



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS
Y DE LA SALUD**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN (INCMNSZ)**

TÍTULO:

**Utilidad de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG
determinados por quimioluminiscencia (CIA) y comparados contra ELISA en
el diagnóstico y seguimiento de pacientes con Enfermedad Celíaca**

T E S I S

Que para optar por el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS Y DE LA SALUD

PRESENTA:

DR. MARIO RENÉ PINEDA DE PAZ

Tutor Principal:

**DR. LUIS F. USCANGA DOMÍNGUEZ
INCMNSZ**

Miembro del Comité Tutor

**DR. CARLOS AGUILAR SALINAS
INCMNSZ**

Ciudad de México, Febrero de 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Aprobación de tesis:

La presente Tesis cuenta con la calidad y originalidad requerida para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Médicas y de la Salud.

Dr. Carlos Aguilar Salinas

Responsable de la Entidad Académica
INCMNSZ

Dr. Luis F. Uscanga Domínguez

Director de Tesis
INCMNSZ

Dr. Mario René Pineda De Paz

Autor
INCMNSZ

TÍTULO

Utilidad de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG determinados por quimioluminiscencia (CIA) y comparados contra ELISA en el seguimiento de pacientes con Enfermedad Celíaca

INVESTIGADORES

Autor:

Alumno: Dr. Mario René Pineda De Paz

Maestría en Ciencias Médicas y de la Salud

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ)

Comité Tutor:

Dr. Luis F. Uscanga Domínguez

Jefe del Departamento de Gastroenterología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ)

Dr. Reynerio Fagundo Sierra

Jefe del Laboratorio Central

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ)

QFB, M EB, PhD EB. Varenka J. Barbero Becerra

Coordinadora de la Unidad de Investigación Traslacional

Fundación y Hospital Médica Sur

DEDICATORIA

A Dios por sus infinitas bendiciones y darme la oportunidad de vivir.

A mis pacientes, por darme la oportunidad de servirles con mis conocimientos y habilidades adquiridas.

A mis padres Mario e Irma y mis suegros Jorge Mario y Mary por su apoyo incondicional.

A mi otra mitad: M. Sofía Roldán Franco., por su inmenso amor y comprensión.

A mis hermanos porque siempre estuvieron dispuestos a ayudarme y animarme en este camino.

A Fortino Islas, Angelina, Yeni, Señora Beatriz, Gaviota y Paty por brindarme su amistad y apoyo incondicional durante los años de formación académica.

A mis profesores de los cursos de la Maestría, así como a mis tutores de Tesis y amigos: Luis F. Uscanga Domínguez, Reynerio Fagundo y Varenka J. Barbero; porque de cada uno aprendí conocimiento en lo académico y en la vida.

A mis compañeros y amigos de la Maestría; por su amistad y porque fuimos el mejor equipo durante los semestres de estudio.

A la gloriosa Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto Nacional de Ciencias Médicas Salvador Zubirán por ser mis casas de estudio que siempre defenderé.

Mario René Pineda De Paz

ÍNDICE	PÁGINA
1. Resumen	6
2. Abstract	7
3. Introducción	8
4. Abreviaturas	8
5. Marco Teórico	9
6. Planteamiento del problema	11
7. Justificación	12
8. Hipótesis	12
9. Objetivos	13
10. Metodología de la Investigación.	13
11. Aspectos Éticos	21
12. Resultados	30
13. Discusión	36
14. Conclusiones	39
15. Referencias	40
16. Anexos	42

1. RESUMEN

Utilidad de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG determinados por quimioluminiscencia (CIA) y comparados contra ELISA en el seguimiento de pacientes con Enfermedad Celíaca

Antecedentes: La Enfermedad Celíaca (EC) se caracteriza por daño en la mucosa del intestino delgado debido a la respuesta inflamatoria producida por el gluten. El tratamiento se basa en una Dieta Libre de Gluten (DLG); pero a pesar de las indicaciones, algunos pacientes aún presentan falta de respuesta clínica o bioquímica que puede llevar a alteraciones nutricionales graves.

Objetivo: Evaluar la presencia de EC no respondedora mediante la determinación de los anticuerpos por ELISA y Quimioluminiscencia (CIA) en pacientes >12 meses con DLG.

