



AESKUBLOTS®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

**INSTRUCTION
MANUAL**

AESKUBLOTS® Gastro Pro
Ref 4005

Manual de instrucciones

Tabla de contenidos

1	Utilización	1
2	Aplicaciones clínicas y principio del análisis.....	1
3	Contenido del kit	2
4	Almacenamiento y caducidad	2
5	Precauciones de uso e instrucciones generales	3
6	Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras	4
7	Procedimiento del ensayo.....	4
8	Interpretación cualitativa	8
9	Datos técnicos	9
10	Datos de rendimiento.....	10
11	Bibliografía.....	18



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

1 Utilización

AESKUBLOTS® Gastro Pro es un enzimoimmunoensayo de membrana para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgA frente a gliadina, tTg neo-epitope, manano (ASCA), antígeno de células parietales y factor intrínseco en. Los antígenos se sitúan en forma de líneas paralelas en posiciones exactamente definidas sobre la membrana de nitrocelulosa.

El ensayo se utiliza para el diagnóstico de la celiaquía, la anemia perniciosa y la enfermedad inflamatoria intestinal.

2 Aplicaciones clínicas y principio del análisis

Las distintas secciones del tubo gastrointestinal pueden verse afectadas por enfermedades autoinmunitarias gastrointestinales. Estas enfermedades a menudo se diagnostican años después del inicio de los síntomas y en muchos casos tienen una evolución grave.

Los pacientes celíacos a menudo sufren deficiencia de IgA. A fin de evitar resultados falsos negativos, este análisis detecta los anticuerpos IgA e IgG.

Los anticuerpos contra:

- gliadina son típicos de la celiaquía. Esencialmente, el tipo IgA es específico de la celiaquía. Los anticuerpos del tipo IgG aparecen en el 40-50 % de los pacientes con enfermedad de Crohn y también en el 10-20 % de los pacientes con colitis ulcerosa.
- el neo-epítoto de la tTg (neo-tTg; transglutaminasa tisular reticulada con péptidos específicos de gliadina) constituye un marcador fiable de la celiaquía y de la dermatitis herpetiforme (enfermedad de Duhring). Debido a la similitud estructural con los epítotos fisiológicos, los anticuerpos contra el neo-epítoto de la tTg muestran una mayor sensibilidad y especificidad que los anticuerpos anti-tTg (sensibilidad 98-100%, especificidad 93-96%).
- Manano (ASCA) tienen una especificidad del 97 % para la enfermedad de Crohn. Son esenciales para el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Hasta un 75 % de los pacientes con la enfermedad de Crohn muestran, al contrario de los pacientes con colitis ulcerosa, un aumento del nivel de anticuerpos.
- células parietales se pueden detectar mediante una prueba de inmunofluorescencia en el 80-90 % de los pacientes con anemia perniciosa, aunque también se pueden encontrar en el 2-5 % de los individuos sanos. También aparecen en pacientes con enfermedades endocrinas autoinmunitarias y gastritis atrófica crónica de tipo A.
- factor intrínseco indican anemia perniciosa con una sensibilidad del 50-70 % y una especificidad del 100 % en una población de donantes de sangre sanos. Además, estos anticuerpos también se detectan en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunitarias y gastritis atrófica crónica de tipo A.

Principio del análisis

Los antígenos se aplican en forma de líneas sobre una membrana de nitrocelulosa. La membrana se bloquea para impedir reacciones no específicas. Las tiras de membrana con antígenos específicos se incuban en posiciones exactamente definidas en muestras de suero diluidas en una proporción de 1:101. Los anticuerpos del paciente, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por lavado en el paso siguiente. Después se incuban inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa de rábano picante (conjugado), que reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras. El conjugado no unido se elimina por lavado en el paso siguiente. Tras la adición del sustrato TMB, una reacción enzimática convierte el conjugado en un precipitado azul. La reacción se detiene con agua destilada.

3 Contenido del kit

SE DEBE RECONSTITUIR				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Reactivo bloqueante	3 x para 10 ml de concentrado o cada uno	blanco	N/A	Leche descremada en polvo para preparación de 3 x tampón para muestra de 10 ml
Tampón de lavado (20x)	1 x 50 ml	blanco	incolore	Concentrado 20 veces para preparación de 1 l tampón Tris, pH 6,9 ± 0,2
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Conjugado, IgG	1 x 10 ml	azul	incolore	Contiene: Inmunoglobulina anti-humana G (IgG) conjugada con peroxidasa de rábano picante
Conjugado, IgA	1 x 10 ml	rojo	incolore	Contiene: Inmunoglobulina anti-humana A (IgA) conjugada con peroxidasa de rábano picante
Sustrato TMB	1 x 10 ml	negro	incolore	TMB/H ₂ O ₂ estabilizada
Tiras de membrana	24 tiras	Codificación por colores: Negro	N/A	Antígenos recubiertos, véase Utilización
Pinzas, plantilla de referencia, hoja de resultados, cinta adhesiva (doble cara, blanco)	1 por cada kit	N/A	N/A	N/A
bandeja de incubadora	3 por cada kit	N/A	N/A	N/A
Etiquetas de tampón para muestra	3 por cada kit	N/A	N/A	N/A
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO				
Plataforma de agitación, cilindro para 1000 ml, cilindro o pipeta para 10 ml, pipetas de precisión (10, 1000 µl), papel de filtro o absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para usarse con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4. ^a ed.).				

