

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

GastroPanel® ***Helicobacter pylori***

Набор реагентов для определения антител человека класса IgG к *Helicobacter pylori* в плазме (с ЭДТА) крови человека методом ИФА. Входит в состав GastroPanel.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

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

ПОЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ НА ЭТИКЕТКАХ

	Русский
	Для диагностики <i>in vitro</i>
	Номер по каталогу
	Номер партии
	Годен до
	См. инструкцию по применению
	Условия хранения Хранить при +2—+8 °С
	96 определений
	Повторное использование запрещено
	Знак CE
	Концентрированный промывающий буфер (x10)
	Разводящий буфер для образцов
	Калибратор
	Контроль
	Конъюгат
	Субстрат
	Останавливающий раствор

Примечание. Текст инструкции на других языках можно найти на сайте

www.biohithealthcare.com

GastroPanel® *Helicobacter pylori***Номер по кат. 606 040**

1. О СИСТЕМЕ GASTROPANEL®	5
2. НАБОР HELICOBACTER PYLORI, ВХОДЯЩИЙ В СОСТАВ GASTROPANEL®	7
3. НАЗНАЧЕНИЕ.....	7
4. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АНТИТЕЛАХ IgG К HELICOBACTER PYLORI	8
5. ПРИНЦИП АНАЛИЗА	8
6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	8
7. ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ	9
8. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА, ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И СТАБИЛЬНОСТЬ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ	9
8.1. Микропланшет.....	9
8.2. Концентрированный промывающий буфер (10x).....	9
8.3. Разводящий буфер для образцов	10
8.4. Калибраторы	10
8.5. Контрольный образец.....	10
8.6. Конъюгат	10
8.7. Раствор субстрата	10
8.8. Останавливающий раствор.....	10
8.9. Пленка для инкубации	10
8.10. Инструкция по применению	10
9. СБОР ОБРАЗЦОВ И ПРАВИЛА ОБРАЩЕНИЯ С НИМИ	10
9.1. Замораживание образца	11
9.2. Стимуляция гастрина-17	11
10. НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ.....	11
10.1. Ручной метод.....	11
10.2. Автоматические анализаторы.....	11
11. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ	11
12. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА.....	12
12.1. Ручной метод.....	12
12.2. Автоматический метод	15
13. РЕЗУЛЬТАТЫ	15
13.1. Показатели контроля качества	15
13.2. Расчет результатов.....	15
13.3. Интерпретация результатов	16

13.4. Биологический референтный интервал	17
14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ.....	17
15. АНАЛИТИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	17
16. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	19
17. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ GASTROPANEL®	19
17.1. Здоровый желудок	19
17.2. Повышенная секреция кислоты.....	20
17.3. Пониженная секреция кислоты вследствие приема ингибиторов протонной помпы (ИПП)	20
17.4. Поверхностный (неатрофический) гастрит, ассоциированный с инфекцией <i>Helicobacter pylori</i>	20
17.5. Атрофический гастрит тела желудка	21
17.6. Атрофический гастрит антрального отдела желудка	21
17.7. Атрофический гастрит антрального отдела и тела желудка.....	21
17.8. Прием ИПП	21
18. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	24
19. ДАТА ВЫПУСКА	27
20. ГАРАНТИЯ.....	27
21. ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА.....	27
22. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ	28

1. О СИСТЕМЕ GASTROPANEL®

GastroPanel® — это тест первой линии для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* (Hр) (5–80% мирового населения), обследования всех пациентов с диспепсией (20–40% населения стран Запада), а также для скрининга атрофического гастрита (АГ) и связанного с ним риска развития таких заболеваний, как рак желудка и пищевода (1–3). Атрофический гастрит повышает риск нарушения всасывания витамина В12, железа, магния, цинка, кальция и некоторых лекарств.

GastroPanel состоит из четырех ключевых биомаркеров, которые представляют собой важнейшие регуляторы нормальной физиологии желудка. К этим биомаркерам относятся пепсиноген I (PGI), пепсиноген II (PGII), амидированный гастрин-17 (G-17) и антитела к Hр. GastroPanel позволяет точно оценить способность слизистой оболочки тела и антрального отдела желудка к секреции, соответственно, желудочного сока и G-17, а также выявить наиболее существенные патологические состояния желудка, например воспаление, степень и топографию атрофического гастрита (7–9), который может свидетельствовать о повышенном риске развития рака желудка (1).

Нормальные уровни всех четырех биомаркеров в плазме показывают, что структура и функция слизистой оболочки желудка находятся в норме, в то время как аномальные уровни служат признаками заболевания желудка, отражая нарушения механизмов обратной связи между выделением кислоты телом желудка, PGI-II и G-17. Используются два варианта определения G-17: базальное (G-17b) значение G-17 и стимулированное (G-17s) значение G-17. Причем стимулированный G-17 особенно важен для установления различий между нарушениями функции антрального отдела (G-17s в норме) и АГ в антральном отделе (G-17s при АГ не повышается) (10,11).

GastroPanel – тест первой линии для неинвазивной диагностики состояния слизистой оболочки желудка – уникален тем, что интерпретация результатов выполняется с помощью специально разработанной программы (GastroSoft) (<http://www.GastroPanel.com>). Результаты, полученные с использованием GastroPanel, относятся к одной из пяти возможных диагностических категорий, относящихся к морфологии желудка: 1) слизистая оболочка в норме, 2) поверхностный или неатрофический (*Hр*) гастрит, 3) АГ в теле желудка, 4) АГ в антральном отделе и 5) АГ как антральном отделе, так и в теле желудка (пангастрит) (11,12). Таким образом, GastroPanel оптимизирована для совместного использования с обновленной Сиднейской системой (USS) классификации гастрита, основанной на тех же пяти диагностических категориях (13). Кроме того, существуют еще три профиля по маркерам, специфичным для нарушений функции желудка, при которых морфология остается в норме (подробнее в разделе 17).

GastroPanel прошла проверку в ходе нескольких больших испытаний на основе гастроскопических исследований, подтвержденных биопсией (14,15), результаты которых были включены в метаанализ по теме (16). Эти исследования позволили установить проверенные эталонные (предельные) значения для каждого отдельного биомаркера панели по пяти ожидаемым гистологическим результатам. Эти исследования также подтвердили высокую точность GastroPanel в выявлении наиболее важного ожидаемого результата — от умеренного до тяжелого АГ (14–16). Так, нормальные значения PGI, PGII и их соотношения (PGI/PGII) исключают АГ тела желудка прогностической значимостью отрицательного результата (NPV) свыше 95%. В свою очередь, значения PGI и PGII, а также их соотношения ниже установленных предельных уровней предполагают АГ от умеренной до тяжелой степени, со значениями площади под ROC-кривой (AUC), превышающими 0,950, в серии исследований, проведенных с соответствующей статистической мощностью и проверенных с помощью USS (1, 2, 3, 16, 17).

Уровни PGI снижаются при АГ тела желудка (и при пангастрите), но остаются в пределах нормы при всех других состояниях. Повышенные уровни PGII отражают воспаление слизистой оболочки, причем наивысшие значения обнаруживаются при неатрофическом гастрите, связанном с *Hp*. Значения G-17b наиболее высоки при АГ тела желудка из-за отсутствия отрицательной обратной связи путем выделения кислоты из атрофированного тела желудка, что приводит к неподавляемой секреции G-17b нормальной слизистой оболочки антрального отдела. То же относится и к ситуации, при которой выделение кислоты подавляется длительным приемом ИПП. Когда слизистая оболочка антрального отдела желудка атрофирована и имеется нехватка G-клеток, секреция G-17 остается на очень низком уровне даже после стимуляции белками (G-17s) (17).

