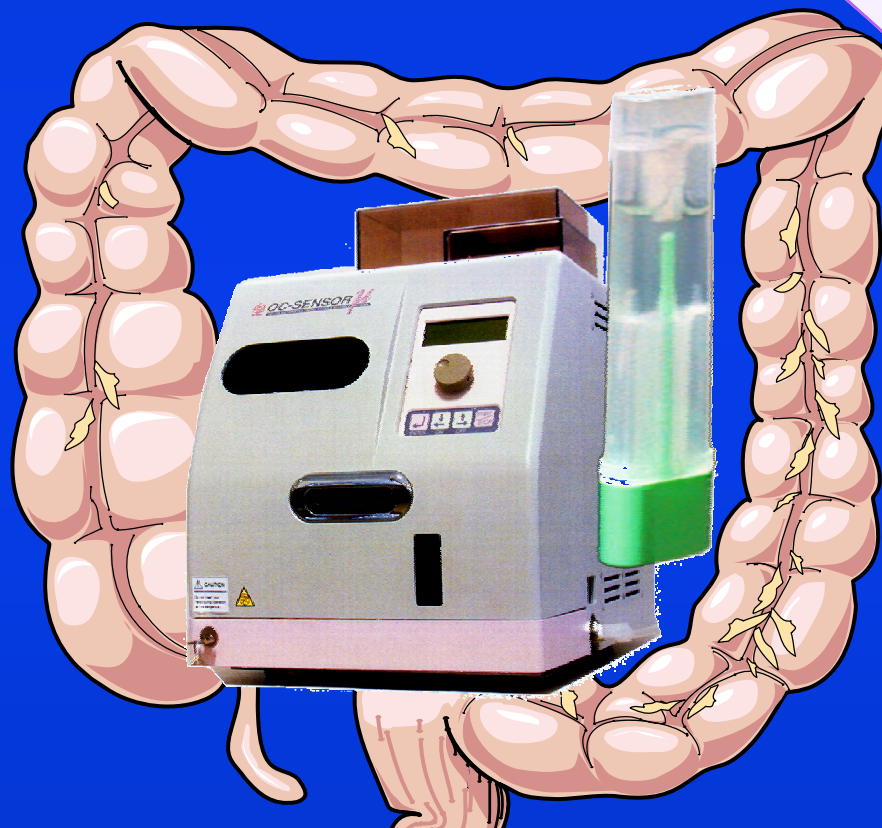




Nové markery a automatizace analýzy vzorků stolice

MUDr.Petr Kocna CSc.



Edukační seminář ÚLBLD, Praha - duben 2020



VYŠETŘENÍ STOLICE

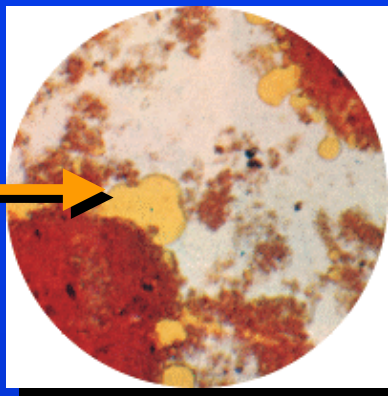
ANALÝZA STOLICE UMOŽŇUJE DIAGNOSTICKÝ PROCES ONEMOCNĚNÍ ZAŽÍVACÍHO ÚSTROJÍ, JATER A PANKREATU. UJASNĚNÍ PŘÍČIN VEDOUCÍCH K SYMPTOMŮM OVLIVŇUJÍCÍ ZAŽÍVACÍ TRAKT VČETNĚ PRŮJMU, NAUSEY, ZVRACENÍ, EDÉMU, BOLESTÍ, KŘEČÍ, HOREČKY, ZTRÁTY CHUTI APOD.

- DETEKCE NĚKTERÝCH **ENZYMŮ** VE STOLICI K URČENÍ MÍRY PANKREATICKÉ FUNKCE
- DETEKCE NENATRÁVENÝCH **ZBYTKŮ POTRAVY** PŘI MALABSORPČNÍM SYNDROMU
- DETEKCE **ZÁNĚTLIVÝCH MARKERŮ** V DIF.DIAGNOSTICE
- DETEKCE **OKULTNÍHO KRVÁCENÍ** PRO SCREENING KOLOREKTÁLNÍCH TUMORŮ
- DETEKCE MARKERŮ **NÁDOROVÝCH** A **BUNĚČNÉHO OBRATU**
- DETEKCE PŘÍTOMNOSTI **PARASITŮ**, NAPŘ. LAMBLIE
- DETEKCE A IDENTIFIKACE NĚKTERÝCH TYPŮ **BAKTERIÍ**

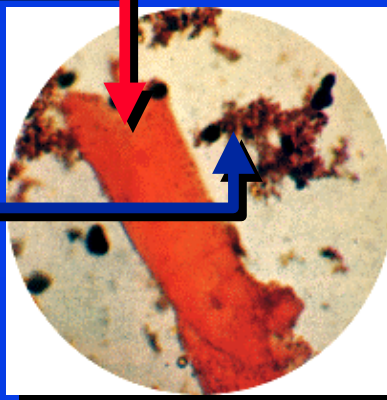
MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ STOLICE

**SVALOVÁ
VLÁKNA**

**ŠKROBOVÁ
ZRNKA**



**TUKOVÉ
KAPĚNKY**



**NATIVNÍ PREPARÁT
ZBYTKY POTRAVY
VLÁKNA CELULÓZY**

BARVENÍ FRIEDIGER'S REAGENS

- SVALOVÁ VLÁKNA ČERVENĚ
- TUKOVÉ KAPĚNKY ŽLUTĚ
- ŠKROBOVÁ ZRNKA TMAVOMODŘE

*Gastroenterologie für die Praxis
München, 1975*



Anti tTG IgA

Anti Gliadin sclgA

β -Defensin 2

Zonulin

α_1 -antitrypsin

Gliadin-33mer

Bile acids

Calprotectin

Lactoferin

Hemoglobin

Haptoglobin

Transferrin

Helicobacter pylori Ag

Amyláza

Lipáza

Chymotrypsin

Elastáza - 1

Lysozyme

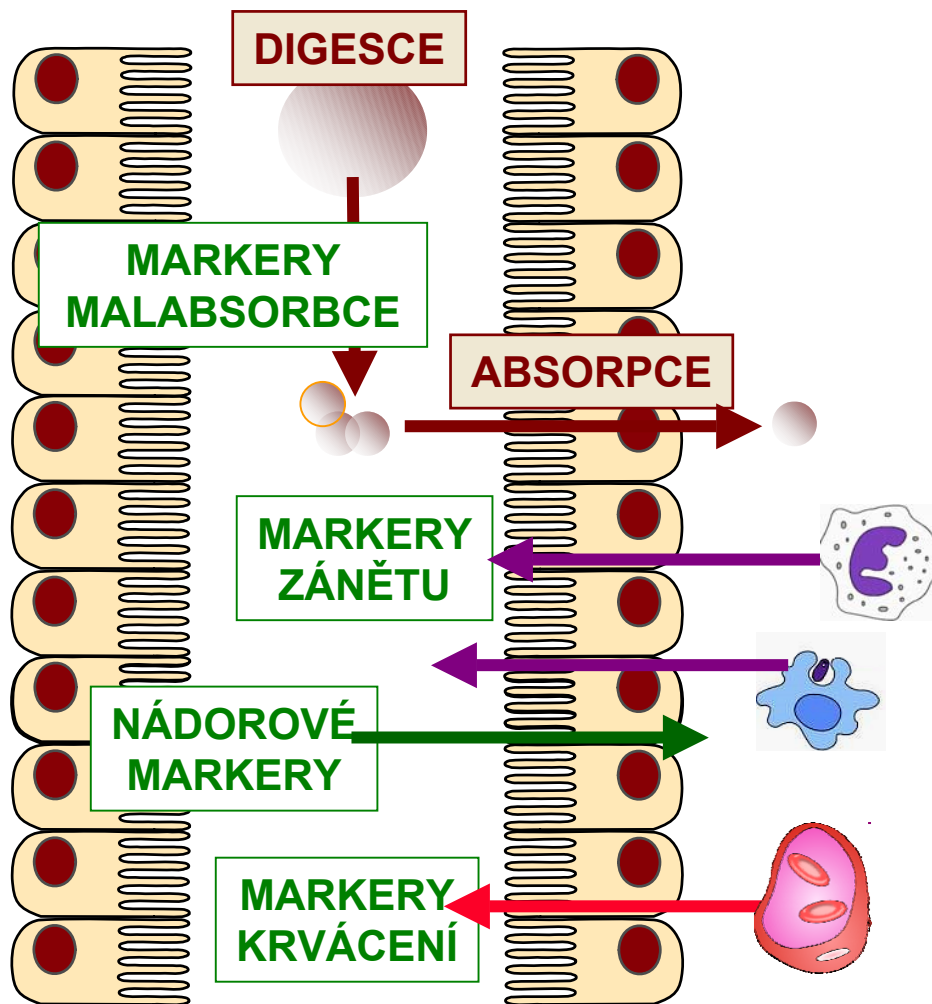
Albumin

Myeloperoxidáza

PMN Elastáza

EDN Eosi.Deriv.Neurotoxin

PCR / DNA



α 1-antitrypsin
Pankreatická elastáza

PMN elastáza
 β -defensin
Zonulin

Calprotectin
Calgranulin
Lactoferrin
Neopterin

M2-protein kináza
DNA markery

Hemoglobin
Haptoglobin
Transferrin



Marker ve stolici	Indikace	Senzitivita	Specificita
Biomarkery IBD			
Calprotectin	Funkční-organické IBD, relaps	70 - 100 %	70 - 100 %
S100 protein	IBD marker zánětu	60 - 67 %	70 - 90 %
Lactoferrin	Dif.diagnostika IBD - IBS	67 - 85 %	90 - 100 %
Biomarkery buněčného obratu			
M2 - PK	Screening GE tumorů	67 - 93 %	88 - 92 %
Biomarkery trávení a malabsorbce			
Elastáza EL-1	Pankreatická insuficience	100 %	96 %
Tuky ve stolici	Dg.jater, tenkého střeva	70 - 94 %	80 - 99 %
α 1-antitrypsin	Proteinová enteropatie	60 - 78 %	80 - 85 %

Siddiqui I, Majid H, Abid S. Update on clinical and research application of fecal biomarkers for gastrointestinal diseases. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 2017; 8(1): 39-46



ANALÝZA STOLICE – CPT KÓDY – VÝKONY U.S.

Analyte	CPT
Acetate	82542
Additional pathogens culture	87046
Bacteriology culture	87045
Butyrate	82542
Calprotectin	83993
Elastase	82656
Fat Stain	89125
Lactoferrin	83631
Lysozyme	85549
Muscle Fibers	89160
Occult Blood	82272
Propionate	82542
Stool ph	83986
sIgA	83520
Valerate	82542
Vegetable Fibers	89160
Yeast culture	87102



CPT Coding Manual
published by the
American Medical Association.
[https://www.aapc.com/resources/
medical-coding/cpt.aspx](https://www.aapc.com/resources/medical-coding/cpt.aspx)
download - 04.11.2017



DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym



DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym



MANAGEMENT OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION - CONSENSUS

Statement 1: *H. pylori* infection is accepted as the **major aetiological factor for gastric cancer**.

Level of evidence: 1a Grade of recommendation: A

Statement 2: A **test-and-treat strategy** is appropriate for uninvestigated dyspepsia. This approach is subject to regional *H. pylori* prevalence and cost-benefit considerations. It is not applicable to patients with alarm symptoms or older patients. Level of evidence: high Grade of recommendation: strong

Statement 3: **UBT is the most investigated and best recommended** non-invasive test in the context of a 'test-and-treat strategy'. **Monoclonal SAT can also be used**. Serological tests can be used only after validation. Rapid ('office') serology tests using whole blood should be avoided in this regard.

Level of evidence: 2a Grade of recommendation: B

Malfertheiner P. et al. - Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report.

The European Helicobacter Study Group (EHSg). Gut. 2017 Jan; 66 (1): 6-30



DIAGNOSTIKA HELICOBACTER PYLORI

	Sensitivity %	Specificity %	PPV %	NPV %	Accuracy %
Histology	89.1 (87.3–89.8)	98.8 (96.8–99.6)	98.8 (96.8–99.6)	88.8 (87.0–89.5)	93.6 (91.7–94.4)
CLO	91.2 (89.8–91.5)	99.6 (97.9–99.9)	99.6 (98.0–99.9)	90.9 (89.4–91.2)	95.1 (93.6–95.5)
13C-UBT	92.7 (91.3–93.0)	99.6 (98.0–99.9)	99.6 (98.1–99.9)	92.3 (90.8–92.6)	95.9 (94.4–96.2)
Serology	97.6 (95.3–98.9)	78.0 (75.4–79.4)	83.3 (81.3–84.4)	96.7 (93.4–98.4)	88.4 (85.9–89.7)
Stool antigen	93.1 (90.8–94.7)	94.6 (92.0–96.5)	95.1 (92.8–96.8)	92.3 (89.8–94.1)	93.8 (91.4–95.5)

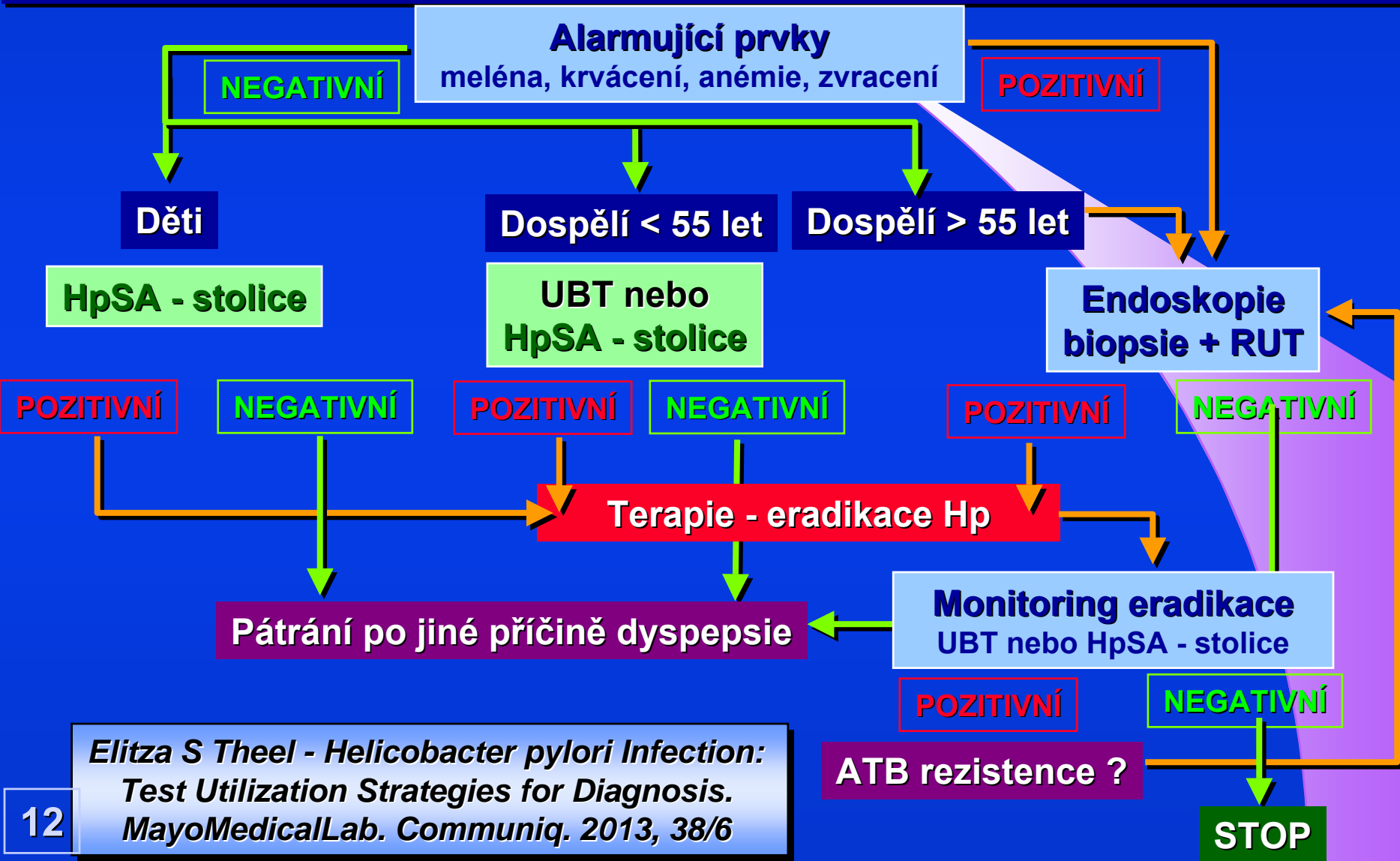
Stool Hp antigen - EIA metoda s polyklonální protilátkou