4 Almacenamiento y caducidad

Conserve todos los reactivos y las tiras de membrana a una temperatura de 2-8 °C/35,6-46,4 °F en los envases originales. Una vez preparado el tampón de lavado reconstituido y abiertas las tiras, el conjugado y el TMB son estables a una temperatura de 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante, al menos, seis semanas. El reactivo bloqueante reconstituido es estable a una temperatura de 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante, al menos, tres semanas. Los reactivos y las tiras han de utilizarse antes de la fecha de caducidad indicada en cada uno de los componentes. No utilice los componentes después de esa fecha. Evite que la solución de TMB se vea expuesta de forma intensa a la luz.

5 Precauciones de uso e instrucciones generales

5.1 Datos sobre riesgos para la salud

Este producto es para uso exclusivo en DIAGNÓSTICO IN VITRO. Por lo tanto, sólo el personal formado y especialmente asesorado en métodos de diagnóstico in vitro puede realizar el kit.

Todos los componentes del kit están clasificados según el Reglamento (CE) nº 1272/2008 [CLP]. Consulte el Documento de Materiales y Seguridad (MSDS) para obtener más información sobre los ingredientes.

Las sustancias incluidas en la denominada "Lista de sustancias candidatas a autorización (SVHCV)" de la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos (ECHA) no son componentes intencionales de este producto. Por lo tanto, no cabe esperar que estas sustancias estén contenidas en cantidades $\geq 0,1\%$ en el producto.

Los reactivos deben almacenarse de forma segura y ser inaccesibles para los niños.

En particular, la mezcla no contiene sustancias en concentraciones $\geq 0,1\%$ para ser clasificadas como PBT o mPmB.

Las muestras de pacientes deben considerarse potencialmente infecciosas y manipularse de acuerdo con la legislación nacional. Las muestras de pacientes y otro material potencialmente infeccioso deben descontaminarse después de.

5.2 Instrucciones generales de uso

A fin de diferenciar los distintos análisis **AESKUBLOTS®** disponibles, se aplica una codificación por colores encima de la línea de referencia de las tiras:

Codificación por colores	AESKUBLOTS®
Rojo	ANA-17 comp
Naranja	ANA-17 Pro
Azul	Myositis Pro
Marrón	Liver Pro
Púrpura	Vasculitis Pro
Negro	Gastro Pro
Verde	Borrelia-G y Borrelia-M

En caso de que observe datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

El reactivo bloqueante y el tampón de lavado se pueden intercambiar entre lotes y kits de análisis. Los componentes restantes son específicos de cada kit de prueba y no se deben intercambiar. No intercambiar los componentes de los reactivos entre los kits de autoinmunidad y borrelia.

No utilice recipientes de poliestireno para manipular el conjugado.

Permita que todos los componentes alcancen la temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) antes de utilizarlos, mézclelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para conseguir un rendimiento óptimo.

No exponga nunca los componentes a temperaturas superiores a los 37 °C/98,6 °F.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Pipetee siempre la solución de sustrato con puntas completamente nuevas. Proteja el reactivo de la luz. No pipetee nunca el conjugado con puntas utilizadas anteriormente con otros reactivos.

La intensidad del color de banda no está necesariamente correlacionada con los títulos de anticuerpos obtenidos mediante otras metodologías de referencia.

Las muestras obtenidas de donantes de sangre aparentemente sanos pueden contener autoanticuerpos.

Si la muestra del paciente contiene niveles elevados de inmunocomplejos u otros agregados de inmunoglobulina, no se podrán descartar falsos positivos provocados por uniones no específicas.

El diagnóstico clínico definitivo no debería fundamentarse únicamente en los resultados de la prueba realizada, sino que debería llevarlo a cabo el médico una vez evaluados todos los datos clínicos y analíticos. El diagnóstico debe verificarse utilizando diferentes métodos de diagnóstico.