Métodos: Estudio de prueba diagnóstica en pacientes con EC con >12 meses con DLG quienes fueron incluidos de forma consecutiva durante Marzo-2018 a Noviembre-2020. Se midieron variables demográficas. Se apartó una parte del suero sanguíneo de las muestras obtenidas en las citas control en la Clínica de EC para medir los anticuerpos DGP IgA e IgG, y h-tTG IgA e IgG por los inmunoensayos de ELISA y CIA, respectivamente. Se hicieron análisis de prevalencia y utilidad diagnóstica para identificar la presencia de EC no respondedora. Se CIA como estándar de referencia. Stata v13, $p < 0.05$.

Resultados: De 69 pacientes elegibles, se incluyeron 55 pacientes en el análisis; 42 (76.4%) fueron mujeres; la mediana de edad fue 56 (46-70) años; con una mediana de 8 (4-14) años desde el diagnóstico. La prevalencia de EC no respondedora a DLG fue de 32.7% usando como referencia el inmunoensayo de CIA; y retando a ELISA incluyendo todos los anticuerpos se obtuvo S 0.89, E 0.86, FN 0.11, FP 0.14, VPP 0.76, VPN 0.94, LR+ 6.35, y LR- 0.13. Los anticuerpos DGP IgG y h-tTG presentaron la mejor utilidad diagnóstica (LR+ de 40.5 y 16; y LR- de 0.19 y 0.21, respectivamente). De forma individual, los anticuerpos h-tTG IgG y DGP IgA tuvieron la mejor Sensibilidad (S de 1 y 0.87, respectivamente).

Conclusiones: La prevalencia de EC no respondedora a DLG es de 32% en los pacientes estudiados. Los anticuerpos detectados por ensayo de ELISA tienen alta sensibilidad y especificidad, de los cuales tuvieron mayor utilidad diagnóstica DGP IgG y h-tTG IgA. Los factores asociados a EC no respondedora fueron seguir de forma parcial la DLG. La técnica de ELISA sigue siendo inferior a CIA por lo cual CIA debería implementarse en la práctica clínica.

Palabras clave: Enfermedad Celíaca, Enfermedad Celíaca no respondedora, anticuerpos, ELISA, Quimioluminiscencia.

2. ABSTRACT

DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, and h-tTG IgG antibodies determined by Chemiluminescence (CIA) and compared with ELISA in the follow-up of patients with Celiac Disease.

Background: Celiac Disease (CD) is characterized by damage to the mucosa of the small intestine due to the inflammatory response produced by gluten. Treatment is based on a gluten-free diet (GFD); but despite the indications, some patients still have a lack of clinical or biochemical response that can lead to serious nutritional disorders.

Aims: To assess the presence of non-responding CD by determining the antibodies by ELISA and Chemiluminescence (CIA) in patients >12 months on a GFD.

Methods: Diagnostic test study in patients with CD >12 months on a GF-D. They were included consecutively during March-2018 to November-2020. Demographic variables were measured. A part of the blood serum was separated from the samples obtained in the CD Clinic to measure the antibodies DGP IgA and IgG, and h-tTG IgA and IgG by ELISA and CIA. Prevalence and diagnostic utility analyzes were performed to identify the presence of non-responsive CD. It is CIA as a reference standard. *Stata v13, p<0.05.*

Results: Of 69 eligible patients, 55 patients were included in the analysis; 42 (76.4%) were female; the median age was 56 (46-70) y; with a median of 8 (4-14) years from diagnosis. The prevalence of non-responsive CD to DLG was 32.7% using the CIA immunoassay as a reference; and challenging ELISA (all antibodies) were obtained S 0.89; E 0.86; FN 0.11; FP 0.14, PPV 0.76; PNV 0.94; LR+ 6.35; and LR- 0.13. The DGP IgG and h-tTG antibodies had the best diagnostic utility (LR+ of 40.5 and 16; y LR- of 0.19 and 0.21, respectively). Individually, the h-tTG IgG and DGP IgA antibodies had the best Sensitivity (S of 1 and 0.87, respectively).

Conclusions: The prevalence of non-responsive CD to GFD is 32% in the studied patients. Antibodies detected by ELISA assay have high sensitivity and specificity, of which DGP IgG and h-tTG IgA had greater diagnostic utility. The factors associated with non-responsive CD were to partially follow the DLG. The ELISA technique is still inferior to CIA, so CIA should be implemented in clinical practice.

