

BIOHIT HealthCare

Innovating for Health

GastroPanel[®]
Helicobacter pylori

Súprava typu ELISA na detekciu ľudských protilátok IgG proti *H. pylori* v EDTA plazme v rámci súpravy GastroPanel

NÁVOD NA POUŽITIE

GastroPanel[®]

Product Family

606 400

REF 606 040

IVD






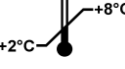










CE

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

VYSVETLIVKY K POUŽITÝM SYMBOLOM NA ŠTÍTKOCH

	Slovensky
	Na diagnostické použitie <i>in vitro</i>
	Katalógové číslo
	Kód šarže
	Dátum spotreby
	Pozri návod na použitie
	Obmedzenia pri skladovaní Skladujte pri teplote +2 – +8 °C
	96 meraní
	Nepoužívajte opakovane
	Označenie CE
	Premývací pufrovaný koncentrát (10x)
	Pufrovaný roztok na riedenie vzoriek
	Kalibrátor
	Kontrolné činidlo
	Konjugát
	Substrát
	Zastavovací roztok

NÁVOD NA POUŽITIE

Slovensky

Poznámka! Ostatné jazyky sú k dispozícii na internetovej stránke

www.biohithealthcare.com

GastroPanel® *Helicobacter pylori*

Kat. č. 606 040

1. ÚVODNÉ INFORMÁCIE K TESTU GASTROPANEL®	5
2. HELICOBACTER PYLORI AKO SÚČASŤ TESTU GASTROPANEL®	7
3. URČENÉ POUŽITIE	7
4. ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE O PROTILÁTKACH IgG PROTI HELICOBACTER PYLORI	8
5. PRINCÍP TESTU.....	8
6. VAROVANIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA	8
7. SLEDOVATEĽNOSŤ HODNÔT	9
8. OBSAH SÚPRAVY, PRÍPRAVA ČINIDLA A STABILITA POSKYTNUTÝCH MATERIÁLOV	9
8.1. Mikrotitračná doštička	9
8.2. Premývací pufrovaný koncentrát (10x)	9
8.3. Pufrovaný roztok na riedenie vzoriek	9
8.4. Kalibrátory	9
8.5. Kontrolné činidlo	10
8.6. Konjugát	10
8.7. Substrátový roztok	10
8.8. Zastavovací roztok	10
8.9. Inkubačné kryty	10
8.10. Návod na použitie	10
9. ODBER VZORIEK A MANIPULÁCIA S NIMI	10
9.1 Zmrazovanie vzoriek	10
9.2 Stimulácia gastrínu-17	11
10. POTREBNÉ MATERIÁLY, KTORÉ NIE SÚ SÚČASŤOU DODÁVKY	11
10.1 Manuálny postup	11
10.2 Automatizované postupy	11
11. UCHOVÁVANIE A STABILITA	11
12. TESTOVACÍ POSTUP	12
12.1. Manuálny postup	12
12.2. Automatizovaný postup	14
13. VÝSLEDKY	14
13.1. Hodnoty na kontrolu kvality	14
13.2. Výpočet výsledkov	14
13.3. Interpretácia výsledkov	15

13.4. Biologický referenčný interval	16
14. OBMEDZENIA TÝKAJÚCE SA POSTUPU	16
15. CHARAKTERISTIKY ANALYTICKEJ ÚČINNOSTI	16
16. ÚČINNOSŤ DIAGNOSTIKY.....	18
17. INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV GASTROPANEL®	18
17.1 Zdravý žalúdok	18
17.2 Nadbytočné vylučovanie kyseliny	18
17.3. Nedostatočné vylučovanie kyseliny v dôsledku užívania liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy (PPI).....	19
17.4. Povrchová (neatrofická) gastritída vyvolaná infekciou <i>Helicobacter pylori</i>	19
17.5 Atrofická gastritída tela žalúdka	19
17.6 Atrofická gastritída antra	20
17.7 Atrofická gastritída antra a tela žalúdka.....	20
17.8 Liečivá z kategórie inhibítorov protónovej pumpy	20
18. POUŽITÁ LITERATÚRA	24
19. DÁTUM VYDANIA	27
20. ZÁRUKA	27
21. INFORMÁCIE TÝKAJÚCE SA OBJEDNÁVANIA	27
22. STRUČNÉ ZHRNUTIE POSTUPU	28

1. ÚVODNÉ INFORMÁCIE K TESTU GASTROPANEL®

GastroPanel® je diagnostický test prvého stupňa na stanovenie infekcie *Helicobacter pylori* (*Hp*) (5 – 80 % svetovej populácie), vyšetrenie všetkých pacientov s dyspepsiou (20 – 40 % západnej populácie), ako aj na skriningové vyšetrenia atrofickej gastritídy (AG) a s ňou spojených rizík, ako sú rakovina žalúdka a karcinóm pažeráka (1 – 3). Aτροφická gastritída zároveň zvyšuje riziko malabsorpcie vitamínu B12, železa, horčíka, zinku, vápnika a niektorých liečiv.

GastroPanel pozostáva z kľúčových biomarkerov špecifických pre žalúdok, ktoré reprezentujú kľúčové regulátory normálnej fyziológie žalúdka. Tieto štyri biomarkery zahŕňajú pepsinogén I (PGI), pepsinogén II (PGII), amidovaný gastrín-17 (G-17) a protilátky proti *Hp*, ktorých účelom je poskytnúť informácie o štruktúre aj funkcii sliznice žalúdka (1 – 6). Najdôležitejšou funkciou tejto súpravy je poskytnúť presné odhady týkajúce sa kapacity vylučovania žalúdočnej kyseliny a G-17 sliznicou tela žalúdka (corpus) a sliznicou dolnej časti žalúdka (antrum), ako aj dôležitých patologických stavov žalúdka, ako sú zápaly, stupeň a topografia atrofickej gastritídy (7 – 9), ktoré môžu predstavovať zvýšené riziko rakoviny žalúdka (1).

Normálne úrovne plazmy všetkých štyroch biomarkerov indikujú normálnu štruktúru a funkciu žalúdočnej sliznice, zatiaľ čo abnormálne úrovne sú známkami nezdravého žalúdka a poukazujú na poruchy mechanizmov odozvy medzi vylučovaním kyseliny z tela žalúdka, pepsinogénmi a G-17. V prípade určovania G-17 sú k dispozícii dve možnosti: základné hodnoty G-17 (G-17b) a stimulované hodnoty G-17 (G-17s), pričom posledné menované sú mimoriadne dôležité z hľadiska rozlišovania medzi funkčnými poruchami antra (normálna hodnota G-17s) a atrofickou gastritídou antra (G-17s sa pri atrofickej gastritíde nezvyšuje) (10, 11).

GastroPanel je prvý neinvazívny diagnostický test zdravia sliznice žalúdka a jeho výnimočnosť spočíva v skutočnosti, že interpretáciu výsledkov zabezpečuje softvérová aplikácia (GastroSoft) (<http://www.GastroPanel.com>), ktorá bola vyvinutá zvlášť na tento účel. Výsledky testu GastroPanel sú klasifikované do niektorej z piatich možných diagnostických kategórií súvisiacich s morfológiou žalúdka: 1) normálna sliznica, 2) povrchová alebo neatrofická (*Hp*) gastritída, 3) atrofická gastritída v tele žalúdka, 4) atrofická gastritída v antra a 5) atrofická gastritída v antra aj tele žalúdka (pangastritída) (11, 12). GastroPanel je optimalizovaný na použitie v kombinácii s aktualizovaným Sydney systémom (Updated Sydney System, USS) na klasifikáciu gastritídy, ktorý vychádza z tých istých piatich diagnostických kategórií (13). Okrem toho sú k dispozícii tri ďalšie profily markerov špecifické pre funkčné poruchy žalúdka s normálnou morfológiou (podrobné informácie sú uvedené v časti 17).

Test GastroPanel prešiel overovaním v niekoľkých veľkých štúdiách založených na gastrokopiách potvrdených biopsiami (14, 15), pričom všetky sú zahrnuté v meta-analýze subjektu (16). Tieto štúdie poslúžili ako základ na určenie overených referenčných (limitných) hodnôt pre jednotlivé biomarkery súpravy pre päť histologických koncových bodov. Počas týchto štúdií sa zároveň potvrdila vysoká presnosť testu GastroPanel pri detegovaní najdôležitejšieho koncového bodu, stredného až vysokého štádia atrofickej gastritídy (14 – 16). Normálne hodnoty PGI a PGII a ich pomer (PGI/PGII) teda umožňujú predchádzať atrofickej gastritíde tela žalúdka s mierou úspešnosti prevyšujúcou 95 %. Zároveň platí, že hodnoty PGI a PGII, ako aj ich pomer pod hranicou stanovených limitných úrovní, umožňujú odhaliť stredné až vysoké štádium atrofickej gastritídy v rámci krivky ROC (AUC) s hodnotami nad 0,950 v správne vykonaných sériách overených v systéme USS (1, 2, 3, 16, 17).

Stručne povedané, úrovne PGI sa pri atrofickej gastritíde (a pangastritíde) tela žalúdka znižujú, no v ostatných prípadoch neprekračujú normálny rozsah. Zvýšené úrovne PGII signalizujú zápal sliznice, pričom najvyššie hodnoty možno pozorovať v prípadoch neatrofickej gastritídy vyvolanej infekciou *Hp*. Hodnoty G-17b dosahujú najvyššiu úroveň v prípade atrofickej gastritídy tela žalúdka, dôvodom je absencia negatívnej odozvy vylučovania kyseliny z atrofovaného tela, ktorá spôsobuje, že nedochádza k inhibícii vylučovania G-17b normálnou sliznicou antra. To isté platí pre situácie, v ktorých dochádza k inhibícii vylučovania kyseliny v dôsledku dlhodobého užívania liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy. V zásade platí, že v prípade atrofie sliznice antra a spotrebovania G-buniek zostáva vylučovanie G17 na veľmi nízkej úrovni, a to aj po proteínovej stimulácii (G-17s) (17).