Prospective evaluation of a new stool antigen test for the detection of Helicobacter pylori, in comparison with histology, rapid urease test, 13C-urea breath test, and serology

Choi J. et al. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2011; 1053 - 1059



ALGORITMUS PRO HELICOBACTER PYLORI PŘI DYSPEPSII



*Elitza S Theel - Helicobacter pylori Infection:
Test Utilization Strategies for Diagnosis.
MayoMedicalLab. Communiq. 2013, 38/6*



DIAGNOSTIKA HELICOBACTER PYLORI - VFN PRAHA

Hp ANTIGEN VE STOLICI ELISA TEST

VYŠETŘENO 1172 VZORKŮ STOLICE
901 VZORKŮ OD DĚTÍ - 76.8%
POZITIVITA TESTŮ DĚTÍ - 65x (7.2%)
POZITIVITA TESTŮ DOSPĚLÝCH - 64x (23.6%)

13C - UBT DECHOVÝ TEST SE ZNAČENOU UREOU

VYŠETŘENO 1299 DECHOVÝCH TESTŮ
270 TESTŮ POZITIVNÍCH - 20.8%
27 TESTŮ V HRANIČNÍ ZÓNĚ DOB 4-5 %



DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym



EXOKRINNÍ PANKREATICKÁ NEDOSTATEČNOST - PEI

Příčiny vzniku exokrinní pankreatické nedostatečnosti - EPI

Chronická pankreatitída – hlavní příčina EPI

Cystická fibróza

Obstrukce pankreatického vývodu (tumor, litiáza)

Celiakie, Crohn, Schwachman-Diamond syndrom

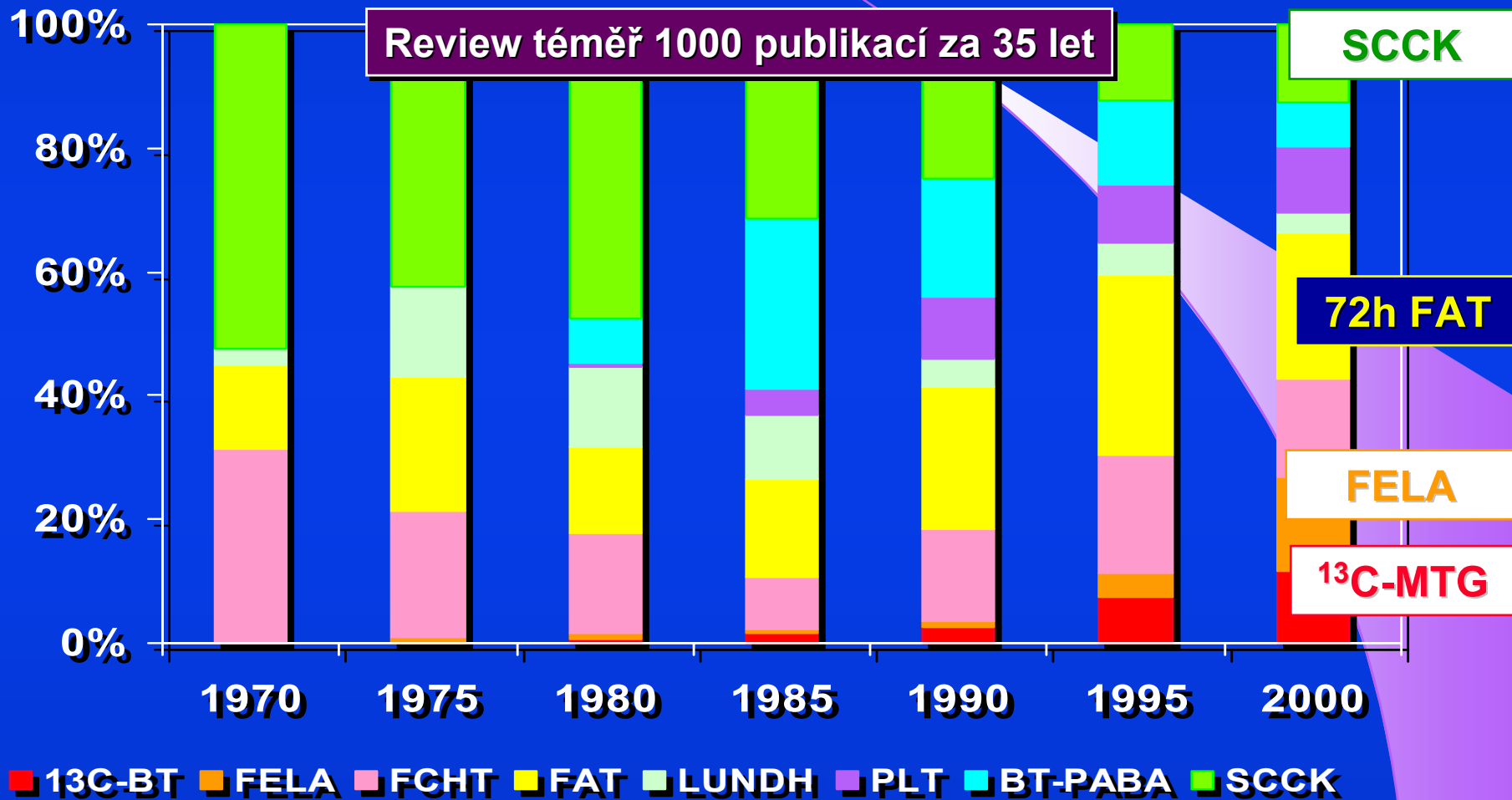
Postoperační stav (gastrektomie, žaludeční bypass, operace TS)

Inaktivace pankr.enzymů (nízké pH), Zollinger-Ellisonův syndrom

Diabetes mellitus



TESTY EXOKRINNÍ FUNKCE PANKREATU – TRENDY ZA 30 LET



Boeck WG, Adler G, Gress TM. Pancreatic function tests:
When to choose, what to use. *Current Gastroenterol Rep.* 2001;3:95–100



TESTY EXOKRINNÍ FUNKCE PANKREATU – WJG 2017

TEST	VÝHODY	NEVÝHODY
S-CCK, ePTF	VYSOCE CITLIVÝ	INVASIVNÍ, POUZE SPEC.CENTRA
72h STOOL FAT	ZLATÝ STANDARD MONITORING PERT	NUTNÁ DIETA, 72H SBĚR STOLICE, NEPŘÍJEMNÝ
FE-1	JEDNODUCHÝ, DOSTUPNÝ	NÍZKÁ CITLIVOST PRO STŘEDNÍ PEI
ACID STEATOCRIT	KORELUJE S CFA	CHYBÍ STANDARDIZACE
¹³ C-MTG	CITLIVÝ PRO STŘEDNÍ PEI MONITORING PERT	POUZE SPEC.CENTRA, POSITIVNÍ PŘI NE-PANKREAT. MALABSORPCI

*Sperti C, Moletta L. Staging chronic pancreatitis with exocrine function tests:
Are we better? World J Gastroenterol. 2017 Oct 14;23(38):6927-6930*

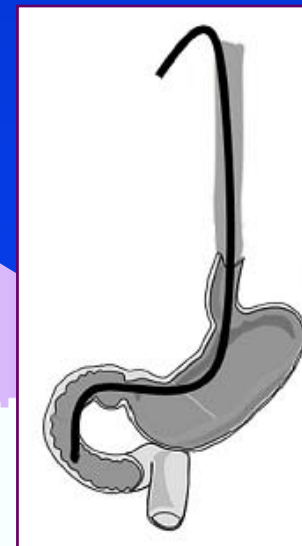
EXOKRINNÍ FUNKCE PANKREATU REFERENČNÍ METODY

Kvantitativní stanovení tuků ve stolici
v 72 hodinovém sběru
je stále považováno za zlatý standard



FAT 72 hod.

S-CCK TEST



Erchinger F, Engjom T, Jurmy P. et al.: Fecal Fat Analyses in Chronic Pancreatitis Importance of Fat Ingestion before Stool Collection. PLoS One. 2017 Jan 17;12(1):e0169993.



CHRONICKÁ PANKREATITÍDA - DOPORUČENÍ

Which test is clinically indicated

for diagnosing exocrine pancreatic insufficiency (PEI) ?

Statement 3-6. In a clinical setting, a **non-invasive pancreatic function test (PFT)** should be performed. The **FE-1 test** is feasible and widely available and is therefore most frequently used in this setting, while the **13C mixed triglyceride** breath test (13C-MTG-BT) offers an alternative. The s-MRCP test may also be used as an indicator of PEI but provides only semiquantitative data.

(Grade 1B, agreement)

Is a pancreatic function test required for the diagnosis of CP?

Statement 3-7. A function test is required for the diagnosis of CP.

(Grade 2B, strong agreement)

Should a pancreatic function test be performed at the time of diagnosis?

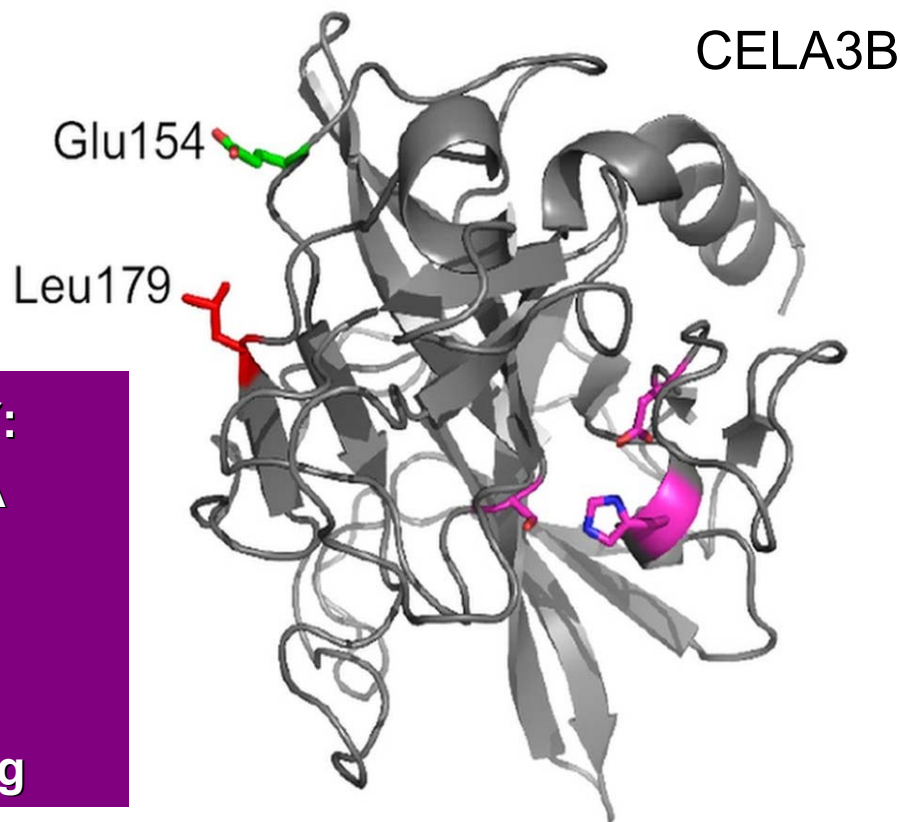
Statement 3-8. Every patient with a new diagnosis of CP

should be screened for PEI. (Grade 1A, strong agreement)

Löhr M. - HaPanEU/UEG Working Group. United European Gastroenterology evidence based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis (HaPanEU) UEG Journal, 2017, Vol. 5(2) 153–199

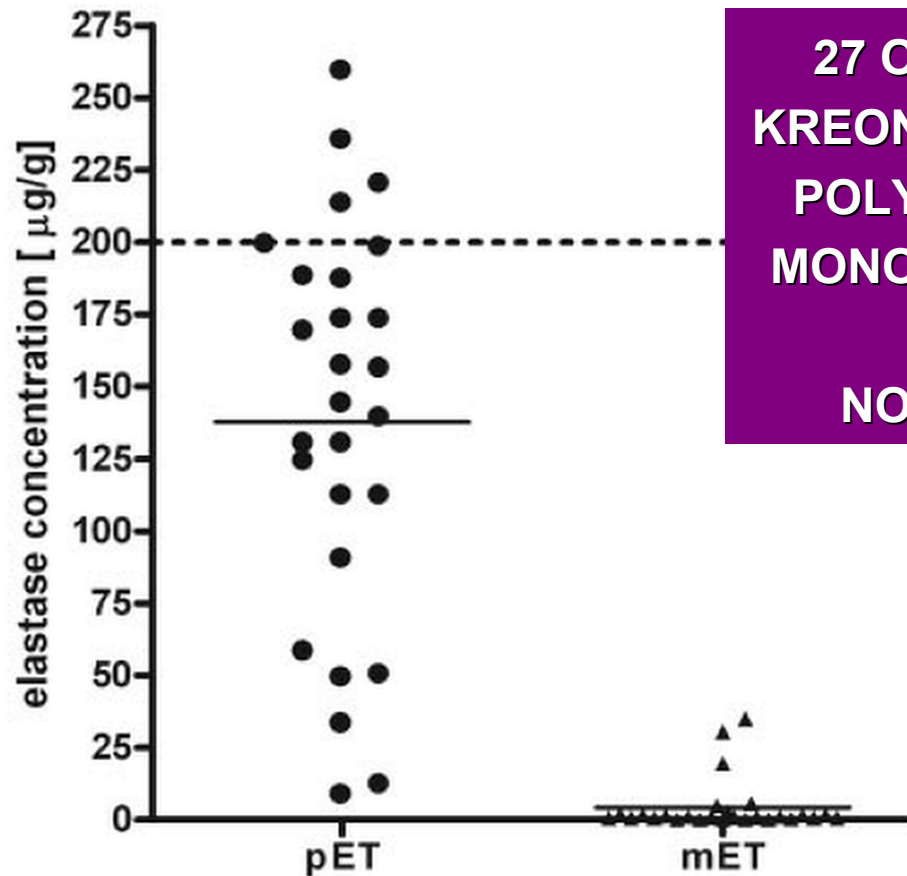
PANKREATICKÁ ELASTÁZA VE STOLICI

**ELISA - DVĚ ODLIŠNÉ METODY:
MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKA
PROTI ELA1 (CELA1)
POLYKLONÁLNÍ PROTILÁTKA
PROTI ELA3A,3B (CELA3A,B)
NORMÁLNÍ HODNOTY > 200 µg/g**