Keywords: Celiac Disease, Non-responsive Celiac Disease, antibodies, ELISA, Chemiluminescence, CLIA

3. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Celíaca (EC) se caracteriza por daño en la mucosa del intestino delgado debido a la respuesta inflamatoria producida por el gluten. El tratamiento se basa en una dieta libre de gluten (DLG); pero a pesar de las indicaciones, algunos pacientes aún presentan falta de respuesta clínica o bioquímica que puede llevar a alteraciones nutricionales graves.

Para evaluar de forma objetiva la respuesta a la DLG, los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG se analizan en el suero sanguíneo de los pacientes con EC regularmente en las citas subsecuentes cada 6 o 12 meses. El análisis y conocimiento de la respuesta clínica y serológica permite identificar quienes presentan actividad de la enfermedad a pesar del tratamiento. Asimismo, permitirá brindar acciones para investigar las causas que perpetúan la falta de respuesta y tomar medidas específicas y más intensas para que alcancen una adecuada respuesta a la DLG.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de EC no respondedora mediante la determinación de los anticuerpos para EC por medio de ELISA y Quimioluminiscencia (CIA) en pacientes con más de 12 meses de una dieta libre de gluten que están en seguimiento en la Consulta Externa del Instituto Nacional de Ciencias Médicas Salvador Zubirán (INCMNSZ).

4. ABREVIATURAS

EC	Enfermedad Celíaca
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
CIA	Quimioluminiscencia
DLG	Dieta libre de gluten
DGP IgA	Anti Gliadina Deaminada Inmunoglobulina A
DGP IgG	Anti Gliadina Deaminada Inmunoglobulina G
h-tTG IgA	Anti Transglutaminasa Tisular Inmunoglobulina A
h-tTG IgG	Anti Transglutaminasa Tisular Inmunoglobulina G
CU	Unidades quimioluminiscentes

5. MARCO TEÓRICO

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía autoinmune que se produce en individuos con predisposición genética como consecuencia de la ingesta de gluten en la dieta. El gluten es una proteína encontrada en el trigo, la cebada y el centeno. Es una enfermedad con manifestaciones sistémicas que afecta primariamente al intestino delgado y que se resuelve con una dieta libre de gluten.(1,2) La prevalencia mundial de la EC es de 1 a 3% de la población y la relación mujer:hombre es de 2:1.(2,3) En México, en estudios previos en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición (INCMNSZ) y en Médica Sur, desde 2008 a 2015, se ha reportado una seroprevalencia aproximada de 2.6 a 4.3%, respectivamente. Además México tiene una población de alrededor de 120 millones de personas y se considera que el 0.68% es decir 816,000 habitantes están en la condición de ser celíacos; de estos solamente el 9% (73,440) están diagnosticados y 2% no responden a una dieta libre de gluten.(2,4)

La EC es una causa frecuente de malabsorción intestinal crónica debido a la lesión inflamatoria que se produce en la mucosa del intestino delgado con pérdida de la superficie de absorción, disminución de las enzimas digestivas y la alteración en la absorción de micronutrientes.(5,6) Como consecuencia de la inflamación y la malabsorción se producen síntomas que se traducen en diarrea secretora y malabsortiva, pérdida de peso y desnutrición, así como dolor y distensión abdominal.(1,7)

Para llegar al diagnóstico, las guías actuales se basan en el contexto clínico del paciente, la biopsia de intestino delgado a través de endoscopia para confirmar la atrofia de las vellosidades, y la determinación de anticuerpos anti-endomisio (EMA) y anti-transglutaminasa tisular IgA (h-tTG IgA).(1,2) En pacientes con deficiencia de IgA una estrategia aceptable es determinar los anticuerpos IgA e IgG contra péptidos de gliadina desaminados (DGP IgA e IgG) y h-tTG IgG.(6) A través de su determinación, también se evalúa el cumplimiento de la dieta libre de gluten.(1,2)