Protilátky proti *Hp* IgG predstavujú značnú pridanú diagnostickú hodnotu k trom biomarkerom. Úroveň protilátok IgG proti *Hp* meria dva potenciálne odlišné stavy: 1) prebiehajúcu infekciu *Hp*, alebo 2) infekciu *Hp*, ku ktorej došlo v minulosti. Ako jediný abnormálny marker, *Hp* implikuje povrchovú gastritídu (neatrofická gastritída) spôsobenú prítomnosťou *Hp*, keď sa vyskytuje v kombinácii s abnormalitami troch ostatných markerov, zvýšené hodnoty protilátok proti *Hp* potvrdzujú diagnózu atrofickej gastritídy (antra alebo tela žalúdka) spôsobenej prítomnosťou *Hp* (1, 3, 18, 19).

Test GastroPanel dokáže odhaliť nasledujúce stavy:

- 1) Infekcia *H. pylori*, ktorá predstavuje nezávislý rizikový faktor pre vznik rakoviny žalúdka a peptického vredu (vredová choroba žalúdka a dvanástnika).
- 2) Atrofická gastritída (AG) navodená baktériou *H. pylori*, ktorá je vo väčšine prípadov asymptomatická, ako aj topografická lokalita AG buď v tele žalúdka, alebo v antra. Okrem pôsobenia baktérie *H. pylori* môže byť výskyt atrofickej gastritídy v tele žalúdka, vrátane všetkých jej klinických následkov, zapríčinený aj pôsobením autoimunitných mechanizmov.
- 3) Atrofická gastritída tela žalúdka, ktorá vedie k nedostatočnému vylučovaniu kyseliny alebo achlórhydrii žalúdka. V dôsledku toho sa zvyšuje riziko vzniku rakoviny žalúdka alebo karcinómu pažeráka, ako aj malabsorpcie vitamínu B12, vápnika, horčíka a zinku. Achlórhydria žalúdka okrem toho spôsobuje zníženie absorpcie niektorých liečiv, ako sú dipyridamol, niektoré preparáty s obsahom železa a antimykotiká (flukonazol, itraconazol), tyroxín a atazanovír. Nedostatok vápnika môže spôsobiť osteoporózu, zatiaľ čo nedostatok vitamínu B12 môže prispievať k vzniku megaloblastickej anémie, Alzheimerovej choroby, demencie, depresie či periférnych neuropatií. Zníženie vylučovania kyseliny v žalúdku môže viesť aj k zvýšeniu rizika výskytu závažných infekcií gastrointestinálneho a respiračného traktu vrátane giardiózy, malárie, *Clostridium difficile*, *E. coli* (enterohemoragické, EHEC) a pneumónie.
- 4) Atrofická gastritída antra, ktorá zvyšuje riziko výskytu peptického vredu a rakoviny žalúdka. Súčasný výskyt atrofickej gastritídy tela žalúdka a antra predstavuje jednoznačne najdôležitejší rizikový faktor vzniku rakoviny žalúdka.
- 5) Infekcia *H. pylori*, a to aj u pacientov s atrofickou gastritídou, lymfómom lymfatického tkaniva asociovaného so sliznicou (MALT) alebo krvácajúcim peptickým vredom, prípadne počas užívania inhibítorov protónovej pumpy alebo antibiotík. Testy močoviny ¹³C v dychu (urea breath test, UBT) alebo testy antigénov *Hp* v stolici v takýchto prípadoch často vedú k nesprávnym negatívnym výsledkom a infekcia *H. pylori* (so všetkými jej následkami) zostáva neodhalená.

6) Vylučovanie nadbytočného množstva kyseliny zo sliznice žalúdka, ktoré je predispozíciou vzniku refluxnej choroby pažeráka s potenciálnymi komplikáciami (ulcerózna ezofagitída, Barrettov pažerák alebo karcinóm distálnej časti pažeráka).

Atrofická gastritída, nadbytočné vylučovanie kyseliny a symptomatická infekcia *H. pylori* predstavujú indikácie na gastroskopiu.

Rakovina žalúdka zostáva treťou najčastejšou príčinou úmrtí na rakovinu v rámci celého sveta a achlórhydria žalúdka je jej najdôležitejší rizikový faktor. Z nedávno uskutočnenej meta-analýzy vyplýva, že riziko vzniku rakoviny žalúdka je spojené aj s chronickým užívaním liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy (20). Spoločnou príčinou oboch týchto stavov je karcinogénny (trieda I) acetaldehyd, ktorý sa tvorí v žalúdku pri achlórhydrii (21). Karcinogenitu acetaldehydu možno najlepšie zdokladovať na základe modelu ochorení u ľudí, t. j. vystavených osôb s mutáciami metabolizačného enzýmu, aldehyd dehydrogenázy (ALDH), ktoré sú náhodne distribuované v niektorých populáciách (22). Táto informácia je dôležitá, pretože odhalenie konkrétnej karcinogénnej látky umožňuje prijať opatrenia s cieľom obmedziť expozíciu horného gastrointestinálneho traktu pôsobeniu acetaldehydu na úrovni celej populácie aj jednotlivcov (23). V záujme dosiahnutia tejto ochrany sa odporúča, aby všetci pacienti s achlórhydriou žalúdka, atrofickou gastritídou tela žalúdka a pacienti pravidelne užívajúci liečivá spadajúce do kategórie inhibítorov protónovej pumpy, užívali kapsuly Acetium, ktoré konvertujú karcinogénny acetaldehyd v žalúdku na neškodnú zlúčeninu, čím znižujú riziko vzniku rakoviny žalúdka a karcinómu pažeráka (www.acetium.com).

Podrobnejšie informácie týkajúce sa interpretácie výsledkov testu GastroPanel nájdete v tabuľke 1 a na webovej lokalite www.gastropanel.com.

2. HELICOBACTER PYLORI AKO SÚČASŤ TESTU GASTROANEL[®]

GastroPanel je kvantitatívna testovacia súprava na vykonávanie analýzy s enzýmom naviazaným na imunoabsorbent (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA), ktorá meria koncentráciu štyroch biologických markerov štruktúry a funkcie sliznice žalúdka v krvnej plazme: pepsinogén I (PGI), pepsinogén II (PGII), gastrín-17 (G-17) a protilátky IgG proti *Helicobacter pylori*. Používanie testu GastroPanel pomáha pri diagnostikovaní symptomatických (dyspeptických) dospelých pacientov a pri skriningových vyšetreniach u asymptomatických pacientov s cieľom odhaliť rizikové skupiny, u ktorých hrozí vznik rakoviny žalúdka, t. j. osoby s 1) infekciou *H. pylori*, 2) atrofickou gastritídou (AG). NA DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE *IN VITRO*.

3. URČENÉ POUŽITIE

GastroPanel *Helicobacter pylori* je testovacia súprava na vykonávanie analýzy s enzýmom naviazaným na imunoabsorbent (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) a slúži na kvantitatívne stanovenie ľudských protilátok IgG proti *Helicobacter pylori* v EDTA plazme. Test je určený na diagnostikovanie infekcie *Helicobacter pylori* u dospelých pacientov so symptómami v hornej časti brucha (dyspepsia). Táto súprava sa používa ako súčasť testu GastroPanel. NA DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE *IN VITRO*.

4. ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE O PROTILÁTKACH IgG PROTI HELICOBACTER PYLORI

Infekcia *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) je najdôležitejšia príčina chronickej gastritídy, ktorá vedie k atrofii sliznice, t. j. atrofickej gastritíde (AG). Zriedkavejšou príčinou vzniku atrofickej gastritídy sú autoimunitné mechanizmy (24, 25). Tento test typu ELISA je určený na diagnostikovanie infekcie *H. pylori* vo vzorke plazmy na základe detekcie protilátok IgG.

H. pylori je špirálovitá, gramnegatívna baktéria, ktorá sa usídľuje v ľudskom žalúdku. Organizmus sa nachádza vo vrstve sliznice pokrývajúcej výstelku žalúdka a tiež v mukózných žľazách, no zdá sa, že nepreniká do epitelových buniek. Avšak sliznica nachádzajúca sa pod oblasťami kolonizovanými baktériou *H. pylori* a v ich okolí je konštantne zapálená; tento stav sa nazýva chronická povrchová alebo neutrofická gastritída, a ak sa nelieči, trvá do konca života (1). Ak sa nezabezpečí správna likvidácia baktérie, tento chronický zápalový proces vedie k atrofickej gastritíde. Atrofická gastritída zas zvyšuje riziko vzniku žalúdočných vredov a rakoviny žalúdka, dvoch dôležitých následkov infekcie *H. pylori* (26 – 29). Prítomnosť protilátok proti bakteriálnym kmeňom *H. pylori* je preukázateľne spojená s rozvojom atrofickej gastritídy tela žalúdka (30). Epidemiologické dôkazy poukazujú aj na prepojenie medzi infekciou *H. pylori* a vznikom adenokarcinómu žalúdka, ako aj lymfómu lymfatického tkaniva asociovaného so sliznicou (MALT) (18, 31, 32).