IgG-антитела к *Hp* придают значительную дополнительную диагностическую ценность остальным трем биомаркерам. Уровень IgG-антител к *Hp* служит мерой двух потенциально различных состояний: 1) продолжающейся инфекции *Hp* или 2) предыдущего воздействия *Hp*. В случае когда *Hp* является единственным маркером, показавшим аномальные значения при исследовании, это указывает на наличие ассоциированного с *Hp* поверхностного (неатрофического) гастрита. Однако в сочетании с аномальными значениями остальных трех маркеров повышенный уровень антител к *Hp* подтверждает диагноз ассоциированного с *Hp* АГ (антрального отдела или тела желудка) (1, 3, 18, 19).

Анализ с помощью панели GastroPanel может выявлять следующие состояния:

- 1) инфекцию *H. pylori* — независимый фактор риска развития как рака желудка, так и язвенной болезни (язва желудка и двенадцатиперстной кишки);
- 2) спровоцированный *H. pylori* атрофический гастрит (АГ), в большинстве случаев бессимптомный, а также топографическую локализацию АГ либо в теле желудка, либо в антральном отделе, либо в обоих из них. Помимо развития под воздействием *H. pylori*, АГ в теле желудка со всеми его клиническими последствиями может развиваться также в результате действия аутоиммунного механизма;
- 3) АГ тела желудка, приводящий к пониженной кислотности или ахлоргидрии желудка. Это увеличивает риск рака желудка или пищевода, а также нарушения всасывания витамина В12, кальция, магния и цинка. Кроме того, из-за ахлоргидрии желудка нарушается всасывание некоторых лекарственных средств, таких как дипиридамол, некоторые препараты железа и противогрибковые средства (флуконазол, итраконазол), тироксин и атазановир. Недостаток кальция может вызывать остеопороз, а недостаток витамина В12 может способствовать развитию мегалобластной анемии, болезни Альцгеймера, деменции, депрессии или периферических нейропатий. Пониженная кислотность в желудке может также повышать риск серьезных инфекций желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей, в том числе лямблиоза, малярии, инфекции *Clostridium difficile*, инфекции энтерогеморрагическим штаммом (ЕНЕС) *E. coli* и пневмонии;
- 4) АГ антрального отдела повышает риск язвенной болезни и рака желудка. Наличие АГ как тела, так и антрального отдела желудка является единственным важнейшим фактором риска развития рака желудка;
- 5) сопутствующую инфекцию *H. pylori* у пациентов с АГ, MALT-лимфомой, при язвенном кровотечении либо при приеме препаратов ИПП или антибиотиков. В этих случаях анализы ¹³С-мочевины в выдыхаемом воздухе (UBT) или анализы кала на антигены *Hp* часто дают ложно-отрицательные результаты, и инфекция *H. pylori* (со всеми ее последствиями) не выявляется;

б) повышенную секрецию кислоты слизистой оболочкой желудка, предрасполагающую к рефлюкс-эзофагиту с возможными осложнениями (язвенный эзофагит, пищевод Барретта или рак нижних отделов пищевода).

АГ, повышенная кислотность и инфекция *H. pylori*, сопровождаемая симптомами, служат показаниями к гастроскопии.

Во всем мире рак желудка остается третьей наиболее распространенной причиной смертей от рака, а его важнейшим фактором риска является ахлоргидрия желудка. Согласно недавно проведенному мета-анализу, хронический прием ИПП также связан с повышенным риском развития рака желудка (20). Причиной обоих этих состояний служит канцерогенный (класс I) ацетальдегид, образующийся в бескислотном желудке (21). Канцерогенность ацетальдегида is наилучшим образом документирована на модели заболевания людей, т. е. на примере людей, подверженных его воздействию, у которых имеются мутации метаболизирующего его фермента — альдегид-дегидрогеназы (АЛДГ), случайно распределенные в некоторых популяциях (22). Эти сведения важны, так как выявление специфического канцерогенного вещества позволяет принимать меры по уменьшению воздействия ацетальдегида на верхние отделы желудочно-кишечного тракта как на популяционном, так и на индивидуальном уровнях (23). Для осуществления такой защиты рекомендуется, чтобы все пациенты с ахлоргидрией желудка, АГ тела желудка и те, кто регулярно принимает ИПП, применяли препарат Acetium в капсулах для преобразования ацетальдегида в желудке в безвредное соединение, снижая тем самым риск развития рака желудка и пищевода (www.acetium.com).

Более подробные сведения об интерпретации результатов GastroPanel см. в таблице 1 и на сайте www.gastropanel.com.

2. НАБОР HELICOBACTER PYLORI, ВХОДЯЩИЙ В СОСТАВ GASTROPANEL®

GastroPanel — это тестовая панель для проведения количественного иммуноферментного анализа (ИФА) с целью измерения концентрации в плазме крови четырех биологических маркеров структуры и функции слизистой оболочки желудка: пепсиногена I (PGI), пепсиногена II (PGII), гастрин-17 (G-17) и IgG-антител к *Helicobacter pylori*. Показанием к применению GastroPanel служит необходимость в помощи при диагностике у взрослых пациентов с симптомами диспепсии и при скрининге лиц, не проявляющих симптомов, с целью выявления групп риска развития рака желудка, т. е. тех, у кого имеются 1) инфекция *H. pylori* и 2) атрофический гастрит (АГ). ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*.

3. НАЗНАЧЕНИЕ

GastroPanel *Helicobacter pylori* — это набор для количественного определения антител человека класса IgG к *Helicobacter pylori* в образцах плазмы, обработанной ЭДТА, методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Этот анализ предназначен для диагностики инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых пациентов с симптомами upper abdominal symptoms (диспепсия). Набор используется в составе панели GastroPanel. ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*.

4. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АНТИТЕЛАХ IgG К HELICOBACTER PYLORI

Инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является важнейшей причиной хронического гастрита, который приводит к атрофии слизистой оболочки, т. е. к атрофическому гастриту (АГ). Реже причиной АГ служит аутоиммунный механизм (24, 25). Анализ методом ELISA предназначен для диагностики инфекции *H. pylori* путем выявления антител IgG в образце плазмы.

H. pylori — это вид грамотрицательных бактерий спиральной формы, образующих колонии в желудке человека. Эти организмы обнаруживаются внутри слизистого слоя, покрывающего желудочный эпителий, а также внутри слизистых желез, но, по-видимому, не проникает в эпителиальные клетки. Однако слизистая оболочка, находящаяся под местами образования колоний *H. pylori* или окружающая их неизменно воспаляется; это состояние называют хроническим поверхностным, или неатрофическим, гастритом, который без лечения сохраняется на всю жизнь (1). Без надлежащего искоренения бактерий этот хронический воспалительный процесс ведет к АГ. В свою очередь, АГ повышает риск образования пептической язвы и развития рака желудка — двух важнейших следствий инфекции *H. pylori* (26–29). Установлено, что наличие антител к штаммам *H. pylori* связано с развитием АГ в теле желудка (30). Эпидемиологические данные указывают на связь между инфекцией *H. pylori* и аденокарциномой желудка, а также лимфомой лимфатических тканей, ассоциированных со слизистой (MALT-лимфома) (18, 31, 32).

5. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Определение GastroPanel *Helicobacter pylori* основано на методе иммуноферментного анализа с использованием адсорбированного на микропланшете частично очищенного бактериального антигена *H. pylori* и детекторных антител, меченных пероксидазой хрена (HRP).

Количественное определение состоит из следующих реакций.

1. Частично очищенный бактериальный антиген *H. pylori*, иммобилизованный на полистироловой поверхности лунок связывает антитела IgG к *H. pylori*, имеющиеся в образце.
2. Лунки промывают для удаления остатков образца.
3. HRP-конъюгированные моноклональные антитела к IgG человека связываются с антителами IgG к *H. pylori*.
4. Лунки промывают и добавляют в них ТМВ-субстрат. Субстрат окисляется ферментом до получения окрашенного в синий цвет конечного продукта.
5. Ферментативная реакция прекращается после внесения останавливающего раствора. Образцы, положительные на *H. pylori*, приобретают желтую окраску при вычисленных значениях >30 ЭЕ.

6. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностики *in vitro*.

ОСТОРОЖНО! С образцами плазмы следует обращаться как с потенциально опасным биологическим материалом.

Все образцы следует считать потенциально зараженными, поэтому обращаться с ними необходимо как с инфекционным материалом. См. публикацию Министерства здравоохранения и социальных служб США (Бетесда, штат Мэриленд, США) «Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях» (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories), 1999 г., 4-е издание (Центр

контроля заболеваний/Национальный институт здравоохранения) и № (Центр контроля заболеваний) 88-8395 в отношении отчетов о процедурах лабораторной безопасности при различных заболеваниях, а также местные и государственные нормативы.

Данный набор содержит реагенты, изготовленные из компонентов крови человека. Исходные материалы, предоставляемые в данном наборе, проверены на наличие антител к гепатиту В и С, а также антител к ВИЧ и определены как отрицательные. Вместе с тем, поскольку ни один из методов тестирования не может обеспечить абсолютной уверенности в отсутствии этих патогенов, необходимо соблюдать все рекомендуемые меры предосторожности при обращении с производными крови.

Перед тем как приступить к работе с образцами, взятыми у пациентов, обязательно надевайте защитные перчатки. Для всех операций пипетирования применяйте безопасные пипетирующие устройства. Запрещено набирать материал в пипетку ртом. Прежде чем приступить к проведению данного анализа, ознакомьтесь со всеми указаниями.

Компоненты, которые содержат ProClin, могут вызывать кожную аллергическую реакцию (см. паспорт безопасности). Растворы, которые содержат ProClin, подлежат утилизации в соответствии с местным законодательством по обращению с отходами.

7. ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ

Международные эталонные материалы по антигену *H. pylori* отсутствуют. Значения калибраторов и контрольных образцов присвоены внутренним эталонным калибраторам Biohit.

8. КОМПОНЕНТЫ НАБОРА, ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ И СТАБИЛЬНОСТЬ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ

Реагентов достаточно для 96 лунок и трех отдельных анализов. Не допускается смешивать реагенты наборов из разных партий.

8.1. Микропланшет

Форма выпуска: 12 x 8 стрипов в рамке, покрытых частично очищенным бактериальным антигеном *H. pylori*.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности. Использованные стрипы не подлежат повторному применению.

8.2. Концентрированный промывающий буфер (10x)

Форма выпуска: 120 мл 10-кратного концентрата фосфатно-солевого буфера (PBS), содержащего Твин 20 и 0,1% ProClin 300 в качестве консерванта.

Подготовка: Развести дистиллированной водой в соотношении 1 к 10 (т.е. 100 мл + 900 мл) и тщательно перемешать.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности. Разведенный раствор стабилен в течение двух недель при хранении в холодильнике (2–8 °С).

8.3. Разводящий буфер для образцов

Форма выпуска: 100 мл фосфатного буфера, содержащего казеин, Твин 20, 0,1% ProClin 300 в качестве консерванта и красный краситель.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

8.4. Калибраторы

Форма выпуска: Четыре флакона, каждый из которых содержит по 1,5 мл человеческого сывороточного калибратора IgG к *H. pylori* с 0,1% ProClin 300 в качестве консерванта. Значение в EIU калибратора для каждой партии отпечатано на этикетке флакона.

Подготовка: Готовы к использованию.

Стабильность: Стабильны до истечения срока годности.

8.5. Контрольный образец

Форма выпуска: Один флакон, содержащий 1,5 мл контрольного образца IgG к *H. pylori* на основе сыворотки человека с 0,1% ProClin 300 в качестве консерванта. Значение в EIU контрольной сыворотки для каждой партии указано на этикетке флакона.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

8.6. Конъюгат

Форма выпуска: 15 мл HRP-конъюгированных моноклональных антител к IgG человека в стабилизирующем буфере с 0,02% метилизотиазолона, 0,02% бромнитродиоксиана и 0,002% других активных изотиазолонов в качестве консервантов.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

8.7. Раствор субстрата

Форма выпуска: 15 мл тетраметилбензидина (ТМВ) в водном растворе.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности. Оберегать от прямого света.

8.8. Останавливающий раствор

Форма выпуска: 15 мл 0,1 моль/л серной кислоты.

Подготовка: Готов к использованию.

Стабильность: Стабилен до истечения срока годности.

8.9. Пленка для инкубации

Три листа клейкой пленки для заклеивания лунок микропланшета во время инкубации.

8.10. Инструкция по применению

Вложена в каждый набор.

9. СБОР ОБРАЗЦОВ И ПРАВИЛА ОБРАЩЕНИЯ С НИМИ

Кровь для анализа берется после ночного голодания (приблизительно через 10 ч после последнего приема пищи), но не менее чем после 4 ч голодания, в пробирку с ЭДТА без добавок. Содержимое пробирок сразу

же перемешивается переворачиванием их вниз-вверх 5-6 раз. Плазму отделяют центрифугированием сразу или не позднее чем через 2 ч (например, StatSpin® Express 2, центрифугирование в течение 2 мин при 4440 g; см. указания изготовителя центрифуги по отделению плазмы).

После отделения плазмы к образцу добавляют GastroPanel Стабилизатор (50 мкл/1 мл плазмы; Biohit Oy, GastroPanel Стабилизатор, номера по кат. 606 050 и 606 051). Добавление стабилизатора в образец плазмы сразу после ее отделения позволяет хранить образец в течение 7 дней в холодильнике при 2–8°C или в течение 3 дней при комнатной температуре (20-25 °C).

9.1. Замораживание образца

Образец замораживают сразу после отделения плазмы и добавления стабилизатора GastroPanel Stabilizer. Образцы плазмы допускается временно хранить в замороженном состоянии при -20°C, однако для более длительного хранения (дольше двух недель) требуется температура -70°C. После размораживания образец следует тщательно перемешать. Избегайте неоднократного замораживания и размораживания образцов. Сильно гемолизированные, липемические или замутненные образцы не подлежат использованию.

9.2. Стимуляция гастрина-17

Если требуется образец крови после приема пищи и стимуляции белками, необходим прием напитка, приготовленного из белкового порошка (Biohit Oy, номер по кат. (601 037 или 601 038) после голодания в течение не менее 4–10 ч. Через 20 мин после приема белкового напитка производят забор крови в пробирку с ЭДТА.

10. НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

10.1. Ручной метод

Дистиллированная или деионизированная вода, микропипетки и одноразовые наконечники для точного дозирования 10–1000 мкл, пипетки для точного дозирования 1–10 мл, 8-канальная пипетка для дозирования 100 мкл, мерный цилиндр на 1000 мл, вихревая мешалка для разбавления образцов, пробирки для разбавленных образцов, устройство для мойки микропланшетов, бумажные полотенца или фильтровальная бумага, таймер, считывающее устройство для микропланшетов с вертикальным принципом измерения при длине волны 450 нм (33), пробирка (например, пластмассовая) для отбора проб крови и получения плазмы, обработанной ЭДТА, емкость для ледяной бани, встряхиватель для планшетов.

10.2. Автоматические анализаторы

Дистиллированная или деионизированная вода для разбавления буферного раствора для промывания. GastroPanel подходит для автоматического анализа. Для анализа GastroPanel с помощью коммерческих автоматических анализаторов ELISA и считывающего устройства для микропланшетов с вертикальным принципом измерения (33) дополнительные приборы, принадлежности или расходные материалы не требуются.

11. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор GastroPanel *Helicobacter pylori* следует хранить в холодильнике (2–8 °C). При хранении при этой температуре набор стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке коробки набора и на этикетках каждого флакона, входящего в набор. Запрещается замораживать набор, подвергать его

воздействию высокой температуры и хранить его при температуре выше 8 °С. Раствор субстрата чувствителен к воздействию света. Микропланшет или отдельные полоски нельзя извлекать из упаковки, изготовленной из фольги, пока они не достигнут комнатной температуры (20–25 °С). Неиспользованные стрипы необходимо поместить обратно в упаковку, плотно закрыть и хранить при температуре 2–8 °С.

Запрещается использовать реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке. Запрещается использовать реагенты из наборов с другими серийными номерами или реагенты из наборов других производителей. Используйте только дистиллированную или деионизированную воду. Компоненты набора предоставляются в точной концентрации. Дальнейшее разбавление или другое модифицирование реагентов может вызвать некорректные результаты.

Признаки ухудшения качества набора

Жидкие компоненты не должны быть визуально мутными или содержать взвесь. Тем не менее, концентрат промывающего буфера при температуре 2–8 ° может быть частично кристаллизован, но кристаллы растворяются при перемешивании при комнатной температуре (20–25 °С). Разводящий буфер слегка непрозрачен. Калибраторы и контроль также могут казаться слегка непрозрачными. Раствор субстрата должен быть бесцветным или бледно-голубым. Любая иная окраска указывает на ухудшение качества раствора субстрата.

12. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА

Выдержите все реагенты и микропланшет до достижения ими комнатной температуры (20–25 °С). Разбавьте концентрат промывающего буфера дистиллированной или деионизированной водой в соотношении 1 к 10 (т. е. 100 мл + 900 мл). Замороженные образцы следует быстро разморозить на водяной бане комнатной температуры, периодически помешивая. Когда они практически оттаяли, поместите их на баню с колотым льдом. **Внимательно прочитайте инструкцию перед проведением исследования. Рекомендуется все калибраторы и контроль ставить в дублях. Калибраторы и контроль ставят в каждой серии анализов.**

Тщательно перемешайте реагенты и образцы перед использованием. Примечание. Инкубацию во всех случаях можно проводить при 20–30 °С (комнатная температура), без превышения указанной температуры.

12.1. Ручной метод

При одновременном выполнении всей тест-панели GastroPanel следуйте приведенным ниже указаниям по разбавлению образцов.

ШАГ 1: РАЗБАВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Разводящий буфер для образцов, промывающий буфер, останавливающий раствор и субстрат можно использовать в качестве взаимозаменяемых для разных наборов, если они относятся к одной и той же партии. Все прочие компоненты набора специфичны для каждого отдельного набора.

Разведение образцов для анализа GastroPanel

Разведение	Анализируемое вещество
1:5	G-17
1:20	PGI
1,20	PGII
1:400	<i>H. pylori</i>

Приготовьте три отдельных раствора образца. Пример разведений приведен ниже.

1. Чтобы приготовить разбавленный раствор образца для анализа на G-17, разведите перемешанный образец плазмы, обработанной ЭДТА, в соотношении 1:5 (например, 100 мкл плазмы + 400 мкл разводящего буфера). Перемешайте содержимое пробирки.
2. Чтобы приготовить разбавленный раствор образца для анализа на PGI и PGII, разбавьте вышеуказанный раствор, полученный разведением 1:5, еще раз в соотношении 1:4 для получения разведенного 1:20 раствора (например, 180 разбавленного 1:5 раствора + 540 разводящего буфера). Перемешайте содержимое пробирки.
3. Чтобы приготовить разбавленный раствор образца для анализа на *H. pylori*, разбавьте вышеуказанный раствор, полученный разведением 1:20, еще раз в соотношении 1:20 для получения разведенного 1:400 раствора (например, 20 разбавленного 1:20 раствора + 380 разводящего буфера). Перемешайте содержимое пробирки.

ШАГ 2: ОБРАЗЕЦ

Перемешайте и пипетируйте в лунки микропланшета по 100 мкл раствора бланка (BS для G-17, PGI и PGII) или разводящего буфера (Blank для *H. pylori*), калибраторов, контроля и разведенных образцов (см. рис. 1 для PGI/PGII и рис. 2 и 3 для G-17 и *H. pylori* соответственно). Во избежание разбрызгивания микропланшет можно накрыть пленкой для инкубации. Инкубируйте 60 мин при комнатной температуре со встряхиванием (750 об/мин). Примечание. Рекомендуется вносить образцы в лунки одного планшета не дольше 20 минут во избежание дрейфа в пределах планшета.

	1	2	3	4
A	Бланк	Бланк	Образец	Образец
B	Калибрат	Калибрат	и т. д.	и т. д.
C	Калибрат	Калибрат		
D	Калибрат	Калибрат		
E	Калибрат	Калибрат		
F	Контроль	Контроль		
G	Образец	Образец		
H	Образец	Образец		

Рис. 1. Порядок пипетирования для *H. pylori*

	1	2	3	4
A	Бланк	Бланк	и т. д.	и т. д.
B	Калибрат	Калибрат		
C	Калибрат	Калибрат		
D	Калибрат	Калибрат		
E	Калибрат	Калибрат		
F	Контроль	Контроль		
G	Образец	Образец		
H	Образец	Образец		

Рис. 2. Порядок пипетирования для G-17

	1	2	3	4
A	Бланк	Бланк	и т. д.	и т. д.
B	Калибрато	Калибрат		
C	Калибрато	Калибрат		
D	Калибрато	Калибрат		
E	Контроль	Контроль		
F	Образец	Образец		
G	Образец	Образец		
H	Образец	Образец		

Рис. 3. Порядок пипетирования для PGI и PGII

ШАГ 3: ПРОМЫВАНИЕ

Промойте лунки микропланшета трижды по 350 мкл разбавленного (1 к 10) промывающего буфера и осторожно простучите несколько раз перевернутым планшетом о чистое бумажное полотенце.

ШАГ 4: КОНЪЮГАТ

Примечание. В каждом наборе имеется свой конъюгат (не взаимозаменяемый). Перенесите 8-канальным дозатором по 100 мкл раствора конъюгата в опорожненные лунки микропланшета. Микропланшет можно накрыть пленкой для инкубации. Инкубируйте 60 мин при комнатной температуре со встряхиванием (750 об/мин).

ШАГ 5: ПРОМЫВАНИЕ

Промойте лунки микропланшета трижды по 350 мкл раствором разбавленного (1 к 10) промывающего буфера и осторожно простучите несколько раз перевернутым планшетом о чистое бумажное полотенце.

ШАГ 6: СУБСТРАТ

Перенесите 8-канальным дозатором по 100 мкл раствора субстрата в лунки микропланшета. Отсчет времени инкубации начните с момента внесения реагента в первую лунку микропланшета и продолжайте инкубировать в течение 30 мин при комнатной температуре. Во время инкубации не подвергайте микропланшет воздействию света.

ШАГ 7: ОСТАНОВКА РЕАКЦИИ

Перенесите 8-канальным дозатором по 100 мкл останавливающего раствора в лунки микропланшета.

ШАГ 8: ИЗМЕРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПО ВЕРТИКАЛЬНОМУ ПРИНЦИПУ

Измерьте поглощение лунками микропланшета на 450 нм в течение 30 мин (33).

12.2. Автоматический метод

GastroPanel разработана с учетом автоматизации. Как только были созданы специфические протоколы и проведена валидация, стало возможно выполнять GastroPanel с применением открытого автоматического анализатора ИФА, который прост в обращении, экономит ресурсы и предотвращает вызываемое пипетированием хроническое растяжение сухожилий в результате многократных мелких движений.

Единственным действием, выполняемым вручную, остается разведение концентрированного промывающего буфера в соотношении 1:10 перед следующим анализом. Вся процедура количественного анализа — от разведения образца до окончательного вычисления результата и составления отчета — выполняется автоматически.