Tóth AZ, Szabó A, Hegyi E, Hegyi P, Sahin-Tóth M. Detection of human elastase isoforms by the ScheBo Pancreatic Elastase 1 Test. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2017; 312(6): G606-G614

PANKREATICKÁ ELASTÁZA VE STOLICI – FELA x PELA



27 OSOB S CYSTICKOU FIBRÓZOU
KREON, LIPÁZA, 5 000 – 10 000 U/kg/den
POLYKLONÁLNÍ - pET - $138 \pm 69 \mu\text{g/g}$
MONOKLONÁLNÍ - mET - $4.3 \pm 9.0 \mu\text{g/g}$
VÝZNAMNOST $p < 0.0001$
NORMÁLNÍ HODNOTY $> 200 \mu\text{g/g}$

Schneider A, Funk B, Caspary W, Stein J.: Monoclonal versus Polyclonal ELISA for Assessment of Fecal Elastase Concentration: Pitfalls of a New Assay. Clinical Chemistry 2005; 51/6, 1052-1054



PANKREATICKÁ ELASTÁZA VE STOLICI

**Chronická pankreatitída – 194 nemocných, klasifikace M-ANNHEIM,
porovnání hodnot elastázy-I ve stolici
a výpočet tuků ve stolici za 24 hodin podle výsledku steatokritu**

M-ANNHEIM klasifikace	POČET n (%)	FELA $\mu\text{g/g}$ medián - rozsah	POČET n (%)	TUKY g/24 hod medián - rozsah
0	13 (6.7)	289.0 (249.0-383.2)	13 (6.7)	6.3 (6.0-6.6)
I	85 (43.8)	389.1 (263.2-436.1)	87 (44.8)	6.3 (5.9-6.4)
II	75 (38.6)	144.3 (108.9-219.0)	89 (45.8)	7.5 (6.4-10.8)
III	21 (10.8)	87.6 (41.1-119.1)	5 (2.5)	15.3 (12.0-15.6)

Kamath MG, Pai CG, Kamath A, Kurien A. Comparing acid steatocrit and faecal elastase estimations for use in M-ANNHEIM staging for pancreatitis. World J Gastroenterol 2017 March 28; 23(12): 2217-2222



PANKREATICKÁ ELASTÁZA 1 - ELISA - VFN PRAHA

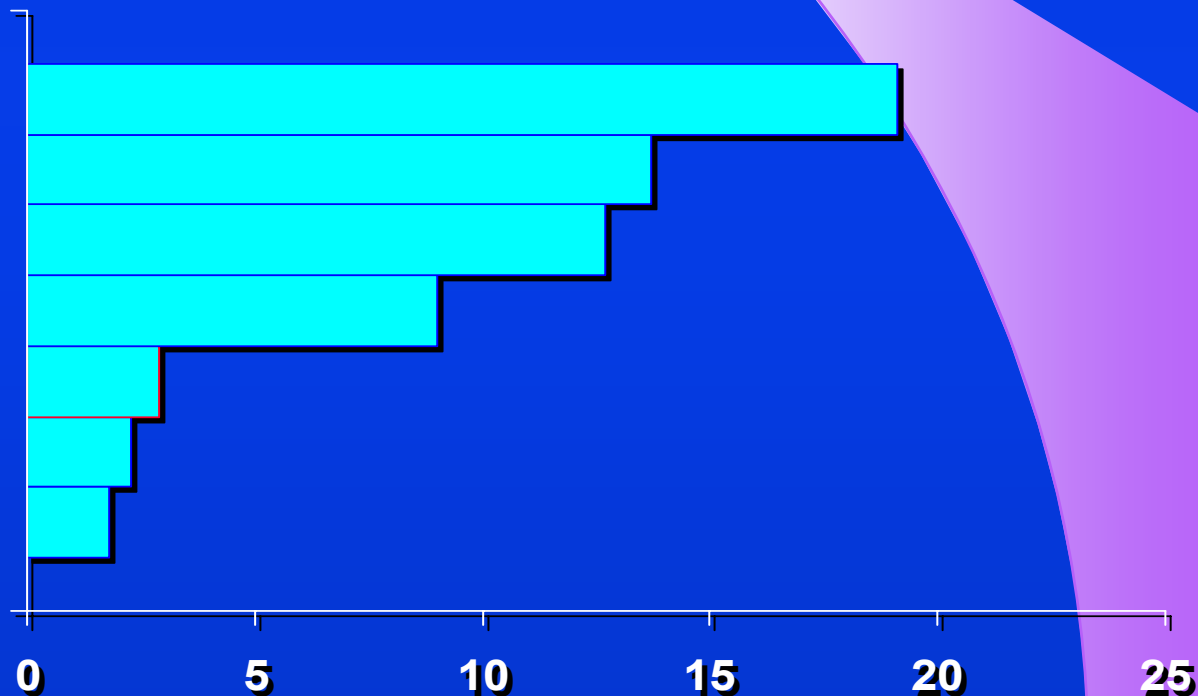
VYŠETŘENO 7642 VZORKŮ STOLICE

3229 VZORKŮ OD DĚTÍ - 42.3%

1117 HODNOT FELA TESTU < 100 - 14.6%

1490 HODNOT FELA TESTU < 200 - 19.5%

DYSPEPSIE
CYSTICKÁ FIBRÓZA
PANKREATITÍDA
BOLESTI BŘICHA
DIABETES
MALABSORBCE
ONEMOCNĚNÍ STŘEVA





DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

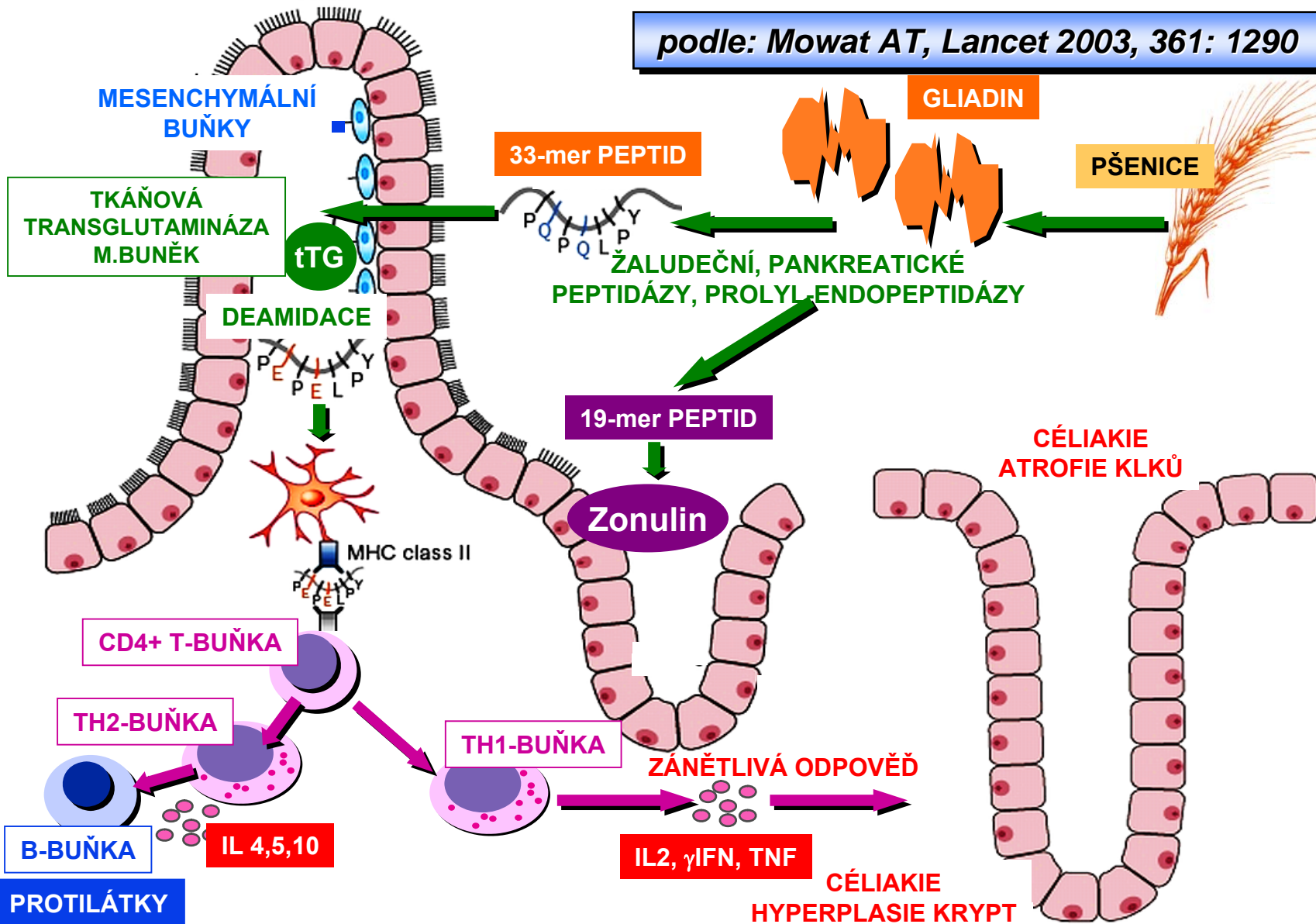
Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

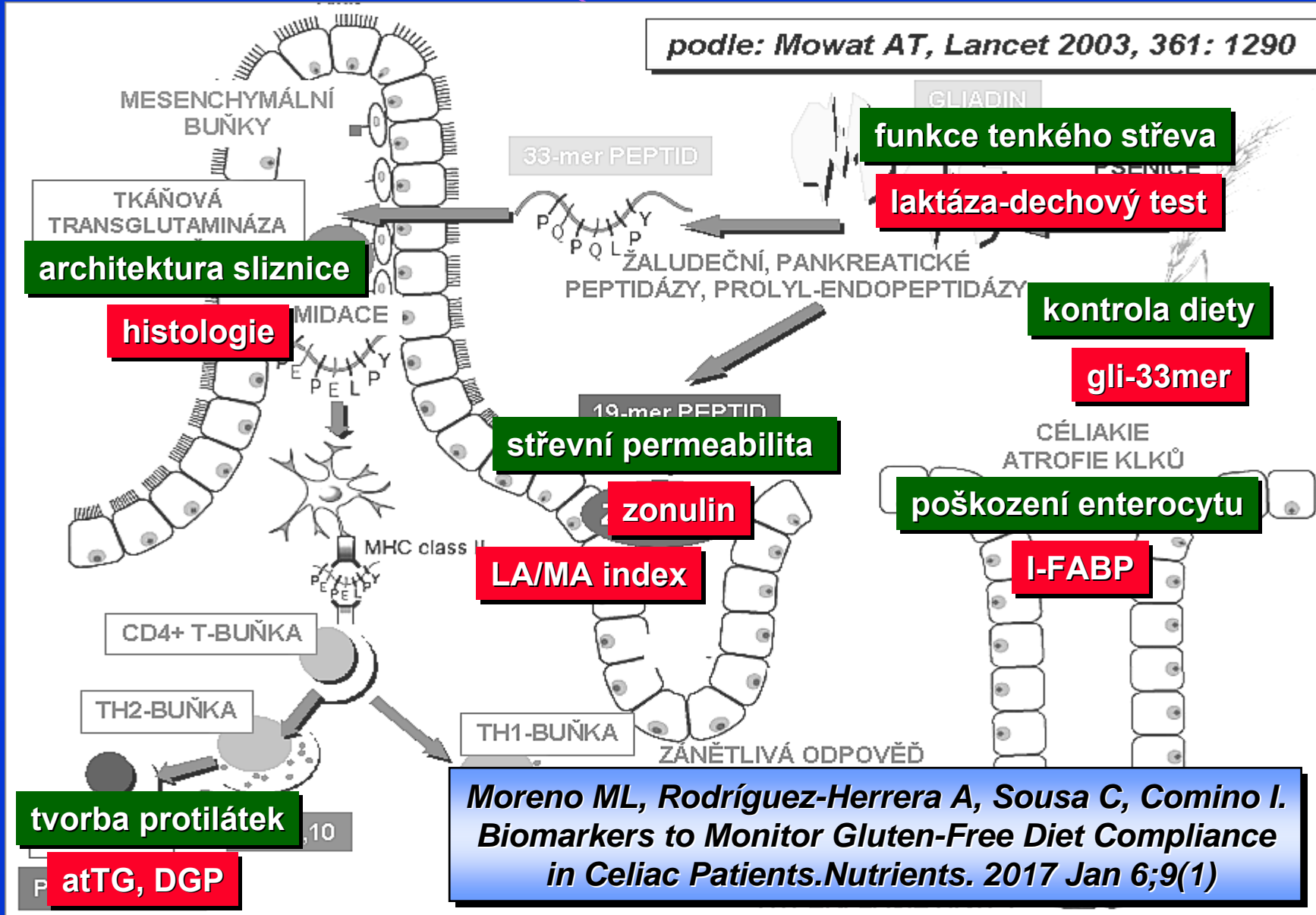
Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym

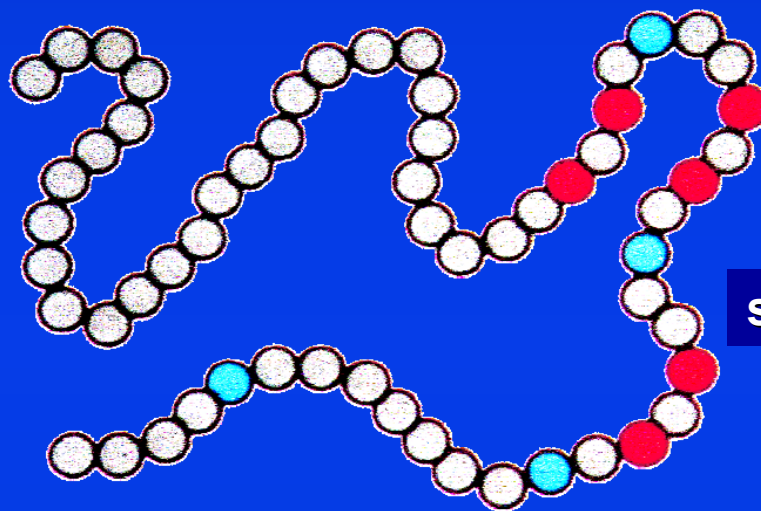
podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



