

### APLICACIÓN

El sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS está diseñado para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos de tipo IgG frente a gliadina en suero humano. El sistema de pruebas está diseñado para ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de trastornos gastrointestinales, principalmente la enfermedad celíaca. Esta prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

### IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

La enfermedad celíaca es un trastorno inflamatorio del intestino delgado. Las prolaminas de determinados cereales, principalmente las gliadinas del trigo, inducen la enfermedad celíaca. Esta intolerancia permanente a la gliadina ocasiona el aplastamiento de las vellosidades intestinales e hiperplasia de las criptas en individuos susceptibles. Las reacciones inmunes a la gliadina es probable que jueguen un papel en la patogénesis de la enfermedad ya que las investigaciones demuestran que tanto las respuestas humorales como las mediadas por célula suceden en la sangre periférica y en el intestino de los pacientes celíacos (1).

Los signos clásicos de la enfermedad celíaca en adultos incluyen malabsorción caracterizada por pérdida de peso, distensión abdominal, diarrea y esteatorrea (que sucede debido a la pérdida del área de absorción y a la inmadurez de las células epiteliales de superficie). A comienzos de los 80, las características clínicas de la enfermedad celíaca cambiaron (2, 3). Hubo un desplazamiento hacia síntomas más leves, tal como indigestión en adultos y dolor abdominal recurrente en niños e hizo que los signos y síntomas clásicos de la enfermedad celíaca fueran una rareza. A pesar de la manifestación de lesiones en la mucosa, la enfermedad puede estar incluso libre de síntomas y ser clínicamente silente. Resulta evidente que la enfermedad existe o aparece tardíamente en niños, incluso aunque las formas clásicas con malabsorción no sean aparentes (4).

### FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de tipo IgG contra gliadina en suero humano. Los pocillos de las tirillas de micropocillos de plástico se sensibilizan mediante adsorción pasiva con antígeno de gliadina. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de antígeno. Los anticuerpos contra antígeno específico que existan en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
2. Se agrega anti-IgG humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgG inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

### COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

#### Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y SAVE Diluent®.**

|             |    |   |
|-------------|----|---|
| PLATE       | 1. | Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con el antígeno desactivado. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.   |
| CONJ        | 2. | Conjugado: anti-IgG humana (específica de la cadena Fc) de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Un vial de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.  |
| CONTROL +   | 3. | Control positivo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón rojo.   |
| CAL         | 4. | Calibrador (suero humano): un vial de 0,5 ml con tapón azul.  |
| CONTROL -   | 5. | Control negativo (suero humano): un vial de 0,35 ml con tapón verde.  |
| DIL SPE     | 6. | Diluyente SAVE Diluent®: un frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato, (pH 7,2 ± 0,2). Listo para usar. <b>NOTA: El diluyente SAVE Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.</b>   |
| SOLN TMB    | 7. | TMB: un frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.   |
| SOLN STOP   | 8. | Solución para detener la reacción: un frasco de 15 ml con tapón rojo con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.   |
| WASHBUF 10X | 9. | Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Un frasco de 100 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución azul). <b>NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.</b> |

#### NOTAS:

1. Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado. El diluyente SAVE Diluent® se puede usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS utilizando el n.º de producto 005CC.
2. El sistema de pruebas también contiene una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.

### PRECAUCIONES

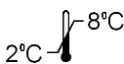
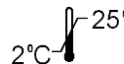
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, debido a que ningún método de prueba puede ofrecer completa seguridad de que estén ausentes agentes infecciosos, estos productos deben ser manejados según el Nivel 2 de Bioseguridad, como se recomienda para cualquier suero humano o muestra de sangre potencialmente infecciosos en el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Bioseguridad en los Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos): última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (5).

- Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.
- Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
- El diluyente SAVE Diluent®, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavado con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
- La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
- La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
- La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
- Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
- La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
- No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
- La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
- Nunca pipeteo con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
- La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
- Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
- No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
- Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
- Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
- Precución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
- No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.
- No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
- No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
- Agua destilada o desionizada.
- Probeta graduada de un litro.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio)

### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

|   |  |
|---|--|
|  | <p>Tirillas de micropocillos revestidos: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.</p> <p>Conjugado: NO CONGELAR.</p> <p>Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente SAVE Diluent® sin abrir</p> |
|  | <p>Solución para detener la reacción: 2 - 25°C</p> <p>Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C.</p> <p>Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C</p>   |

### RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

- ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
- Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
- Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (6, 7). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
- Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (9).

### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).

- Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

| EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA |                  |            |
|--------------------------------------|------------------|------------|
|                                      | 1                | 2          |
| A                                    | Blanco           | Paciente 3 |
| B                                    | Control negativo | Paciente 4 |
| C                                    | Calibrador       | etc.       |
| D                                    | Calibrador       |            |
| E                                    | Calibrador       |            |
| F                                    | Control positivo |            |
| G                                    | Paciente 1       |            |
| H                                    | Paciente 2       |            |

- Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVE Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: el diluyente SAVE Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.**
- A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
- Añada 100 µl de diluyente SAVE Diluent® al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
- Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
  - Procedimiento de lavado manual:**
    - Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
    - Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
    - Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.
    - Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.
  - Procedimiento de lavado automático:**  
Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300-350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.
- Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
- Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
- Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
- Incuba la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
- Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
- Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

#### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO

- Diluya el suero 1:21.
- Añada la muestra diluida al micropocillo - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 25 ± 5 minutos.
- Lave.
- Añada el conjugado - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 25 ± 5 minutos.
- Lave.
- Añada la TMB - 100 µl/micropocillo.
- Incube durante 10 - 15 minutos.
- Añada la solución para detener la reacción - 50 µl/micropocillo - Mezcle.
- LEA en el transcurso de 30 minutos.

#### CONTROL DE CALIDAD

- El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
- Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
- El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

|                  | <u>Intervalo de DO</u> |
|------------------|------------------------|
| Control negativo | ≤ 0,250                |
| Calibrador       | ≥ 0,300                |
| Control positivo | ≥ 0,500                |

- El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≤ 0,9.
  - El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≥ 1,25.
  - Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
- Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
  - Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.

6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al Calibrador incluido en este Sistema de prueba se le ha asignado un Factor de Corrección para la generación de Valores Índice y un Valor de Calibrador para la generación de Valores Unitarios. Basándose en pruebas de muestras de estado normal y de enfermedad, el fabricante ha determinado un Valor Unitario máximo y se ha correlacionado con el Calibrador.

#### 1. Cálculos

- Factor de corrección:** El fabricante ha determinado un valor de DO como límite de referencia para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite calcular el límite de referencia de las muestras positivas. Asimismo, permite corregir las pequeñas variaciones cotidianas de los resultados de las pruebas. El factor de corrección se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la etiqueta de componentes que se encuentra en la caja del sistema de pruebas.
- Límite de referencia de la DO:** Para obtener el límite de referencia de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador determinado anteriormente.  
( $FC \times \text{media de DO del calibrador} = \text{límite de referencia de la DO}$ )
- Valores índice/cocientes de DO:** Calcule el valor índice/cociente de DO de cada muestra dividiendo su valor de DO por el límite de referencia de la DO del paso b.

|          |   |   |                             |
|----------|---|---|-----------------------------|
| Ejemplo: | DO media del calibrador                   | = | 0,793                       |
|          | Factor de corrección (FC)                 | = | 0,25                        |
|          | Límite de referencia de la DO             | = | $0,793 \times 0,25 = 0,198$ |
|          | DO de muestra desconocida                 | = | 0,432                       |
|          | Valor índice/cociente de DO de la muestra | = | $0,432/0,198 = 2,18$        |

- Conversión de Densidad Óptica en AAU/ml:** La conversión de la DO en Valor Unitario (AAU/ml) se puede representar mediante la siguiente ecuación:  $\text{Muestra de prueba AAU/ml} = (A \times B) / C$ , En donde: AAU/ml = Valor Unitario desconocido a ser determinado; A = OD de la muestra de prueba en cuestión; B = Valor Unitario del Positivo del calibrador (AAU/ml) y C = Media de la DO del calibrador.

|          |  |   |
|----------|--|---|
| Ejemplo: | DO de la muestra de prueba = 0,946         | AAU de la muestra de prueba/ml = $(0,946 \times 155) / 0,435$ |
|          | DO del calibrador = 0,435                  | Muestra de prueba = 337 AAU/ml                                |
|          | Valor unitario del calibrador = 155 AAU/ml |   |

2. **Interpretaciones:** Los valores índice/cocientes de DO se interpretan como se indica a continuación:

|                    | Valores unitarios  | Valor índice/cociente de DO |
|--------------------|--------------------|-----------------------------|
| Muestras negativas | Muestras negativas | $\leq 0,90$                 |
| Muestras dudosas   | 150 a 180 AAU/ml   | 0,91 a 1,09                 |
| Muestras positivas | > 180 AAU/ml       | $\geq 1,10$                 |

