

**BIOHIT HealthCare**

Innovating for Health

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

Kit ELISA pour la détection d'anticorps IgG anti-*H. pylori* dans le plasma EDTA dans le cadre du GastroPanel

**MODE D'EMPLOI**

**GastroPanel<sup>®</sup>**

Product Family  
606 400

**REF** 606 040






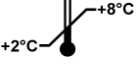









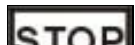
**IVD**

**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](mailto:info@biohit.fi), [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

EXPLICATION DES SYMBOLES UTILISÉS SUR LES ÉTIQUETTES

	Français
	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	À utiliser avant
	Consulter le mode d'emploi
	Température limite Conserver entre +2 et +8°C
	96 déterminations
	Ne pas réutiliser
	Marquage CE
	Tampon de lavage concentré (10x)
	Tampon de dilution d'échantillon
	Étalon
	Contrôle
	Conjugué
	Substrat
	Solution d'arrêt

**Remarque** : D'autres langues sont disponibles à l'adresse [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

**GastroPanel<sup>®</sup> *Helicobacter pylori*****Réf. cat. 606 040**

1. PRÉSENTATION DE GASTROPANEL <sup>®</sup> .....	5
2. HELICOBACTER PYLORI DANS LE CADRE DE GASTROPANEL <sup>®</sup> .....	7
3. UTILISATION PRÉVUE .....	7
4. CONTEXTE DES IGG HELICOBACTER PYLORI .....	7
5. PRINCIPE DU TEST.....	8
6. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS .....	8
7. TRAÇABILITÉ DES VALEURS.....	9
8. CONTENU DU KIT, PRÉPARATION DES RÉACTIFS ET STABILITÉ DU MATÉRIEL FOURNI .....	9
8.1. Microplaque .....	9
8.2. Tampon de lavage concentré (10x) .....	9
8.3. Tampon de dilution d'échantillon .....	9
8.4. Étalons.....	9
8.5. Contrôle .....	9
8.6. Conjugué .....	9
8.7. Solution substrat.....	10
8.8. Solution d'arrêt.....	10
8.9. Couvercles d'incubation.....	10
8.10. Mode d'emploi.....	10
9. PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS.....	10
9.1 Congélation de l'échantillon .....	10
9.2. Stimulation de la gastrine 17 .....	10
10. MATÉRIEL NÉCESSAIRE, MAIS NON FOURNI .....	10
10.1 Méthode manuelle .....	10
10.2 Automates.....	11
11. CONSERVATION ET STABILITÉ.....	11
12. PROCÉDURE DE TEST .....	11
12.1. Méthode manuelle .....	12
12.2. Méthode automatisée .....	14
13. RÉSULTATS.....	14
13.1. Valeurs de contrôle de qualité .....	14
13.2. Calcul des résultats .....	14
13.3. Interprétation des résultats .....	15
13.4. Intervalle de référence biologique.....	15

14. LIMITES DE LA PROCÉDURE .....	16
15. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES ANALYTIQUES .....	16
16. PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE .....	18
17. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE GASTROPANEL® .....	18
17.1 Estomac sain .....	18
17.2 Sécrétion d'acide élevée .....	18
17.3. Faible sécrétion d'acide en raison de la prise de médicaments inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) ..	19
17.4. Gastrite superficielle (non atrophique) associée à <i>Helicobacter pylori</i> .....	19
17.5 Gastrite atrophique du corps .....	19
17.6 Gastrite atrophique de l'antra .....	20
17.7 Gastrite atrophique de l'antra et du corps .....	20
17.8 Médicaments IPP .....	20
18. RÉFÉRENCES .....	24
19. DATE DE PUBLICATION .....	27
20. GARANTIE .....	27
21. INFORMATIONS DE COMMANDE .....	27
22. RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE .....	28

## 1. PRÉSENTATION DE GASTRO PANEL®

GastroPanel® est le test de diagnostic de première ligne de l'infection par *Helicobacter pylori* (*Hp*) (affectant 5 à 80 % de la population mondiale), pour l'examen de tous les patients souffrant de dyspepsie (20 à 40 % de la population occidentale), et pour le dépistage de la gastrite atrophique (GA) avec des risques associés tels que le cancer de l'estomac et de l'œsophage (1-3). La gastrite atrophique augmente le risque de malabsorption de la vitamine B12, du fer, du magnésium, du zinc, du calcium et de certains médicaments.

GastroPanel contient des biomarqueurs clés spécifiques à l'estomac représentant les régulateurs clés de la physiologie gastrique normale. Ces quatre biomarqueurs comprennent le pepsinogène I (PGI), le pepsinogène II (PGII), la gastrine de 17 acides aminés (G-17) et les anticorps anti-*HP*, et donnent des informations sur la structure et la fonction de la muqueuse gastrique (1-6). Par ailleurs, ce panel donne une estimation précise de la capacité de la muqueuse de l'antrum et du corps à sécréter de l'acide gastrique et de la gastrine G-17, ainsi que de la présence de pathologies gastriques importantes, telles qu'une inflammation, et enfin du niveau et de la topographie de la gastrite atrophique (7-9), qui peut représenter un risque accru de cancer de l'estomac (1). Des taux plasmatiques normaux des quatre biomarqueurs indiquent que la muqueuse de l'estomac a une structure et une fonction normales, tandis que des taux anormaux sont des signes d'un estomac en mauvaise santé, et indiquent des anomalies des mécanismes de rétrocontrôle entre la sécrétion d'acide du corps, les PG et la G-17. Il existe deux options d'évaluation de G-17, les valeurs de gastrine 17 basale (G-17b) et les valeurs de gastrine 17 stimulée (G-17s), ces dernières étant particulièrement importantes pour distinguer les troubles fonctionnels de l'antrum (G-17s normale) et la GA de l'antrum (la G-17s n'augmente pas dans la GA) (10,11).

GastroPanel, premier test diagnostique non invasif de la santé de la muqueuse gastrique, est unique du fait que les résultats sont interprétés par une application logicielle (GastroSoft) spécialement développée à cet effet (<http://www.GastroPanel.com>). Les résultats de GastroPanel sont classés dans une des cinq catégories de diagnostic possibles concernant la morphologie de l'estomac : 1) muqueuse normale, 2) gastrite superficielle ou non atrophique (*Hp*), 3) GA du corps, 4) GA de l'antrum et 5) GA de l'antrum et du corps (pangastrite) (11, 12). Ainsi, le GastroPanel est optimisé pour une utilisation avec le Système de Sidney mis à jour (USS) pour la classification des gastrites, qui repose sur ces mêmes cinq catégories de diagnostic (13). Par ailleurs, il existe trois autres profils de marqueurs spécifiques aux anomalies fonctionnelles de l'estomac dans lesquelles la morphologie est normale (voir les détails au paragraphe 17).

GastroPanel a été validé lors de plusieurs essais à grande échelle sur des gastroscopies confirmées par biopsie (14, 15), toute incluses dans une méta-analyse du sujet (16). Ces études ont servi à établir les valeurs de référence (seuil) validées pour chaque biomarqueur du panel pour les cinq indicateurs histologiques. Ces études confirment également la haute précision de GastroPanel pour la détection de l'indicateur le plus important, la GA modérée à grave (14-16). Ainsi, des valeurs normales de PGI, PGII et de leur rapport (PGI/PGII) permettent d'écarter la GA du corps avec une VPN supérieure à 95 %. Des valeurs de PGI et PGII et leur rapport inférieurs aux taux limites établis indiquent une GA modérée à grave avec des valeurs de l'aire sous la courbe ROC (AUC) supérieures à 0,950 dans les séries suffisamment puissantes et validées dans l'USS (1, 2, 3, 16, 17).