13. РЕЗУЛЬТАТЫ

13.1. Показатели контроля качества

Согласно Своду международных требований к лабораторным исследованиям, для того чтобы удостовериться в надлежащей работе всех реагентов и протоколов, необходимо использовать соответствующие средства контроля. В наборах GastroPanel *Helicobacter pylori* предусмотрен специфичный для каждой партии контроль. В каждой партии необходимо вести таблицы контроля качества для отслеживания рабочих характеристик контрольной сыворотки. В качестве альтернативы можно применять соответствующие статистические методы для анализа внутрилабораторных контрольных значений, которые должны находиться в пределах соответствующих доверительных интервалов, принятых в каждой лаборатории. Для того чтобы результаты можно было считать приемлемыми, результаты для контрольного образца должны соответствовать ожиданию.

13.2. Расчет результатов

Показания оптической плотности преобразуются в значения концентрации иммунных единиц (EIU) IgG к *H. pylori* путем интерполяции неизвестных значений на основании кривой наилучшего приближения к калибраторам. Поскольку калибраторы готовы к использованию, значения концентрации, полученные в образцах пациентов, не умножаются на коэффициент разведения.

Вычтите среднюю оптическую плотность (OD) бланка (BS) из всех значений OD лунок. Постройте график зависимости среднего значения OD калибраторов от соответствующих значений в ЭЕ. Примените логарифмическое выражение для интерполирования неизвестных значений концентрации. Типичная калибровочная кривая показана на рис. 4.

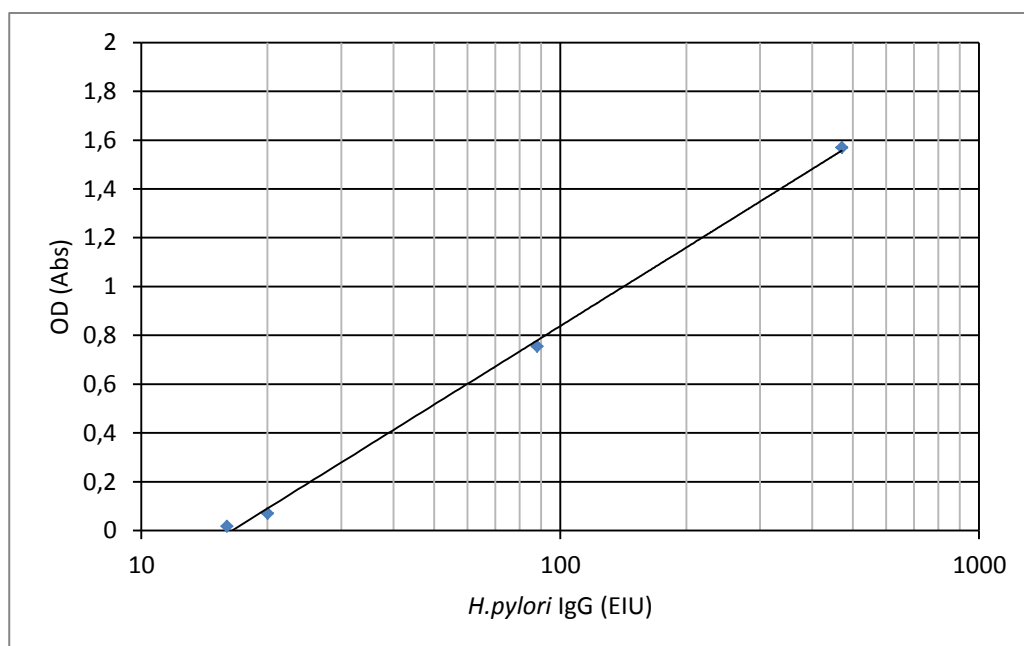


Рис. 4. Пример типичной калибровочной кривой *H. pylori*

Интерпретация проводится на результатах всех маркеров GastroPanel, измеренных в одном и том же образце крови пациента. Данные количественного определения необходимо собрать и проанализировать совместно, с учетом дополнительных анамнестических данных, таких как прием ИПП и эрадикация инфекции *H. pylori*.

Сведения об интерпретации см. в разделе 17. Если требуется автоматизировать интерпретацию результатов GastroPanel, просим обращаться в компанию Biohit за дополнительными сведениями о прикладных программах и услугах. Дополнительные сведения можно получить также на сайте продукции GastroPanel (www.gastropanel.com).

13.3. Интерпретация результатов

Отрицательный < 30 ЭЕ

Положительный ≥ 30 ЭЕ

Значение менее 30 ЭЕ означает отрицательный результат, т. е. предполагает отсутствие активной инфекции *H. pylori*. Значение равное или превышающее 30 ЭЕ означает выявление антител к *H. pylori*, поэтому результат считается положительным. Для того чтобы результаты анализа можно было рассматривать как достоверные, должны быть получены ожидаемые результаты с контрольными образцами. Предельные (пороговые) значения были определены с помощью набора GastroPanel *Helicobacter pylori*. У пациентов, образцы которых дали значения близкие к предельным, необходимо взять второй образец, по возможности в течение разумного промежутка времени. В каждой лаборатории может быть установлен свой собственный диапазон ожидаемых значений для той клинической ситуации, при которой для диагностики используется уровень антител IgG к *H. pylori*. Кроме того, результаты определения антител IgG к *H. pylori* для одного образца тест-системами различных изготовителей могут варьировать из-за различий в стандартизации, методах анализа и специфичности реагентов. Результаты,

полученные при использовании методов анализа от других производителей, не следует использовать в качестве взаимозаменяемых.

13.4. Биологический референтный интервал

Предельное значение составляет 30 ЭЕ, а референтный интервал — < 30 ЭЕ. Этот референтный интервал основан на данных по 7000 жителей Финляндии (внутренний отчет компании Biohit, неопубликованные данные).

У большинства лиц, подвергнутых воздействию *H. pylori*, вырабатываются антитела класса IgG к этому организму (25, 28, 29). Частота наличия антител к *H. pylori* по возрастным группам одинакова для мужчин и женщин. Распространенность инфекции *H. pylori* в США, Канаде и Западной Европе составляет 30–40%, в Австралии — около 20%, а в Восточной Европе, Африке, Южной Америке и Азии — 70–90%. У многих пациентов с повышенным уровнем антител к *H. pylori* симптомы не проявляются, даже несмотря на инфекцию *H. pylori* (15, 18). Поэтому уровень антител необязательно коррелирует с тяжестью клинических симптомов.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Результаты анализов, полученные с помощью набора GastroPanel *Helicobacter pylori*, как и любой диагностической методики, должны интерпретироваться в сочетании с конкретной клинической картиной и любой другой информацией, известной врачу. С учетом того, что антитела IgG распадаются в сыворотке медленно (в течение месяцев), анализ может давать (ложно-)положительные результаты (*H. pylori* >30 ЭЕ) вскоре после успешного искоренения инфекции *H. pylori*.

15. АНАЛИТИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Все испытания рабочих характеристик проводили при комнатной температуре (20–25 °C). Анализ всех образцов выполняли с дублированием в лунках микропланшета.

Диапазон измерений

Диапазон измерений для набора GastroPanel *Helicobacter pylori* составляет от 15 ЭЕ до 670 ЭЕ.

Показано, что внутри этого диапазона повторяемость характеризуется коэффициентом вариации $\leq 10\%$, воспроизводимость в пределах одного анализа — коэффициентом вариации $\leq 20\%$, а суммарная ошибка на пороговом уровне количественного определения (LoQ) составляет $\leq \pm 20\%$.

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости проводили в соответствии с рекомендациями EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Панель, составленную из семи образцов плазмы, обработанной ЭДТА, с низким, средним и высоким уровнями концентрации антител к *H. pylori*, анализировали с дублированием в течение 20 рабочих дней (по два анализа в день, по два повтора на каждый образец за один анализ). В исследованиях участвовали семь операторов, которые использовали три производственные партии на двух приборах. Статистический анализ проводили согласно

рекомендациям EP5-A2 CLSI с целью оценки повторяемости (воспроизводимости в пределах анализа) и воспроизводимости в пределах лаборатории.