6 Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras

Deben utilizarse preferentemente muestras de suero/plasma recién extraídas. La extracción de sangre debe cumplir los requisitos de protocolo de su país. No deben utilizarse muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas ni contaminadas con bacterias. Las muestras de suero/plasma con partículas se deben limpiar mediante centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de suero/plasma han de utilizarse durante las primeras 8 horas. Como alternativa, las muestras deberían conservarse en viales herméticamente cerrados a 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante un máximo de 48 horas o congelados a -20 °C/-4 °F durante periodos más prolongados. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4) Evite congelar y descongelar las muestras repetidas veces. No utilice muestras inactivadas térmicamente (56°C/132,8°F).

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de comenzar

Confirme que no se hayan formado cristales salinos en el concentrado. En caso de que esto ocurra, caliente ligeramente el concentrado (basta con utilizar temperatura ambiente) para disolver los cristales.

Diluya la solución concentrada de tampón de lavado a 1:20 con agua destilada (por ejemplo, 950 ml con 50 ml).

Para preparar un tampón para muestra: agregue 10 ml de tampón de lavado a un frasco de Reactivo bloqueante y mezcle bien.

7.2 Pasos del análisis

Notas importantes:

Siga exactamente este protocolo. Asegúrese de que los dos componentes mencionados en el protocolo se añaden a la bandeja en los pasos 2, 6, 9.

No permita que la tira se seque durante los pasos de incubación.

No toque la tira con los dedos; use las pinzas.

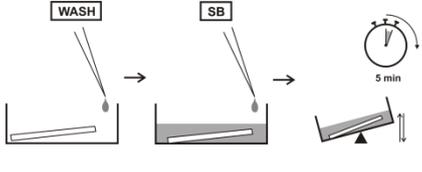
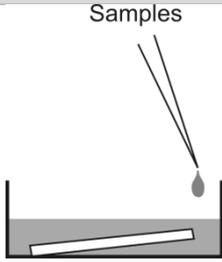
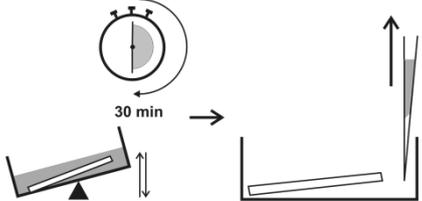
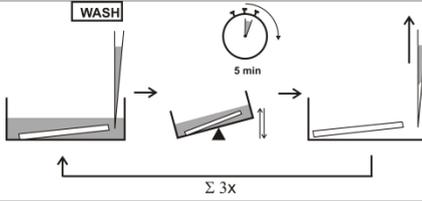
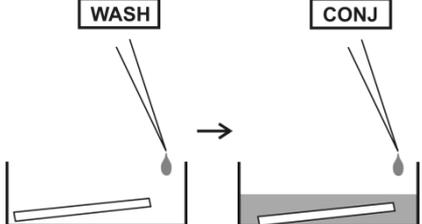
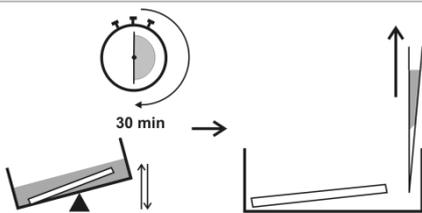
Retire por completo las muestras diluidas tras la incubación de la tira a fin de evitar su arrastre.

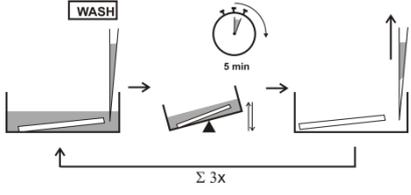
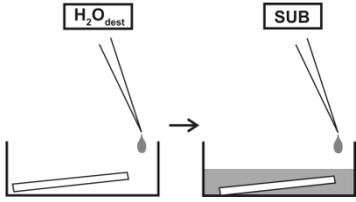
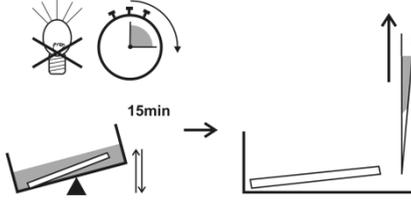
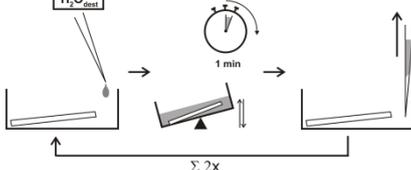


Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Agite continuamente la tira durante los pasos de incubación.

Vierta el tampón para muestra, el conjugado y el sustrato junto con el tampón de lavado en un lado de la bandeja de incubación. No permita que fluya sobre la tira.