En bref, le taux de PGI baisse dans la GA du corps (et la pangastrite), mais reste dans la plage normale dans les autres conditions. Un taux de PGII élevé indique une inflammation de la muqueuse, les valeurs les plus élevées étant détectées dans les gastrites non atrophiques associées à *Hp*. Les valeurs de G-17b sont les plus élevées dans la GA du corps en raison de l'absence de rétrocontrôle négatif de la sécrétion d'acide par un corps

atrophique, qui a pour conséquence une sécrétion illimitée de G-17 par la muqueuse antrale normale. Ceci s'applique également à l'inhibition de la sécrétion d'acide en cas d'usage prolongé de médicaments IPP. Par définition, quand la muqueuse antrale est atrophique et que les cellules G sont appauvries, la sécrétion de G-17 reste très faible même après stimulation protéique (G-17s)(17).

Les anticorps IgG anti-*Hp* confèrent une valeur diagnostique ajoutée importante aux trois biomarqueurs. Le taux d'anticorps IgG anti-*Hp* mesure deux états potentiellement différents : 1) une infection par *Hp* en cours, ou 2) une exposition antérieure à *Hp*. En tant que seul marqueur anormal, *Hp* implique une gastrite superficielle associée à *Hp* (non GA), tandis que s'il est associé à des anomalies des 3 autres marqueurs, un taux d'anticorps anti-*Hp* élevé confirme le diagnostic de GA associée à *Hp* (antre ou corps) (1, 3, 18, 19).

**Le test GastroPanel peut détecter les états suivants :**

- 1) L'infection à *H. pylori*, qui est un facteur de risque indépendant de cancer de l'estomac et d'ulcère gastroduodéal (ulcère gastrique et duodéal).
- 2) La gastrite atrophique induite par *H. pylori* (GA), qui est asymptomatique dans la plupart des cas, et le site topographique de la GA dans le corps et/ou l'antré. Outre *H. pylori*, les autres causes de développement de la GA dans le corps, avec toutes les séquelles cliniques qu'elle comporte, peuvent également être un mécanisme auto-immun.
- 3) La GA, qui cause une faible sécrétion d'acide, ou un manque d'acide chlorhydrique dans l'estomac. Celle-ci augmente le risque de cancer de l'estomac ou de l'œsophage ainsi qu'une malabsorption de la vitamine B 12, du calcium, du magnésium et du zinc. Par ailleurs, l'absorption de certains médicaments, tels que le dipyridamole, de certaines préparations à base de fer et de certains antifongiques (fluconazole, itraconazole), la thyroxine et l'atazanovir est compromise en cas d'estomac achlorhydrique. Une carence en calcium peut causer l'ostéoporose, et une carence en vitamine B12 peut contribuer au développement de l'anémie mégalo-blastique, de la maladie d'Alzheimer, de la démence, la dépression ou de neuropathies périphériques. Une sécrétion d'acide gastrique réduite peut également augmenter le risque d'infections graves des systèmes digestifs et respiratoires, dont la gardiose, *Clostridium difficile*, EHEC et la pneumonie.
- 4) La GA de l'antré, qui augmente le risque d'ulcère gastroduodéal et de cancer de l'estomac. La coexistence d'une GA du corps et de l'antré est le facteur de risque dominant de cancer de l'estomac.
- 5) Une infection à *H. pylori*, également chez les sujets présentant une GA, un lymphome de type MALT ou un ulcère gastroduodéal hémorragique, ou en cas de prise de médicaments IPP ou d'antibiotiques. Dans ces cas, les tests respiratoires à l'urée marquée au C13 ou la recherche d'antigènes *Hp* dans les selles donnent souvent des faux résultats négatifs, et l'infection à *H. pylori* (et toutes les conséquences associées) n'est pas détectée.
- 6) Une sécrétion d'acide élevée de la muqueuse gastrique, qui prédispose au reflux œsophagien et à ses complications potentielles (œsophagite ulcéreuse, œsophage de Barrett ou cancer du bas œsophage).

Une GA, une sécrétion d'acide élevée et une infection symptomatique à *H. pylori* sont des indications de gastroscopie.

Dans le monde, le cancer de l'estomac reste la troisième cause de décès par cancer, et le manque d'acide chlorhydrique dans l'estomac est le facteur de risque le plus important. Selon une méta-analyse récente, l'utilisation chronique de médicaments IPP est également associée à un risque accru de cancer de l'estomac (20). La cause commune de ces deux conditions est l'acétaldéhyde carcinogène (classe I) produit dans l'estomac achlorhydrique (21). Le pouvoir carcinogène de l'acétaldéhyde est mieux documenté par un modèle de pathologie

humaine, c'est-à-dire chez les personnes exposées qui présentent des mutations de l'enzyme de métabolisation aldéhyde-déshydrogénase (ALDH), distribuées de manière aléatoire dans certaines populations (22). Cette information est très importante, car la mise en évidence d'une substance carcinogène spécifique permet de prendre des mesures pour réduire l'exposition du tube digestif supérieur à l'acétaldéhyde tant au niveau de la population qu'au niveau des individus (23). Pour obtenir cette protection, il est recommandé à tous les sujets présentant un estomac achlorhydrique, de GA du corps et les personnes prenant régulièrement des médicaments IPP d'utiliser des gélules Acetium pour convertir l'acétaldéhyde carcinogène dans l'estomac en composé inoffensif, réduisant ainsi le risque de cancer de l'estomac et de l'œsophage ([www.acetium.com](http://www.acetium.com)).

Pour plus de détails sur l'interprétation des résultats de GastroPanel, consulter le Tableau 1 et le site [www.gastropanel.com](http://www.gastropanel.com).

## **2. HELICOBACTER PYLORI DANS LE CADRE DE GASTROANEL®**

GastroPanel est un panel d'essai d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) quantitatif qui mesure la concentration dans le plasma sanguin de quatre marqueurs biologiques de la structure et de la fonction de la muqueuse gastrique : le pepsinogène I (PGI), le pepsinogène II (PGII), la gastrine 17 (G-17) et les anticorps IgG anti-*Helicobacter pylori*. GastroPanel est indiqué pour aider au diagnostic de patients adultes symptomatiques (dyspeptiques) et pour le dépistage de sujets asymptomatiques afin de détecter les groupes à risque de cancer de l'estomac, à savoir les sujets présentant 1) une infection à *H. pylori*, 2) une gastrite atrophique (GA). POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

## **3. UTILISATION PRÉVUE**

GastroPanel *Helicobacter pylori* est un essai d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) pour la détection quantitative d'anticorps IgG humains anti-*Helicobacter pylori* dans le plasma EDTA. Ce test est destiné au diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* chez les patients adultes présentant des symptômes dans la partie haute de l'abdomen (dyspepsie). Ce kit est utilisé dans le cadre de GastroPanel. POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

## **4. CONTEXTE DES IGG HELICOBACTER PYLORI**

L'infection par *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est la principale cause de gastrite chronique et cause une atrophie de la muqueuse, c'est-à-dire une gastrite atrophique (GA). Plus rarement, la GA peut être causée par un mécanisme autoimmunitaire (24, 25). Ce test ELISA est destiné au diagnostic de l'infection à *H. pylori* dans l'échantillon de plasma, sur la base de la détection d'anticorps IgG.

*H. pylori* est une bactérie spiralée à Gram négatif qui colonise l'estomac humain. Cet organisme se retrouve dans la couche muqueuse couvrant l'épithélium gastrique, et dans les glandes de la muqueuse, mais ne semble pas envahir les cellules épithéliales. Cependant, la muqueuse se trouvant sous et autour des régions colonisées par *H. pylori* est invariablement enflammée. Cet état, qui est qualifié de gastrite chronique superficielle ou non atrophique, persiste à vie s'il n'est pas traité (1). Si la bactérie n'est pas correctement éradiquée, ce processus inflammatoire chronique cause une GA. La GA, à son tour, augmente le risque d'ulcération peptique et de cancer de l'estomac, deux séquelles importantes de l'infection à *H. pylori* (26-29). La présence d'anticorps anti souches d'*H. pylori* a été associée au développement de la GA dans le corps (30). Les preuves épidémiologiques indiquent un lien entre

l'infection à *H. pylori* et l'adénocarcinome de l'estomac, et au lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) (18, 31, 32).