SEKVENCE REZISTENTNÍHO GLIADIN 33mer PEPTIDU



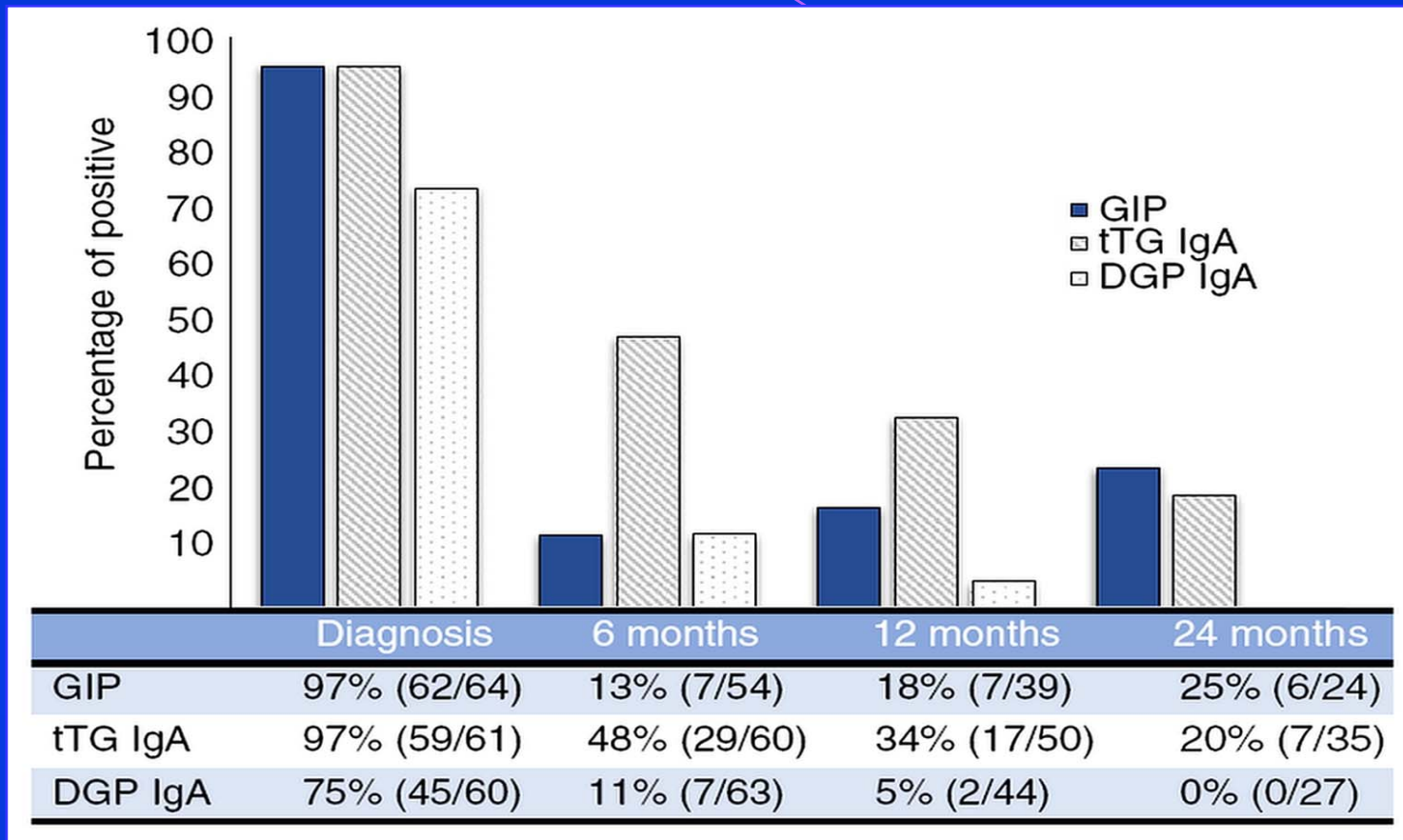
sekvence gliadinu

33-mer rezistentní peptid

LQLQPFPPQPQLPYPPQPQLPYPPQPQLPYPPQPQPF



GLIADIN 33mer VE STOLICI



Prospective longitudinal study: use of faecal gluten immunogenic peptides to monitor children diagnosed with coeliac disease during transition to a gluten-free diet.

Comino I, Segura V, Ortigosa L. et al. Aliment Pharmacol Ther. 2019; 49(12):1484-1492



GLIADIN 33mer VE STOLICI

80 VZORKŮ STOLICE, INDIKACE CELIAKIE
iVYLISA GIP ELISA (Biomedal, Spain)
Rozsah detekce - 0.16-5 µg GIP/g stolice

21x **AKTIVNÍ CELIAKIE**
2x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
4x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
15x **STRAVA S LEPKEM**

12x **KONTROLY**
12x **NORMÁLNÍ**
DIETA S LEPKEM

26x **CELIAKIE V REMISI**
13x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
8x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**
5x **STRAVA S LEPKEM**

8x **JINÉ GIT Dg**
6x **STRAVA S LEPKEM**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

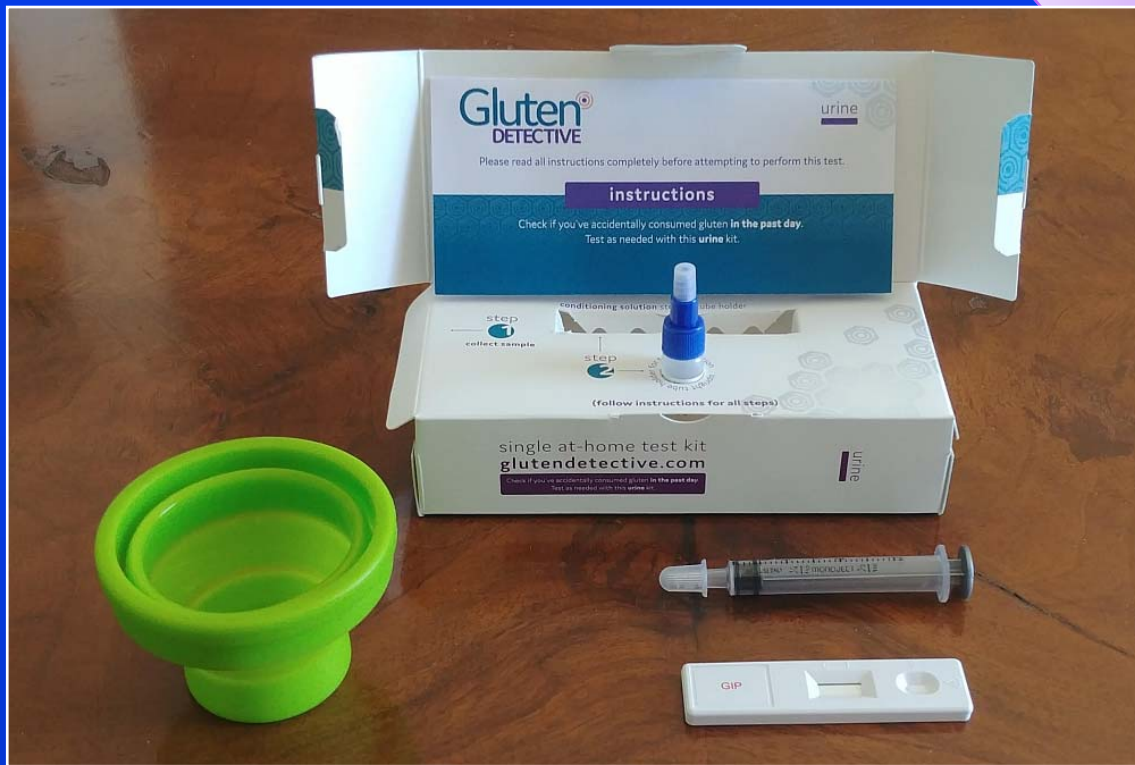
5x **NON-RESPONSIBLE CS**
3x **BEZLEPKOVÁ DIETA**
2x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**

3x **NECELIAKÁLNÍ - NCGS**
2x **STRAVA S LEPKEM**
1x **NÍZKÝ OBSAH LEPKU**



GLIADIN 33mer VE STOLICI

- GLUTEN DETECTIVE - HOME KIT
- STANOVENÍ 33mer GLIADINU VE STOLICI NEBO MOČI
- IMUNOCHROMATOGRFICKÝ RAPID TEST
- CENA \$22.50





DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

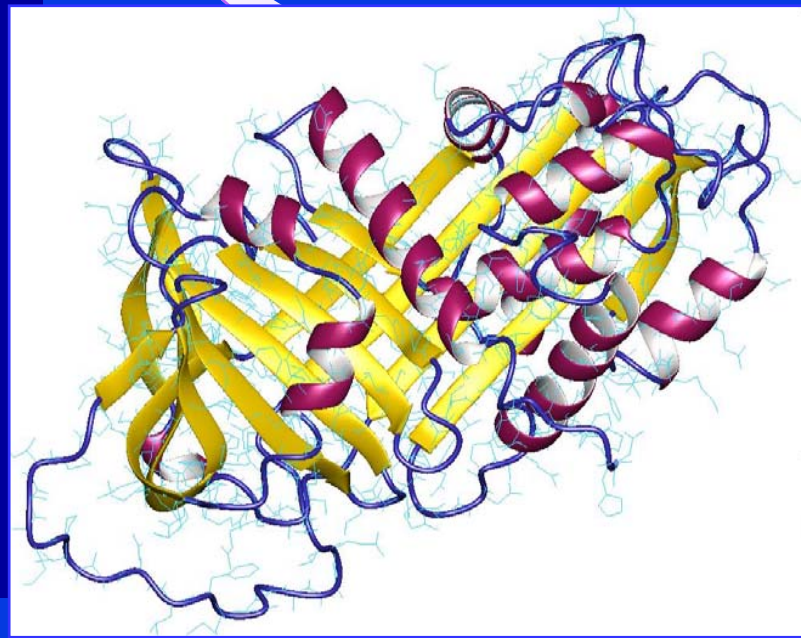
Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym

α_1 -ANTITRYPSIN VE STOLICI

- SERINOVÁ PROTEÁZA
- SYNTETIZOVANÁ MAJORITNĚ V JÁTRECH
- REZISTENTNÍ K DEGRADACI TRÁVICÍMI ENZYMY
- DOPORUČENÝM ENDOGENNÍM MARKEREM PLE
- STANOVENÍ KONCENTRACE A/NEBO CLEARANCE A1AT VE STOLICI
- V ZAHRANIČÍ SOUČÁSTÍ VYŠETŘOVACÍCH ALGORITMŮ PRŮJMOVÝCH ONEMOCNĚNÍ



ELISA METODA - POLYKLONÁLNÍ PROTILÁTKA
TMB, PEROXIDÁZA
REFERENČNÍ HODNOTY

KONCENTRACE < 0.26 mg/ml, CLEARANCE < 27 ml/24 hod



α_1 -ANTITRYPSIN VE STOLICI

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA
EXUDATIVNÍ ENTEROPATIE
PROTEIN LOSING ENTEROPATHY (PLE)

DĚTI S CYSTICKOU FIBRÓZOU
NEMAJÍ ENTEROPATII SE ZTRÁTOU PROTEINŮ

DĚTI S CELIAKIÍ MAJÍ ZVÝŠENÉ HODNOTY
FEKÁLNÍHO α_1 -ANTITRYPSINU.

Biancone L, Fantini M, Tosti C. et al. Fecal alpha 1-antitrypsin clearance as a marker of clinical relapse in patients with Crohn's disease of the distal ileum. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2003 Mar; 15(3): 261-266



ENTEROPATIE SE ZTRÁTOU PROTEINŮ

Příčiny vzniku enteropatie se ztrátou proteinů- PLE

Primární intestinální lymfangiektázie

IBD

Céliakie

Sarkoidóza, amyloidóza, SLE

Sekundárně u infekčních onemocnění a neoplázií

Kongestivní srdeční selhávání, konstriktivní perikarditida

U dětí vrozené vady glykosylace



α_1 -ANTITRYPSIN VE STOLICI - VFN PRAHA

**VYŠETŘENO 187 VZORKŮ STOLICE
OBDOBÍ 2012 - 2020
146 VZORKŮ OD DĚTÍ - 78.1%
POZITIVITA TESTŮ > 268 mg/l - 80x (54.8%)**

**24 HODINOVÁ CLEARANCE
VYŠETŘENA VE 30 PŘÍPADECH
POZITIVITA CLEARANCE > 27 ml/24 hod - 13x (43.3 %)**



DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

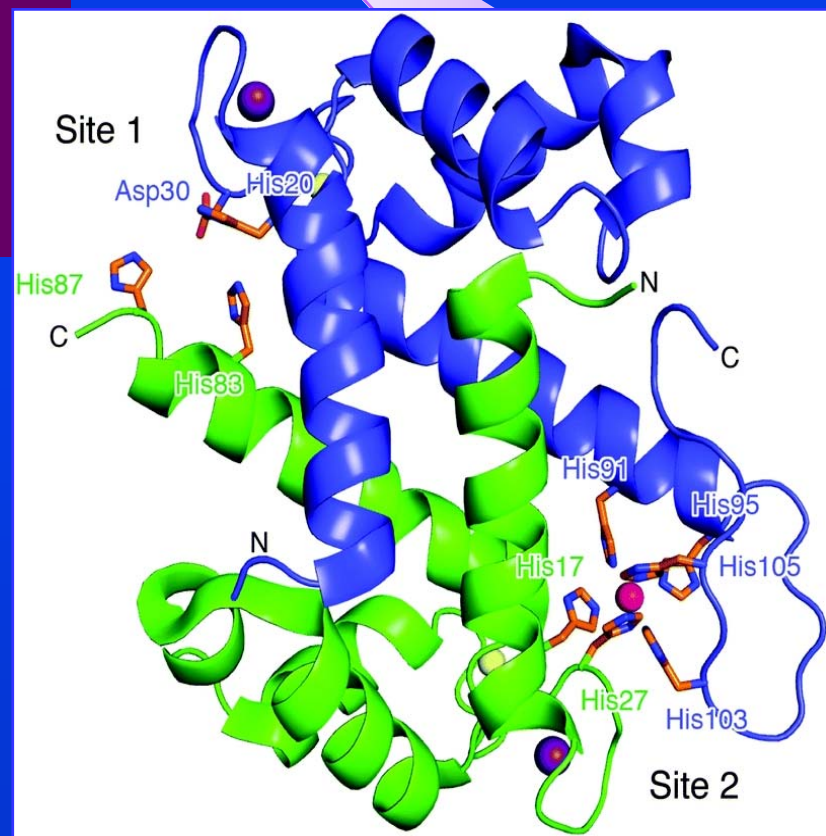
Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym

CALPROTECTIN VE STOLICI

- LEUKOCYTÁRNÍ CYTOSOLOVÝ PROTEIN
- UVOLŇUJE SE Z LEUKOCYTŮ PO JEJICH AKTIVACI NEBO LÝZE
- TVOŘÍ JEJ PŘEDEVŠÍM MONOCYTY A NEUTROFILY
- CALPROTECTIN JE REZISTENTNÍ VŮČI ENZYMATICKÉ DEGRADACI