Paso	Descripción
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del comienzo del análisis.
2.	 <p>Sitúe la tira en la orientación correcta dentro de la bandeja de incubación (línea de referencia y codificación por color hacia arriba). Coloque 700 µl de tampón de lavado y 300 µl de tampón para muestra en la bandeja de incubación. Humedezca la tira con la solución e incube durante 5 minutos con agitación.</p>
CONTROLES y MUESTRAS	
3.	 <p>Pipetee 10 µl de muestra de suero en el interior de las bandejas de incubación designadas con tampón para muestra.</p>
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación. A continuación, retire la muestra por completo.</p>
5.	 <p>Lave tres veces durante 5 minutos con 1,5 ml de tampón de lavado y agitación. Retire el tampón de lavado después de cada paso de lavado.</p>
CONJUGADO	
6.	 <p>Pipetee 700 µl de tampón de lavado y 300 µl de conjugado en cada bandeja de incubación con tira.</p>
7.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación. Retire el conjugado.</p>

8.		<p>Lave tres veces durante 5 minutos con 1,5 ml de tampón de lavado y agitación. Retire el tampón de lavado después de cada paso de lavado.</p>
SUSTRATO		
9.		<p>Pipetee 700 µl de dH₂Oy 300 µl de sustrato en cada bandeja de incubación con tira.</p>
10.		<p>Incube durante 15 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F con agitación y evite que reciba luz intensa. Retire el sustrato.</p>
PARO		
11.		<p>Pipetee 2 ml de dH₂Oen cada bandeja de incubación con tira. Incube durante 1 minuto con agitación. Retire el dH₂O. Repita este paso.</p>
12.	<p>Retire la tira de la bandeja de incubación. Seque la tira con papel de filtro.</p>	
13.	<p>Analice los resultados antes de que transcurran 24 h.</p>	

AESKUBLOTS® Gastro Pro también está diseñado para ser procesado y evaluado de forma automática en el sistema de transferencia automático **HELIA®**.

Preparación del reactivo para **HELIA®**: diluya una parte del concentrado del tampón de lavado (WASH) con 19 partes de agua ultrapura (p. ej., 50 ml de concentrado del tampón de lavado y 950 ml de agua ultrapura) para obtener el tampón de lavado listo para usar. El resto de reactivos están listos para usar cuando se procesan en **HELIA®**. Consulte el manual de instrucciones de **HELIA®** para más información sobre cómo procesar el ensayo en este dispositivo.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

8 Interpretación cualitativa

8.1 Análisis manual

Los resultados del análisis se pueden considerar válidos si:

- El control funcional es visible.
- El control de cut-off es visible.
- La intensidad del color del control de cut-off es más débil que la del control funcional.

Fije la tira seca a la hoja de resultados alineada con la línea de referencia. Alinee la plantilla de referencia con la línea de referencia de la tira. Interprete los resultados tomando como referencia exclusivamente el control de cut-off de cada tira.

Cada kit de análisis contiene una copia a color con todas las bandas que se pueden probar en el análisis.

El análisis se lleva a cabo comparando las intensidades color de las bandas con la intensidad de color del control de cut-off. El análisis se debe considerar dudoso si las intensidades no difieren sustancialmente. Si el color es más intenso, el resultado es positivo; si la intensidad de color es más débil, el análisis es negativo.

Los resultados se pueden registrar en la hoja de resultados.

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el análisis se considerará no válido y deberá repetirse. Es aconsejable repetir el análisis de aquellas muestras que se encuentren en el límite.

Será necesario comprobar los siguientes problemas técnicos: fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, equipo, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar las muestras se obtuvieron valores anómalos, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos fuera de la responsabilidad del técnico, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.

Los laboratorios médicos deberían realizar un control de la calidad interno mediante controles propios y/o una mezcla de sueros interna, tal y como contemplan las normativas de su país.

8.2 Evaluación asistida por software

El análisis de las tiras puede llevarse a cabo utilizando el software AESKU.SCAN. Consulte las instrucciones de uso de este programa.

Los resultados del ensayo se considerarán válidos si:

- Es visible el control funcional
- Es visible el control del valor de corte
- La intensidad del color del control del valor de corte es más tenue que la intensidad del color del control funcional

AESKU.SCAN 2.0:

Sujete la tira seca a la hoja de puntuación (imprimible) alineada con la línea de referencia. Alinee la plantilla de referencia con la línea de referencia de la tira.

Evalúe las tiras según las instrucciones de uso del software AESKU.SCAN 2.0.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Se lleva a cabo un análisis cualitativo del resultado comparando la intensidad del color de cada antígeno con la intensidad del color del control del valor de corte.

AESKU.SCAN 3.0:

Coloque las tiras dentro de la bandeja de incubación en el lector.

Evalúe las tiras según las instrucciones de uso del software AESKU.SCAN 3.0.

Se lleva a cabo un análisis cualitativo del resultado comparando la intensidad del color de cada antígeno con la intensidad del color del control del valor de corte.

HELIA®:

Con un sistema de transferencia automático HELIA®, los resultados se analizan de forma automática. Los resultados pueden determinarse en valores de índice.