## 5. PRINCIPE DU TEST

Ce test GastroPanel *Helicobacter pylori* repose sur une technique d'essai immunoenzymatique avec un antigène bactérien de *H. pylori* partiellement purifié adsorbé sur une microplaque et un anticorps de détection marqué à la peroxydase de raifort (PR).

L'essai se déroule selon les réactions suivantes :

1. L'antigène bactérien de *H. pylori* partiellement purifié tapisse la surface en polystyrène des puits et se lie aux anticorps IgG anti-*H. pylori* présents dans l'échantillon.
2. Les puits sont lavés pour éliminer les résidus d'échantillon.
3. Les anti-IgG humaine monoclonaux conjugués à la PR se lient aux anticorps IgG anti-*H. pylori*.
4. Les puits sont lavés et le substrat TMB est ajouté. Le substrat est oxydé par l'enzyme de PR, avec pour résultat la formation d'un produit final de couleur bleue.
5. La réaction enzymatique est arrêtée avec la solution d'arrêt. Les échantillons positifs à *H. pylori* deviennent jaunes en cas de valeurs calculées >30 EIU.

## 6. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

**Pour usage diagnostique *in vitro*.**

ATTENTION : Manipuler les échantillons de plasma comme matériel présentant un risque biologique.

Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement contaminés et traités comme des produits infectieux. Consulter la publication du Ministère américain de la Santé et des Services sociaux (Bethesda, MD., USA) « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (Sécurité biologique dans les laboratoires de microbiologie et les laboratoires biomédicaux), 1999, 4e éd. (CDC/NIH) et N° (CDC) 88-8395 sur les rapports de procédures de sécurité en laboratoire concernant différentes maladies, ou toute autre réglementation locale ou nationale.

Ce kit contient des réactifs obtenus à partir de composants sanguins humains. Les produits source fournis dans ce kit ont été testés pour ce qui concerne la présence d'anticorps anti-hépatite B et C et anti-VIH, et se sont avérés négatifs. Cependant, comme aucune méthode d'essai ne peut offrir la certitude absolue que ces pathogènes sont absents, respecter toutes les précautions d'usage lors de la manipulation des dérivés sanguins.

Toujours porter des gants de protection pour manipuler les échantillons de patients. Utiliser un dispositif de pipetage de sécurité pour tous les pipetages. Ne jamais pipetter avec la bouche. Lire toutes les instructions avant d'effectuer ce dosage.

Les ingrédients contenant du ProClin peuvent causer des allergies cutanées (voir la fiche de données de sécurité). Éliminer toutes les solutions contenant du ProClin conformément à la législation locale en vigueur pour l'élimination des déchets.



## 7. TRAÇABILITÉ DES VALEURS

Il n'y a pas de documents de référence concernant l'antigène de *H. pylori*. Les valeurs de l'étalon et du contrôle sont affectées à des étalons de référence internes de Biohit.

## 8. CONTENU DU KIT, PRÉPARATION DES RÉACTIFS ET STABILITÉ DU MATÉRIEL FOURNI

Les réactifs permettent de remplir 96 puits et de réaliser trois séries séparées. Ne pas mélanger des réactifs de différents lots de kits.

### 8.1. Microplaque

**Contenu** : 12 x 8 barrettes en support tapissées d'antigène bactérien d'*H. pylori* partiellement purifié.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption. Jeter les barrettes après usage.

### 8.2. Tampon de lavage concentré (10x)

**Contenu** : 120 ml de tampon phosphate salin (PBS) concentré 10x contenant les conservateurs suivants : Tween 20 et 0,1 % de ProClin 300.

**Préparation** : Diluer de 1 à 10 (par exemple 100 ml + 900 ml) à l'eau distillée et bien mélanger.

**Stabilité** : Le concentré est stable jusqu'à la date de péremption. La solution diluée réfrigérée est stable pendant deux semaines (2 à 8 °C).

### 8.3. Tampon de dilution d'échantillon

**Contenu** : 100 ml de tampon phosphate contenant de la caséine, contenant les conservateurs suivants : Tween 20 et 0,1 % de ProClin 300 et un colorant rouge.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption.

### 8.4. Étalons

**Contenu** : Quatre flacons contenant 1,5 ml d'étalon IgG *H. pylori* sur base sérique humaine avec 0,1 % de ProClin 300 comme conservateur. La valeur EIU de l'étalon spécifique au lot est indiquée sur l'étiquette du flacon.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption.

### 8.5. Contrôle

**Contenu** : Un flacon contenant 1,5 ml de contrôle IgG *H. pylori* sur base sérique humaine avec 0,1 % de ProClin 300 comme conservateur. La valeur EIU du sérum de contrôle est indiquée sur l'étiquette.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption.

### 8.6. Conjugué

**Contenu** : 15 ml d'anti-IgG humaine monoclonal conjugués à de la PR dans un tampon de stabilisation contenant 0,02 % de méthylisothiazolinone, 0,02 % de bromonitrodioxane et 0,002 % d'autres isothiazolinones actifs comme conservateurs.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption.

### **8.7. Solution substrat**

**Contenu** : 15 ml de tétraméthylbenzidine (TMB) en solution aqueuse.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption. Ne pas exposer à la lumière directe.

### **8.8. Solution d'arrêt**

**Contenu** : 15 ml d'acide sulfurique à 0,1 mol/l.

**Préparation** : Prêt à l'emploi.

**Stabilité** : Stable jusqu'à la date de péremption.

### **8.9. Couvercles d'incubation**

Trois feuilles en plastique pour couvrir la microplaque pendant l'incubation.

### **8.10. Mode d'emploi**

Inséré dans chaque kit.

## **9. PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS**

Il est recommandé de prélever l'échantillon sanguin après une nuit de jeûne (10 heures environ), et au moins dans tous les cas après 4 heures de jeûne, dans un tube EDTA sans additifs. Les tubes de prélèvement sanguin doivent être mélangés immédiatement en les renversant 5 à 6 fois. Le plasma doit être séparé par centrifugation immédiatement ou après 2 heures au plus tard (par exemple StatSpin<sup>®</sup> Express 2, centrifugation pendant 2 minutes à 4440 x g, consulter les instructions du fabricant de la centrifugeuse pour la séparation du plasma).

Après séparation du plasma, ajouter GastroPanel Stabilizer à l'échantillon (50 µl/1 ml de plasma ; Biohit Oyj, GastroPanel Stabilizer, Réf. cat 606 050 et 606 051). L'ajout du stabilisateur dans l'échantillon de plasma immédiatement après la séparation permet de stocker l'échantillon pendant 7 jours au réfrigérateur à 2-8 °C et pendant 3 jours à température ambiante (20-25 °C).

### **9.1 Congélation de l'échantillon**

Congeler l'échantillon immédiatement après séparation et ajout de GastroPanel Stabilizer. Pour un stockage temporaire, les échantillons de plasma peuvent être stockés congelés à -20°C, mais pour un stockage à long terme de plus de 2 semaines, ils doivent être conservés à -70°C. Mélanger soigneusement les échantillons après les avoir décongelés. Ne pas congeler et décongeler les échantillons de manière répétée. Éliminer les échantillons grossièrement hémolysés, lipémiques ou turbides.

### **9.2. Stimulation de la gastrine 17**

Si un échantillon postprandial à protéines stimulées est nécessaire, faire boire au patient une boisson à base de protéines en poudre (Biohit Oyj, réf cat.601 037 ou 601 038) après un jeûne d'au moins 4 à 10 heures. Vingt minutes après ingestion de la boisson protéinée, prélever le sang dans un tube EDTA.

## **10. MATÉRIEL NÉCESSAIRE, MAIS NON FOURNI**

### **10.1 Méthode manuelle**

Eau distillée ou déionisée, micropipettes et embouts jetables pour doser précisément 10 - 1000 µl, pipettes pour le dosage précis de 1-10 ml, pipette à 8 canaux pour doser 100 µl, cylindre gradué de 1000 ml, mélangeur vortex pour la dilution des échantillons, tubes à essai pour la dilution des spécimens, laveur de microplaques, serviettes

en papier ou papier absorbant, minuteur, lecteur de microplaque à principe de mesure vertical 450 nm (33), p. ex., tube de prélèvement sanguin en plastique pour plasma EDTA, récipient pour bain à l'eau glacée, agitateur de plaque.