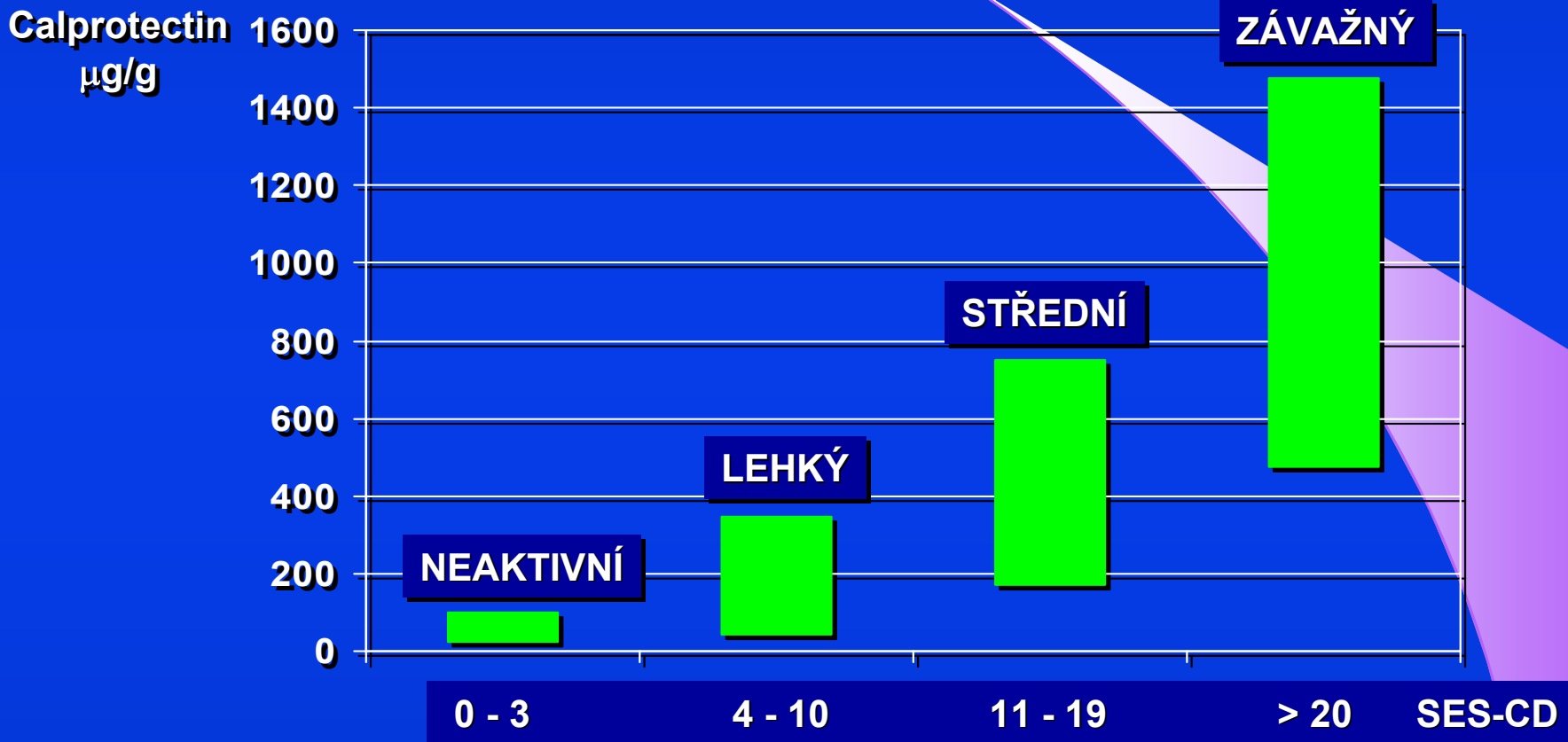


CALPROTECTIN VE STOLICI

- **VHODNÝ UKAZATEL PŘI DIAGNOSTICE I MONITOROVÁNÍ AKUTNÍCH I CHRONICKÝCH STŘEVNÍCH ZÁNĚTLIVÝCH ONEMOCNĚNÍ ULCERÓZNÍ KOLITIDY, CROHNOVY CHOROBY A NEKROTIZUJÍCÍ ENTEROKOLITIDY U DĚTÍ**
- **OBSAH CALPROTECTINU VE STOLICI KORELUJE S MNOŽSTVÍM LEUKOCYTŮ VYLOUČENÝCH DO STŘEVNÍHO LUMEN**
- **STANOVENÍ VE VZORKU STOLICE - CUT-OFF HODNOTA 30 mg/l**
- **VHODNÝ PRO DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKU MEZI AKUTNÍ CROHNOVOU CHOROBOU A SYNDROMEM DRÁŽDIVÉHO TRAČNÍKU**
- **CALPROTECTIN VE STOLICI JE ROVNĚŽ TESTOVÁN JAKO MARKER KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU**



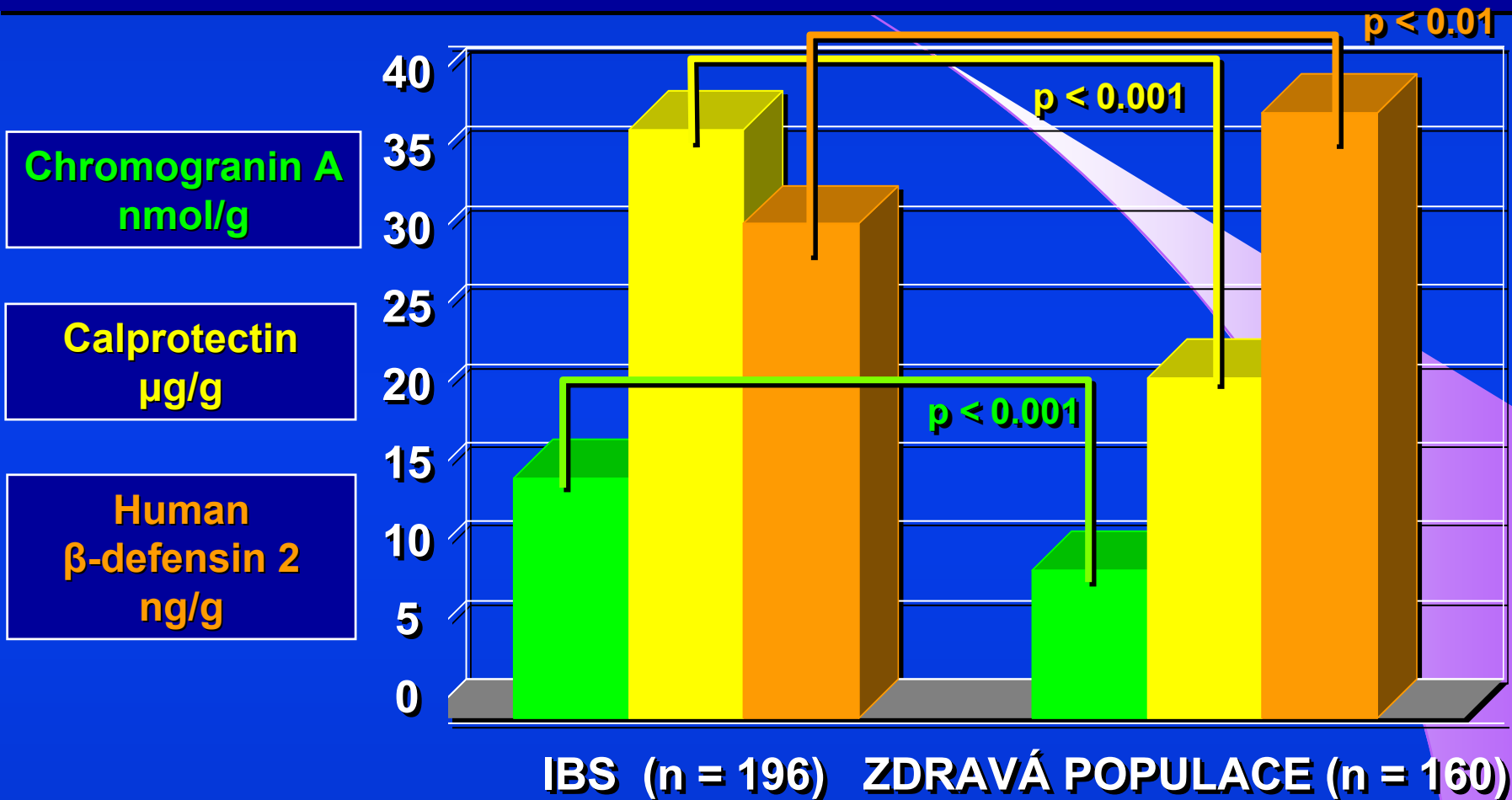
KORELACE CALPROTECTINU VE STOLICI SE SES-CD SKÓREM



Schoepfer AM. et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. Am J Gastroenterol. 2010 Jan;105(1):162-169



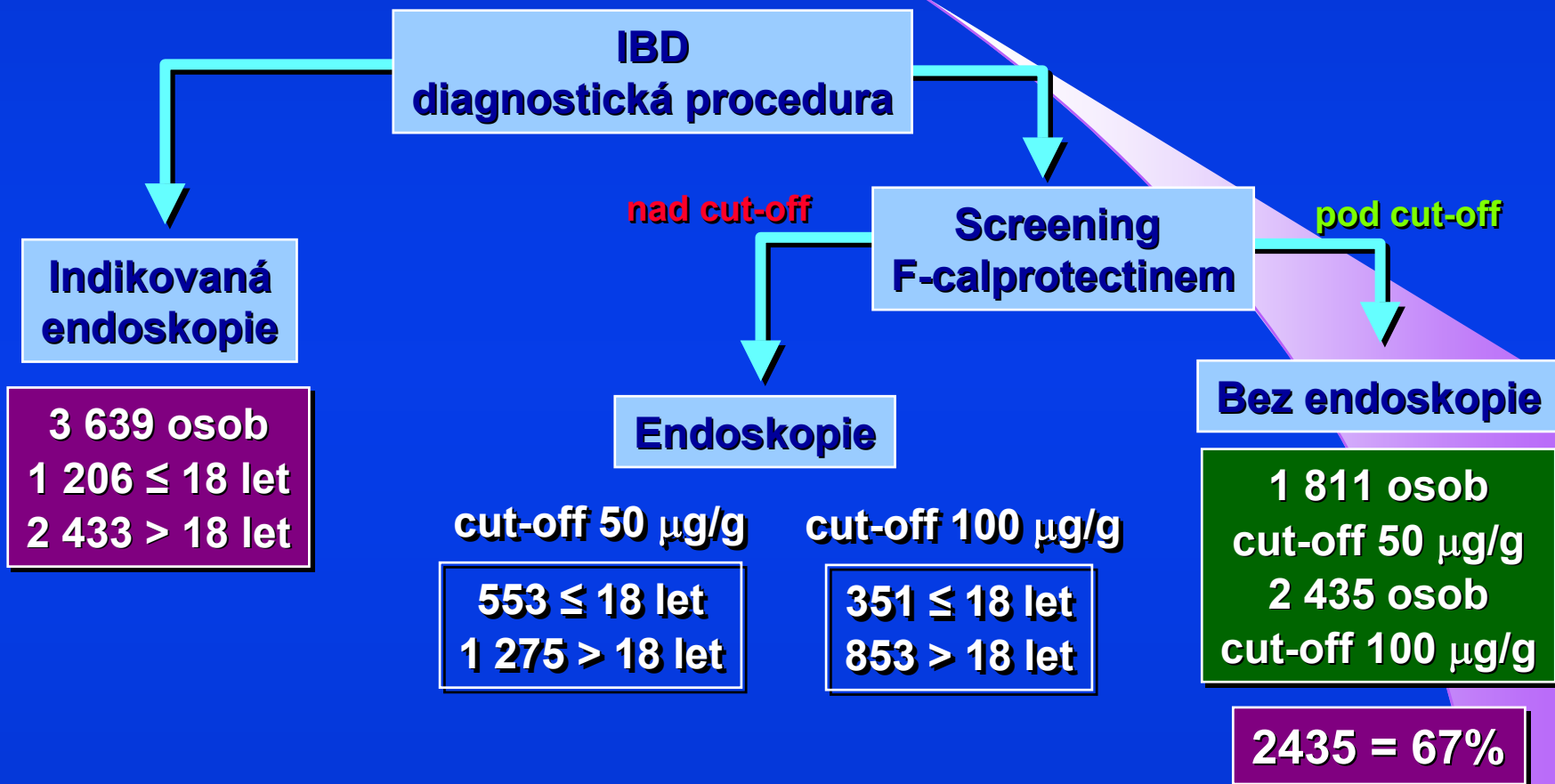
SENZITIVITA MARKERŮ VE STOLICI PRO IBS



Mujagic A, Tigchelaar EF, Zhernakova A. A novel biomarker panel for irritable bowel syndrome and the application in the general population
Scientific Reports 2016, 6: 26420



PRE-ENDOSKOPICKÝ SCREENING S F-CALPROTECTINEM



Mindemark M, Larsson A. Ruling out IBD: estimation of the possible economic effects of pre-endoscopic screening with F-calprotectin. Clin Biochem. 2012; 45(7-8): 552-555



DIAGNOSTICKÉ MARKERY VE STOLICI PRO GASTROENTEROLOGII

Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

Hemoglobin

Pyruvát kináza M2 izoenzym

SCREENING KRCA V ČESKÉ REPUBLICE - KDE DNES JSME

2000

Národní program screeningu kolorektálního karcinomu
Guajaková detekce okultního krvácení - TOKS (Haemocult)





SCREENING KRCA V ČESKÉ REPUBLICE - KDE DNES JSME

2000

Národní program screeningu kolorektálního karcinomu
Guajaková detekce okultního krvácení - TOKS (Haemocult)

2010

**Detekce okultního krvácení - TOKS
metodou guajakovou g-FOBT nebo imunochemickou i-FOBT
Věstník MZ ČR 2009/1**

SCREENING KRCA V ČESKÉ REPUBLICE - KDE DNES JSME

2000

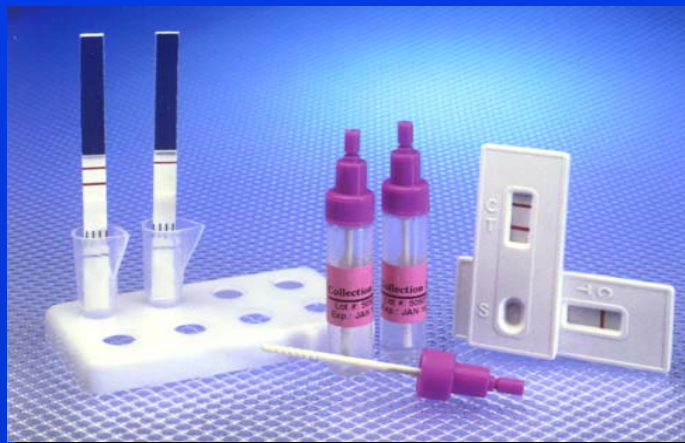
Národní program screeningu kolorektálního karcinomu
Guajaková detekce okultního krvácení - TOKS (Haemocult)

2010

Detekce okultního krvácení - TOKS
metodou guajakovou g-FOBT nebo imunochemickou i-FOBT
Věstník MZ ČR 2009/1

2014

Detekce okultního krvácení - TOKS
Pouze imunochemickou metodou i-FOBT



SCREENING KRCA V ČESKÉ REPUBLICE - KDE DNES JSME

2000

Národní program screeningu kolorektálního karcinomu
Guajaková metoda (Haemocult)

2010

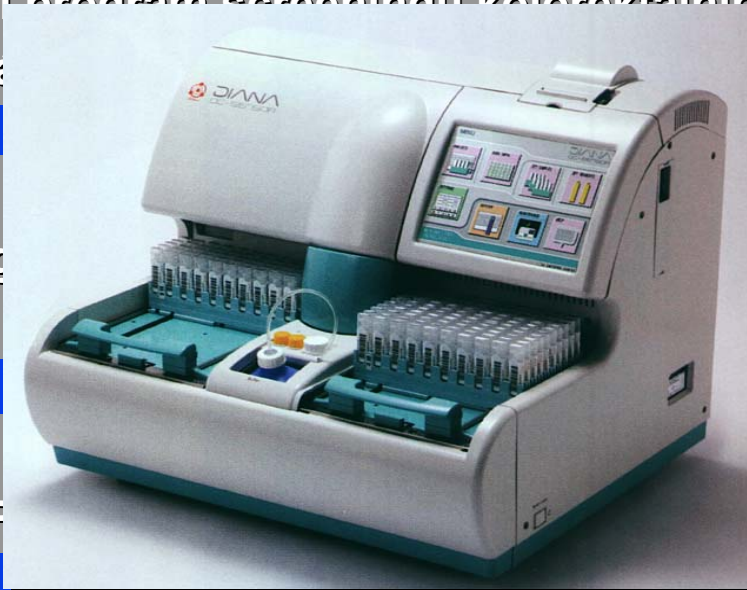
metodou guajakovou
Kvantitativní imunochemickou i-FOBT