Se propone la siguiente interpretación según la intensidad de la señal:

Interpretación del resultado	Símbolo	Índice	Color
Negativo	-	0,0-<0,8	Incoloro
Dudoso	+/-	≥0,8-<1,15	Azul
Positivo tenue	+	≥1,15-<2,5	Amarillo
Positivo	++	≥2,5-<4,0	Rojo
Positivo fuerte	+++	≥4,0	Rojo oscuro

En caso de que los valores de los controles no cumplan los criterios, el ensayo no es válido y ha de repetirse. Se recomienda realizar un contraanálisis a las muestras dudosas.

Es necesario comprobar también las siguientes cuestiones técnicas: fecha de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de conservación, pipetas, equipos, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si las muestras analizadas presentan valores anómalos o algún tipo de desviación, o si no se cumplen los criterios de validación por razones ajenas a la responsabilidad del técnico, póngase en contacto con el fabricante o con el proveedor del kit del ensayo.

Puede que los laboratorios médicos lleven a cabo un control de calidad interno usando sus propios controles o mezclas de suero internas, como se recoge en las normativas nacionales.

9 Datos técnicos

Material de muestra:	suero
Volumen de muestra:	10 µl de muestra
Tiempo total de incubación:	112 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F
Almacenamiento:	a 2-8 °C/35,6-46,4 °F; use exclusivamente los viales originales.
Número de determinaciones:	24 análisis

10 Datos de rendimiento

Estudio del rango normal

Los valores esperados para AESKUBLOTS® Gastro Pro se analizaron con un panel de 120 sueros de donantes sanos.

Todos los ensayos se realizaron de forma totalmente automatizada de acuerdo con las INSTRUCCIONES actuales.

AESKUBLOTS® Gastro IgA

Informe de rango normal de AESKUBLOTS Gastro Pro										
Antígeno	número de muestras	muestras positivas		muestras equívocas		muestras negativas		índice min	índice máximo	índice medio
		n	(%)	n	(%)	n	(%)			
Gliadin	120	0	0,00	9	7,50	111	92,50	0,00	1,08	0,27
Neo-tTG	120	1	0,83	0	0,00	119	99,17	0,00	1,30	0,03
ASCA	120	0	0,00	11	9,17	109	90,83	0,00	1,10	0,28
PCA	120	0	0,00	10	8,33	110	91,67	0,00	1,08	0,24
IF	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0,00	0,70	0,04

AESKUBLOTS® Gastro IgG

Informe de rango normal de AESKUBLOTS Gastro Pro										
Antígeno	número de muestras	muestras positivas		muestras equívocas		muestras negativas		índice min	índice máximo	índice medio
		n	(%)	n	(%)	n	(%)			
Gliadin	120	0	0,00	8	6,67	112	93,33	0,00	1,10	0,21
NEO tTG	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0,00	0,21	0,00
ASCA	120	0	0,00	5	4,17	115	95,83	0,00	0,98	0,30
PCA	120	0	0,00	4	3,33	116	96,67	0,00	1,03	0,14
IF	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0,00	0,27	0,01

Con AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA hubo un resultado positivo para anti-Neo-tTG. Los resultados más equívocos se detectaron para anti-Gliadina en ambas variantes. El valor de índice más bajo medido fue 0,0, el valor de índice más alto medido fue 1,3 (Neo-tTG) para AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA.

El bajo número de muestras positivas que encontramos con AESKUBLOTS® Gastro Pro en la población sana analizada se correlaciona bien con los números reportados en la literatura.

También recomendamos en la INSTRUCCIONES en el capítulo 8: "Interpretación cuantitativa y cualitativa" que cada laboratorio establezca su propio rango normal.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Precisión

La precisión de los resultados de la prueba obtenidos con el AESKUBLOTS® Gastro Pro se investigó determinando la precisión intra e interensayo, así como la variabilidad del lote mediante el análisis de varias muestras. El número de muestras positivas y negativas (considerando cada antígeno individual) se compara y relaciona con la referencia determinada previamente. De este modo, puede calcularse la concordancia positiva y negativa, así como la concordancia global.

Dentro del ensayo

Para determinar las variaciones dentro del laboratorio / intraensayo, se han analizado 20 veces cinco sueros diferentes (S1-S4) en AESKUBLOTS® Gastro Pro. La concordancia positiva y negativa se calculó a partir de estos valores de prueba (n=20).

AESKUBLOTS® Gastro IgA

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo	100.0
Acuerdo porcentual positivo	100.0
Acuerdo porcentual positivo	100.0

AESKUBLOTS® Gastro IgG

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0

Entre ensayos

Para determinar las variaciones interensayo/día a día, se han analizado cuatro sueros diferentes (S1-S4) en todo el intervalo 8 veces por ensayo, en un total de 5 ensayos en 5 días diferentes (n=40). Para el día 1 se utilizan los resultados de las variabilidades dentro del laboratorio / intraensayo (n=20), la concordancia positiva y negativa se calculó a partir de estos valores de prueba.