## 10.2 Automates

Eau distillée ou déionisée pour la dilution du tampon de lavage. GastroPanel est parfaitement compatible avec les processus automatisés. Aucun instrument, accessoire ou consommable supplémentaire n'est nécessaire pour réaliser l'analyse GastroPanel avec les automates ELISA du commerce avec lecteur de microplaque à principe de mesure vertical (33).

## 11. CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver le kit GastroPanel *Helicobacter pylori* au réfrigérateur (2-8°C). S'il est conservé à ces températures, le kit est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur chaque composant du kit. Ne pas congeler ni exposer le kit à des températures élevées ni le stocker à plus de 8 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. La solution substrat est sensible à la lumière. Ne pas sortir la microplaque ou les bandes du sachet en pellicule d'aluminium tant qu'elles ne sont pas à température ambiante (20-25°C). Replacer les bandes non utilisées dans le sachet en pellicule d'aluminium, le fermer hermétiquement et stocker à 2-8°C.

Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Ne pas utiliser de réactifs provenant de kits portant des numéros de lot différents ni les remplacer par des réactifs de kits d'autres fabricants. Utiliser uniquement de l'eau distillée ou déionisée. Les composants de kit sont fournis à une concentration précise. Toute dilution supplémentaire et toute autre altération des réactifs peuvent donner des résultats incorrects.

### Indication de la détérioration du kit

Les composants liquides ne doivent pas avoir un aspect trouble ni contenir de produits précipités. À 2-8°C, le tampon de lavage concentré peut cependant cristalliser en partie, mais les cristaux se dissoudront par mélange à température ambiante (20-25°C). Le tampon diluant est légèrement opaque. Les étalons et le contrôle peuvent eux aussi avoir un aspect légèrement opaque. La solution substrat doit être incolore ou bleu pâle. Toute autre couleur indique une détérioration de la solution substrat.

## 12. PROCÉDURE DE TEST

### PRÉPARATIONS PRÉLIMINAIRES

Laisser tous les réactifs et la microplaque atteindre la température ambiante (20-25°C). Diluer le tampon de lavage concentré de 1 à 10 (par exemple 100 ml + 900 ml) à l'eau distillée ou déionisée. Décongeler rapidement les échantillons congelés dans un bain d'eau à température ambiante en mélangeant de temps en temps. Quand ils sont presque décongelés, les placer dans un bain de glace pilée. **Lire la totalité de la procédure d'essai avant de commencer. Il est recommandé d'appliquer les étalons et le contrôle sur la plaque comme doubles. Il est nécessaire d'utiliser les étalons et le contrôle à chaque série d'essais.**

**Bien mélanger tous les réactifs avant l'utilisation.** Remarque : Toutes les incubations doivent être réalisées à 20-30°C (température ambiante). Ne pas dépasser la température indiquée.

## 12.1. Méthode manuelle

Suivre les instructions de dilution des échantillons ci-après pour l'analyse simultanée de la totalité du GastroPanel.

### ÉTAPE 1 : DILUTION DU SPÉCIMEN

Le tampon de dilution d'échantillon, le tampon de lavage, la solution d'arrêt et le substrat peuvent être utilisés indifféremment pour différents kits d'un même lot. Tous les autres composants du kit sont spécifiques à chaque kit.

Dilution des échantillons GastroPanel

Dilution	Analyte
1:5	G-17
1:20	PGI
1:20	PGII
1:400	<i>H. pylori</i>

Effectuer trois dilutions séparées de l'échantillon. Un exemple de dilution est représenté ci-dessous :

1. Pour réaliser la dilution de G17 : diluer l'échantillon de plasma EDTA mélangé à 1:5 (par exemple 100 µl de plasma + 400 µl de tampon diluant). Mélanger le tube.
2. Pour réaliser la dilution de PGI et de PGII : diluer à nouveau la dilution à 1:5 réalisée ci-dessus à 1:4 pour obtenir une dilution à 1:20 (par ex. 180 µl de dilution à 1:5 + 540 µl de tampon diluant). Mélanger le tube.
3. Pour la dilution d'*H. pylori* : diluer à nouveau à 1:20 la dilution à 1:20 réalisée ci-dessus pour obtenir une dilution à 1:400 (par ex. 20 µl de dilution à 1:20 + 380 µl de tampon diluant). Mélanger le tube.

### ÉTAPE 2 : ÉCHANTILLON

Mélanger et pipeter 100 µl de la solution à blanc (BS, pour G-17, PGI et PGII), ou du tampon de dilution d'échantillon (blanc, pour *H. pylori*), les étalons, le contrôle et les échantillons dilués dans les puits de la microplaque (voir la figure 1 pour *H. pylori* et les figures 2 et 3 pour G-17 et PGI/PGII, respectivement). Il est possible de couvrir la plaque avec le couvercle d'incubation pour éviter les projections. Incuber pendant 60 minutes à température ambiante en agitant (750 rpm). Remarque : Il est recommandé de délivrer les échantillons dans les puits d'une plaque dans un délai de 20 minutes pour éviter la déviation de l'essai au sein de la plaque.

	1	2	3	4
<b>A</b>	Blanc	Blanc	Échantill	Échantill
<b>B</b>	CAL 1	CAL 1	etc.	etc.
<b>C</b>	CAL 2	CAL 2		
<b>D</b>	CAL 3	CAL 3		
<b>E</b>	CAL 4	CAL 4		
<b>F</b>	Contrôle	Contrôle		
<b>G</b>	Échantillo	Échantillo		
<b>H</b>	Échantillo	Échantillo		

Figure 1. Ordre de pipetage d'*H. Pylori*

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>A</b>	BS	BS	etc.	etc.
<b>B</b>	CAL1	CAL1		
<b>C</b>	CAL2	CAL2		
<b>D</b>	CAL3	CAL3		
<b>E</b>	CAL4	CAL4		
<b>F</b>	Contrôle	Contrôle		
<b>G</b>	Échantillo	Échantillo		
<b>H</b>	Échantillo	Échantillo		

Figure 2. Ordre de pipetage de G-17

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>A</b>	BS	BS	etc.	etc.
<b>B</b>	CAL1	CAL1		
<b>C</b>	CAL2	CAL2		
<b>D</b>	CAL3	CAL3		
<b>E</b>	Contrôle	Contrôle		
<b>F</b>	Échantillon	Échantillo		
<b>G</b>	Échantillon	Échantillo		
<b>H</b>	Échantillon	Échantillo		

Figure 3. Ordre de pipetage de PGI et de PGII

#### ÉTAPE 3 : LAVAGE

Laver les barrettes de la microplaque avec 3 x 350 µl du tampon de lavage dilué (1 à 10) et tapoter doucement à plusieurs reprises la plaque renversée sur une serviette en papier propre.

#### ÉTAPE 4 : CONJUGUÉ

Remarque : Chaque kit a un conjugué spécifique (non interchangeable). Pipeter 100 µl de la solution de conjugué dans les puits de la microplaque vidée avec une pipette à huit canaux. Il est possible de couvrir la plaque avec le couvercle d'incubation. Incuber pendant 60 minutes à température ambiante en agitant (750 tr/min).

#### ÉTAPE 5 : LAVAGE

Laver les barrettes de la microplaque avec 3 x 350 µl du tampon de lavage dilué (1 à 10) et tapoter doucement à plusieurs reprises la plaque renversée sur une serviette en papier propre.

#### ÉTAPE 6 : SUBSTRAT

Pipeter 100 µl de la solution substrat dans les puits de la microplaque avec une pipette à huit canaux. Démarrer l'incubation après pipetage de la solution substrat dans la première barrette de la microplaque et continuer l'incubation pendant 30 minutes à température ambiante. Éviter l'exposition directe à la lumière pendant l'incubation.