La monitorización a largo plazo es fundamental en los pacientes con EC. Según las guías, después de 3 a 6 meses con una dieta libre de gluten (DLG) debería haber mejoría en los síntomas, disminución de los títulos de anticuerpos y mejoría en las deficiencias nutricionales. La monitorización de la adherencia a la DLG se basa en la combinación de la historia clínica y la serología (tTG IgA y DGP IgA; o DGP IgG si existe deficiencia de IgA). La endoscopia con biopsia intestinal solo se recomienda en casos de falta de respuesta clínica o recaída de los síntomas a pesar de una DLG. El objetivo del seguimiento es verificar la normalización de las alteraciones de laboratorio encontradas en la evaluación inicial.(1) Todos los marcadores serológicos asociados a EC son gluten dependientes. A los 6 meses de la DLG debería haber disminución de los títulos de anticuerpos y a los 12 meses debería confirmarse la seroconversión.(1) Una

revisión sistemática apoyó el rol de la adherencia estricta a una DLG para el control de los síntomas, mejoría en la calidad de vida y la disminución del riesgo de complicaciones.(1,9) Sin embargo, la adherencia no siempre se alcanza en todos los pacientes. La falta de disminución de los valores o la persistencia de una serología positiva sugiere fuertemente que existe contaminación de gluten en la dieta. Por otro lado la seroconversión no necesariamente implica curación de la mucosa intestinal; pero la persistencia de su positividad sugiere fuertemente el contacto con gluten.(10)

La EC no respondedora puede definirse como la persistencia de síntomas, signos, o alteraciones de laboratorio típicas para EC después de 6-12 meses de DLG. Es un diagnóstico común que afecta de 7 a 30% de los pacientes tratados con una DLG.(1,11) En promedio, Leffler DA y colaboradores encontraron una prevalencia de 19% que correspondía a 113 de un total de 603 pacientes con EC.(12) La principal etiología es la ingestión inadvertida de gluten (36%); otros confusores pueden ser la intolerancia a lactosa (8%) o fructosa, sobrepoblación bacteriana intestinal, colitis microscópica (6%), insuficiencia pancreática, síndrome de intestino irritable (22%) y EC refractaria (10%).(1,12)

La EC refractaria puede definirse como síntomas persistentes o recurrentes y signos de malabsorción con atrofia de vellosidades del intestino delgado a pesar de una DLG por más de 12 meses y en la ausencia de otras enfermedades incluyendo linfoma. Es una entidad poco frecuente que afecta 1-2% de los pacientes con EC.(1,13) La Tipo I se caracteriza por infiltrado linfocitario de la mucosa del intestino delgado *similar a la vista en EC no tratada*. La Tipo II presenta linfocitos T CD3+ intraepiteliales que exhiben *falta de expresión de marcadores de diferenciación de superficie celular como CD8*; y es asociado con pronóstico menos favorable que la EC refractaria Tipo I.(1,14) El tratamiento de la Tipo I es una DLG estricta; y en la Tipo II se han utilizado corticosteroides sistémicos, budesonida entérica, azatioprina o 6-mercaptopurina, metotrexate, ciclosporina, anti-TNF, o cladribina.(1,14)

Usualmente, las determinaciones de anticuerpos para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con EC se basa en el método de inmunoensayo por ELISA el cual requiere de múltiples pasos realizados manualmente en el manejo de las muestras y los reactivos, lo que condiciona exposición al error humano y al probable sesgo de selección en la técnica. También requiere de mayor tiempo (semanas) para obtener los resultados ya que una vez abierto el reactivo se requiere contar con múltiples muestras para su procesamiento para ser costo-efectivo.(15-19)

Por otro lado, el inmunoensayo por quimioluminiscencia es parte de la última tecnología en la determinación de dichos anticuerpos. Se procesa en un equipo analizador completamente automatizado ofreciendo resultados de alta calidad y utilidad clínica. Permite mejorar el rendimiento de su utilidad clínica, disminuye el margen de error eliminando los procesamientos por prueba. Además, por su

automatización los resultados se obtienen en 30 minutos, lo cual se traduce en eficiencia. En un estudio reciente, la sensibilidad y especificidad para la determinación de los anticuerpos antitransglutaminasa IgA por el método de CIA (QUANTA Flash® h-tTG IgA) fue de 96.9% y 98.3%, respectivamente; y su valor predictivo positivo y negativo fue de 96.9% y 98.3%, respectivamente; y los valores de corte fueron de 20 CU según los datos del fabricante de las pruebas. Para los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, y h-tTG IgG los valores fueron similares utilizando los mismos valores de corte de 20 CU.(20-23)