AESKUBLOTS® Gastro IgA

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0

AESKUBLOTS® Gastro IgG

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Variación entre lotes

Para determinar la variación de lote a lote, se analizaron cuatro sueros diferentes (S1-S4) en todo el rango 8 veces en 3 lotes (n=24). El lote 1 se toma de la ejecución 1 de los datos del intraensayo. Para cada muestra, los coeficientes de variación y los valores medios se calcularon entre los valores de prueba de los tres lotes diferentes; se calculó la concordancia positiva y negativa a partir de estos valores de prueba.

AESKUBLOTS® Gastro IgA

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0

AESKUBLOTS® Gastro IgG

Cálculo de Concordancia	
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0
Acuerdo porcentual positivo [%]	100.0

Sensibilidad y especificidad diagnósticas

Un estudio clínico con diferentes muestras de suero de pacientes con enfermedad celíaca, Dermatitis herpetiforme, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, LES, AR, Diabetes tipo 1 y controles sanos fueron analizadas con el Aeskublots® Gastro Pro. Además, estas muestras se midieron con un Western blot competidor. También se incluyó una cohorte de 87 muestras pediátricas con diagnóstico claro e historial médico de 87 muestras.

Todos los ensayos se realizaron de acuerdo con las INSTRUCCIONES vigentes. Después se compararon los resultados para determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo.

Anti-gliadina

Las gliadinas son típicas de la enfermedad celíaca. El tipo IgA es esencialmente específico de la enfermedad celíaca. Los anticuerpos del tipo IgG aparecen en el 40-50 % de los pacientes con enfermedad de Crohn y también en el 10-20 % de los pacientes con colitis ulcerosa.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

AESKUBLOTS® Gastro IgA y Aeskublots® Gastro IgG

Se analizaron muestras de celíacos, sin embargo, no se puede calcular la sensibilidad para la gliadina ya que el kit de referencia no tiene gliadina para la variante IgA e IgG. La prevalencia de autoanticuerpos específicos de la enfermedad celíaca se ha estudiado en pacientes con LES, AR y diabetes tipo 1.

	n (65)	AESKUBLOTS Gastro IgA anti-gliadina positivo	AESKUBLOTS Gastro IgG anti gliadina positivo
LES	28	7,1%	10,7%
RA	11	0,0%	0,0%
Diabetes tipo 1	26	0,0%	34,6%

Anticuerpos antigliadina: análisis de controles sanos	AESKUBLOTS Gastro Pro IgA		
	positivo	equivoco	negativo
	0	9	111

Anticuerpos antigliadina: análisis de controles sanos	AESKUBLOTS Gastro Pro IgG		
	positivo	equivoco	negativo
	0	8	112

En el análisis de 120 muestras de pacientes sanos con anticuerpos negativos, no se midieron muestras positivas, y sólo 9 y 8 muestras, respectivamente, mostraron resultados dudosos. Se sabe por la bibliografía que los anticuerpos antigliadina también pueden aparecer en pacientes sanos o en pacientes con otras enfermedades.

Anti-tTG neo

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

Neo tTG 2x2	Diagnosticar	
	Enfermedades celíacas	Control
positivo	28	1
negativo	18	40

Rendimiento diagnóstico tTG neo IgA		
Sensibilidad	60,9	45,4% to 74,9%
Especificidad	97,6	87,1% to 99,9%
AUC	0,792	0,692 to 0,872

En una cohorte de muestras pediátricas de 87 muestras que incluían enfermedad celíaca, Morbus Chron, colitis ulcerosa y donantes de sangre sanos, se pudo calcular una sensibilidad diagnóstica para tTG-neo IgA del 60,9% y una especificidad diagnóstica del 97,6%.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

Neo tTG 2x2	Diagnosticar	
	Enfermedades celíacas	Control
positivo	38	3
negativo	10	33

Rendimiento diagnóstico tTG neo IgG		
Sensibilidad	79,2	65,1% to 89,5%
Especificidad	91,7	77,5% to 98,2%
AUC	0,854	0,760 to 0,922

En una cohorte de muestras pediátricas de 84 muestras que incluían enfermedad celíaca, Morbus Chron, colitis ulcerosa y donantes de sangre sanos se pudo calcular una sensibilidad diagnóstica para tTG-neo IgG del 79,2% y una especificidad diagnóstica del 91,7%.

Anti-ASCA

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

El análisis de 24 sueros de pacientes con enfermedad de Crohn (anti ASCA positivo n = 15) mostró una sensibilidad del 100% para la detección de autoanticuerpos contra ASCA con respecto al método de referencia Western blot de un competidor. En comparación con el ensayo del competidor se pudo medir una especificidad del 100%.