5. PRINCÍP TESTU

Test GastroPanel *Helicobacter pylori* je založený na imunoenzymatickej analýze s použitím čiastočne purifikovaného bakteriálneho antigénu proti *H. pylori* adsorbovaného na mikrotitračnej doštičke a detekčnej protilátky označenej chrenovou peroxidázou (HRP).

Analýza sa vykonáva využitím nasledujúcich reakcií:

1. Čiastočne purifikovaný bakteriálny antigén proti *H. pylori* nanesený na polystyrénovom povrchu jamiek na seba naviaže protilátky IgG proti *H. pylori*, ktoré sa nachádzajú vo vzorke.
2. Jamky sa opláchnu s cieľom odstrániť reziduálnu vzorku.
3. Monoklonálna anti-humánna protilátka IgG konjugovaná s HRP sa naviaže na protilátky IgG proti *H. pylori*.
4. Jamky sa opláchnu a pridá sa substrát TMB. Enzým HRP spôsobuje oxidáciu substrátu, v dôsledku čoho vznikne modrý koncový produkt.
5. Enzýmová reakcia sa ukončí pridaním zastavovacieho roztoku. Vzorky s pozitívnym nálezom *H. pylori* sa sfarbia na žlté s vypočítanými hodnotami > 30 EIU.

6. VAROVANIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Na diagnostické použitie *in vitro*.

POZOR: So vzorkami plazmy manipulujte ako s potenciálne biologicky nebezpečným materiálom.

Všetky vzorky sa musia považovať za potenciálne kontaminované a musí sa s nimi zaobchádzať ako s infekčným materiálom. Pozrite si 4. vydanie publikácie Ministerstva zdravotníctva a sociálnych služieb USA (Bethesda, MD., USA) o biologickej a mikrobiologickej bezpečnosti v laboratóriách s názvom Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999. (CDC/NIH) a č. (CDC) 88-8395 o správach o bezpečných laboratórnych postupoch pri rôznych chorobách a príslušné súvisiace miestne a vnútroštátne predpisy.

Táto súprava obsahuje činidlá vyrobené zo zložiek ľudskej krvi. Zdrojové materiály poskytnuté v súprave sa testovali na prítomnosť protilátok proti hepatitíde B a C, ako aj na prítomnosť protilátok proti HIV, pričom sa zistilo, že sú negatívne. Žiadna testovacia metóda však nedokáže úplne vylúčiť prítomnosť týchto patogénov, preto je potrebné dodržiavať všetky odporúčané opatrenia týkajúce sa manipulácie s krvnými derivátmi.

Pri manipulácii so vzorkami pacienta vždy používajte ochranné rukavice. Pri každom pipetovaní používajte bezpečné zariadenie na pipetovanie. Nikdy nepipetujte ústami. Pred vykonaním analýzy si prečítajte všetky pokyny.

Komponenty obsahujúce ProClin môžu spôsobiť alergickú kožnú reakciu (pozrite si Kartu bezpečnostných údajov). Roztoky s obsahom prípravku ProClin zlikvidujte v súlade s miestnou legislatívou upravujúcou likvidáciu odpadov.

7. SLEDOVATEĽNOSŤ HODNÔT

Pre antigén proti *H. pylori* nie je k dispozícii žiadny medzinárodný referenčný materiál. Hodnoty kalibrátora a kontroly sú priradené k interným hlavným kalibrátorom od spoločnosti Biohit.

8. OBSAH SÚPRAVY, PRÍPRAVA ČINIDLA A STABILITA POSKYTNUTÝCH MATERIÁLOV

Činidlá postačujú na 96 jamiek a tri samostatné analýzy. Nezmiešavajte činidlá zo súprav s rôznymi šaržami.

8.1. Mikrotitračná doštička

Obsah: 12 x 8 prúžkov v ráme pokrytých čiastočne purifikovaným bakteriálnym antigénom proti *H. pylori*.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie. Prúžky po použití zlikvidujte.

8.2. Premývací pufrovaný koncentrát (10x)

Obsah: 120 ml pufrovaného fosfátového fyziologického roztoku 10x (STP) obsahujúceho Tween 20 a 0,1 % prípravku ProClin 300 ako konzervačného prostriedku.

Príprava: Zriedte v pomere 1 ku 10 (napr. 100 ml + 900 ml) s destilovanou vodou a dôkladne premiešajte.

Stabilita: Koncentrát je stabilný do dátumu expirácie. Zriedený roztok je stabilný po dobu dvoch týždňov pri skladovaní v chladničke (2 – 8 °C).

8.3. Pufrovaný roztok na riedenie vzoriek

Obsah: 100 ml fosfátového pufru obsahujúceho kazeín, Tween 20, 0,1 % prípravku ProClin 300 ako konzervačného prostriedku a červené farbivo.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie.

8.4. Kalibrátory

Obsah: Štyri liekovky obsahujúce 1,5 ml kalibrátora IgG pre *H. pylori* z ľudského séra s 0,1 % prípravku ProClin 300 ako konzervačného prostriedku. Hodnota EIU kalibrátora špecifického pre šaržu je vytlačená na štítku liekovky.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie.

8.5. Kontrolné činidlo

Obsah: Jedna liekovka obsahujúca 1,5 ml kontrolného činidla IgG pre *H. pylori* z ľudského séra s 0,1 % prípravku ProClin 300 ako konzervačného prostriedku. Hodnota EIU kontrolného séra je uvedená na štítku.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie.

8.6. Konjugát

Obsah: 15 ml monoklonálnej anti-humánnej protilátky IgG konjugovanej s HRP v stabilizačnom pufri s 0,02 % metylizotiazolínónu, 0,02 % bromonitrodioxínu a 0,002 % iných aktívnych izotiazolónov ako konzervačných prostriedkov.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie.

8.7. Substrátový roztok

Obsah: 15 ml tetrametylbenzidínu (TMB) vo vodnom roztoku.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie. Nevystavujte priamemu svetlu.

8.8. Zastavovací roztok

Obsah: 15 ml kyseliny sírovej v koncentrácii 0,1 mol/l.

Príprava: Pripravené na použitie.

Stabilita: Stabilné do dátumu expirácie.

8.9. Inkubačné kryty

Tri plastové fólie na prikrytie mikrotitračnej doštičky počas inkubácie.

8.10. Návod na použitie

Vložený v každej súprave.

9. ODBER VZORIEK A MANIPULÁCIA S NIMI

Vzorku krvi odporúčame odobrať po celonočnom pôste (približne 10 hodín), avšak minimálne po 4 hodinách bez prijímania potravy, do skúmavky EDTA bez akýchkoľvek aditív. Skúmavky na odber krvnej plazmy okamžite premiešajte tak, že ich 5 – 6-krát prevrátite hore dnom. Plazmu oddelíte odstredovaním bezprostredne po odobratí, resp. najneskôr do 2 hodín (napr. StatSpin® Express 2, odstredovanie po dobu 2 minút pri 4 440 x g; pozrite si pokyny od výrobcu odstredivky týkajúce sa oddeľovania plazmy).

Po oddelení plazmy pridajte k vzorke stabilizátor GastroPanel Stabilizer (50 µl/1 ml plazmy; Biohit Oyj, GastroPanel Stabilizer, kat. č. 606 050 a 606 051). Po pridaní stabilizátora do vzorky plazmy bezprostredne po oddelení možno vzorku skladovať po dobu 7 dní v chladničke pri teplote 2 – 8 °C alebo po dobu 3 dní pri izbovej teplote (20-25 °C).

9.1 Zmrazovanie vzoriek

Vzorku zamrazte okamžite po oddelení a pridaní stabilizátora GastroPanel Stabilizer. Pri dočasnom uložení môžete vzorky plazmy uchovávať zmrazené pri teplote –20 °C, ale pri dlhodobom uskladnení, ktoré presahuje dva týždne, by mala byť teplota uskladnenia –70 °C. Po rozmrazení vzorky dôkladne premiešajte. Vzorky nezmrazujte a nerozmrazujte opakovane. Príliš hemolyzované, lipemické alebo zakalené vzorky zlikvidujte.

9.2 Stimulácia gastrínu-17

Ak je potrebné odobrať postprandiálnu proteínovo stimulovanú vzorku krvi, pacientovi podajte nápoj z proteínového prášku (Biohit Oyj, kat. č. (601 037 alebo 601 038) po pôste trvajúcim minimálne 4 – 10 hodín. Dvadsať minút po konzumácii proteínového nápoja odoberte krv do skúmavky EDTA.

10. POTREBNÉ MATERIÁLY, KTORÉ NIE SÚ SÚČASŤOU DODÁVKY

10.1 Manuálny postup

Destilovaná alebo deionizovaná voda, mikropipety a jednorazové hroty na presnú aplikáciu 10 – 1 000 µl, pipety na presnú aplikáciu 1 – 10 ml, 8-kanálová pipeta na aplikáciu 100 µl, 1 000 ml odmerný valec, trepačka typu „vortex“ na riedenie vzoriek, testovacie skúmavky na riedenie vzoriek, umývačka mikrotitračných doštičiek, papierové obrúsky alebo absorpčný papier, časomer, čítačka mikrotitračných doštičiek s filtrom 450 nm (33) pracujúca na báze vertikálneho merania, napr. plastová skúmavka na odber krvnej plazmy EDTA, nádoba na ľadový kúpeľ, trepačka na doštičky.

10.2 Automatizované postupy

Destilovaná alebo deionizovaná voda na zriedenie premývacieho pufru. Test GastroPanel je kompatibilný s automatizovanými postupmi. Na vykonávanie analýzy pomocou súpravy GastroPanel s použitím komerčných automatizovaných zariadení ELISA s čítačkou mikrotitračných doštičiek pracujúcou na báze vertikálneho merania nie sú potrebné žiadne ďalšie nástroje, príslušenstvo či spotrebné materiály (33).