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EC no respondedora puede definirse como la persistencia de síntomas, signos, o alteraciones de laboratorio típicas para EC después de 6-12 meses de DLG. Es un diagnóstico común que afecta de 7 a 30% de los pacientes tratados con una DLG.(1,11) En promedio, Leffler DA y colaboradores encontraron una prevalencia de 19% que correspondía a 113 de un total de 603 pacientes con EC.(12) La principal etiología es la ingestión inadvertida de gluten (36%); otros confusores pueden ser la intolerancia a lactosa (8%) o fructosa, sobrepoblación bacteriana intestinal, colitis microscópica (6%), insuficiencia pancreática, síndrome de intestino irritable (22%) y EC refractaria (10%).(1,12)

Los métodos de inmunoensayo por ELISA para la determinación de anticuerpos para EC requieren procedimientos más complejos, con múltiples pasos en su procesamiento y exposición al error humano y al probable sesgo de selección en la técnica; además de requerir mucho más tiempo para su realización y obtención de resultados. Esto conlleva a la búsqueda de nuevas tecnologías en la determinación de anticuerpos para EC con equipos más automatizados y eficientes.

Tanto ELISA como CIA aportan adecuadas sensibilidad y especificidad durante el abordaje diagnóstico de la EC. ELISA ha sido el método de referencia por muchos años; no obstante, CIA es un ELISA modificado y novedoso que ha mostrado ser más preciso como técnica de laboratorio en la detección de los anticuerpos para muchas enfermedades. Actualmente, no mayor información que compare a estos dos métodos en la detección de anticuerpos para EC. En el presente proyecto se considera que es necesario retar a ELISA frente a CIA, usando este último como estándar de referencia y no ELISA que ha sido el método tradicional, en los pacientes que no responden adecuadamente a una DLG después de 12 meses de haber sido indicada.

Pregunta de Investigación:

¿Cuál es la Prevalencia de EC no respondedora en los pacientes con EC atendidos en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas Salvador Zubirán y cuál es la utilidad diagnóstica del inmunoensayo por ELISA usando como estándar de referencia el inmunoensayo por CIA para la determinación de DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG en el seguimiento de dichos pacientes con más de 12 meses de estar en una DLG para el diagnóstico de EC no respondedora?.

7. JUSTIFICACIÓN

El seguimiento de los pacientes con EC es importante para confirmar la respuesta a la DLG. Aunque la respuesta debería investigarse a nivel clínico (ausencia de síntomas), bioquímico (normalización de las pruebas de laboratorio descartando deficiencias nutricionales a nivel bioquímico), serológico (negatividad de los anticuerpos) e histológico (ausencia de actividad histológica, es decir, atrofia de vellosidades o infiltrados linfocitarios en la mucosa intestinal); usualmente las guías recomiendan confirmar la adecuada respuesta de la DLG con intervenciones menos invasivas, es decir, a través de la clínica y la serología con la esperable negativización de los anticuerpos. Esta confirmación debe realizarse a los 6 y 12 meses de haber iniciado el tratamiento.

La evaluación del estado de los anticuerpos se miden en el suero sanguíneo de los pacientes. Para esto, existen dos técnicas de uso frecuente en el laboratorio según la disponibilidad de algunos Centros. La primera es el inmunoensayo por ELISA. La otra técnica es la determinación por CIA. Ambas, son excelentes técnicas con alta sensibilidad y especificidad. En el laboratorio del INCMNSZ solo contamos con la primera de ellas, sin embargo por la técnica de ELISA puede haber una sensibilidad y especificidad ligeramente menor comparado con CIA, por lo cual en esta investigación consideramos necesario analizar la presencia de EC no respondedora y esclarecer si existen casos asociados a la técnica de detección de anticuerpos en los pacientes que están bajo tratamiento con una DLG a quienes se les da seguimiento en la Clínica de EC del INCMNSZ.

8. HIPÓTESIS

No aplica.

9. OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la presencia de EC no respondedora mediante la determinación de los anticuerpos por ELISA y CIA en pacientes > 12 meses de DLG.