#### ÉTAPE 7 : ARRÊT DE LA RÉACTION

Pipeter 100 µl de la solution d'arrêt dans les puits de la microplaque avec une pipette à huit canaux.

## ÉTAPE 8 : MESURE DES RÉSULTATS SUIVANT LE PRINCIPE DE MESURE VERTICAL

Mesurer l'absorbance des puits de la microplaque à 450 nm dans un délai de 30 minutes (33).

### 12.2. Méthode automatisée

GastroPanel a été conçu pour les processus automatiques. Dès que les protocoles spécifiques à l'essai sont créés et validés, la réalisation du GastroPanel avec un automate ELISA ouvert autonome permet d'économiser les ressources et est facile à utiliser, en évitant par exemple les troubles dus au pipetage tels que les troubles dus aux microtraumatismes répétés.

La seule opération manuelle nécessaire est la préparation de la dilution à 1:10 du tampon de lavage concentré avant la série suivante. L'ensemble du processus de dosage, de la dilution de l'échantillon au calcul du résultat final et à l'établissement du rapport est entièrement automatique.

## 13. RÉSULTATS

### 13.1. Valeurs de contrôle de qualité

Les bonnes pratiques de laboratoire préconisent l'utilisation de contrôles appropriés pour s'assurer que tous les réactifs et protocoles fonctionnent comme prévu. Le GastroPanel *Helicobacter pylori* est fourni avec le contrôle. Les graphiques de contrôle qualité du lot doivent être maintenus pour suivre les performances du contrôle. Autrement, utiliser des méthodes statistiques adaptées pour analyser les valeurs de contrôle internes qui doivent se situer dans les intervalles de confiance appropriés employés dans chaque laboratoire. Il est nécessaire d'obtenir les résultats prévus pour le contrôle pour pouvoir accepter les résultats.

### 13.2. Calcul des résultats

Les valeurs d'absorbance sont converties en unités immuno-enzymatiques (EIU) IgG *H. pylori* en interpolant les inconnues de la courbe d'ajustement optimal des étalons. Étant donné que les étalons sont prêts à l'emploi, la concentration des échantillons des patients n'est pas multipliée par le facteur de dilution.

Soustraire la DO moyenne du blanc de toutes les valeurs de DO des puits. Tracer la DO moyenne de tous les étalons par rapport à leur valeur EIU. Appliquer un ajustement logarithmique pour interpoler les concentrations inconnues. La figure 4 représente une courbe d'étalonnage type.

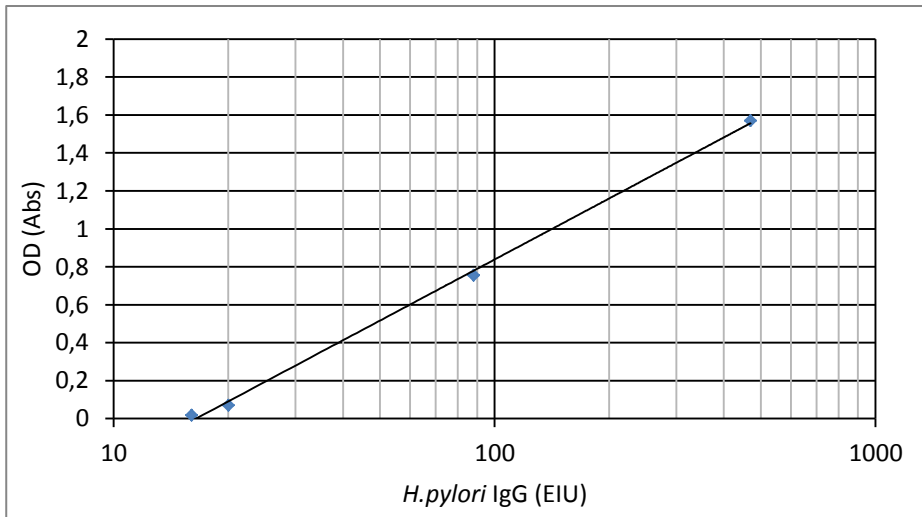


Figure 4. Exemple de courbe d'étalonnage type pour *H. pylori*.

Étant donné que l'interprétation devrait reposer sur tous les marqueurs du GastroPanel mesurés à partir d'un même échantillon patient, les données de l'essai doivent être rassemblées et analysées ensemble, avec éventuellement les informations anamnestiques supplémentaires telles que l'utilisation de médicaments IPP et l'éventuelle éradication de *H. pylori*.

Consulter le paragraphe 17 concernant l'interprétation. Pour automatiser l'interprétation du GastroPanel, contacter Biohit pour plus d'informations concernant les applications logicielles et autres prestations. Pour plus d'informations, consulter le site GastroPanel ([www.gastropanel.com](http://www.gastropanel.com)).

### 13.3. Interprétation des résultats

Négatif < 30 EIU  
Positif ≥ 30 EIU

Une valeur inférieure à 30 EIU indique un résultat négatif, impliquant par conséquent l'absence d'infection à *H. pylori*. Une valeur de 30 EIU ou plus indique que des anticorps anti-*H. pylori* ont été détectés, le résultat est donc positif. Il est nécessaire d'obtenir les résultats prévus pour le contrôle pour pouvoir accepter les résultats de l'essai. Les valeurs seuil doivent avoir été déterminées à l'aide du kit GastroPanel *Helicobacter pylori*. Pour les échantillons patients dont les valeurs sont proches du seuil, prélever un deuxième échantillon dans un délai raisonnable si possible. Chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs prévues pour la situation clinique dans laquelle les valeurs des anticorps IgG anti-*H. pylori* sont utilisées à des fins diagnostiques. Par ailleurs, les résultats des IgG anti-*H. pylori* déterminés pour un échantillon donné ou avec des essais d'autres fabricants peuvent varier en raison des différences entre les méthodes d'essai et de la spécificité des réactifs. Ne pas employer de manière interchangeable les résultats obtenus au moyen d'autres méthodes d'essai d'autres fabricants.

### 13.4. Intervalle de référence biologique

La valeur seuil est de 30 EIU, avec un intervalle de référence < 30 EIU. L'intervalle a pour base 7 000 sujets finlandais (rapport interne Biohit, données non publiées).

La plupart des personnes exposées à *H. pylori* développent des anticorps IgG contre cet organisme (25, 28, 29). Les taux par âge pour la présence d'anticorps anti-*H. pylori* sont similaires pour les hommes et les femmes. La prévalence de l'infection à *H. pylori* est de 30 à 40 % aux États-Unis, au Canada et en Europe de l'Ouest, de 20 % environ en Australie et de 70-90 % en Europe de l'Est, en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie. De nombreux patients présentant un taux d'anticorps anti-*H. pylori* élevé sont asymptomatiques, même en cas de présence de colonies d'*H. pylori* (15, 18). Par conséquent, un taux élevé d'anticorps n'est pas forcément corrélé à la gravité des symptômes cliniques.

#### **14. LIMITES DE LA PROCÉDURE**

Comme dans toute procédure diagnostique, les résultats du GastroPanel *Helicobacter pylori* doivent être interprétés sur la base du dossier clinique du patient, et de toute autre information à disposition du médecin. Étant donnée la longue durée de disparition des anticorps IgG sériques (plusieurs mois), le test peut donner des résultats (faussement) positifs (*H. pylori* >30 EIU) peu de temps après éradication d'une infection à *H. pylori*.

#### **15. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES ANALYTIQUES**

Tous les essais de performances ont été réalisés à température ambiante (20-25°C). Tous les échantillons ont été analysés avec des puits de microplaque en doubles.

##### **Plage de mesure :**

La plage de mesure du GastroPanel *Helicobacter pylori* va de 15 EIU à 670 EIU.

Dans cette plage, une répétabilité de  $\leq 10$  CV % a été démontrée, avec une précision intra-essai  $\leq 20$  CV% et une erreur totale au niveau de la LQ  $\leq \pm 20\%$ .