При определении повторяемости для образцов плазмы, обработанной ЭДТА, диапазон анализа составил от 16,6 ЭЕ до 669 ЭЕ, стандартных отклонений — от 0,59 ЭЕ до 64,95 ЭЕ и коэффициентов вариации — от 3,6% до 9,8%. При определении воспроизводимости в пределах лаборатории для плазмы, обработанной ЭДТА, диапазон стандартных отклонений составил от 0,89 ЭЕ до 107,37 ЭЕ, а коэффициентов вариации — от 5,7% до 16,5%.

ПОВТОРЯЕМОСТЬ					
Образец	Среднее (ЭЕ)	Коэффициент вариации (%)	Суммарное стандартное отклонение	95% ДИ	n
1	16,6	3,60%	0,59	0,485–0,756	80
2	22,9	3,70%	0,85	0,695–1,084	80
3	38,2	5,10%	1,96	1,605–2,502	78
4	72,6	6,10%	4,42	3,626–5,651	78
5	133,5	7,80%	10,36	8,505–13,255	78
6	261	9,80%	25,6	21,018–32,756	80
7	669	9,70%	64,95	53,322–83,099	78
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ В ПРЕДЕЛАХ ЛАБОРАТОРИИ					
Образец	Среднее (ЭЕ)	Коэффициент вариации (%)	Суммарное стандартное отклонение	95% ДИ	n
1	16,6	5,40%	0,89	0,743–1,102	80
2	22,9	6,20%	1,42	1,201–1,746	80
3	38,2	7,90%	3,01	2,558–3,667	78
4	72,6	13,30%	9,63	7,999–12,085	78
5	133,5	16,50%	22,09	18,449–27,522	78
6	261	16,50%	43,06	35,673–54,341	80
7	669	16,00%	107,37	90,141–132,790	78

Предел выявления и предел количественного определения

Предел для образца бланка (LoB) и предел выявления (LoD) для набора GastroPanel Pepsinogen I были определены в соответствии с рекомендацией EP17-S CLSI с долями ложноположительных результатов (α) менее 5% и ложноотрицательных результатов (β) менее 5% на основе 120 определений по 60 образцам бланков и 60 образцам с низкой концентрацией. Для определения LoD использовали четыре образца плазмы, обработанной ЭДТА, и три партии наборов, а для определения LoB — буферный разбавитель из набора.

Установлено, что LoB составляет 13,1 ЭЕ, а LoD — 14,7 ЭЕ.

Предел количественного определения определяли в соответствии с рекомендацией EP17-S CLSI на основе 60 определений по четырем образцам плазмы, обработанной ЭДТА, и трем партиям наборов. Ввиду отсутствия эталонного метода оценку отклонений в вычисления суммарных ошибок не включали.

Установлено, что LoQ составляет 15,0 ЭЕ при суммарной ошибке -10,7% и коэффициентом вариации между измерениями 5,2%.

Искажение результатов

Набор GastroPanel *Helicobacter pylori* оценивали на искажение результатов в соответствии с рекомендацией EP07-A2 CLSI. Установлено, что отклонения, вызываемые гемоглобином, свободным билирубином, связанным билирубином и триглицеридами соответственно в концентрации 2 г/л, 5 мг/дл, 15 мг/дл и 500 мг/дл, составляют при уровне в плазме антител IgG к *H. pylori* 21 ЭЕ и 70 ЭЕ менее 10%. Это искажение результатов сочли незначительным. Сильно гемолизированные, липемические или замутненные образцы не подлежат использованию.

16. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когорта испытательного исследования состояла из 101 белого пациента, направленного на гастроскопию (71 женщина и 30 мужчин). Средний возраст пациентов, участвовавших в исследовании, составил 50,1 года (SD=16,7 года) при диапазоне от 18 до 83 лет.

Анализ ROC-кривой для подтвержденных биопсией случаев *H. pylori*, выявленных с помощью набора GastroPanel *Helicobacter pylori* показал значение AUC=0,978 (95% ДИ 0,956–1,000). Наилучший баланс чувствительность/специфичность (SE/SP) составляет 90,8% SE и 88,6% SP, что соответствует предельному уровню 30 ЭЕ.

17. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ GASTROPANEL®

Панель GastroPanel оптимизирована для совместного использования с обновленной Сиднейской системой (USS) для классификации гастрита. Как в USS, так и в программе GastroSoft® используются пять диагностических категорий для классификаций результатов биопсии и анализов GastroPanel соответственно. К ним относятся: 1) слизистая оболочка в норме, 2) поверхностный (*Hp*) гастрит, 3) АГ в антральном отделе, 4) АГ в теле желудка и 5) АГ как антральном отделе, так и в теле желудка (пангастрит) (13, 34, 35). В дополнение к этим пяти категориям, связанным с морфологией желудка, в анализе GastroPanel возможно определение еще трех профилей по маркерам, специфичным в отношении определенных функциональных нарушений при нормальной морфологии желудка. Все восемь диагностических категорий показаны в таблице 1 и рассмотрены ниже.

17.1. Здоровый желудок

Если все четыре биомаркера находятся в пределах нормального диапазона, слизистая оболочка желудка функционирует нормально. С учетом того что функция слизистой оболочки желудка целиком зависит от конкретных видов клеток, отвечающих за секрецию кислоты (париетальные клетки), пепсиногенов (главные клетки) и G-17 (G-клетки), для нормальной функции требуется наличие этих клеток в нормальных количествах (1, 3, 9, 11, 19). Таким образом, функция желудка и структура его слизистой оболочки тесно связаны друг с другом и, по определению, нормальный результат анализа GastroPanel® является маркером здорового желудка.

17.2. Повышенная секреция кислоты

Желудочная кислота (HCl) вырабатывается высокоспециализированными париетальными (обкладочными) клетками в теле желудка. Выработка кислоты регулируется, среди прочего, секрецией G-17 в антральном отделе по принципу положительной обратной связи, стимулирующей выработку кислоты после приема пищи. Выработка кислоты приводит к всё большему снижению pH в теле желудка, и порог pH 2,5 запускает отрицательную обратную связь в отношении антральных G-клеток, сигнализируя им о необходимости уменьшения выработки G-17. В результате выработка G-17 снижается параллельно с содержанием кислоты в теле желудка (1, 3, 14, 17). Если по какой-либо причине выработка кислоты в теле желудка остается на аномально высоком уровне (под действием других стимулирующих механизмов), конечным результатом будет аномально низкая секреция G-17b антральными G-клетками. Это состояние лучше всего диагностируется путем пробного назначения ИПП, когда уровень G-17b должен нормализоваться приблизительно за две недели лечения. В этих условиях стимулированный (после приема пищи) уровень G-17s должен оставаться в пределах нормы, так как G-клетки интактны и способны к секреции G-17 при соответствующей стимуляции (белковый порошок, номер по кат. Biohit 601 038).

17.3. Пониженная секреция кислоты вследствие приема ингибиторов протонной помпы (ИПП)

Описанная выше регуляция работает также в обратном направлении. Когда выработка кислоты в теле желудка понижена (по любой причине), принцип положительной обратной связи запускает усиление секреции G-17b в G-клетках, что приводит к повышению уровня G-17b в сыворотке (3, 17). Пониженная секреция кислоты характерна для двух состояний: 1) АГ в теле желудка и 2) длительный прием ИПП. Первое из них исключается нормальными (или даже повышенными) значениями PGI, PGII, и нормальным соотношением PGI/PGII, тогда как второе лучше всего диагностируется прекращением приема ИПП. В этом случае уровень антрального G-17b должен нормализоваться в течение двух недель (17.8.).