Objetivos específicos

- Determinar la Prevalencia de pacientes con Enfermedad Celíaca no respondedora a una DLG.
- Determinar la Utilidad Diagnóstica de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG por ELISA, usando como estándar referencia el inmunoensayo por CIA.
- Determinar los factores asociados a la presencia de EC no respondedora a una DLG.

10. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Diseño y Tipo de Estudio

- Estudio de Prueba Diagnóstica y Prevalencia.

Población de estudio

- Pacientes con diagnóstico de EC atendidos en la Clínica de EC del INCMNSZ.

Universo de Trabajo

- Pacientes atendidos en la Clínica de EC del INCMNSZ

Tiempo de Ejecución

- Marzo-2018 a Diciembre-2019

Criterios de inclusión

- Hombres y mujeres mayores de 18 años
- Diagnóstico confirmado de EC por clínica, serología e histología
- Asisten activamente a consulta en la clínica de EC del INCMSZ
- Que tengan al menos 12 meses de diagnóstico
- Que tengan al menos 12 meses de estar con una dieta libre de gluten

Criterios de exclusión

- Pacientes con sensibilidad al gluten no celíacos
- Diagnóstico de infecciones gastrointestinales activas o < 6 semanas de diagnóstico
- Insuficiencia pancreática exocrina
- Que no otorguen el consentimiento informado

Criterios de eliminación

- Retiro del consentimiento informado a solicitud del paciente
- Pérdida de datos relevantes

Tipo de muestreo y tamaño de la muestra

- Muestra consecutiva que incluye a todos los pacientes atendidos en la consulta externa de EC en el INCMNSZ con diagnóstico clínico, serológico e histológico previamente confirmado que estén con más de 12 meses con DLG.

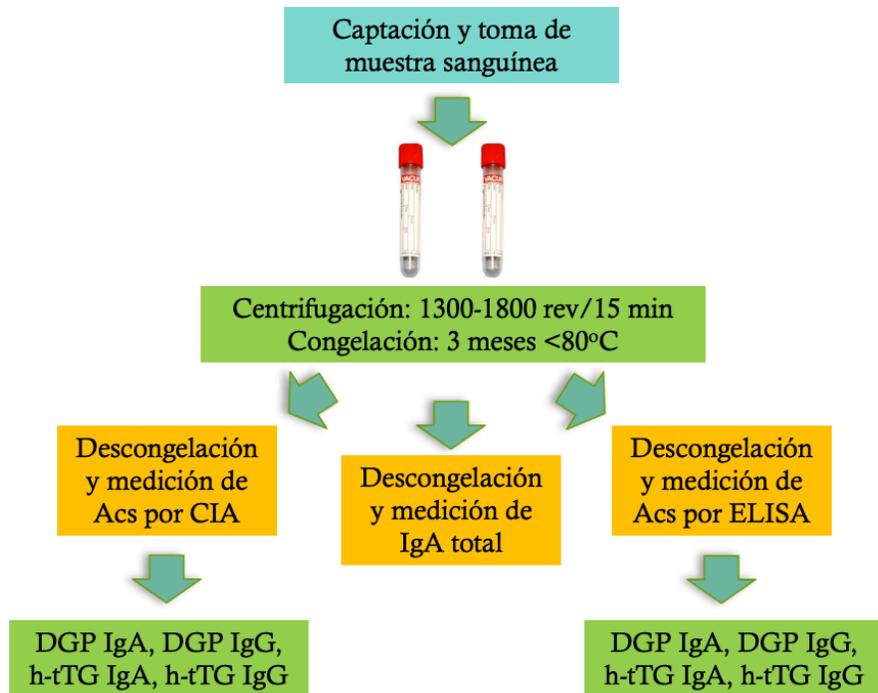
Procedimientos

- Lugar: Clínica de Enfermedad Celíaca del INCMNSZ
- Procedimientos específicos:
 - Captura de caso en la consulta de seguimiento de EC
 - Firma de consentimiento informado
 - Registro de variables demográficas, antecedentes médicos, síntomas clínicos, apego a la DLG.
 - Registro de los laboratorios relacionados al último control: biometría hemática, perfil de hierro, vitamina B12, ácido fólico.
 - De la toma de muestra de sangre obtenida por protocolo de seguimiento en la Consulta Externa se tomó 10mL de suero de muestras sanguíneas de los pacientes en seguimiento a quienes se les indica la determinación de anticuerpos regularmente. La muestra se dividió en dos tubos Vacutainer™, sin anticoagulante, para la determinación de los anticuerpos para EC (DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG).
 - A las muestras biológicas obtenidas se les asignó un número de serie para resguardar la información personal del paciente y evitar la posibilidad de identificación particular. Se almacenó de forma inmediata (<1 hora) después de la adecuada centrifugación (1300-1800 rvm/15 min) en condiciones adecuadas para su procesamiento (congelación a <80°C) en el Laboratorio Clínico Central del INCMNSZ.