2014

FIT
Kvantitativní imunochemickou FOBT

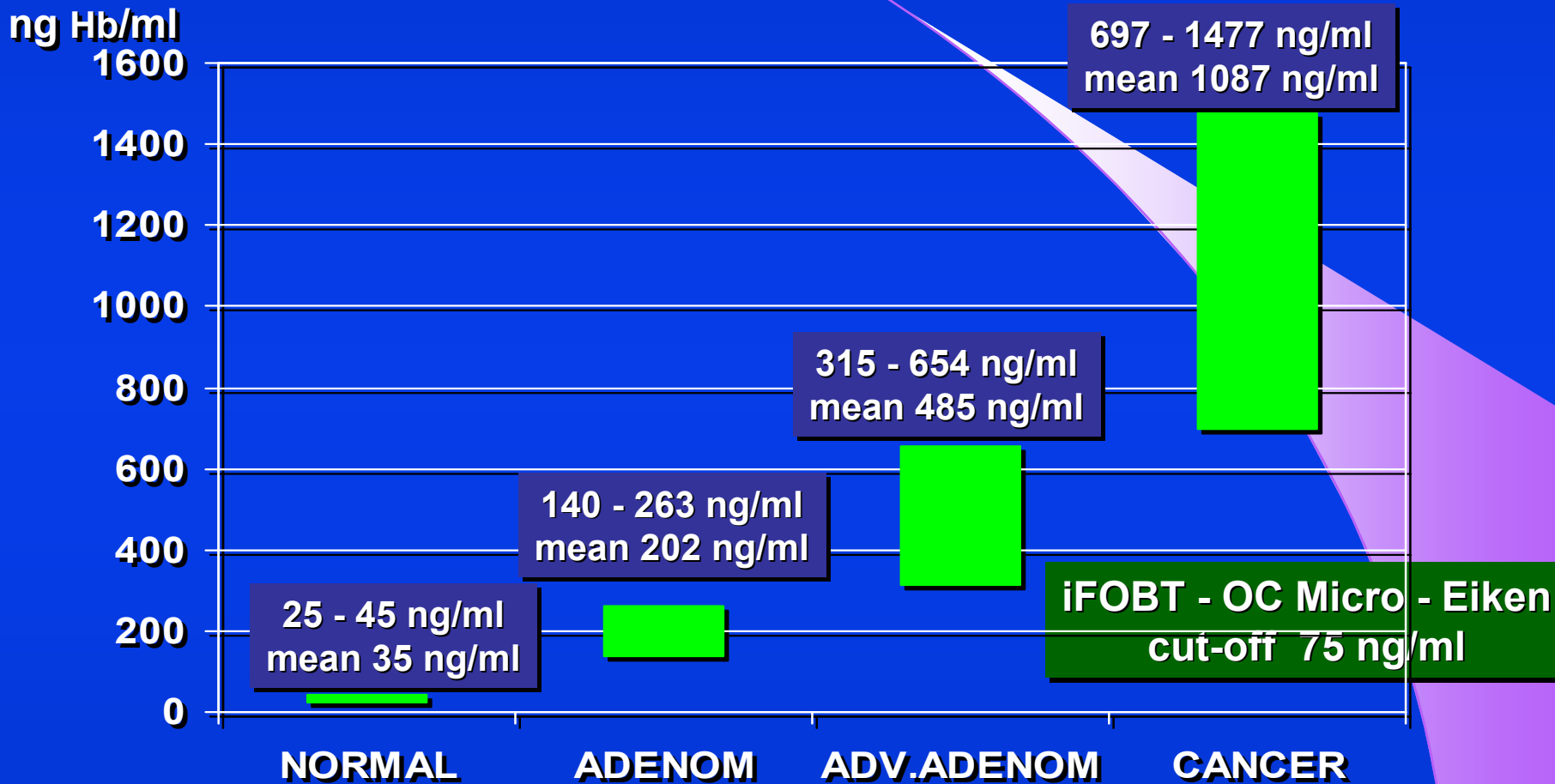
2020

Detekce okultního krvácení - TOKS
Pouze kvantitativní imunochemickou metodou - FIT
na analyzátoch laboratorních nebo POCT





KVANTITATIVNÍ DETEKCE Hb VE STOLICI - FIT

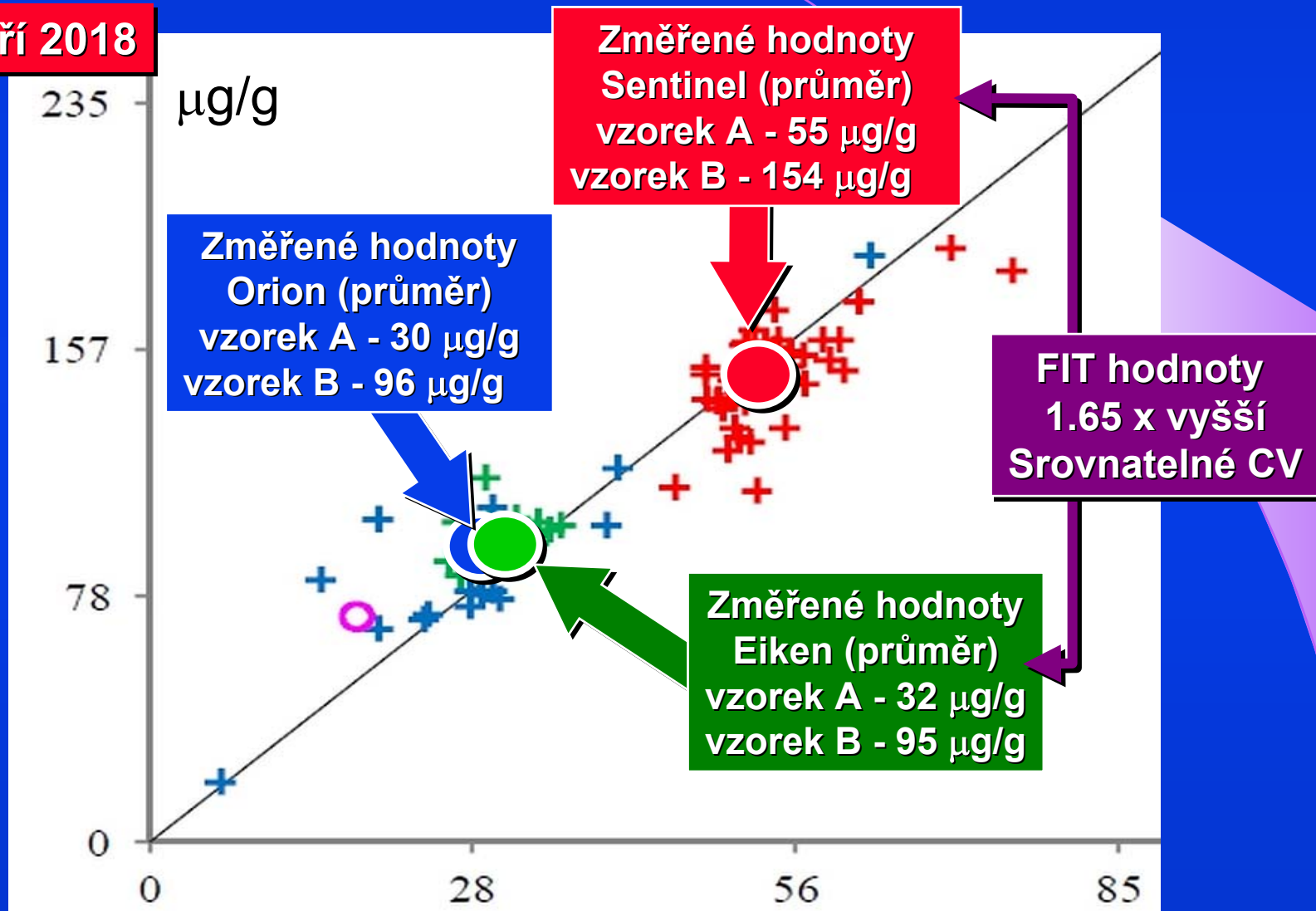


Levi Z., Rozen P., Hazazi R., Vilkin A., Waked A., Maoz E., Birkenfeld S., Leshno M., Niv Y.
Ann Intern Med. 2007;146:244-255

A Quantitative Immunochemical Fecal Occult Blood Test for Colorectal Neoplasia

SEKK EHK FOB – EXTERNÍ KONTROLA KVALITY

září 2018





Screening s cut-off 15 $\mu\text{g/g}$
podle studie **OC-Sensor - Eiken**

Předpokládaná pozitivita - 6.3 %

Screening realizován s testem
FOB Gold - Sentinel

Pozitivita FIT - 12.2 %

Modifikace cut-off na 47 $\mu\text{g/g}$
pro pozitivitu 6.3 %

Nejúčinnější screening
FIT, ročně, 45-80 let, 10 $\mu\text{g/g}$



Aktuálně realizovaný screening
FIT, 1x za 2 roky, 55-75 let, 47 $\mu\text{g/g}$

Nárok na kolonoskopie < Třetina nejučinnějšího screeningu

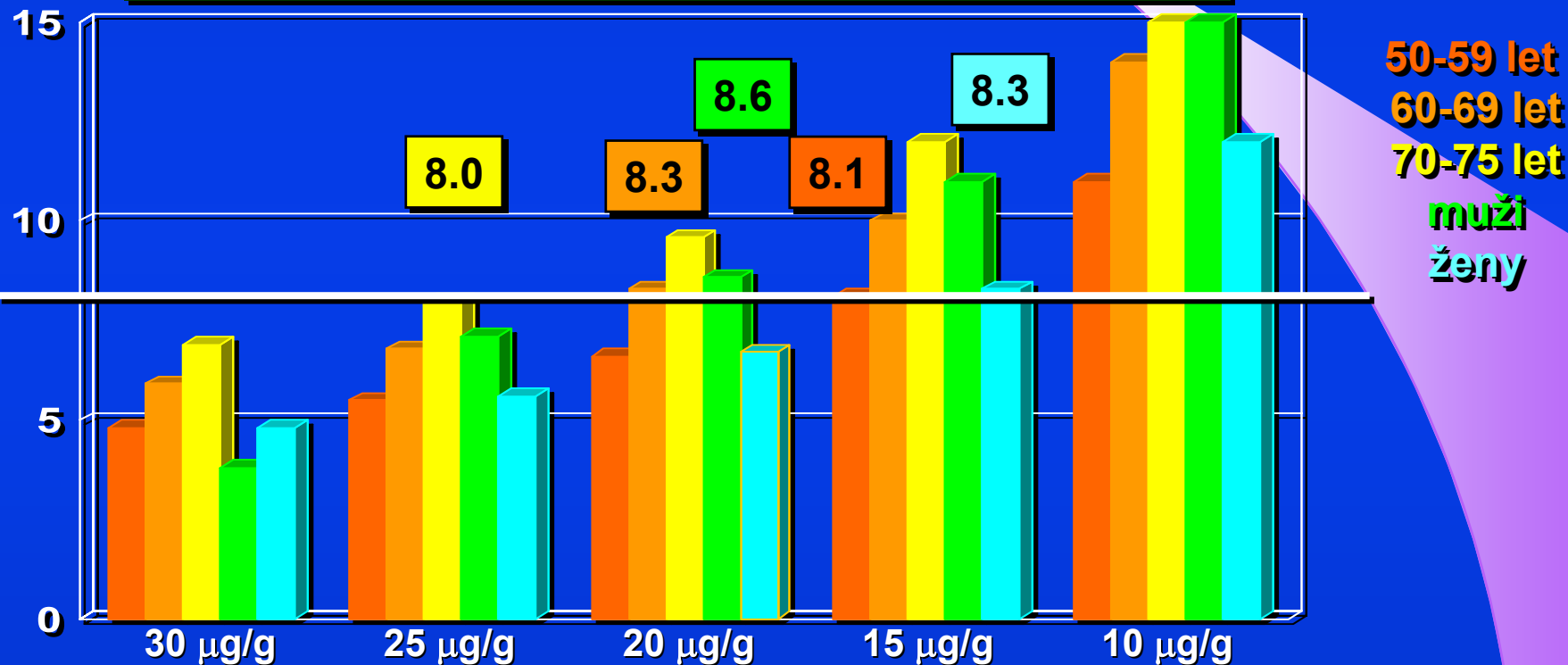
Iris Lansdorp-Vogelaar - Optimal FIT Screening for Men and Women in Case of Limited Colonoscopy Capacity: A Cost-Effectiveness Analysis

WEO CRC Screening Committee - FIT for Screening, Barcelona, October 2019



CUT-OFF PRO KVANTITATIVNÍ DETEKCI Hb VE STOLICI

Kaiser Permanente, 640 859 osob, cut-off pro pozitivitu 8%
muži 20 $\mu\text{g/g}$, ženy 15 $\mu\text{g/g}$,
50-59 let 15 $\mu\text{g/g}$, 60-69 let 20 $\mu\text{g/g}$, 70-75 let 25 $\mu\text{g/g}$