11. UCHOVÁVANIE A STABILITA

Súpravu GastroPanel *Helicobacter pylori* skladujte v chladničke (2 – 8 °C). V prípade skladovania pri týchto teplotách je súprava stabilná do dátumu expirácie vytlačeného na štítku škatule a na štítkoch jednotlivých súčastí súpravy. Keď súpravu nepoužívate, nezmrazujte ju ani ju nevystavujte vysokým teplotám a neskladujte ju pri teplotách nad 8 °C. Substrátový roztok je citlivý na svetlo. Mikrotitračnú doštičku ani jednotlivé prúžky nevyberajte z fóliového obalu, kým nedosiahnu izbovú teplotu (20 – 25 °C). Nepoužité prúžky vráťte späť do fóliového obalu, zapečatíte a uchovávajte pri teplote 2 – 8 °C.

Činidlá nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie vytlačeného na štítku. Nepoužívajte činidlá s rôznymi číslami šarží ani nenahrádzajte činidlá súčastami súprav od iných výrobcov. Používajte výlučne destilovanú alebo deionizovanú vodu. Súčasti súpravy sa poskytujú v presne stanovených koncentráciách. Ďalšie riedenie či vykonávanie iných úprav činidiel môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Indikácia znehodnotenia súpravy

Kvapalnú súčasť nesmú byť výrazne mútne a nesmú obsahovať vyzrážaný materiál. Premývací pufrovaný koncentrát môže síce pri teplote 2 – 8 °C čiastočne kryštalizovať, no kryštáliky sa rozpustia po premiešaní pri izbovej teplote (20 – 25 °C). Pufrovaný roztok na riedenie je jemne matný. Kalibrátory a kontrolné činidlo sa takisto môžu javiť jemne matné. Substrátový roztok by mal byť bezfarebný alebo bledomodrý. Akákoľvek iná farba signalizuje znehodnotenie substrátového roztoku.

12. TESTOVACÍ POSTUP

PREDBEŽNÉ PRÍPRAVY

Počkajte, kým sa všetky činidlá a mikrotitračná doštička zohrejú na izbovú teplotu (20 – 25 °C). Premývací pufrovaný koncentrát zriedte v pomere 1 ku 10 (napr. 100 ml + 900 ml) s destilovanou alebo deionizovanou vodou. Zmrazené vzorky by sa mali rýchlo rozmraziť vo vodnom kúpeli s izbovou teplotou za občasného miešania. Keď sú takmer rozmrazené, vložte ich do kúpeľa s rozdrveným ľadom. **Pred začiatkom si prečítajte celý postup vykonávania analýzy. Kalibrátory a kontrolné činidlá odporúčame aplikovať na doštičku dvojmo. V rámci každého testovania bezpodmienečne používajte kalibrátory a kontrolné činidlo.**

Všetky činidlá pred použitím dôkladne premiešajte. Poznámka! Všetky inkubácie sa musia vykonávať pri teplote 20 – 30 °C (= teplota okolitého prostredia), neprekračujte stanovenú teplotu.

12.1. Manuálny postup

Pokyny týkajúce sa riedenia vzoriek, ktoré sú uvedené nižšie, platia pre všetky analýzy vykonávané pomocou súpravy GastroPanel.

KROK Č. 1: ZRIEDENIE VZORKY

Pufrovaný roztok na riedenie vzoriek, premývací pufer, zastavovací roztok a substrát z rôznych súprav možno vzájomne zamieňať v rámci tej istej šarže. Všetky ostatné súčasti súpravy sú špecifické pre konkrétne jednotlivé súpravy.

Zriedené vzorky GastroPanel

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

Zo vzorky pripravte tri samostatné roztoky. Príklady riedenia roztokov sú uvedené nižšie:

1. Príprava roztoku G-17: premiešanú vzorku plazmy EDTA zriedte v pomere 1 : 5 (napr. 100 µl plazmy + 400 µl pufru na riedenie). Skúmavku premiešajte.
2. Príprava roztoku PGI a PGII: roztok 1 : 5 pripravený vyššie riedte ďalej v pomere 1 : 4, až vznikne roztok 1 : 20 (napr. 180 µl roztoku 1 : 5 + 540 µl pufru na riedenie). Skúmavku premiešajte.
3. Príprava roztoku *H. pylori*: roztok 1 : 20 pripravený vyššie riedte ďalej v pomere 1 : 20, až vznikne roztok 1 : 400 (napr. 20 µl roztoku 1 : 20 + 380 µl pufru na riedenie). Skúmavku premiešajte.

KROK Č. 2: VZORKA

Zmiešajte a pipetou aplikujte 100 µl slepého roztoku (slepý roztok, pre G-17, PGI a PGII) alebo pufru na riedenie vzoriek (slepý, pre *H. pylori*), kalibrátorov, kontrolného činidla a zriedených vzoriek do jamiek mikrotitračnej doštičky (pozrite si obrázok č. 1 pre *H. pylori* a obrázky č. 2 a 3 pre G-17, resp. PGI/PGII). V záujme prevencie vyšplechnutia môžete doštičku zakryť inkubačným krytom. Inkubujte po dobu 60 minút pri teplote okolitého prostredia a súčasne pretrepávajte (750 ot./min.). Poznámka: Vzorky odporúčame aplikovať do jamiek jednej doštičky v časovom rozsahu 20 minút s cieľom zamedziť odsadenia analýzy v rámci doštičky.

	1	2	3	4
A	Slepý roztok	Slepý roztok	Vzorka	Vzorka
B	KAL 1	KAL 1	atď.	atď.
C	KAL 2	KAL 2		
D	KAL 3	KAL 3		
E	KAL 4	KAL 4		
F	Kontrolné	Kontrolné		
G	Vzorka	Vzorka		
H	Vzorka	Vzorka		

Obrázok č. 1. Poradie pipetovania *H. pylori*

	1	2	3	4
A	Slepý roztok	Slepý roztok	atď.	atď.
B	KAL1	KAL1		
C	KAL2	KAL2		
D	KAL3	KAL3		
E	KAL4	KAL4		
F	Kontrolné	Kontrolné		
G	Vzorka	Vzorka		
H	Vzorka	Vzorka		

Obrázok č. 2. Poradie pipetovania G-17

	1	2	3	4
A	Slepý roztok	Slepý roztok	atď.	atď.
B	KAL1	KAL1		
C	KAL2	KAL2		
D	KAL3	KAL3		
E	Kontrolné	Kontrolné		
F	Vzorka	Vzorka		
G	Vzorka	Vzorka		
H	Vzorka	Vzorka		

Obrázok č. 3. Poradie pipetovania PGI a PGII

KROK Č. 3: PREMÝVANIE

Prúžky mikrotitračnej doštičky premyte 3 x 350 µl zriedeného (1 ku 10) premývacieho pufru, doštičku otočte horeznačky a niekoľkokrát ju jemne oklepte o čistý papierový obrúsok.

KROK Č. 4: KONJUGÁT

Poznámka! Každá súprava má vlastný špecifický konjugát (nie sú zameniteľné). Pomocou 8-kanálovej pipety aplikujte 100 µl roztoku konjugátu do prázdnych jamiek mikrotitračnej doštičky. Doštičku môžete prikryť inkubačným krytom. Inkubujte po dobu 60 minút pri teplote okolitého prostredia a súčasne pretrepávajte (750 ot./min.).

KROK Č. 5: PREMÝVANIE

Prúžky mikrotitračnej doštičky premyte 3 x 350 µl zriedeného (1 ku 10) premývacieho pufru, doštičku otočte horeznačky a niekoľkokrát ju jemne oklepte o čistý papierový obrúsok.

KROK Č. 6: SUBSTRÁT

Pomocou 8-kanálovej pipety aplikujte 100 µl substrátového roztoku do jamiek mikrotitračnej doštičky. Po aplikovaní substrátového roztoku do prvého prúžka mikrotitračnej doštičky začnite inkubáciu a pokračujte v nej po dobu 30 minút pri teplote okolitého prostredia. Dávajte pozor, aby počas inkubácie nedošlo k priamemu vystaveniu svetlu.

KROK Č. 7: ZASTAVENIE REAKCIE

Pomocou 8-kanálovej pipety aplikujte 100 µl zastavovacieho roztoku do jamiek mikrotitračnej doštičky.

KROK Č. 8: MERANIE VÝSLEDKOV METÓDOU VERTIKÁLNEHO MERANIA

Odmerajte absorbanciu jamiek mikrotitračnej doštičky pri 450 nm do 30 minút (33).

12.2. Automatizovaný postup

Súprava GastroPanel bola navrhnutá na bezproblémové použitie s automatizovanými systémami. Bezprostredne po vytvorení a schválení používania protokolov špecifických pre test možno súpravu GastroPanel používať so samočinnými otvorenými automatmi ELISA – takýto postup šetrí zdroje, je bezproblémový, nekomplikovaný a navyše umožňuje predchádzať poraneniam spôsobeným pipetovaním, ako sú napr. poranenia spôsobené opakovaným preťažovaním (RSI).

Jediný manuálny krok spočíva v príprave roztoku koncentráту premývacieho pufru v pomere 1 : 10 pred ďalším testovaním. Celý analytický proces od začiatku až do konca, teda od riedenia vzorky až po výpočet konečného výsledku a vytvorenie správy, sa vykonáva automaticky.