17.4. Поверхностный (неатрофический) гастрит, ассоциированный с инфекцией *Helicobacter pylori*

Как все бактерии, *Helicobacter pylori* также вызывает острое воспаление слизистой оболочки желудка, обычно начинающееся в антральном отделе (1, 3, 7, 13, 18, 36). В связи с инфекцией *Hp* встречаются три различных маркерных профиля.

17.4а. При активной инфекции *Hp* повышен уровень антител к *Hp*, что может быть единственным аномальным результатом анализа GastroPanel при том, что все остальные маркеры остаются в пределах нормы. Однако нередко активная продолжающаяся инфекция *Hp* вызывает тяжелую воспалительную реакцию, которая вследствие повышенной проницаемости клеток может привести к усиленному выходу PGI, PGII и даже G-17 из клеток и повышению уровня в сыворотке какого-либо из этих трех биомаркеров или сразу всех (3, 7, 36).

17.4б. Успешная эрадикация *Hp* должна привести к нормализации значений всех трех маркеров, однако с задержкой в несколько недель или месяцев. Уровень антител к *Hp* может оставаться повышенным в течение и более длительного времени, что невозможно прогнозировать. Это ограничивает полезность GastroPanel® как точного диагностического анализа для контроля эрадикации *Hp* (36).

17.4с. В тех случаях, когда эрадикация *Hp* не успешна, уровень антител к *Hp* остается повышенным (обычно незначительно), а PGI и соотношение PGI/PGII обычно находятся в пределах нормы, в то время

как PGI₂ и (или) G-17b могут быть немного повышенными вследствие продолжающейся воспалительной реакции (см. 17.4а.). Результат может быть подтвержден спустя 5–6 месяцев, после чего — при наличии показания — может быть предпринята повторная попытка лечения (3, 36).

17.5. Атрофический гастрит тела желудка

По определению, утрата конкретного вида клеток (главных клеток) в собственных железах слизистой тела желудка вследствие ее атрофии должно привести к усиливающемуся снижению секреции PGI₂ и (в меньшей степени) PGI₂, который также вырабатывается такими же клетками в слизистой антрального отдела. Такое непропорциональное снижение уровня этих двух маркеров ведет к уменьшению соотношения PGI₂/PGI₂ — еще одному надежному признаку АГ в теле желудка (1, 3, 5–9, 14, 16). Подобное снижение уровня PGI₂ и соотношения PGI₂/PGI₂ прогрессирует и тесно коррелирует с тяжестью атрофии тела желудка, завершаясь полной атрофией и ахлоргидрией желудка. В случае интактной (нормальной) слизистой антрального отдела секреция и уровень в сыворотке G-17b будут значительно повышены (17, 19). В подобной ситуации проводить анализ на G-17s не требуется. В хронических случаях с длительным течением заболевания *Hp* может элиминироваться, что приводит к постепенной нормализации уровня антител к *Hp*.

17.6. Атрофический гастрит антрального отдела желудка

Когда атрофия слизистой затрагивает только антральный отдел, все маркеры, специфичные для тела желудка, остаются в пределах нормы. По определению, АГ в антральном отделе вызывается инфекцией *Hp*, и при анализе с помощью GastroPanel уровень антител к *Hp* неизменно повышен. Вследствие атрофии антрального отдела сокращается численность G-клеток, которые в конце концов исчезают, что приводит ко всё большему снижению уровня G-17b в плазме. При тяжелой атрофии антрального отдела реакция секреции G-17s на белковое стимулирование отсутствует из-за нехватки G-клеток (мишеней) в слизистой оболочке (14, 15, 17).

17.7. Атрофический гастрит антрального отдела и тела желудка

Наиболее тяжелая форма АГ известна как атрофический пангастрит, поражающий как антральный отдел, так и тело желудка. В конце концов указанные клетки в теле желудка (главные клетки) и в антральном отделе (G-клетки) исчезают, что ведет к такому характеру экспрессии биомаркеров, при котором уровень как пепсиногенов (PGI₂, PGI₂), так и G-17 существенно снижен (1, 3, 5–9, 14, 16, 17, 19). Это относится как к G-17b, так и к G-17s, уровень которого остается низким даже после стимулирования из-за отсутствия G-клеток. Как и при АГ тела желудка (17.5.), уровень антител к *Hp* может быть нормальным или повышенным. Это связано с тем, что при хроническом АГ *Hp* может элиминироваться в атрофированной слизистой оболочке и в отсутствие антигенного стимула нормальный распад IgG-антител снизит уровень антител к *Hp* до значения ниже порогового — 30 иммуноферментных единиц (EIU).

17.8. Прием ИПП

Если пациент принимает какие-либо препараты ИПП, подавляющие секрецию желудочного сока, просим связаться с лицом, производящим взятие образцов. Также введите соответствующие сведения в историю болезни пациента, так как они будут включены в распечатку GastroSoft. Ингибиторы протонной помпы (ИПП) снижают выработку желудочного сока. Это увеличивает выработку гастрин-17, повышая уровень пепсиногена. Через 4–10 дней по окончании лечения препаратами ИПП выработка соляной кислоты и уровень гастрин-17 возвращаются к норме. Однако уровень пепсиногена остается высоким в течение относительно длительного периода. За прекращением долговременного подавления секреции кислоты

препаратами ИПП обычно следует кислотный рикошет (7–10 дней), характеризующийся усилением симптомов изжоги и очень низким уровнем гастрин-17. (1, 3, 11, 17)

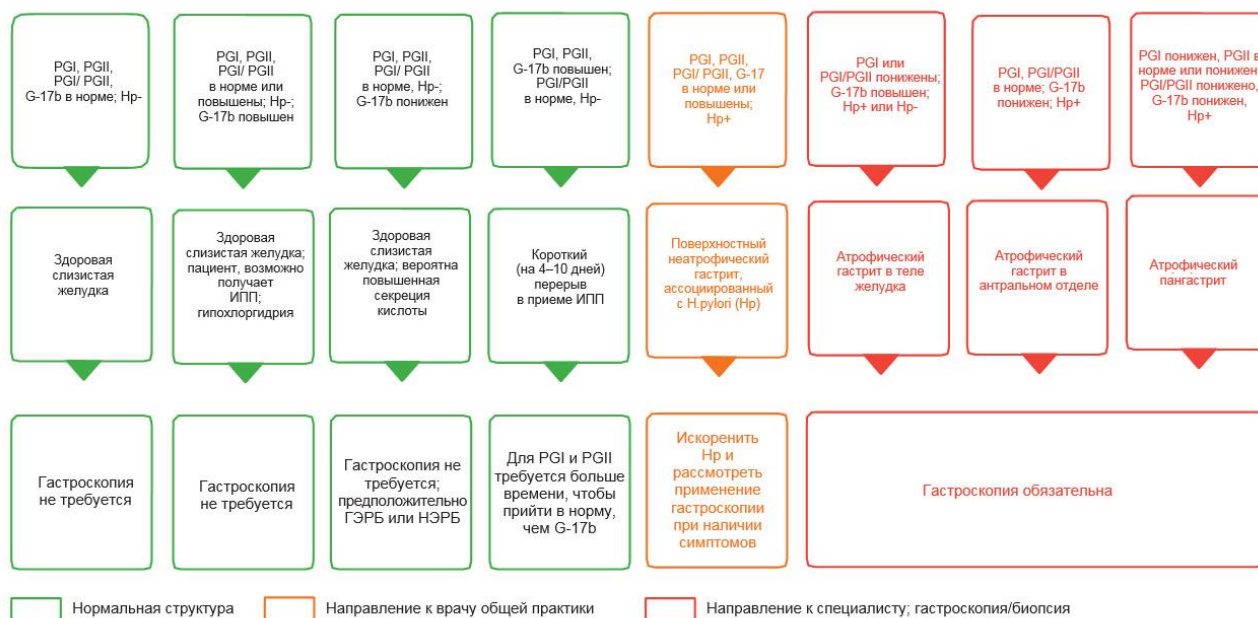
Таблица 1. Восемь диагностических категорий GastroPanel