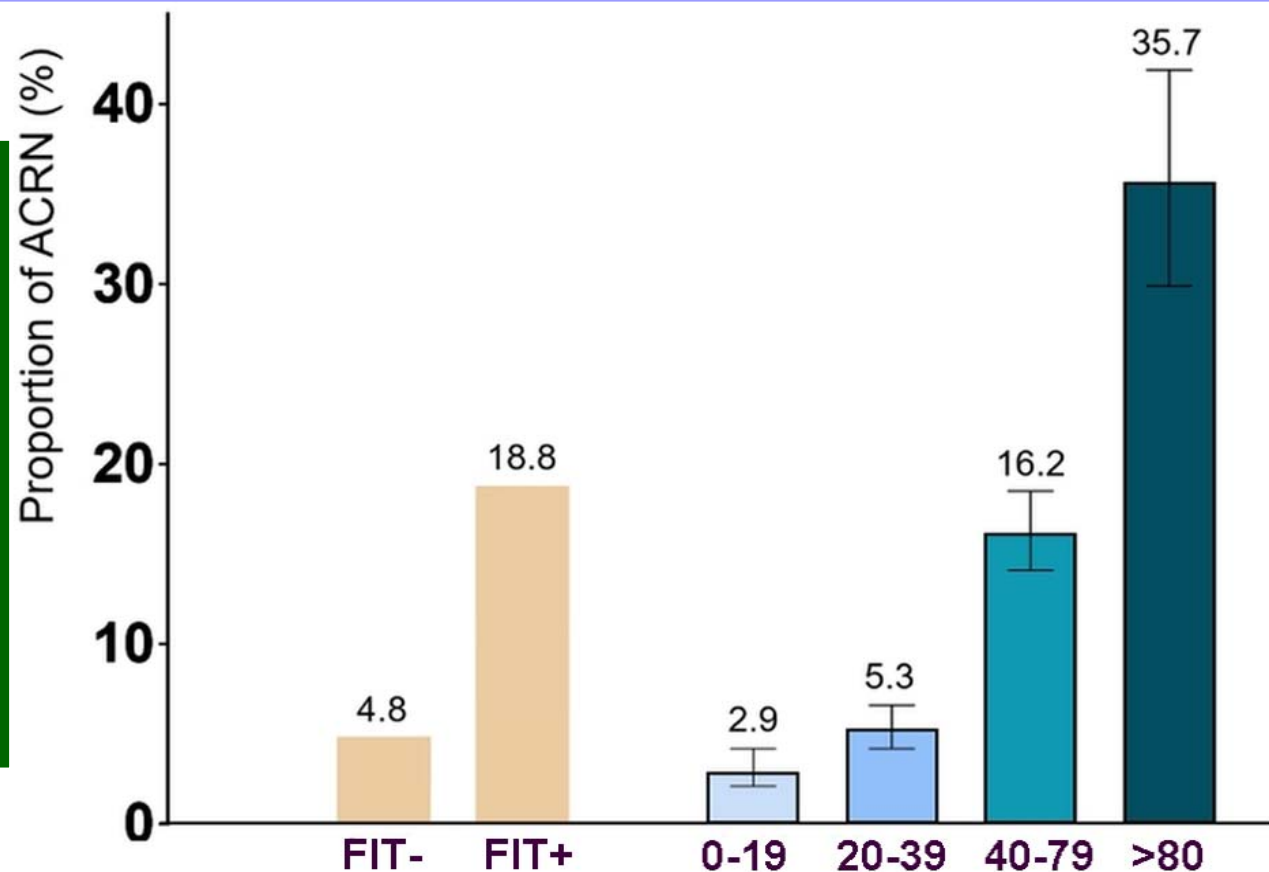


Selby K, Jensen CD, Lee JK, et al.: Influence of Varying Quantitative Fecal Immunochemical Test Positivity Thresholds on Colorectal Cancer Detection. *Ann Intern Med.* 2018 Oct 2;169(7):439-447

PERSONALIZOVANÝ SCREENING - ZÁCHYT ADENOMŮ a KRCA

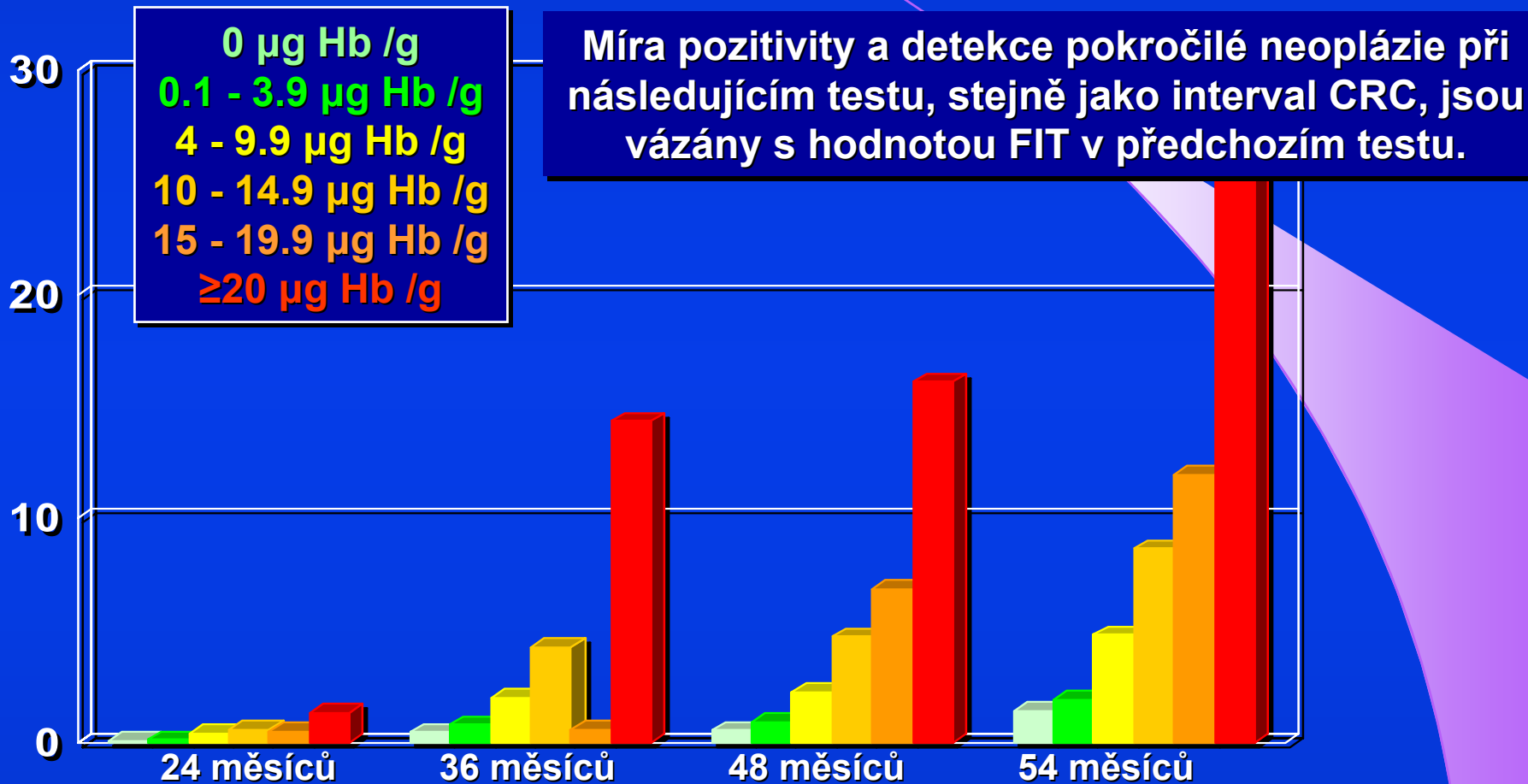
Procento nalezených pokročilých kolorektálních neoplasií

1. metodou FIT cut-off 20 $\mu\text{g/g}$ stolice
2. kriteriem rizika zahrnující FIT, věk, pohlaví, obezitu, kouření, diabetes



Usefulness of risk stratification models for colorectal cancer based on fecal hemoglobin concentration and clinical risk factors. Park CH, Jung YS, Kim NH, et al. Gastrointest Endosc. 2019 Jun; 89(6): 1204 - 1211

KUMULATIVNÍ HODNOTA DVOU NÁSLEDUJÍCÍCH FIT TESTŮ



Faecal haemoglobin concentration among subjects with negative FIT results is associated with the detection rate of neoplasia at subsequent rounds. Senore C, Zappa M, Campari C. et al.. Gut. 2020 Mar;69(3):523-530



RIZIKA VZNIKU KRCA - SYMPTOMATICKÁ POPULACE

Studie - země	Počet	Věk	Typ analýzy	Kriteria
van de Veerdonk W. 2018 - Belgie	57 421	56 - 74	Multifaktor. analýza	Věk, pohlaví, FIT
Cooper JA. 2017 - Anglie	1 810	60 - 75	Neuronová sít'	Věk, pohlaví, anamnéza screeningu, FIT
Jung YS. 2018 - Korea	12 270	nad 40	Bodové skóre	Věk, pohlaví, kouření, BMI, NSAID, anamnéza KRCA, hypertenze
Park CH. 2018 - Korea	34 658	nad 30	Multifaktor. analýza	Věk, pohlaví, kouření, BMI, hypertenze, diabetes
Li W. 2018 - Čína	550 007	60 - 74	Multifaktor. analýza	Věk, pohlaví, anamnéza, stres, onemocnění žlučníku, kvalitativní FIT

Towards risk-stratified colorectal cancer screening. Adding risk factors to the fecal immunochemical test: Evidence, evolution and expectations.

van de Veerdonk W, Hoeck S, Peeters M, Van Hal G. Prev Med. 2019 Sep;1

Epub: 10.1016/j.ypmed.2019.06.004



CUT-OFF PRO KVANTITATIVNÍ DETEKCI Hb VE STOLICI

**Porovnání FIT s MSDT studií, analýza DNA ve stolici metodou Cologuard.
3494 účastníků ve věku 50-84 let se screeningovou kolonoskopií v
soukromých gastroenterologických praktikách v Německu
Provedení komerčně dostupného kvantitativního FIT - FOB Gold.**

Kolono – diagnóza	DNA - Cologuard		FIT – FOB Gold		
	počet	senzitivita	počet	senzitivita-1	senzitivita-2
KRCA – karcinom	65	92,3 %	29	96,7 %	96,7 %
Adenom pokročilý	757	42,4 %	170	33,7 %	47,4 %
Adenom low-risk	2893	17,2 %	134	10,0 %	19,5 %

**Senzitivita-1: 17 µg/g (100 ng/ml) dle výrobce, senzitivita-2: 8,4 µg/g
nastavena na specificitu MSDT studie – 86.6%**

***Brenner H. Chen H. - Fecal occult blood versus DNA testing:
indirect comparison in a colorectal cancer screening population.
Clin Epidemiol. 2017 Jul 13;9:377-384.***



Helicobacter pylori antigen

Pankreatická elastáza

Gliadin 33-mer

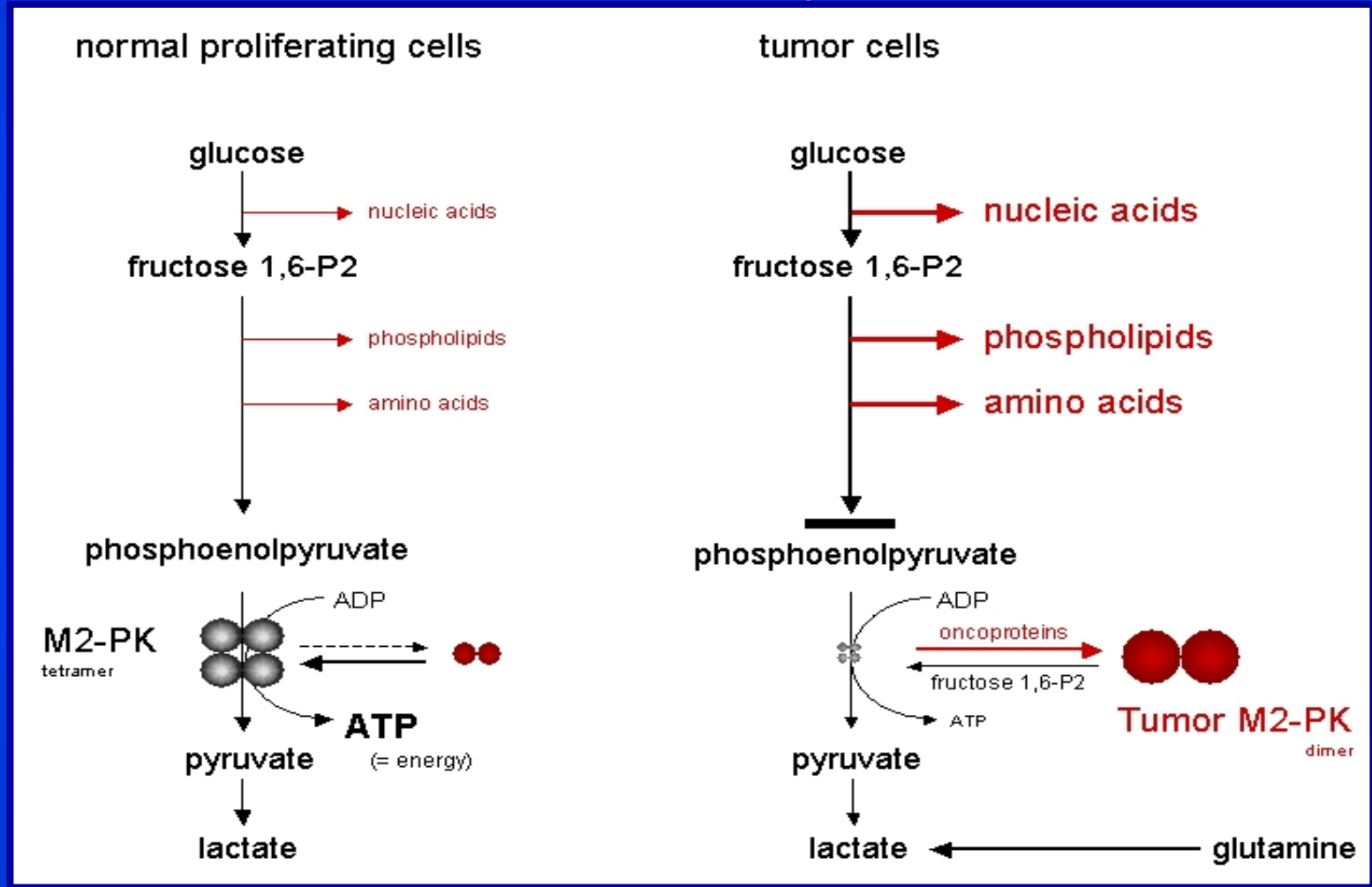
Alfa 1 antitrypsin

Calprotectin

Hemoglobin

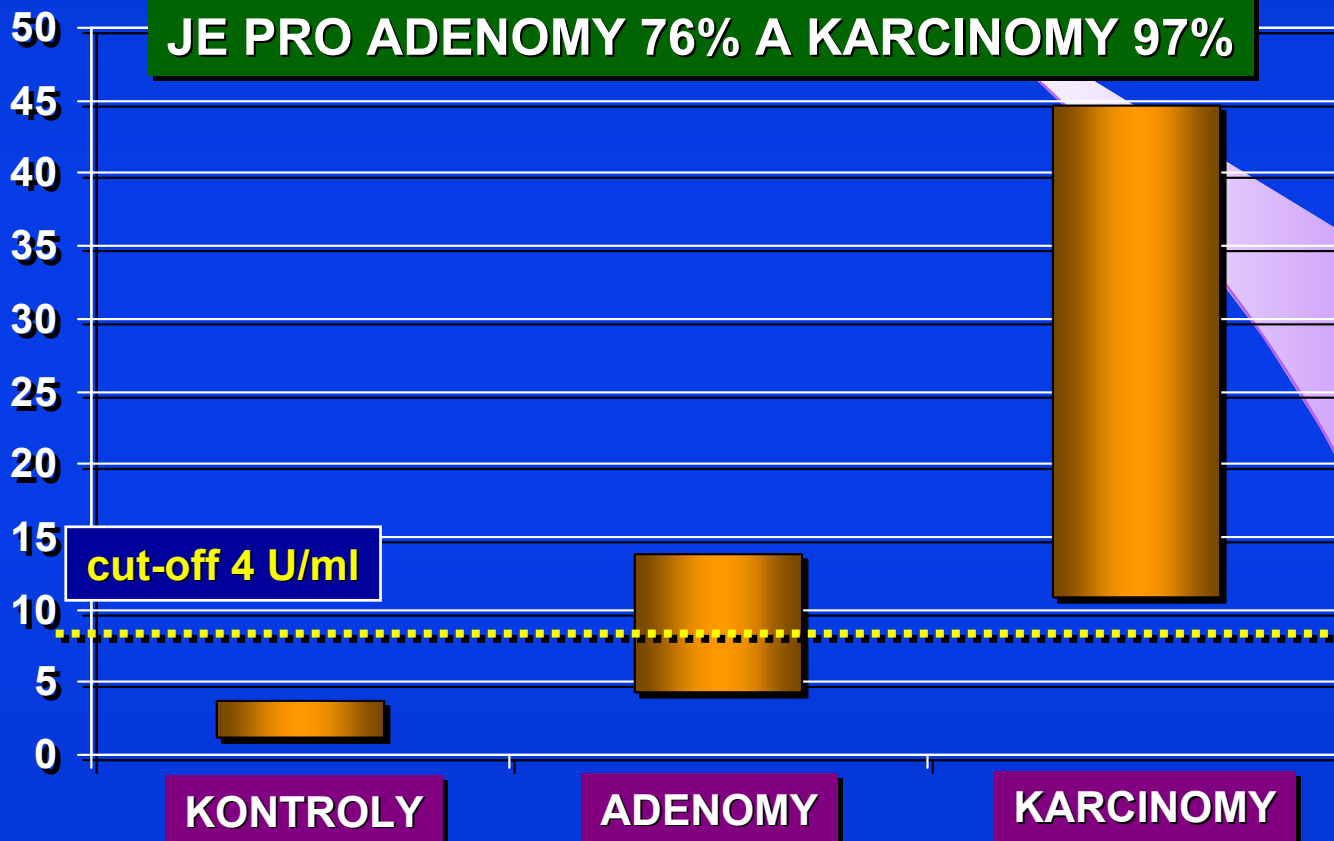
Pyruvát kináza M2 izoenzym

METABOLICKÝ VÝZNAM TETRAMERNÍ A DIMERNÍ FORMY M2-PK



SENZITIVITA M2-PK VE STOLICI PRO KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM

M2-PK U/ml

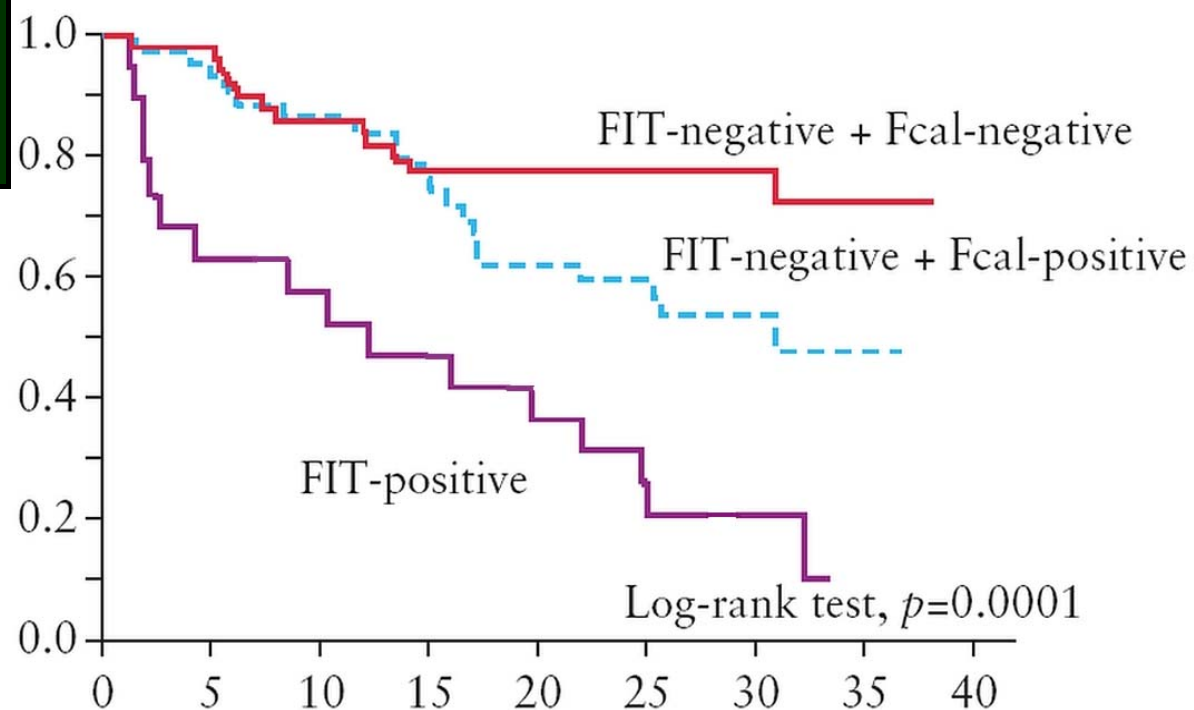


Tonus C, Sellinger M, Koss K, Neupert G.

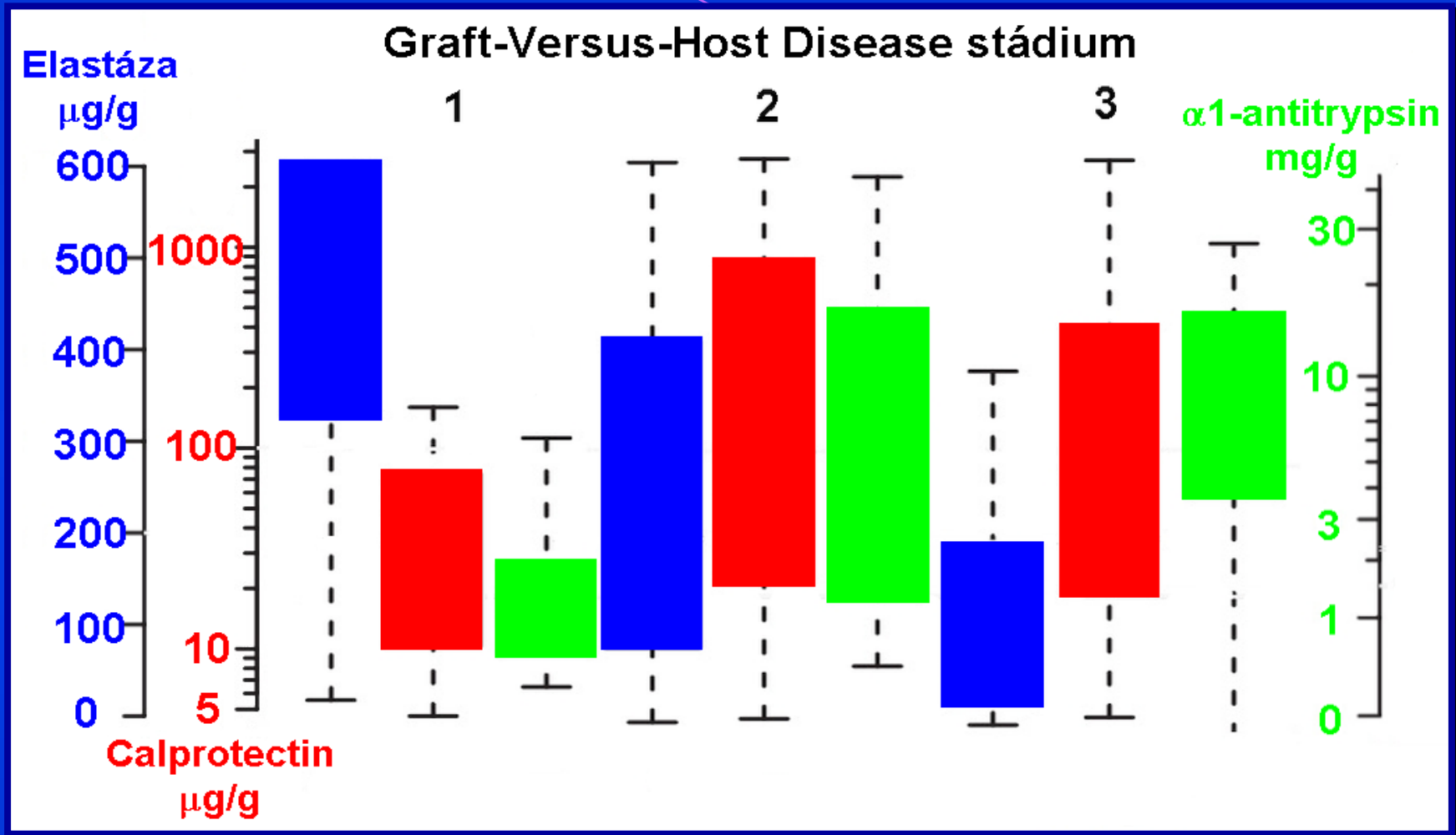
Faecal pyruvate kinase isoenzyme type M2 for colorectal cancer screening:
a meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(30):4004-4011

KOMBINACE MARKERŮ V E STOLICI

**FOLLOW-UP NEMOCNÝCH
S ULCERÓZNÍ KOLITÍDOU
FIT - MARKER HOJENÍ
FCALC - MARKER ZÁNĚTU**



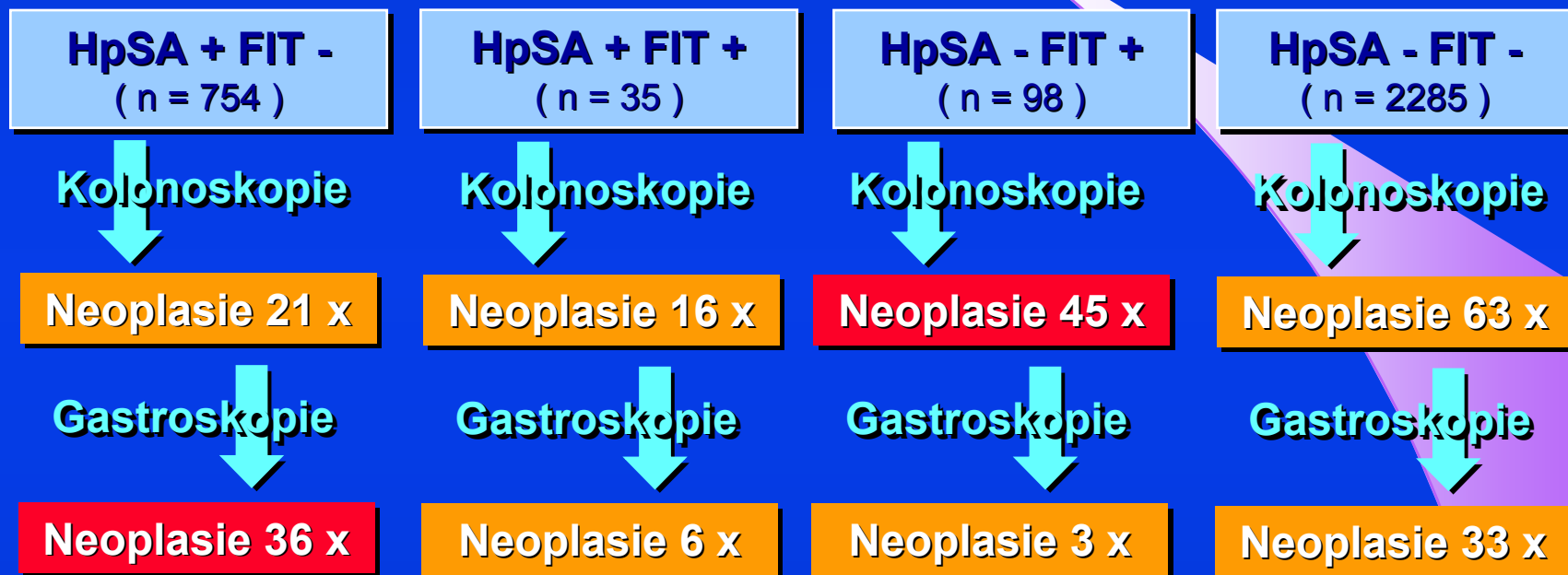
Nakarai A, Hiraoka S, Takahashi S. et al.: Simultaneous Measurements of Faecal Calprotectin and the Faecal Immunochemical Test in Quiescent Ulcerative Colitis Patients Can Stratify Risk of Relapse. J Crohns Colitis. 2018 Jan 5;12(1):71-76



Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de Latour R. et al. Fecal calprotectin and alpha-1 antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood* 2012, 119: 5909-5917

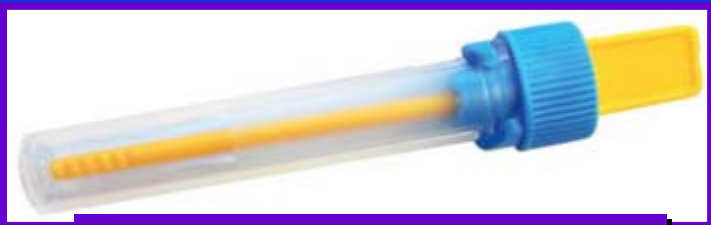


SCREENING KARCINOMU ŽALUDKU A KOLOREKTA



Lee YC, Chiu HM, Chiang TH, et al. Accuracy of faecal occult blood test and Helicobacter pylori stool antigen test for detection of upper gastrointestinal lesions. BMJ Open 2013;3:e003989.

ODBĚROVÝ SYSTÉM PRO NĚKOLIK TESTŮ



**IDK Extract
Single Tube Analytics**

Analyt	Stabilita 2-8 C
Calprotectin	9 dní
Lactoferrin	9 dní
Pancreatic elastase	7 dní
Hemoglobin	7 dní
Haptoglobin	7 dní
anti-Gliadin	7 dní
anti-transglutaminase	3 dny
s-IgA	7 dní
α_1 -antitrypsin	9 dní
Albumin	9 dní
Lysozyme	5 dní
β -Defensin 2	7 dní
Bile acids	7 dní
EDN Eosi.Deriv.Neurotoxin	5 dní



AUTOMATICKÉ ANALYZÁTORY NA STOLICI

**Hp ANTIGEN
FIT- HEMOGLOBIN
CALPROTECTIN
TRANSFERRIN**

OC-DIANA Eiken



Hybrid XL DRG



Senti-FIT 270 Sentinel



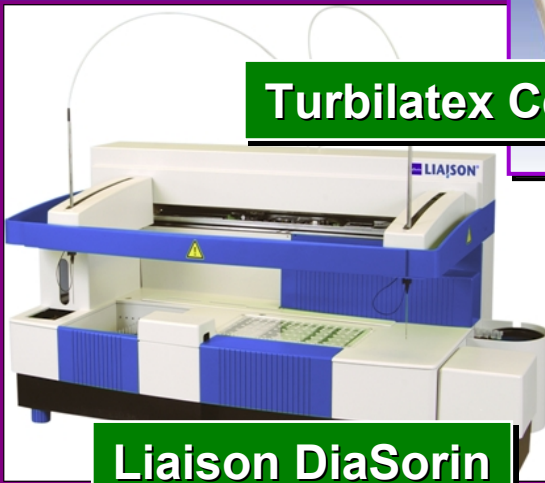
Turbilatex Cer Test



Kroma iT Linear



Liaison DiaSorin



AVE 562 - AVE Tech.



AA01 Alfresa Pharma





TAKE HOME MESSAGE

- ✓ Vyšetření stolice je nedílnou součástí diagnostiky a sledování efektu léčby u řady onemocnění postihující nejen GIT
- ✓ K rutinně používaným markerům ve stolici zatím patří zatím antigen *Helicobacteru pylori*, hemoglobin, elastáza, calprotectin
- ✓ Imunochemické techniky nabízejí výrazné rozšíření markerů ve stolici, alfa-1-antitrypsin, beta defensin-2, gliadin-33mer, haptoglobin, lactoferrin, transferrin a zonulin
- ✓ Panely markerů lze vyšetřit z jediného odběru vzorku a to jak pomocí POCT rapid testů, komplexní ELISA technologií, nebo na automatických analyzátorech
- ✓ Zcela zásadním aspektem pro význam markerů ve stolici je vyjadřování kvantitativních výsledků ve vztahu na množství stolice



1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE



DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST