalizarse; **Si se interrumpe la medicación PPI, G-17b debería normalizarse en dos semanas; ND, no es necesario analizar; [^]PGI, PGII y G-17 pueden ser elevados a causa de la inflamación de la mucosa; ^{^^}Los anticuerpos anti-*H. pylori* pueden desaparecer en casos de atrofia de mucosa de curso prolongado; [@]El valor de corte del pepsinógeno I de 30 µg/l corresponde a gastritis atrófica moderada/grave; [†]Los niveles de anticuerpos anti-*H. pylori* pueden mantenerse elevados durante meses tras eliminar correctamente *H. pylori*.

GastroPanel® – instantánea de la guía de interpretación



La infección por *H. pylori* o gastritis atrófica autoinmunitaria (GA), con riesgo de cáncer gástrico u otras secuelas, o el nivel de secreción ácida del estómago, no se pueden diagnosticar mediante las pruebas convencionales que se emplean en el diagnóstico de dispepsia e infección por *H. pylori*; por ejemplo, la prueba de urea en el aliento ¹³C (UBT), la prueba de antígenos en heces o la prueba de anticuerpos. En pacientes con GA, linfoma MALT o hemorragia por úlcera péptica, y en los sometidos a tratamiento con PPI o antibióticos, las pruebas UBT o los análisis de antígenos en heces suelen arrojar falsos negativos y la infección por *H. pylori* (con todas sus consecuencias) sigue sin detectarse (37-41) (www.biohithealthcare.com/additional-information).

GastroPanel permite diagnosticar gastritis atrófica del cuerpo gástrico, el antro o ambos. En comparación con la gastroscopia, esta no siempre permite diagnosticar con precisión la gastritis atrófica en unas cuantas muestras pequeñas de biopsia, que constituyen una mínima muestra de la mucosa gástrica de pacientes adultos. Asimismo, el diagnóstico de la atrofia de la mucosa (en particular cuando es leve) es subjetivo y susceptible a variaciones entre observadores. De forma similar, la precisión de la gastroscopia depende de la experiencia y la competencia de la persona que la realiza. Las deficiencias no afectan a GastroPanel porque es una prueba de laboratorio automática basada en ELISA. De hecho, la histología de la biopsia endoscópica no es un método de referencia fiable (42) aunque se utilice como tal en la actualidad. Si se compara con los biomarcadores séricos, es preciso tener presentes las limitaciones que ofrece en cuanto a precisión diagnóstica (2, 43).

Cuando lo utilizan gastroenterólogos y patólogos competentes, la coincidencia entre GastroPanel y la histología de la biopsia gástrica es muy buena: superior al 0,8 (casi en el límite de la perfección) según el test de kappa ponderado (14). El diagnóstico de la atrofia gástrica es muy subjetivo si no se realiza una biopsia gástrica; es

decir, si se basa solamente en la gastroscopia (44). Cuando GastroPanel indica que la mucosa gástrica está sana (no hay infección por *H. pylori* ni gastritis atrófica), los síntomas clínicos suelen deberse a dispepsia o a otro trastorno funcional sin enfermedad orgánica de la mucosa gástrica.

18. REFERENCIAS

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, Battiestel 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 US/History: Aggressive innovation and patenting strategy. 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, Arai 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. FECHA DE PUBLICACIÓN

Prospecto del kit GastroPanel® *Helicobacter pylori*.

Versión 4.0, septiembre de 2016.

20. GARANTÍA

El Fabricante remediará todos los defectos detectados en cualquier producto («Producto defectuoso») que se deriven de materiales no aptos o de negligencia en la elaboración, y que impidan el funcionamiento mecánico o el uso previsto de los productos, incluidas, entre otras, las funciones que se indican en las especificaciones del Fabricante para los productos. NO OBSTANTE, TODA GARANTÍA SE CONSIDERARÁ ANULADA SI SE DETERMINA QUE EL FALLO SE DEBE A TRATAMIENTO INADECUADO, USO INDEBIDO, DAÑO ACCIDENTAL, ALMACENAMIENTO INCORRECTO O USO DE LOS PRODUCTOS PARA OPERACIONES FUERA DE LAS LIMITACIONES ESPECIFICADAS O DE SUS ESPECIFICACIONES, CONTRARIAMENTE A LAS INSTRUCCIONES QUE SE OFRECEN EN EL MANUAL DE INSTRUCCIONES.

El período de garantía para el Distribuidor se define en el manual de instrucciones de los productos y comenzará en la fecha en que el Fabricante suministre el producto en cuestión. En caso de conflictos de interpretación, prevalecerá el texto en inglés.

Todos los kits de diagnóstico Biohit se han fabricado de acuerdo con los protocolos de gestión de calidad ISO 9001/ISO 13485 y han superado todos los procedimientos pertinentes de garantía de calidad relacionados con estos productos.

21. INFORMACIÓN SOBRE PEDIDOS

GastroPanel®

N.º Cat. 606 400

Sede central

BIOHIT OYJ

Laippatie 1

00880 Helsinki (Finlandia)

Tel: +358-9-773 861

Fax: +358-9-773 2867

Correo electrónico: info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

22. BREVE DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Espere hasta que los reactivos estén a temperatura ambiente. No olvide mezclar bien todos los reactivos y las muestras antes de dispensarlos con la pipeta.

*

Tras mezclar, pipetee 100 µl de tampón de dilución (blanco), calibradores 1-4, control y muestras de pacientes diluidas (1:400) en los pocillos.

*

Incube durante **60 minutos a temperatura ambiente con agitación (750 rpm)**.

*

Lave los pocillos 3 veces con 350 µl de tampón de lavado diluido.

*

Pipetee 100 µl de la solución de conjugado mezclada en los pocillos.

*

Incube durante **60 minutos a temperatura ambiente con agitación (750 rpm)**.

*

Lave los pocillos tres veces con 350 µl de tampón de lavado diluido.

*

Pipetee 100 µl de la solución de sustrato mezclada en los pocillos.

*

Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente.

*

Pipetee 100 µl de la solución de interrupción mezclada en los pocillos.

*

Haga una lectura a **450 nm** en 30 minutos.