Procesamiento de muestra sanguínea

- Lugar: Laboratorio Clínico Central del INCMNSZ
- Procedimiento:
 - Las muestras se procesaron en un período menor a 4 meses desde su congelación. Se descongelaron una vez para la determinación de los anticuerpos por el método de CIA y una segunda vez para la aplicación del método de ELISA.
 - Para la determinación de los anticuerpos por CIA se usó el kit QUANTA Flash® h-tTG IgA, h-tTG IgG, DGP IgA, DGP IgG; en el equipo BIO- FLASH®, Inova Diagnostics, San Diego, USA.

- Asimismo se determinó los anticuerpos h-tTG IgA, h-tTG IgG, DGP IgA, DGP IgG con el método convencional de inmunoensayo por ELISA.
- Para descartar que los pacientes presenten deficiencia sérica de IgA, lo cual puede dar falsos negativos en la medición de los anticuerpos h-tTG IgA y DGP IgA, también se determinó la concentración sérica de IgA total.



Técnicas, aparatos y/o instrumentos que se utilizarán en la medición:

- Para la determinación de los anticuerpos por el método de CIA se utilizó el Kit de QUANTA Flash® h-tTG IgA, h-tTG IgG, DGP IgA, DGP IgG; y se procesó en el equipo BIO- FLASH®, de Inova Diagnostics. El valor de corte para discriminar positivos de negativos es de 20 unidades quimioluminiscentes (CU) para todas las pruebas. El procesamiento se realizó en el Laboratorio Central del INCMNSZ.
- La determinación de los anticuerpos por el método de ELISA se utilizó el equipo del Laboratorio Central del INCMNSZ.
- Para la determinación de IgA sérica total se utilizó el equipo convencional del Laboratorio Clínico del INCMNSZ.

- Centrifugación a 1300 a 1800 revoluciones por minuto por 15 minutos, a temperatura ambiente. Almacenamiento bajo congelación <80°C durante un período de 3 meses.
- Financiamiento: El Departamento de Gastroenterología INCMNSZ y el Laboratorio Clínico Central INCMNSZ financiaron todos los costos relacionados con el procesamiento de las muestras de sangre y la determinación de los anticuerpos por ELISA, CIA e IgA total.
- No se generó ningún cobro a los pacientes.

Interpretación: Resultados de ELISA

Prueba	Valor de referencia (Reactividad)		
	Negativa U/mL	Positiva Débil U/mL	Positiva U/mL
Peptido gliadina desamidado IgA	< 20	20 – 30	> 30
Peptido gliadina desamidado IgG	< 20	20 – 30	> 30
Transglutaminasa IgA	< 4	4 – 10	> 10
Transglutaminasa IgG	< 6	6 – 9	> 9

Interpretación: Resultados de CIA

Prueba	Valor de referencia (Reactividad)		
	Negativa CU	Positiva Débil CU	Positiva CU
Peptido gliadina desamidado IgA	< 20	20 – 30	> 30
Peptido gliadina desamidado IgG	< 20	20 – 30	> 30
Transglutaminasa IgA	< 20	20 – 30	> 30
Transglutaminasa IgG	< 20	20 – 30	> 30

Interpretación: Resultados de IgA sérica total

Prueba	Valor de referencia (Reactividad)		
	Deficiencia mg/dL	Normal mg/dL	Alta mg/dL
IgA sérica total	< 60	60 – 443	> 443