Vuelva a analizar por duplicado las muestras con valores del coeficiente de DO comprendidos en el intervalo dudoso (0,91 – 1,09). Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la evaluación de las muestras dudosas utilizando un método serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- No se debe emitir un diagnóstico que se base exclusivamente en los resultados del sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS. Utilice los resultados del sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- La enfermedad de Crohn y otros trastornos gastrointestinales o de intolerancia a las proteínas de los alimentos pueden inducir la circulación de anticuerpos frente a la gliadina y causar un falso positivo.
- La significancia clínica de los resultados de una prueba dependerá de su relación con otros datos médicos del paciente. Los médicos deben basar siempre el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad en la evaluación de toda la información pertinente del paciente.
- ZEUS Scientific no ha establecido valores para la población pediátrica con este ensayo.
- Un resultado negativo de IgA anti gliadina en un paciente no tratado no descarta la enteropatía sensible al gluten cuando se asocia con altos niveles de anticuerpos IgG anti gliadina. La deficiencia selectiva de IgA es un hallazgo relativamente frecuente en la enfermedad celíaca.

### RESULTADOS ESPERADOS

Se analizaron trescientas cinco (305) muestras para establecer o estimar la tasa de reactividad esperada con el ensayo. Esto representó dos grupos de muestras: 255 muestras clínicas enviadas al laboratorio para realizar análisis serológicos de gliadina de rutina o que fueron parte de un estudio de gliadina externo y 50 muestras aleatorias de donantes normales. Respecto a la población clínica, 159/255 (62,3%) fueron positivas, 94/255 (36,9%) fueron negativas y 2/255 (0,8%) ofrecieron resultados dudosos. Respecto a la población normal, 49/50 (98,0%) fueron negativas y 1/50 (2,0%) fueron dudosas.

### CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

#### 1. Estudio comparativo:

Se ha realizado un estudio comparativo interno para demostrar la equivalencia del sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS con otro sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG comercial. Se evaluó el comportamiento utilizando 305 muestras y los resultados se resumen en la Tabla 1 que sigue a continuación:

|                               |          | Sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS |          |          |       |
|-------------------------------|----------|--|----------|----------|-------|
|                               |          | Negativo                                     | Dudoso** | Positivo | Total |
| Kit ELISA<br>ELISA<br>de Zeus | Negativo | 130  | 1        | 6        | 137   |
|                               | Dudoso** | 8  | 1        | 13       | 22    |
|                               | Positivo | 5  | 1        | 140      | 146   |
|                               | Total    | 143  | 3        | 159      | 305   |

Sensibilidad relativa =  $140/145 = 96,6\%$   
Especificidad relativa =  $130/136 = 95,6\%$   
Concordancia relativa =  $270/281 = 96,1\%$

Intervalo de confianza de 95% = de 94% a 100%  
Intervalo de confianza de 95% = de 92% a 99%  
Intervalo de confianza de 95% = de 94% a 98%

\*\* Datos excluidos de los cálculos

#### 2. Reproducibilidad:

Con objeto de evaluar la variación intraensayo e interensayos, varios técnicos analizaron internamente ocho muestras: dos muestras fuertemente positivas, dos muestras cercanas a la zona de corte, dos muestras escasamente negativas y los controles positivo y negativo del kit. En cada uno de los tres días, un técnico analizó cada muestra una vez al día, ocho veces cada una, dando lugar a 24 puntos de prueba. Un responsable calculó el cociente de DO medio y el coeficiente de variación de los datos resultantes. A continuación se presenta un resumen de los resultados del experimento.

| Kit uno   | Intraensayo (n=8) |              |         |              |          |              | Interensayos (n=24) |              |
|-----------|-------------------|--------------|---------|--------------|----------|--------------|---------------------|--------------|
|           | Día uno           |              | Día dos |              | Día tres |              |                     |              |
|           | Muestra (N)       | Media AAU/ml | % CV    | Media AAU/ml | % CV     | Media AAU/ml | % CV                | Media AAU/ml |
| Muestra 1 | 119               | 5,9          | 117     | 5,7          | 93       | 7,3          | 110                 | 12,5         |
| Muestra 2 | 53                | 13,1         | 44      | 6,5          | 37       | 9,3          | 44                  | 18,2         |
| Muestra 3 | 686               | 8,9          | 652     | 5,2          | 697      | 4,0          | 678                 | 6,8          |
| Muestra 4 | 192               | 9,9          | 165     | 5,2          | 171      | 4,7          | 176                 | 9,8          |
| Muestra 5 | 726               | 9,3          | 677     | 5,5          | 787      | 8,1          | 730                 | 9,8          |
| Muestra 6 | 526               | 11,5         | 481     | 4,0          | 475      | 6,8          | 494                 | 9,2          |
| NC        | 13                | 20,8         | 12      | 3,4          | 6        | 24,4         | 10                  | 35,0         |
| PC        | 1007              | 5,6          | 981     | 4,1          | 1131     | 7,3          | 1040                | 8,6          |