13. VÝSLEDKY

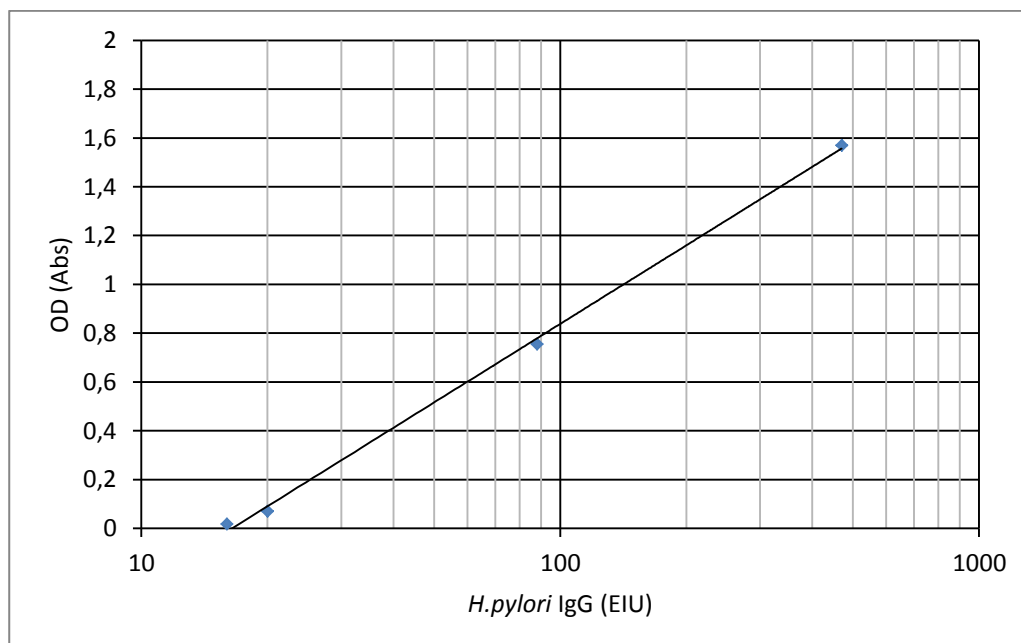
13.1. Hodnoty na kontrolu kvality

Osvedčené laboratórne postupy vyžadujú použitie vhodných kontrolných mechanizmov na overenie správnej funkcie všetkých činidiel a protokolov. Súprava GastroPanel *Helicobacter pylori* sa dodáva s kontrolným činidlom. V rámci šarže treba viesť tabuľky kontroly kvality s cieľom monitorovať vykonávanie kontroly. Prípadne možno použiť vhodné štatistické metódy na analýzu interných laboratórných kontrolných hodnôt, ktoré by mali spadať do intervalov spoľahlivosti používaných v jednotlivých laboratóriách. Očakávané výsledky kontroly sa musia získať tak, aby bolo možné akceptovať výsledky.

13.2. Výpočet výsledkov

Namerané hodnoty absorbancie sa konvertujú na imunologické jednotky (EIU) IgG proti *H. pylori* pomocou interpolácie neznámych z najvhodnejšej krivky kalibrátorov. Keďže kalibrátory sú pripravené na použitie, koncentrácie vzoriek pacientov nie sú vynásobené faktorom riedenia.

Odčítajte priemernú hodnotu OD slepého roztoku od všetkých hodnôt OD v jamkách. Zaznačte priemernú hodnotu OD kalibrátorov voči ich príslušným hodnotám EIU. Na interpoláciu neznámych koncentrácií použite logaritmické prispôsobenie krivky. Typická kalibračná krivka je znázornená na obrázku č. 4.



Obrázok č. 4. Príklad typickej krivky kalibrátora pre *H. pylori*.

Keďže interpretácia by mala vychádzať zo všetkých markerov súpravy GastroPanel nameraných z tej istej vzorky pacienta, analytické údaje sa musia zhromažďovať a analyzovať spoločne, prípadne aj s nepovinnými informáciami o anamnézách, ako sú užívanie inhibítorov protónovej pumpy či likvidácia infekcie *H. pylori*.

Informácie týkajúce sa interpretácie nájdete v časti 17. Ak máte záujem o automatizovanú interpretáciu testovania pomocou súpravy GastroPanel, obráťte sa na spoločnosť Biohit a požiadajte o ďalšie informácie týkajúce sa softvérových aplikácií a služieb. Ďalšie informácie sú k dispozícii aj na stránke produktu GastroPanel (www.gastropanel.com).

13.3. Interpretácia výsledkov

Negatívne < 30 EIU

Pozitívne ≥ 30 EIU

Hodnota nižšia než 30 EIU indikuje negatívny výsledok, t. j. naznačuje, že žiadna aktívna infekcia *H. pylori* neprebíha. Hodnota 30 EIU alebo vyššia indikuje prítomnosť protilátok proti *H. pylori*, výsledok je teda pozitívny. Výsledky testu možno akceptovať až po získaní očakávaných výsledkov z kontroly. Limitné hodnoty boli stanovené s použitím súpravy GastroPanel *Helicobacter pylori*. Od pacientov, ktorých vzorky vykazujú hodnoty blízke sa limitným, treba v rámci rozumného časového horizontu odobrať druhú vzorku, ak je to možné. Každé laboratórium si môže stanoviť vlastný rozsah očakávaných hodnôt pre klinickú situáciu, v rámci ktorej sa hodnoty protilátok IgG proti *H. pylori* použijú na diagnostické účely. Okrem toho platí, že výsledky testovania IgG proti *H. pylori* stanovené pre konkrétnu vzorku alebo pomocou analýz od rôznych výrobcov sa môžu líšiť v dôsledku rozdielov v analytických postupoch a špecifčnosti činidiel. Výsledky získané použitím iných analýz od iných výrobcov by sa nemali používať zameniteľne.

13.4. Biologický referenčný interval

Limitná hodnota je 30 EIU s referenčným rozsahom < 30 EIU. Interval vychádza z údajov získaných zo vzorky 7 000 fínskych pacientov (interná správa spoločnosti Biohit, nepublikované údaje).

U väčšiny osôb vystavených baktérii *H. pylori* sa tvoria protilátky IgG proti tomuto organizmu (25, 28, 29). Vekovo špecifické hodnoty prítomných protilátok proti *H. pylori* sú podobné u mužov aj žien. Výskyt infekcie *H. pylori* je 30 – 40 % v Spojených štátoch amerických, Kanade a západnej Európe, približne 20 % v Austrálii a 70 – 90 % vo východnej Európe, Afrike, Južnej Amerike a Ázii. Mnohí pacienti so zvýšenými úrovňami protilátok proti *H. pylori* nevykazujú symptómy, aj keď sú infikovaní baktériou *H. pylori* (15, 18). Medzi úrovňami protilátok a závažnosťou klinických symptómov teda nemusí nutne existovať priamy vzťah.

14. OBMEDZENIA TÝKAJÚCE SA POSTUPU

Tak ako v prípade všetkých diagnostických postupov, aj výsledky testu GastroPanel *Helicobacter pylori* sa musia interpretovať v kombinácii s klinickými údajmi pacienta a so všetkými ďalšími informáciami, ktoré má lekár k dispozícii. Vzhľadom na dlhý čas (aj niekoľko mesiacov) rozkladu protilátok IgG v sére môže test indikovať nesprávne pozitívne výsledky (*H. pylori* > 30 EIU), ak sa vykoná krátko po úspešnej likvidácii infekcie *H. pylori*.

15. CHARAKTERISTIKY ANALYTICKEJ ÚČINNOSTI

Všetky testy účinnosti sa vykonávali pri izbovej teplote (20 – 25 °C). Pri analýze všetkých vzoriek sa použili duplicitné jamky mikrotitračnej doštičky.

Rozsah merania:

Rozsah merania pre GastroPanel *Helicobacter pylori* je od 15 EIU do 670 EIU.

V tomto rozsahu sa preukázala opakovateľnosť $\leq 10\%$ (variačný koeficient), presnosť v rámci analýzy $\leq 20\%$ (variačný koeficient) a súčtová chyba na úrovni LoQ predstavuje $\leq \pm 20\%$.

Presnosť:

Štúdie na overenie presnosti sa vykonali v súlade so smernicami CLSI EP5-A2. Súprava pozostávajúca zo siedmich vzoriek plazmy EDTA s rôznymi nízkymi, strednými a vysokými koncentraciami protilátok proti *H. pylori* sa použila na vykonávanie duplicitných testov po dobu 20 dní (dve testovania denne, dve opakovania na každú vzorku na každé testovanie). Použili sa tri produkčné šarže a dva nástroje a práce vykonávalo sedem operátorov. V záujme stanovenia odhadov presnosti opakovateľnosti (v rámci jednotlivých testov) a presnosti v rámci laboratória sa vykonala štatistická analýza v súlade so smernicami CLSI EP5-A2.

Čo sa týka presnosti opakovateľnosti pre vzorky plazmy EDTA, hodnoty sa pohybovali v rozsahu od 16,6 EIU do 669 EIU, štandardné odchýlky od 0,59 EIU do 64,95 EIU a % variačný koeficient od 3,6 % do 9,8 %. Čo sa týka presnosti v rámci laboratória pre vzorky plazmy EDTA, štandardné odchýlky sa pohybovali v rozsahu od 0,89 EIU do 107,37 EIU a % variačný koeficient od 5,7 % do 16,5 %.

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

Limit detekcie a limit kvantifikácie:

Limit slepého roztoku (limit of blank, LoB) a limit detekcie (limit of detection, LoD) pre GastroPanel *Helicobacter pylori* typu ELISA boli stanovené v súlade so smernicou CLSI EP17-S, pričom podiel nesprávne určených pozitívnych nálezov (α) bol menší než 5 % a podiel nesprávne určených negatívnych nálezov (β) bol menší než 5 % – údaje vychádzali zo 120 meraní s použitím 60 takmer slepých vzoriek a 60 vzoriek s koncentraciami nízkej úrovne. Použili sa štyri vzorky plazmy EDTA a tri šarže súpravy na stanovenie limitu detekcie a pufru na riedenie pre súpravu, na základe ktorých sa stanovil limit slepého roztoku.

Limit slepého roztoku bol stanovený na 13,1 EIU a limit detekcie na 14,7 EIU.

Limit kvantifikácie bol stanovený podľa smernice NCCLS EP17-S na základe 60 meraní s použitím štyroch vzoriek plazmy EDTA a troch šarží súpravy. Z dôvodu absencie referenčnej metódy sa odhad odchýlky nezahrnul do výpočtov súčtovej chyby.

Limit kvantifikácie bol stanovený na 15,0 EIU so súčtovou chybou –10,7 % a % variačným koeficientom medzi meraniami na úrovni 5,2 %.

Interferencia:

Vyhodnotenie súpravy GastroPanel *Helicobacter pylori* z hľadiska interferencie sa robilo v súlade so smernicou CLSI EP07-A2. Zistilo sa, že odchýlka spôsobená hemoglobínom, nekonjugovaným bilirubínom, konjugovaným bilirubínom a triglyceridmi v koncentráciách v poradí 2 g/l, 5 mg/dl, 15 mg/dl a 500 mg/dl nedosahovala ani 10 % pri hodnotách protilátok IgG proti *H. pylori* v plazme na úrovni 21 EIU a 70 EIU. Táto hodnota sa nepovažovala za podstatnú interferenciu. Príliš hemolyzované, lipemické alebo zakalené vzorky zlikvidujte.

16. ÚČINNOSŤ DIAGNOSTIKY

Skupina participujúca vo validačnej štúdií pozostávala zo 101 pacientov kaukazského pôvodu s odporúčaním na gastroscopické vyšetrenie, pričom v skupine bolo 71 žien a 30 mužov. Priemerný vek účastníkov štúdie bol 50,1 rokov, SD = 16,7 rokov a vekový rozsah 18 – 83 rokov.

Analýzou ROC pre infekciu *H. pylori* potvrdenú biopsiou s použitím testu GastroPanel *Helicobacter pylori* sa zistil výsledok AUC = 0,978 (95 % CI 0,956 – 1,000). Najlepší vzťah senzitivity/špecifickosti (SE/SP) je 90,8 % SE a 88,6% SP, čo zodpovedá limitnej úrovni 30 EIU.

17. INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV GASTROPANEL®

GastroPanel je optimalizovaný na použitie v kombinácii s aktualizovaným Sydney systémom (Updated Sydney System, USS) na klasifikáciu gastritídy. Systém USS aj softvér GastroSoft® používajú päť diagnostických kategórií na klasifikáciu biopsie, resp. výsledkov získaných pomocou súpravy GastroPanel. Patria sem: 1) normálna sliznica, 2) povrchová (*Hp*) gastritída, 3) atrofická gastritída v anтре, 4) atrofická gastritída v tele žalúdka, a 5) atrofická gastritída v anтре aj tele žalúdka (pangastritída) (13, 34, 35). Okrem týchto piatich kategórií týkajúcich sa morfológie žalúdka možno v súprave GastroPanel použiť tri ďalšie profily markerov špecifické pre definované funkčné poruchy v prípade normálnej morfológie žalúdka. Všetkých osem diagnostických kategórií je uvedených v tabuľke č. 1 a základné informácie o nich nájdete v nasledujúcej časti.

17.1 Zdravý žalúdok

Keď sa všetky štyri biomarkery nachádzajú v normálnom referenčnom rozsahu, sliznica žalúdka funguje normálne. Keďže funkcia žalúdočnej sliznice v zásadnej miere závisí od špecifických buniek zabezpečujúcich vylučovanie kyseliny (parietálne bunky), pepsinogénov (hlavné bunky) a G-17 (G-bunky), normálna funkcia je podmienená prítomnosťou týchto buniek v normálnych množstvách (1, 3, 9, 11, 19). Platí teda, že funkcia žalúdka a štruktúra sliznice sú navzájom prepojené, a normálny výsledok testu GastroPanel je zástupný marker zdravého žalúdka.

17.2 Nadbytočné vylučovanie kyseliny

Žalúdočnú kyselinu (HCl) produkujú vysoko špecializované parietálne bunky v tele žalúdka. Na regulácii vylučovania kyseliny sa – okrem iných mechanizmov – podieľa aj vylučovanie G-17 v anтре, ku ktorému dochádza v dôsledku pozitívnej odozvy stimulujúcej vylučovanie kyseliny po jedle. Vylúčením kyseliny spôsobí postupné zníženie pH v tele žalúdka a po dosiahnutí hraničnej hodnoty pH 2,5 sa aktivuje negatívna odozva do G-buniek v anтре, ktorá im signalizuje, že je potrebné obmedziť vylučovanie G-17. V dôsledku toho sa vylučovanie G-17 znižuje priamo úmerne voči kyslému obsahu žalúdka (1, 3, 14, 17). Ak vylučovanie kyseliny v tele žalúdka zostane z akéhokoľvek dôvodu (iné stimulačné mechanizmy) na veľmi vysokej úrovni, v konečnom dôsledku to povedie k mimoriadne nízkemu vylučovaniu G-17b z G-buniek v anтре. Tento stav možno najlepšie diagnostikovať nasadením testovacej liečby pozostávajúcej z inhibítorov protónovej pumpy, pričom vylučovanie G-17b by sa malo približne do dvoch týždňov od začatia liečby. V týchto podmienkach sa budú hodnoty postprandiálneho (stimulovaného) G-17s pohybovať v normálnom rozmedzí, pretože G-bunky sú plne funkčné a dokážu vylučovať G-17, ak sú správne stimulované (proteínový prášok, Biohit kat. č. 601038).

17.3. Nedostatočné vylučovanie kyseliny v dôsledku užívania liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy (PPI)

Regulačný mechanizmus opísaný vyššie funguje aj opačne. V prípade zníženia vylučovania kyseliny v tele žalúdka (z akéhokoľvek dôvodu) pozitívna odozva aktivuje G-bunky v antre s cieľom zvýšiť vylučovanie G-17b, čo vedie k zvýšeniu úrovni G-17b v sére (3, 17). Dva stavy s nedostatočným vylučovaním kyseliny sú: 1) atrofická gastritída tela žalúdka, a 2) dlhodobé užívanie liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy. Prvý stav možno vylúčiť normálnymi (alebo aj zvýšenými) hodnotami PGI, PGII a normálnym pomerom PGI/PGII, kým druhý stav možno najlepšie diagnostikovať prerušením užívania inhibítorov protónovej pumpy. V tom prípade by sa vylučovanie G-17b v antre malo dostať na normálnu úroveň do dvoch týždňov (17.8).

17.4. Povrchová (neatrofická) gastritída vyvolaná infekciou *Helicobacter pylori*

Rovnako ako všetky baktérie, aj *Helicobacter pylori* spôsobí zápal žalúdočnej sliznice, ktorý sa zvyčajne začína v antre (1, 3, 7, 13, 18, 36). V súvislosti s infekciou *Hp* možno pozorovať tri rôzne profily markerov.

17.4a V prípade aktívnej infekcie *Hp* sú úrovne protilátok proti *Hp* zvýšené – pri testovaní súpravou GastroPanel môže ísť o jedinú odchýlku od normálu, pričom ostatné markery spadajú do normálneho rozsahu. Aktívna prebiehajúca infekcia *Hp* však pomerne často spôsobuje vážnu zápalovú reakciu, ktorá môže viesť k zvýšenému úniku PGI, PGII a dokonca G-17 z buniek v dôsledku zvýšenej bunkovej priepustnosti, takže dôjde k zvýšeniu úrovne niektorého z týchto troch biomarkerov (resp. všetkých troch) v sére (3, 7, 36).

17.4b Úspešná likvidácia infekcie *Hp* nasadením aktívnej liečby by mala viesť k obnoveniu normálnych hodnôt všetkých troch markerov, avšak s oneskorením v dĺžke niekoľkých týždňov až mesiacov. Úrovne protilátok proti *Hp* môžu zostať zvýšené po dlhšie časové obdobie, čo vedie k nepredvídateľnosti a znižuje užitočnosť súpravy GastroPanel ako presného diagnostického testu na kontrolu likvidácie infekcie *Hp* (36).

17.4c Ak pokus o vyliečenie infekcie *Hp* zlyhá, úrovne protilátok proti *Hp* zostávajú zvýšené (zvyčajne mierne), PGI a pomer PGI/PGII sa zvyčajne pohybujú v normálnom rozsahu, zatiaľ čo hodnoty PGII a/alebo G-17b môžu byť mierne zvýšené v dôsledku prebiehajúcej zápalovej reakcie (pozrite si časť 17.4a). Výsledok možno potvrdiť po uplynutí 5 – 6 mesiacov, následne možno začať novú liečbu, ak je indikovaná (3, 36).

17.5 Atrofická gastritída tela žalúdka

V zásade platí, že strata špecifických buniek (hlavné bunky) vo fundálnych žľazách sliznice tela žalúdka spôsobená atrofiou sliznice povedie k postupnému znižovaniu vylučovania PGI a (v menšej miere) PGII, ktorý sa produkuje v tých istých bunkách v sliznici antra. Disproporcionálne zníženie týchto dvoch markerov povedie k zníženiu pomeru PGI/PGII, ktoré predstavuje ďalší vynikajúci identifikátor atrofickej gastritídy tela žalúdka (1, 3, 5 – 9, 14, 16). Toto zníženie hodnoty PGI a pomeru PGI/PGII je postupné a úzko súvisí so stupňom závažnosti atrofie tela žalúdka, pričom posledné štádium je úplná atrofia a žalúdok bez kyseliny. V prípade funkčnej (normálnej) sliznice antra to povedie k výraznému zvýšeniu vylučovania G-17b a jeho úrovne v sére (17, 19). V takejto situácii nie je potrebné testovať G-17s. V chronických prípadoch s dlhodobým priebehom môže infekcia *Hp* zmiznúť, čo povedie k postupnému obnoveniu normálnych úrovni protilátok proti *Hp*.

17.6 Atrofická gastritída antra

Ak sa atrofia sliznice týka iba antra, hodnoty všetkých markerov špecifických pre telo žalúdka sa budú pohybovať v normálnom rozsahu. V zásade platí, že atrofickú gastritídu v antre spôsobuje infekcia *Hp*, a testovanie pomocou súpravy GastroPanel odhalí konštantne zvýšené hodnoty protilátok proti *Hp*. V dôsledku atrofie antra dochádza k zníženiu počtu G-buniek a nakoniec k ich úplnému vymiznutiu, čo vedie k postupnému znižovaniu úrovni G-17b v plazme. V prípade vysokého štádia atrofie antra zostáva proteínová stimulácia vylučovania G-17s bez odozvy – dôvodom je nedostatok (cieľových) G-buniek v sliznici (14, 15, 17).

17.7 Atrofická gastritída antra a tela žalúdka

Najzávažnejšia forma atrofickej gastritídy, tzv. atrofická pangastritída, postihuje antrum aj telo žalúdka. V konečnom dôsledku dochádza k úplnej strate špecifických buniek (hlavné bunky) v tele a antre žalúdka (G-bunky), čo vedie k značnému zníženiu biomarkerov – týka sa to oboch pepsinogénov (PGI, PGII) a G-17 (1, 3, 5 – 9, 14, 16, 17, 19). Toto platí pre G-17b aj G-17s, ktoré zostávajú na nízkej úrovni dokonca aj po stimulácii, keďže chýbajú G-bunky. Rovnako ako v prípade atrofickej gastritídy tela žalúdka (17.5), úrovne protilátok proti *Hp* môžu byť normálne alebo zvýšené. Je to dané tým, že pri chronickej atrofickej gastritíde môže *Hp* zmiznúť v atrofickej sliznici, a normálny rozklad protilátok IgG pri absencii antigénovej stimulácie zníži úroveň protilátky proti *Hp* pod limitnú úroveň 30 EIU.

17.8 Liečivá z kategórie inhibítorov protónovej pumpy

Ak pacient užíva akékoľvek lieky na potlačenie tvorby žalúdočnej kyseliny z kategórie inhibítorov protónovej pumpy (PPI), obráťte sa na osobu, ktorá vykonáva odber vzoriek. Túto informáciu zároveň uveďte aj v anamnéze pacienta, keďže tá sa zahrnie do protokolu softvéru GastroSoft. Inhibítory protónovej pumpy (PPI) znižujú tvorbu žalúdočnej kyseliny v žalúdku. V dôsledku toho sa zvyšuje produkcia gastrínu-17, takže stúpa hladina pepsinogénu. Tvorba kyseliny chlór vodíkovej a hladina gastrínu-17 sa vrátia do normálu približne 4 – 10 dní po ukončení užívania inhibítorov protónovej pumpy (PPI). Hladina pepsinogénu však zostane vysoká počas relatívne dlhého obdobia. Po skončení dlhodobého potláčania tvorby kyseliny inhibítormi protónovej pumpy (PPI) zvyčajne nasleduje reakcia v podobe zvýšeného vylučovania kyseliny (v priebehu 7 – 10 dní), takže sa znova dostaví intenzívne pálenie záhy a hladina gastrínu-17 bude veľmi nízka. (1, 3, 11, 17)

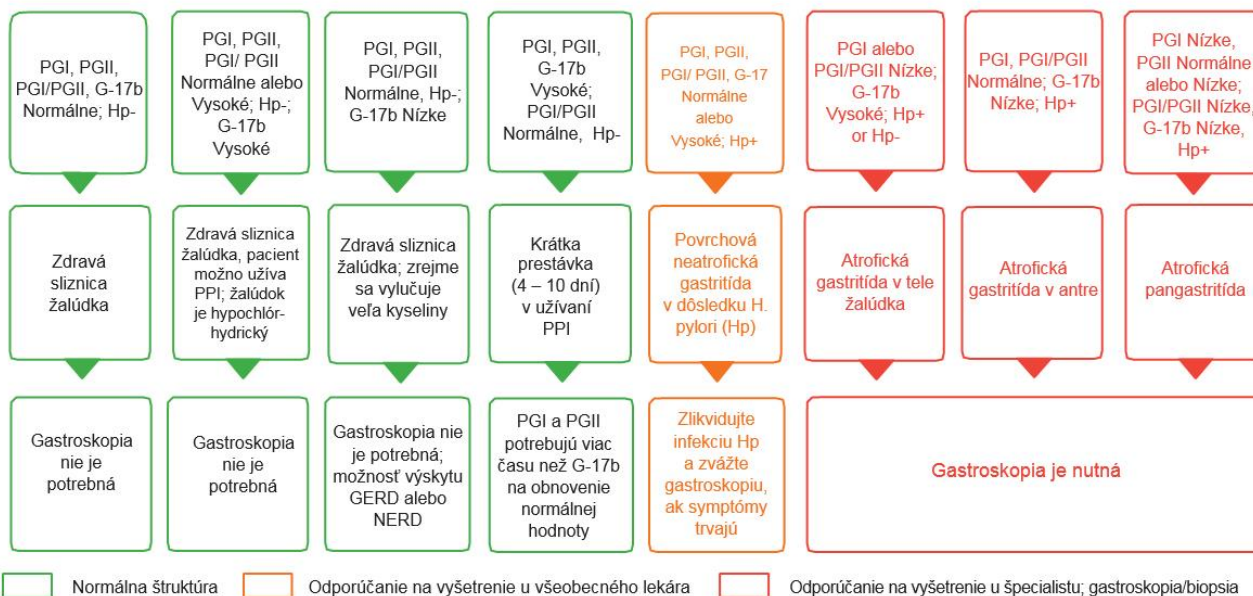
Tabuľka č. 1. Osem diagnostických kategórií súpravy GastroPanel

	Biomarkery GastroPanel						Interpretácia
	Pepsinogén I (30 – 160 µg/l) [®]	Pepsinogén II (3 – 15 µg/l)	Pomer PGI/PGII (3 – 20)	Gastrín-17b (1 – 7 pmol/l)	Gastrín- 17s (3 – 30 pmol/l)	Úroveň protilátok IgG proti <i>H. pylori</i> (< 30 EIU)	
1	N	N	N	N	N	N	Zdravá sliznica (žiadna atrofia, žiadna infekcia <i>H. pylori</i>)
2	N	N	N	L*	N	N	Zdravá sliznica. Nadbytočné vyučovanie kyseliny v tele žalúdka
3	N alebo H [^]	N alebo H [^]	N	H**	N	N	Zdravá sliznica. Nedostatočné vyučovanie kyseliny, napr. v dôsledku užívania liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy (PPI)
4a	N alebo H [^]	N alebo H [^]	N	N alebo H [^]	Neurčené	H	Aktívna infekcia <i>H. pylori</i> , neliečená
4b	N	N	N	N	Neurčené	N alebo H [†]	Infekcia <i>H. pylori</i> úspešne zlikvidovaná
4c	N	H	N	H	Neurčené	H	Likvidácia infekcie <i>H. pylori</i> neúspešná
5	L	L	L	H	Neurčené	N ^{^^} alebo H	Atrofická gastritída v tele žalúdka
6	N	N	N	L	L	H	Atrofická gastritída v antre
7	L	L	L	L	L	N ^{^^} alebo H	Atrofická gastritída v antre a tele žalúdka (pangastritída)
8	H	H	N	H	Neurčené	N	Krátka (4 – 10 dní) prestávka v užívaní inhibítorov protónovej pumpy

N = normálne; L = nízke; H = vysoké; *Testovacia liečba spočívajúca v nasadení inhibítorov protónovej pumpy, mala by sa obnoviť normálna hodnota G17b; **Ukončenie užívania liečiv z kategórie inhibítorov protónovej pumpy, do dvoch týždňov by sa mala obnoviť normálna hodnota G17b; Neurčené, nie je potrebné testovať; [^]PGI, PGII a G-17 môžu byť zvýšené v dôsledku zápalu sliznice; ^{^^}Protilátky proti *H. pylori* môžu zmiznúť v prípade atrofie sliznice s dlhodobým priebehom; [®]Limitná hodnota pepsinogénu I 30 µg/l signalizuje stredné až vysoké štádium atrofickej gastritídy; [†]Úrovně protilátok proti *H.pylori* môžu zostať zvýšené aj niekoľko mesiacov po úspešnej likvidácii infekcie *H.pylori*.