	Биомаркеры GastroPanel						Интерпретация
	Пепсиноген I (30–160 мкг/л) [®]	Пепсиноген II (3–15 мкг/л)	Соотношение PGI/PGII (3–20)	Гастрин-17b (1–7 пмоль/л)	Гастрин-17s (3–30 пмоль/л)	Уровень антител IgG к <i>H. pylori</i> (<30 ЭЕ)	
1	N	N	N	N	N	N	Здоровая слизистая (без атрофии, без инфекции <i>H. pylori</i>)
2	N	N	N	L*	N	N	Здоровая слизистая. Повышенная секреция кислоты в теле желудка
3	N или H [^]	N или H [^]	N	H**	N	N	Здоровая слизистая. Пониженная секреция кислоты вследствие, например, приема ИПП
4a	N или H [^]	N или H [^]	N	N или H [^]	–	H	Активная инфекция <i>H. pylori</i> , без лечения
4b	N	N	N	N	–	N или H [†]	Успешная эрадикация <i>H. pylori</i>
4c	N	H	N	H	–	H	Неуспешная эрадикация <i>H. pylori</i>
5	L	L	L	H	–	N ^{^^} или H	Атрофический гастрит в теле желудка
6	N	N	N	L	L	H	Атрофический гастрит в антральном отделе
7	L	L	L	L	L	N ^{^^} или H	Атрофический гастрит в антральном отделе и теле желудка (пангастрит)
8	H	H	N	H	–	N	Краткий (4–10 дней) перерыв в приеме ИПП

N — норма; L — низкий уровень; H — высокий уровень; *пробное назначение ИПП в течение двух недель, должна произойти нормализация G17b; **прекратить прием ИПП, в течение двух недель должна произойти нормализация G-17b; ND — анализ не требуется; [^]уровень PGI, PGII и G-17 может быть повышен вследствие воспаления слизистой; ^{^^}антитела к *H. pylori* могут исчезнуть при длительной атрофии слизистой; [®]предельное значение для пепсиногена I 30 мкг/л согласуется с умеренным/тяжелым атрофическим гастритом; [†]уровень антител к *H. pylori* может оставаться повышенным в течение нескольких месяцев после успешного искоренения *H. pylori*.

GastroPanel® – краткий обзор интерпретации

Структурные и функциональные причины симптомов диспепсии, выявляемые с помощью системы GastroPanel (PGI, PGII, PGI/PGII, G-17, Hp-Ab)



Атрофический гастрит (АГ), вызванный инфекцией *H. pylori* или аутоиммунный, с которым связан риск развития рака желудка и других последствий, или уровень выработки кислоты в желудке невозможно диагностировать путем традиционных анализов, которые применяют для диагностики диспепсии и инфекции *H. pylori*, например анализов 13С-мочевины в выдыхаемом воздухе (UBT), анализов кала на антигены или антитела. У лиц с АГ, MALT-лимфомой или язвой желудка с кровотечением, а также у пациентов, получающих ИПП или антибиотики анализы UBT или кала на антигены часто дают ложно-отрицательные результаты, и инфекция *H. pylori* (со всеми ее рисками) не выявляется (37–41) (www.biohithealthcare.com/additional-information).

GastroPanel позволяет диагностировать атрофический гастрит, затрагивающий либо тело, либо антральный отдел желудка, либо оба отдела. Метод гастроскопии не всегда позволяет точно диагностировать атрофический гастрит по нескольким небольшим биоптатам, представляющим собой лишь минимальный образец слизистой оболочки желудка взрослого человека. Кроме того, атрофия слизистой (особенно легкая) — это субъективный диагноз, который существенно варьирует от патолога к патологу. Подобным же образом, точность гастроскопии зависит от опыта и компетентности гастроскописта. На результаты GastroPanel эти недостатки не влияют, поскольку это автоматизированный лабораторный количественный анализ на основе ELISA. По сути, гистологическое исследование эндоскопического биоптата не является надежным золотым стандартом (42), хотя к нему в настоящее время и прибегают в качестве такового. По сравнению с сывороточными биомаркерами, следует помнить об ограничениях этого метода с точки зрения точности диагностики (2, 43).

В случае его применения опытными гастроэнтерологами и патологами имеется очень хорошая согласованность между результатами анализов GastroPanel и гистологии биоптатов желудка, превышающая 0,8 (на грани почти безупречной) по данным теста со взвешенным коэффициентом каппа (14). Важно отметить, что диагностика атрофии желудка весьма субъективна без использования биопсии, т. е. на основе лишь одной гастроскопии (44). Если GastroPanel показывает, что слизистая желудка находится в нормальном состоянии (отсутствие инфекции *H. pylori* и (или) атрофического гастрита), клинические симптомы часто бывают вызваны функциональной диспепсией или другим функциональным нарушением без органического заболевания слизистой желудка.

18. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Agréus L, Kuipers EJ, Kupcinskas 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 bood 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://monographs.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 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, Aii K, Yamamichi N, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Risk of gastric cancer in asymptomatic, middle-aged Japanese subjects based on serum pepsinogen and Helicobacter pylori levels. *Int J Cancer* 2008;123: 917 – 926.

19. ДАТА ВЫПУСКА

Листок-вкладыш к набору GastroPanel® *Helicobacter pylori*.

Версия 4.0, сентябрь 2016 г.

20. ГАРАНТИЯ

Изготовитель обязуется исправить все дефекты, обнаруженные в любом Продукте («Дефектный продукт»), причинами которых являются использование ненадлежащих материалов или нарушение технологии производства и которые препятствуют механическому функционированию или применению по назначению Продуктов, включая функции, указанные в спецификациях Продуктов Изготовителя, но не ограничиваясь ими. ЛЮБЫЕ ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА СЧИТАЮТСЯ НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫМИ, ЕСЛИ ДЕФЕКТЫ ЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДСТВИЕМ НЕПРАВИЛЬНОГО ОБРАЩЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, СЛУЧАЙНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ, НЕПРАВИЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НАБОРА НЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ. Срок действия настоящей гарантии для Дистрибьютора указан в инструкции по использованию Продуктов и действует с даты поставки соответствующего Продукта Изготовителем. В случае возникновения споров касательно интерпретации применяется текст на английском языке.

Все диагностические наборы Biohit изготовлены в соответствии с протоколами управления качеством по стандартам ISO 9001/ISO 13485 и прошли все необходимые процедуры обеспечения качества, относящиеся к этим продуктам.

21. ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

GastroPanel®

Номер по кат. 606 400

Головной офис

BIOHIT OYJ

Laippatie 1

00880 Helsinki, Finland (Финляндия)

Тел.: +358-9-773 861

Факс: +358-9-773 2867

Эл. почта: info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

22. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

Выдержите все реагенты до достижения ими комнатной температуры. Перед исследованием следует перемешать все реагенты и образцы непосредственно перед пипетированием.

*

В лунки микропланшета после перемешивания вносят по 100 мкл раствора бланка, калибраторов 1-4, контроля и разведенных (1 к 400) образцов.

*

Инкубируют 60 мин при комнатной температуре со встряхиванием (750 об/мин).

*

Каждую лунку промывают 3 раза по 350 мкл раствором промывающего буфера.

*

Во все лунки вносят по 100 мкл перемешанного раствора конъюгата.

*

Инкубируют 60 мин при комнатной температуре со встряхиванием (750 об/мин).

*

Каждую лунку промывают 3 раза по 350 мкл раствором промывающего буфера.

*

Во все лунки вносят по 100 мкл перемешанного раствора субстрата.

*

Инкубируют **30 мин** при комнатной температуре.

*

Во все лунки вносят по 100 мкл перемешанного останавливающего раствора.

*

Считывают значения оптической плотности при длине волны **450 нм** в течение 30 мин.