##### **Précision :**

Les études de précision ont été réalisées conformément aux directives EP5-A2 du CLSI. Un panel comprenant sept échantillons de plasma EDTA avec différents niveaux de concentration d'anticorps anti-*H. pylori* (bas, moyen et élevé) a été testé en double pendant 20 jours (deux séries par jour, deux répétitions par échantillon par série). Trois lots de production, sept opérateurs et deux appareils ont été employés. L'analyse statistique a été réalisée conformément à la directive EP5-A2 du CLSI pour déterminer les niveaux estimés de répétabilité (précision intra-série) et de précision intra-laboratoire.

Pour la précision de répétabilité des échantillons de plasma EDTA, la plage de test allait de 16,6 EIU à 669 EIU, les écarts-types de 0,59 EIU à 64,95 EIU, et le %CV de 3,6 % à 9,8 %. Pour la précision intra-laboratoire pour le plasma EDTA, la plage d'écarts-types allait de 0,89 EIU à 107,37 EIU, et le %CV de 5,7 % à 16,5 %.



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

#### Limite de détection et limite de quantification :

La limite du blanc (LB) et la limite de détection (LD) pour le GastroPanel *Helicobacter pylori* ont été déterminées conformément à la directive EP17-S du CLSI avec une proportion de faux positifs ( $\alpha$ ) inférieure à 5 % et de faux négatifs ( $\beta$ ) inférieure à 5 %, sur la base de 120 déterminations avec 60 échantillons proches du blanc et 60 échantillons à bas taux. Quatre échantillons de plasma EDTA et trois lots de kits ont été utilisés pour établir la LD et un kit de tampon diluant pour établir la LB.

La LB a été déterminée à 13,1 EIU et la LD à 14,7 EIU pmol/l.

La limite de quantification a été déterminée conformément à la directive EP17-S du CLSI, sur la base de 60 déterminations de 4 échantillons de plasma EDTA avec trois lots de kits. En raison de l'absence de méthode de référence, l'estimation du biais n'a pas été incluse dans le calcul de l'erreur totale.

La LQ a été déterminée à 15,0 EIU avec une erreur totale de -10,7 %, et avec un CV% entre les mesures de 5,2 %.

#### Interférence :

Le GastroPanel *Helicobacter pylori* a été testé pour les interférences conformément à la directive EP07-A2 du CLSI. Le biais causé par l'hémoglobine, la bilirubine non conjuguée, la bilirubine conjuguée et les triglycérides à des concentrations respectives de 2 g/l, 5 mg/dl, 15 mg/dl et 500 mg/dl, est inférieur à 10 % à des taux plasmatiques d'IgG anti-*H. pylori* de 21 EIU et de 70 EIU. Cette interférence a été considérée comme non significative. Éliminer les échantillons grossièrement hémolysés, lipémiques ou turbides.

## 16. PERFORMANCE DIAGNOSTIQUE

La cohorte de l'essai de validation comprenait 101 patients auxquels une gastroscopie avait été prescrite, 71 femmes et 30 hommes. L'âge moyen des sujets de l'étude était de 50,1 ans, l'écart-type de 16,7 ans et la plage d'âge s'étendait de 18 à 83 ans.

L'analyse de la courbe ROC pour l'*H. pylori* confirmé par biopsie dans le test GastroPanel *Helicobacter pylori* a donné une aire sous la courbe (AUC) = 0,978 (IC 95 % 0,956-1,000). Le meilleur équilibre sensibilité/spécificité (SE/SP) est de 90,8 % SE et 88,6 % SP, qui correspond à un seuil de 30 EIU.

## 17. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE GASTRO PANEL<sup>®</sup>

GastroPanel est optimisé pour une utilisation avec le Système de Sidney actualisé (USS) de classification des gastrites. L'USS et le logiciel GastroSoft<sup>®</sup> utilisent tous deux cinq catégories de classification des résultats de la biopsie et de GastroPanel. Elles comprennent : 1) muqueuse normale, 2) gastrite superficielle (*Hp*), 3) GA de l'antré, 4) GA du corps et 5) GA de l'antré et du corps (pangastrite) (13, 34, 35). En plus de ces 5 catégories liées à la morphologie de l'estomac, trois autres profils de marqueurs sont possibles avec le GastroPanel, spécifiques à des troubles fonctionnels donnés avec une morphologie normale de l'estomac. Les huit catégories diagnostiques sont décrites dans le Tableau 1 et expliquées ci-dessous.

### 17.1 Estomac sain

Si les quatre biomarqueurs sont dans la plage de référence normale, la muqueuse gastrique fonctionne normalement. Étant donné que la fonction de l'estomac dépend étroitement des cellules spécifiques responsables de la sécrétion d'acide (cellules pariétales), des pepsinogènes (cellules principales) et de la G-17 (cellules G), le fonctionnement normal nécessite la présence de ces cellules en quantités normales (1, 3, 9, 11, 19). Ainsi, les fonctions de l'estomac et la structure de la muqueuse vont de pair et, par définition, un résultat de GastroPanel normal est un marqueur de substitution d'un estomac sain.

### 17.2 Sécrétion d'acide élevée

L'acide gastrique (HCl) est produit par les cellules pariétales hautement spécialisées du corps de l'estomac. La sécrétion d'acide est contrôlée entre autres par la sécrétion de G-17 dans l'antré, conséquence de la boucle de rétrocontrôle positif stimulant la sécrétion d'acide après un repas. La sécrétion d'acide cause une baisse progressive du pH du corps, et, quand le seuil de pH 2,5 est atteint, ceci déclenche un rétrocontrôle négatif vers les cellules G antrales, et leur indique de réguler à la baisse la sécrétion de G-17. Par conséquent, la sécrétion de G-17 baisse en parallèle avec la teneur en acide du corps (1, 3, 14, 17). Quand, pour une raison ou pour une autre, la sécrétion d'acide dans le corps reste anormalement élevée (autres mécanismes de stimulation), il en résulte une sécrétion de G-17b anormalement basse par les cellules G antrales. Le meilleur moyen de diagnostiquer cet état est le test de médication avec des IPP, la G-17b devant être normalisée avec deux semaines de traitement environ. Dans ces conditions, la G-17s postprandiale (stimulée) sera dans les limites normales, car les cellules G sont intactes et en mesure de sécréter la G-17 quand elles sont correctement stimulées (poudre protéinée, Biohit réf. cat. 601038).

### **17.3. Faible sécrétion d'acide en raison de la prise de médicaments inhibiteurs de la pompe à protons (IPP)**

La régulation ci-dessus fonctionne également à l'inverse. Quand la sécrétion d'acide dans le corps est réduite (pour une raison quelconque), la boucle de rétrocontrôle positif stimule l'augmentation de la sécrétion de G-17b par les cellules G antrales, ce qui se traduit par un taux sérique élevé de G-17b (3, 17). Les deux situations dans lesquelles la sécrétion d'acide est faible sont 1) GA dans le corps et 2) utilisation à long terme de médicaments IPP. La première est exclue par des valeurs de PGI et PGII normales (voire élevées) et par un rapport PGI/PGII normal, tandis que la deuxième est diagnostiquée plus facilement en interrompant la prise de médicaments IPP. Dans ce cas, la G-17b antrale doit se normaliser en deux semaines (17.8).

### **17.4. Gastrite superficielle (non atrophique) associée à *Helicobacter pylori***

Comme toutes les bactéries, *Helicobacter pylori* cause une inflammation aigüe de la muqueuse gastrique, qui se déclenche habituellement dans l'antra (1, 3, 7, 13, 18, 36). Trois profils de marqueurs différents peuvent être rencontrés en association avec une infection à *Hp*.

17.4a Dans une infection à *Hp* active, le taux d'anticorps anti-*Hp* augmente, et peut être le seul résultat anormal dans GastroPanel, tous les autres marqueurs présentant des valeurs normales. Il arrive assez fréquemment, cependant, qu'une infection à *Hp* active cause une grave réaction inflammatoire qui, en raison de la perméabilité accrue des cellules, peut causer une augmentation de la fuite de PGI, de PGII voire de G-17 des cellules et avoir pour conséquence un taux sérique élevé d'un ou de ces trois biomarqueurs (3, 7, 36).