GastroPanel® – karta na interpretáciu výsledkov

Štruktúrne a funkčné príčiny dyspeptických syndrémov diagnostikované súpravou GastroPanel (PGI, PGII, PGI/PGII, G-17, Hp-Ab)



Infekciu *H. pylori* alebo autoimunitnú atrofickú gastritídu (AG) s pridruženým rizikom rakoviny žalúdka a iných následkov alebo úroveň vylučovania kyseliny v žalúdku nemožno diagnostikovať pomocou konvenčných testov používaných na diagnostikovanie dyspepsie a infekcie *H. pylori*, ako sú napr. test močoviny 13C v dychu, test antigénov v stolici či test na prítomnosť protilátok. Testy močoviny v dychu alebo testy antigénov v stolici u pacientov s atrofickou gastritídou, lymfómom lymfatického tkaniva asociovaného so sliznicou (MALT) alebo krvácajúcim peptickým vredom a u pacientov užívajúcich inhibítory protónovej pumpy alebo antibiotiká často vedú k nesprávnym negatívnym výsledkom a infekcia *H. pylori* (so všetkými jej rizikami) zostáva neodhalená (37 – 41) (www.biohithealthcare.com/additional-information).

GastroPanel dokáže diagnostikovať atrofickú gastritídu postihujúcu telo, antrum alebo obe časti žalúdka zároveň. V porovnaní s gastroskopiou nie je možné vždy presne diagnostikovať atrofickú gastritídu na základe niekoľkých malých vzoriek z biopsie, ktoré predstavujú iba minimálnu časť plochy sliznice žalúdka dospelého človeka. Okrem toho platí, že diagnostikovanie atrofie sliznice (predovšetkým v jej počiatočných štádiách) je subjektívna záležitosť a názory jednotlivých patológov sa v tomto smere značne líšia. Na druhej strane aj presnosť gastroskopie závisí od skúseností a odbornosti špecialistu, ktorý gastroskopi vykonáva. Pre súpravu GastroPanel tieto nedostatky neplatia, keďže ide o automatizovanú laboratórnu analytickú metódu typu ELISA. V podstate možno povedať, že histologický rozbor vzoriek odobratých endoskopickou biopsiou nie je spoľahlivý a ideálny štandard (42), hoci sa zaň v súčasnosti považuje. Netreba zabúdať, že v porovnaní s testovaním biomarkerov v sére má určité obmedzenia týkajúce sa diagnostickej presnosti (2, 43).

Ak testy vykonávajú zruční gastroenterológovia a patológovia, zhoda medzi výsledkami získanými súpravou GastroPanel a histologickým vyšetrením vzoriek získaných biopsiou žalúdka je veľmi dobrá, presahujúca 0,8 (limit úrovne „takmer dokonalé“) v rámci testu s použitím váženého koeficientu kappa (14). Je dôležité spomenúť, že diagnostikovanie atrofickej gastritídy je vysoko subjektívne, ak sa vykonáva bez biopsií žalúdka, t. j. len na základe gastroscopie (44). Keď GastroPanel indikuje, že žalúdočná sliznica je zdravá (žiadna infekcia *H. pylori* ani žiadna atrofická gastritída), za vznikom klinických symptómov často stojí funkčná dyspepsia alebo iná funkčná porucha bez prítomnosti organického ochorenia v sliznici žalúdka.

18. POUŽITÁ LITERATÚRA

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 blood tests to normal gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:791–795.
12. Varis K, Sipponen P, Laxen F, Samloff IM, Huttunen JK, Taylor PR, Helsinki Gastritis Study Group. Implications of serum pepsinogen I in early endoscopic diagnosis of gastric cancer and dysplasia. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:950–956.
13. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-1181.
14. Väänänen H, Vauhkonen M, Helske T, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicenter study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:885–891.
15. Telaranta-Keerie A, Kara R, Paloheimo L, Härkönen M, Sipponen P: Prevalence of undiagnosed advanced atrophic corpus gastritis in Finland: an observational study among 4,256 volunteers without specific complaints. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:1036-1041.
16. Dinis-Ribeiro M, Yamaki G, Miki K, Costa-Pereira A, Matsukawa M, Kurihara M: Meta-analysis on the validity of pepsinogen test for gastric carcinoma, dysplasia or chronic atrophic gastritis screening. *J Med Screen* 2004;11:141–147.
17. Sipponen P, Ranta P, Helske T, Kääriäinen I, Mäki T, Linnala A. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:785–791.

18. Benberin V, Bektayeva R, Karabayeva R, Lebedev A, Akemeyeva K, Paloheimo L, Syrjänen K. Prevalence of *H.pylori* infection and atrophic gastritis among symptomatic and dyspeptic adults in Kazakhstan. A hospital-based screening with a panel of serum biomarkers. *Anticancer Res* 2013;33:4595-4602.
19. Syrjänen KJ, Sipponen P, Härkönen M, Peetsalu A, Korpela S. Accuracy of GastroPanel testing in detection of atrophic gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27:102-104.
20. Ahn JS, Eom C-S, Jeon CY, Park MS. Acid suppressive drugs and gastric cancer: A meta-analysis of observational studies. *World J Gastroenterol* 2013;19:2560-8.
21. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Personal habits and indoor combustions volume 100E, 4.3.2 The Role of acetaldehyde in alcohol-induced carcinogenesis, 2012. Pp. 471. Available: <http://monogpahs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol/100E>.
22. Maejima R, Katsunori I, Kaihovaara P, Hatta W, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T, Salaspuro M. Effects of ALDH2 genotype, PPI treatment and L-cysteine on carcinogenic acetaldehyde in gastric juice and saliva after intragastric alcohol administration. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0120397.
23. Salaspuro M. Acetaldehyde and gastric cancer. *J Dig Dis* 2011; 12:51-59. doi: 10.1111/j.1751-2980.2011.00480.xPMID:21401890.
24. Varis K, Sipponen P. Gastritis. In: Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology. Gitnick G (ed.). Appleton & Lange, Connecticut, 1994; 85-197.
25. Sipponen P. *Helicobacter pylori* gastritis-epidemiology. *J Gastroenterol* 1997; 32:273-277.
26. Sipponen P, Marshall BJ. Gastritis and gastric cancer. Western countries. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29:579-592.
27. Wadström T. An update on *Helicobacter pylori* *Current Opinion in Gastroenterology* 1995; 11:69-75.
28. Northfield TC, Mendall M, Goggin PC. *Helicobacter pylori* Infection, Pathophysiology, Epidemiology and Management. Kluwer Academic Press; Dordrecht: 1994.
29. Sipponen P. Update on the Pathologic Approach to the Diagnosis of Gastritis, Gastric Atrophy, and *Helicobacter pylori* and its 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, 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. DÁTUM VYDANIA

Príbalový leták k súprave GastroPanel® *Helicobacter pylori*.

Verzia 4.0, septembra 2016.

20. ZÁRUKA

Výrobca napraví všetky chyby, ktoré sa vyskytnú na výrobku (ďalej len „chybný produkt“) v dôsledku použitia nevhodných materiálov alebo nedbanlivého opracovania a ktoré znemožňujú mechanické fungovanie alebo použitie výrobku na určený účel vrátane (okrem iného) funkcií uvedených v špecifikáciách výrobcu. ZÁRUKA SA VŠAK BUDE POVAŽOVAŤ ZA NEPLATNÚ, AK SA ZISTÍ, ŽE K CHYBE DOŠLO V DÔSLEDKU NESPRÁVNEHO ZAOBCHÁDZANIA, NESPRÁVNEHO POUŽITIA, NÁHODNÉHO POŠKODENIA, NESPRÁVNEHO SKLADOVANIA ALEBO POUŽITIA PRODUKTOV NA ÚKONY, KTORÉ NESPADAJÚ DO ROZSAHU ŠPECIFIKOVANÝCH OBMEDZENÍ ALEBO ŠPECIFIKÁCIÍ, V ROZPORE S POKYNNI UVEDENÝMI V NÁVODE NA POUŽITIE.

Trvanie tejto záruky pre distribútora je uvedené v návode na použitie a začína dňom odoslania príslušného výrobku zo strany výrobcu. V prípade rozporu vo výklade má prednosť anglické znenie.

Všetky diagnostické súpravy od spoločnosti Biohit sú vyrobené v súlade s normami manažérstva kvality ISO 9001/ISO 13485 a úspešne absolvovali všetky postupy na zaistenie kvality, ktoré sa týkajú týchto výrobkov.

21. INFORMÁCIE TÝKAJÚCE SA OBJEDNÁVANIA

GastroPanel®

Kat. č. 606 400.

Centrála

BIOHIT OYJ

Laippatie 1

00880 Helsinki, Fínsko

Tel.: +358-9-773 861

Fax: +358-9-773 2867

E-mail: info@biohit.fi

www.biohithealthcare.com

22. STRUČNÉ ZHRNUTIE POSTUPU

Počkajte, kým sa všetky činidlá zohrejú na teplotu okolitého prostredia. Všetky činidlá a vzorky bezprostredne pred pipetovaním dôkladne premiešajte

*

Po premiešaní aplikujte pipetou do jamiek 100 µl pufru na riedenie (slepého), kalibrátorov 1 – 4, kontrolného činidla a zriedených (1 : 400) vzoriek pacienta

*

Inkubujte po dobu **60 minút pri teplote okolitého prostredia a súčasne pretrepávajte (750 ot./min.)**

*

Průžky premyte 3 x 350 µl zriedeného premývacieho pufru

*

Pipetou aplikujte do jamiek 100 µl premiešaného konjugátového roztoku

*

Inkubujte po dobu **60 minút pri teplote okolitého prostredia a súčasne pretrepávajte (750 ot./min.)**

*

Jamky trikrát premyte 350 µl zriedeného premývacieho pufru

*

Pipetou aplikujte do jamiek 100 µl premiešaného substrátového roztoku

*

Inkubujte po dobu **30 minút** pri teplote okolitého prostredia

*

Pipetou aplikujte do jamiek 100 µl premiešaného zastavovacieho roztoku

*

Odčítajte **pri 450 nm** do 30 minút