Análisis de anticuerpos ASCA en pacientes con enfermedad de Crohn		ensayo competidor		
		positivo	equivoco	negativo
AESKUBLOTS Gastro Pro IgA	Positivo	15	1	0
	equivoco	2	1	0
	Negativo	0	1	4

La prevalencia de autoanticuerpos ASCA se ha estudiado en pacientes con enfermedad de Crohn, LES, AR, diabetes tipo 1 y controles sanos.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

	n (124)	AESKUBLOTS Gastro IgA anti-ASCA positivo
Enfermedad de Crohn	24	70,0%
LES	28	0,0%
RA	11	0,0%
Diabetes tipo 1	26	25,0%
controles sanos	35	0,0%

AESKUBLOTS® Gastro IgG

El análisis de 20 sueros de pacientes con enfermedad de Crohn (anti-ASCA positivo n = 9) mostró una sensibilidad del 100% para la detección de autoanticuerpos contra ASCA con respecto al método de referencia Western blot de un competidor. En comparación con el ensayo del competidor se pudo medir una especificidad del 100%.

Análisis de anticuerpos anti ASCA en pacientes de Crohn		ensayo competidor		
		positivo	equivoco	negativo
AESKUBLOTS Gastro Pro IgG	positivo	9	1	0
	equivoco	0	3	3
	negativo	0	1	3

La prevalencia de autoanticuerpos ASCA se ha estudiado en pacientes con enfermedad de Crohn, LES, AR, diabetes tipo 1 y controles sanos.

	n (136)	AESKUBLOTS Gastro IgG anti-ASCA positivo
Enfermedad de Crohn	20	50,0%
LES	28	7,1%
RA	11	9,1%
Diabetes tipo 1	18	5,6%
controles sanos	59	0,0%

Anti-PCA

Las células parietales pueden detectarse mediante una prueba de inmunofluorescencia en el 80-90 % de los pacientes con anemia perniciosa, pero también pueden encontrarse en el 2-5 % de los individuos sanos. También aparecen en pacientes con enfermedades endocrinas autoinmunes y gastritis atrófica crónica de tipo A.

En el panel de muestras utilizado no había muestras de anemia perniciosa, en la que suelen aparecer anticuerpos contra PCA. Por lo tanto, no se puede dar aquí ninguna sensibilidad para AESKUBLOTS® Gastro IgA e IgG. Se estudió la prevalencia de anticuerpos anti-PCA en sueros de pacientes con LES, AR, diabetes tipo 1 y controles sanos.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

	n(185)	AESKUBLOTS Gastro IgA anti IF positiva	Gastro IgG anti- IF positiva
LES	28	10,70%	10,7%
AR	11	9,1%	18,2%
Tipo de diabetes1	26	26,9%	23,0%
Controles sanos	120	0,0%	0,0%

Factor anti-intrínseco

El factor intrínseco muestra para la anemia

perniciosa una sensibilidad del 50-70 % con una especificidad del 100 % en una población de donantes de sangre sanos. Asimismo, estos anticuerpos se detectan en pacientes con enfermedades tiroideas autoinmunes y gastritis atrófica crónica de tipo A.

En el panel de muestras utilizado, no había muestras de anemia perniciosa , en la que suelen aparecer anticuerpos contra el Factor Intrínseco. Por lo tanto, no se puede dar aquí ninguna sensibilidad para AESKUBLOTS® Gastro IgA e IgG. En sueros de pacientes con LES, AR, diabetes tipo 1 y controles sanos se estudió la prevalencia de anti-PCA.

	n(185)	AESKUBLOTS Gastro IgA anti IF positivo	AESKUBLOTS Gastro IgG anti- IF positivo
LES	28	0,0%	3,5%
AR	11	0,0%	0,0%
Tipo de diabetes1	26	0,0%	0,0%
Controles sanos	120	0,0%	0,0%

Las sensibilidades y especificidades, así como los acuerdos con la competencia, muestran muy buenos resultados. En algunos casos, no se pudo calcular la sensibilidad para parámetros individuales debido a la falta de muestras positivas en las cohortes. Se investigarán más muestras en el futuro.