| Kit dos   | Intraensayo (n=8) |              |         |              |          |              | Interensayos (n=24) |              |
|-----------|-------------------|--------------|---------|--------------|----------|--------------|---------------------|--------------|
|           | Día uno           |              | Día dos |              | Día tres |              |                     |              |
|           | Muestra (N)       | Media AAU/ml | % CV    | Media AAU/ml | % CV     | Media AAU/ml | % CV                | Media AAU/ml |
| Muestra 1 | 120               | 5,3          | 113     | 7,1          | 99       | 6,7          | 110                 | 10,1         |
| Muestra 2 | 51                | 13,2         | 41      | 6,2          | 36       | 12,5         | 42                  | 18,4         |
| Muestra 3 | 698               | 8,5          | 681     | 3,0          | 648      | 13,4         | 676                 | 9,3          |
| Muestra 4 | 194               | 10,4         | 170     | 8,7          | 164      | 6,0          | 176                 | 11,4         |
| Muestra 5 | 744               | 8,8          | 720     | 6,0          | 758      | 3,0          | 741                 | 6,5          |
| Muestra 6 | 540               | 11,2         | 485     | 11,2         | 484      | 4,9          | 503                 | 10,7         |
| NC        | 11                | 21,0         | 8       | 11,2         | 8        | 17,4         | 9                   | 24,9         |
| PC        | 1033              | 5,6          | 1091    | 5,1          | 1029     | 5,5          | 1051                | 5,8          |

### 3. Reactividad cruzada:

Para investigar el potencial de reacciones positivas debido a anticuerpos con reactividad cruzada, se analizaron veintiséis muestras que fueron reactivas a varios autoanticuerpos (ANA, PR3, MPO, cardiolipina, y ADNcd, ENA, Jo-1, RF, Scl-70, Sm, Sm/RNP, SSA y SSB) en el sistema de pruebas ELISA Gliadin IgG de ZEUS. Veinticuatro de veintiséis (24/26) fueron negativas para actividad IgG gliadina, mientras que dos de veintiséis (2/26) fueron positivas. Los resultados de este estudio indican que el potencial de interferencia debido a reactividad cruzada con tales autoanticuerpos es improbable.

### REFERENCIAS

1. Trocone R, Ferguson A: Anti-gliadin Antibodies. J. of Ped. Gastro and Nut. 12:150-158, 1991.
2. Swinson CM, Levi AJ: Is coeliac disease underdiagnosed? BMJ 281:1258-1260, 1980.
3. Logan RFA, tucker G, Rifkind EA, Heading RC, Ferguson A: Changes in clinical features of coeliac disease in adults in Edinburgh and the Lothians 1960-79. BMJ 286:95-97, 1983.
4. Maki M, Kallonen K, Lahdeaho ML, Visakorpi JK: Changing pattern of childhood coeliac disease in Finland. Acta Paediatr Scand 77:408-412, 1988.
5. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
7. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
8. U.S. Department of Labor (OSHA): Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. 21CFR 1910.1030.
9. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific**  
 200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA  
 Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Opción 2  
 International: +1 908-526-3744  
 Fax: +1 908-526-2058  
 Website: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)  
 ZEUS ELISA y SAVE Diluent<sup>®</sup> son marcas registradas de ZEUS Scientific

Para Asistencia al cliente en EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.  
 Para Asistencia técnica en EE. UU., comuníquese con ZEUS Scientific: llame al número gratuito o escriba un e-mail [support@zeusscientific.com](mailto:support@zeusscientific.com).  
 Para consultas a Asistencia al cliente y Asistencia técnica fuera de EE. UU., comuníquese con su distribuidor local.  
 ©2017 ZEUS Scientific Todos los derechos reservados.