17.4b Une éradication d'*Hp* par un traitement actif devrait conduire à des valeurs normalisées pour les trois marqueurs, avec cependant un délai de quelques semaines à quelques mois. Les taux d'anticorps anti-*Hp* peuvent rester élevés pendant une période longue et imprévisible, ce qui limite l'utilité de GastroPanel en tant que test diagnostique précis pour le contrôle de l'éradication d'*Hp* (36).

17.4c En cas d'échec de la tentative d'éradication d'*Hp*, les taux d'anticorps anti-*Hp* restent élevés (légèrement en général) et le PGI ainsi que le rapport PGI/PGII retombent normalement dans la plage normale, tandis que le PGII et/ou la G-17b peuvent être légèrement plus élevées en raison d'une réaction inflammatoire en cours (voir 17.4a). Ce résultat peut être confirmé après 5 à 6 mois, éventuellement suivis par un nouvel essai de traitement (3, 36).

### **17.5 Gastrite atrophique du corps**

Par définition, la perte de cellules spécifiques (cellules principales) dans les glandes pariétales, conséquence de l'atrophie de la muqueuse, causera la baisse progressive de la sécrétion du PGI et, dans une moindre mesure, du PGII, qui est également produit par les mêmes cellules dans la muqueuse antrale. La baisse disproportionnée de ces deux marqueurs a pour conséquence la réduction du rapport PGI/PGII, qui est un autre signe éloquent de GA dans le corps (1, 3, 5-9, 14, 16). Cette baisse du PGI et du rapport PGI/PGII est progressive et étroitement liée à la gravité de l'atrophie du corps, avec comme point final une atrophie totale et un estomac sans acide. En cas de muqueuse antrale intacte (normale), ceci cause une sécrétion et un taux sérique de G-17b nettement accrus (17, 19). Dans ce cas, il n'est pas nécessaire de tester la G-17s. Dans les cas chroniques à long terme, l'*Hp* peut disparaître, ce qui se traduit par une normalisation progressive du taux d'anticorps anti-*Hp*.

### **17.6 Gastrite atrophique de l'antré**

Quand l'atrophie de la muqueuse affecte uniquement l'antré, tous les marqueurs spécifiques du corps sont dans la plage normale. Par définition, la GA de l'antré est causée par une infection à *Hp*, et les anticorps anti-*Hp* sont invariablement élevés dans le test GastroPanel. Suite à l'atrophie de l'antré, le nombre de cellules G baisse jusqu'à disparaître, causant une réduction progressive du taux plasmatique de G-17b. Dans l'atrophie grave de l'antré, il n'y a pas de réponse à la stimulation protéique de la sécrétion de G-17 en raison de l'absence des cellules G (cibles) dans la muqueuse (14, 15, 17).

### **17.7 Gastrite atrophique de l'antré et du corps**

La forme la plus grave de GA est la pangastrite atrophique, qui touche l'antré et le corps. Enfin, les cellules spécifiées (cellules principales du corps et de l'antré (cellules G) disparaissent, causant un schéma d'expression des biomarqueurs dans lequel les deux pepsinogènes (PGI et PGII) et la G-17 sont considérablement réduits (1, 3, 5-9, 14, 16, 17, 19). Ceci s'applique à la G-17b et à la G-17s, qui restent basses même après stimulation en raison de l'absence de cellules G. Comme dans la GA du corps (17.5), le taux d'anticorps anti-*Hp* peut être normal ou élevé. Ceci est dû au fait que, dans la GA chronique, le *Hp* peut disparaître dans la muqueuse atrophique et, en l'absence de stimulus antigénique, une disparition normale des anticorps IgG réduit le taux d'anticorps anti-*Hp* en dessous du seuil de 30 EIU.

### **17.8 Médicaments IPP**

Si le patient utilise des médicaments IPP inhibiteurs de la sécrétion d'acide gastrique, contacter la personne chargée de prélever les échantillons. Par ailleurs, saisir l'information dans le dossier clinique du patient car elle sera incluse dans l'imprimé GastroSoft. Les inhibiteurs de la pompe à proton (IPP) réduisent la production d'acide gastrique dans l'estomac. Ceci augmente la production de gastrine-17 et par conséquent le taux de pepsinogène. Une fois le traitement par IPP terminé, il faut environ 4 à 10 jours pour que la production d'acide chlorhydrique et le taux de gastrine-17 reviennent à la normale. Cependant, le taux de pepsinogène reste élevé pendant une période relativement longue. La cessation d'un traitement aux IPP à long terme est en général suivie d'une hypersécrétion d'acide (dans les 7 à 10 jours), qui s'accompagne d'un retour en force des symptômes de brûlures d'estomac, et d'un taux de gastrine-17 très bas. (1, 3, 11, 17)

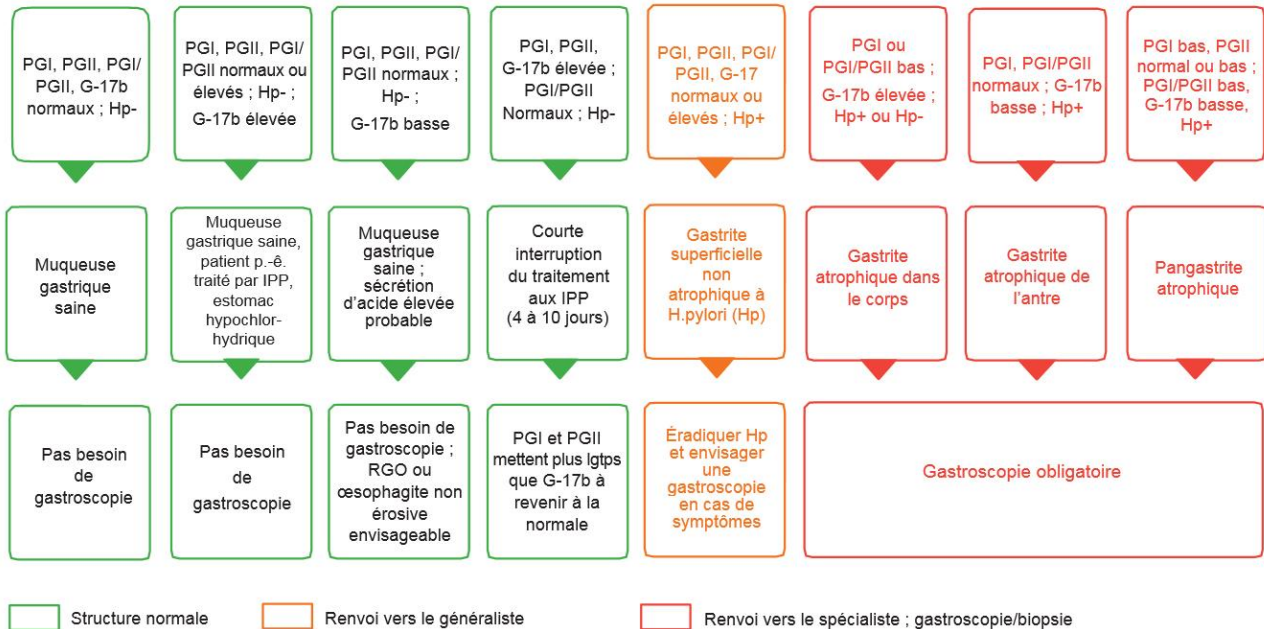
Tableau 1. Les huit catégories de diagnostic de GastroPanel

	Biomarqueurs GastroPanel						Interprétation
	Pepsinogène I (30-160 µg/l) <sup>®</sup>	Pepsinogène II (3-15 µg/l)	Rapport PGI/PGII (3-20)	Gastrine 17b (1-7 pmol/l)	Gastrine 17s (3-30 pmol/l)	Taux d'anticorps IgG <i>H. pylori</i> (<30 EIU)	
1	N	N	N	N	N	N	Muqueuse saine (pas d'atrophie, pas d'infection à <i>H. pylori</i> )
2	N	N	N	L*	N	N	Muqueuse saine. Sécrétion d'acide élevée dans le corps
3	N ou H <sup>^</sup>	N ou H <sup>^</sup>	N	H**	N	N	Muqueuse saine. Faible sécrétion d'acide en raison par ex. de la prise de médicaments IPP
4a	N ou H <sup>^</sup>	N ou H <sup>^</sup>	N	N ou H <sup>^</sup>	ND	H	Infection à <i>H. pylori</i> active, non traitée
4b	N	N	N	N	ND	N ou H <sup>†</sup>	Infection à <i>H. pylori</i> éradiquée
4c	N	H	N	H	ND	H	Échec de l'éradication d' <i>H. pylori</i>
5	L	L	L	H	ND	N <sup>^^</sup> ou H	Gastrite atrophique dans le corps
6	N	N	N	L	L	H	Gastrite atrophique de l'antré
7	L	L	L	L	L	N <sup>^^</sup> ou H	Gastrite atrophique de l'antré et du corps (pangastrite)
8	H	H	N	H	ND	N	Courte interruption du traitement aux IPP (4 à 10 jours)

N=normal ; L=bas ; H=élevé \*Tester des médicaments IPP pendant 2 semaines, la G17b devrait revenir au niveau normal ; \*\*Arrêter les médicaments IPP, la G-17b devrait revenir à la normale en deux semaines ; ND, test non nécessaire ; <sup>^</sup>PGI, PGII et G-17 peuvent être élevés en raison de l'inflammation de la muqueuse ; <sup>^^</sup>Les anticorps anti-*H. pylori* peuvent disparaître en cas d'atrophie prolongée de la muqueuse ; <sup>®</sup>La valeur seuil de pepsinogène I de 30 µg/l correspond à une gastrite atrophique modérée/grave ; <sup>†</sup>Le taux d'anticorps anti-*H.pylori* peut rester élevé pendant plusieurs mois après l'éradication d'*H.pylori*.

## GastroPanel® – Schéma d'interprétation

Causes structurelles et fonctionnelles des symptômes de dyspepsie diagnostiqués par GastroPanel (PGI, PGII, PGI/PGII, G-17, Hp-Ab)



L'infection à *H. pylori* (ou la gastrite atrophique autoimmune [GA]) avec le risque associé de cancer de l'estomac ou d'autres séquelles, ou le niveau de sécrétion d'acide dans l'estomac, ne peuvent pas être diagnostiqués au moyen des tests conventionnels utilisés pour le diagnostic de dyspepsie et de l'infection à *H. pylori*, par exemple le test respiratoire à l'urée marquée au C13 (UBT), la recherche d'antigènes dans les selles ou le test des anticorps. Chez les sujets présentant une GA, un lymphome de type MALT ou un ulcère gastroduodéal hémorragique et chez les sujets prenant des médicaments IPP ou des antibiotiques, les tests UBT et d'antigènes dans les selles donnent souvent des faux négatifs, et l'infection à *H. pylori* (avec tous les risques qu'elle comporte), n'est pas détectée (37-41) ([www.biohithealthcare.com/additional-information](http://www.biohithealthcare.com/additional-information)).

GastroPanel est en mesure de diagnostiquer la gastrite atrophique de l'antré, du corps ou des deux. Par rapport à la gastroscopie, le diagnostic précis de la gastrite atrophique n'est pas toujours possible avec un faible nombre de petits spécimens de biopsie représentant seulement un échantillon minimal de la région de la muqueuse gastrique adulte. En outre, l'atrophie de la muqueuse (l'atrophie modérée en particulier) est un diagnostic subjectif, avec des variations intra-observateur considérables parmi les pathologistes. De même la précision de la gastroscopie dépend de l'expérience et des compétences du gastroscopiste. GastroPanel ne présente pas ces inconvénients car c'est un essai de laboratoire ELISA automatisé. En effet, l'histologie des biopsies endoscopiques n'est pas une référence fiable (42), même si elle est actuellement utilisée comme telle. Par comparaison avec les biomarqueurs sériques, ses limitations dans la précision diagnostique ne doivent pas être oubliées (2, 43).

Lorsqu'elle est réalisée par des gastroentérologues et pathologistes habiles, la correspondance entre le GastroPanel et l'histologie de la biopsie gastrique est très bonne, dépassant 0,8 (limite de la quasi perfection) par

test kappa pondéré (14). Il est important de noter que le diagnostic d'atrophie gastrique est hautement subjectif sans l'utilisation de biopsie gastrique, c'est-à-dire sur la base de la gastroscopie seule (44). Quand le GastroPanel indique que la muqueuse gastrique est saine (pas d'infection à *H. pylori* et/ou pas de gastrite atrophique), les symptômes cliniques peuvent souvent être causés par une dyspepsie fonctionnelle ou un autre trouble fonctionnel sans maladie organique de la muqueuse gastrique.

## 18. RÉFÉRENCES

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, Battistelli 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.x PMID: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 sequelae. *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, Arii 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. DATE DE PUBLICATION

Notice du kit GastroPanel® *Helicobacter pylori*

Version 4.0, septembre 2016.

## 20. GARANTIE

Le fabricant doit remédier à tous les défauts détectés dans tout produit (le « produit défectueux » ) qui résultent de matériaux inadaptés ou de fabrication négligente et qui empêchent le fonctionnement mécanique ou utilisation prévue des produits, y compris les fonctions spécifiées dans les spécifications du produit par le fabricant. CEPENDANT, LA PRÉSENTE GARANTIE EST CONSIDÉRÉE COMME NULLE SI LE DÉFAUT A ÉTÉ CAUSÉ PAR UNE UTILISATION IMPROPRE OU ABUSIVE DU PRODUIT, UN DOMMAGE ACCIDENTEL, UN STOCKAGE INAPPROPRIÉ OU ENCORE L'UTILISATION DU PRODUIT POUR DES OPÉRATIONS EN DEHORS DE LEURS LIMITATIONS OU DE LEURS SPÉCIFICATIONS, OU CONTRAIRES AUX INSTRUCTIONS FOURNIES DANS CE MODE D'EMPLOI.

Cette période de garantie pour le distributeur est définie dans le mode d'emploi des Produits et prend effet à compter de la date d'expédition du produit par le fabricant. En cas de différends concernant l'interprétation, le texte anglais fait foi.

Tous les kits de diagnostic Biohit ont été fabriqués selon les protocoles de gestion de la qualité ISO 9001/ISO 13485 et ont passé toutes les procédures d'Assurance qualité concernées associées à ces produits.

## 21. INFORMATIONS DE COMMANDE

**GastroPanel®**

Réf. cat. 606 400.

### **Siège social**

**BIOHIT OYJ**

Laippatie 1

00880 Helsinki, Finlande

Tél. : +358-9-773 861

Fax : +358-9-773 2867

Courriel : info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

## 22. RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE

Laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante Ne pas oublier de bien mélanger tous les réactifs et les échantillons juste avant le pipetage

\*

Après avoir mélangé, pipeter 100 µl du tampon de dilution (blanc), les étalons 1-4, le contrôle et les échantillons des patients dilués (à 1/400) dans les puits

\*

Incuber pendant **60 minutes à température ambiante en agitant (750 tr/min)**

\*

Laver les bandes 3 fois avec 3 x 350 µl de tampon de lavage dilué

\*

Pipeter 100 µl de la solution de conjugué mélangée dans les puits

\*

Incuber pendant **60 minutes à température ambiante en agitant (750 tr/min)**

\*

Laver les puits trois fois avec 350 µl de tampon de lavage dilué

\*

Pipeter 100 µl de la solution substrat mélangée dans les puits

\*

Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante

\*

Pipeter 100 µl de la solution d'arrêt mélangée dans les puits

\*

Lire à **450 nm** dans un délai de 30 minutes