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	010 : 2023-09-26

Valores diagnósticos de sensibilidad y especificidad para AESKUBLOTS® Gastro IgA

Antígeno	Sensibilidad	Especificidad controles sanos
Gliadin	n.a.*	100,0%
Neo-tTG	60,9%	97,6%
ASCA	100,0%	100,0%
PCA	n.a.*	100,0%
Intrinsic Factor	n.a.*	100,0%

*no se pudo determinar

Valores diagnósticos de sensibilidad y especificidad para AESKUBLOTS® Gastro IgG

Antígeno	Sensibilidad	Especificidad controles sanos
Gliadin	n.a.*	100,0%
Neo-tTG	79,2%	91,7%
ASCA	100,0%	100,0%
PCA	n.a.*	100,0%
Intrinsic Factor	n.a.*	100,0%

*no se pudo determinar

Sensibilidad y especificidad relativas

Para determinar la concordancia positiva (sensibilidad relativa), se analizaron en AESKUBLOTS® Gastro Pro 30 sueros de pacientes positivos para anticuerpos IFI o ELISA.

Para determinar la concordancia negativa (especificidad relativa) se analizaron 100 sueros de donantes de sangre.

	concordancia positiva (sensibilidad relativa)	acuerdo negativo (especificidad relativa)
Gliadina	100%	100%
Neo-tTg	100%	100%
Manano (ASCA)	100%	100%
Antígeno de células parietales	100%	100%
Factor intrínseco	100%	100%

11 Bibliografía

Carmel R (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. *Clin Exp Immunol.* 89(1):74-77.

Lerner A (2014). Serological Diagnosis of Celiac Disease –Moving Beyond the Tip of the Iceberg. *International Journal of Celiac Disease.* 2(2): 64-66.

Catassi C, Rättsch I-M, Fabiani E, Rossini M, Coppa GV, Giorgi PL, Bordicchia F, Candela F (1994). Celiac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *The Lancet.* 343:200–203.

Holtmeier W, Caspary WF (1998). Antikörperdiagnostik bei Sprue/Zöliakie. *Z. Gastroenterol.* 36: 587–597.

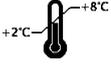
Mäki M, Collin P (1997). Coeliac disease. *Lancet.* 349: 1755–1759.

Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician.* 67: 979–986.

Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002). Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue. *Science* 297:2275–2279.

Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious anaemia. *Autoimmunity.* 37: 357–361.

Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious anaemia. *NEJM.* 337:1441–1448.

IVD	Diagnosi in vitro	For in vitro diagnostic use
	Pour diagnostic in vitro	Para uso diagnóstico in vitro
	In Vitro Diagnostikum	In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	Numero d'ordine	Catalogue number
	Référence Catalogue	Numéro de catálogo
	Bestellnummer	Αριθμός παραγγελίας
	Número de catálogo	
LOT	Descrizione lotto	Lot
	Lot	Lote
	Chargen Bezeichnung	Χαρακτηρισμός παρτίδας
	Lote	
CE	Conformità europea	EC Declaration of Conformity
	Déclaration CE de Conformité	Declaración CE de Conformidad
	Europäische Konformität	Ευρωπαϊκή συμφωνία
	Déclaração CE de Conformidade	
	24 determinazioni	24 tests
	24 tests	24 pruebas
	24 Bestimmungen	24 προσδιορισμοί
	24 Testes	
	Rispettare le istruzioni per l'uso	See instructions for use
	Voir les instructions d'utilisation	Ver las instrucciones de uso
	Gebrauchsanweisung beachten	Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	Ver as instruções de uso	
	Da utilizzarsi entro	Use by
	Utiliser avant le	Utilizar antes de
	Verwendbar bis	Χρήση μέχρι
	Utilizar antes de	
	Conservare a 2-8°C (35,6-46,4°F)	Store at 2-8°C (35,6-46,4°F)
	Conserver à 2-8°C (35,6-46,4°F)	Conservar a 2-8°C (35,6-46,4°F)
	Lagerung bei 2-8°C (35,6-46,4°F)	Φυλάσσεται στους 2-8°C (35,6-46,4°F)
	Conservar entre 2-8°C (35,6-46,4°F)	
	Prodotto da	Manufactured by
	Fabriqué par	Fabricado por
	Hergestellt von	Κατασκευάζεται από
	Fabricado por	
STRIP	Strip di nitrocellulosa rivestita	Coated nitrocellulose strip
	Strip de nitrocellulose couché	Tira de nitrocelulosa recubierta
	Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebracht Antigenen	Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	Tira de nitrocelulose revestido	
WASH 20x	Tampone di lavaggio	Wash buffer
	Tampon de Lavage	Solución de lavado
	Waschpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	Solução de lavagem	
Block-Reag	Reagente bloccante	Blocking Reagent
	réactif de blocage	Reactivo bloqueante
	Blockier-Reagenz	Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	Bloqueo de reagente	-
SB	Tampone campione	Sample buffer
	Tampon Echantillons	Tampón Muestras
	Probenpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	Diluyente de amostra	
CONJ	Coniugato	Conjugate
	Conjugé	Conjugado
	Konjugat	Σύζευγμα
	Conjugado	
SUB	Tampone substrato	Substrate buffer
	Substrat	Tampón sustrato
	Substratpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	Substrato	