Variables

Variable	Método de medición	Unidad de medida	Tipo de variable
h-tTG IgA	CIA en suero	CU Positivo >20	continua
h-tTG IgG	CIA en suero	CU Positivo >20	continua
DGP IgA	CIA en suero	CU Positivo >20	continua
DGP IgG	CIA en suero	CU Positivo >20	continua
h-tTG IgA	ELISA	U/mL Positivo >4	continua
h-tTG IgG	ELISA	U/mL Positivo >6	continua
DGP IgA	ELISA	U/mL Positivo >20	continua
DGP IgG	ELISA	U/mL Positivo >20	continua
IgA	Ensayo turbidimétrico	mg/dL Deficiencia	continua
Edad	Fecha de nacimiento	Años	continua
Sexo	Biológico	Masculino o Femenino	categorica
Peso	Balanza	Kg	continua
IMC	Índice	kg/t ²	continua
Cumple la DLG	Anamnesis	No, parcialmente, sí	categorica
Motivo de no cumplir la DLG	Anamnesis	Desinterés Inaccesibilidad a productos sin gluten Come fuera	categorica
Diarrea crónica (> 4 semanas)	Anamnesis	sí, no	categorica
Diarreas por día	Anamnesis	cantidad (número)	continua
Meses d diarrea	Anamnesis	cantidad (número)	continua
Flatulencia >50/d	Anamnesis	sí, no	categorica
Distensión >3h/d	Anamnesis	sí, no	categorica

Pérdida de Peso	Anamnesis	sí, no	categorica
Cantidad de pérdida de peso	Anamnesis	kg	continua
No. de meses pérdida de peso	Anamnesis	cantidad (número)	continua

Se emplearán las siguientes definiciones

- Enfermedad Celíaca no respondedora: anticuerpos positivos a pesar de estar con DLG >12 meses. Puede aplicarse la positividad a cualquiera de los anticuerpos que se encuentren por encima del límite superior del rango normal según los valores de referencia descritos previamente.
- Remisión clínica: ausencia de síntomas relacionados con la EC (diarrea malabsortiva, síntomas de anemia, dermatitis herpetiforme activa...) a los 12 meses de una DLG.
- Remisión serológica: negatividad de los anticuerpos contra EC (h-tTG IgA, h-tTG IgG, DGP IgA, DGP IgG) a los 12 meses de una DLG.
- Estándar de referencia: anticuerpos medidos por inmunoensayo de CIA.

Estrategia del análisis estadístico

Se empleará:

- Estadística descriptiva
 - Aplicación de la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar el tipo de distribución de los datos.
 - Para las variables categóricas se usó medidas de frecuencias y porcentajes.
 - Para las variables continuas se usó medidas de medianas con rangos intercuartilares.

- Estadística inferencial

- Prevalencia de EC no respondedora (Ppre). $P = \frac{a + c}{a + b + c + d}$
- Análisis de utilidad diagnóstica: sensibilidad (S), especificidad (E), falsos negativos (FN) y positivos (FP), valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN), cocientes de probabilidad positivo (LR+) y negativo (LR-), Odds pre y post prueba, y probabilidad postprueba (Ppost).
- El estándar de referencia será la medición por inmunoensayo de CIA.
- Para comparar variables categóricas se usó Chi² o prueba exacta de Fisher; y para las variables continuas se usó U de Mann-Whitney. Además se realizó análisis de Regresión Logística para la búsqueda de factores asociados a EC no respondedora.
- El valor de p será considerado como estadísticamente significativo cuando sea <0.05.

Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico *Stata v13*. Una $p < 0.05$ será considerada como significativa.

Cronograma y plan de trabajo

	Semestre 1	Semestre 2	Semestre 3	Semestre 4
Cronograma	Aprobación por Comité de Ética Reclutamiento de casos	Reclutamiento de pacientes	Reclutamiento de pacientes	Análisis estadístico, redacción y presentación final de resultados y conclusiones
Plan individual de actividades	Entrenamiento en técnica de procesamiento de las muestras para determinación de anticuerpos h-tTG IgA, h-tTG IgG, DGP IgA, DGP IgG	Procesamiento de las muestras Reclutamiento de controles sanos Revisión de expedientes Consulta externa	Procesamiento de las muestras Reclutamiento de controles sanos Revisión de expedientes Consulta externa	

11. CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (Artículo 17) en lo apartado referente a investigaciones en seres humanos, este trabajo es considerado como "riesgo mínimo", ya que la obtención de datos para fines de protocolo se llevará a cabo a través de la entrevista clínica, métodos no invasivos o métodos invasivos con riesgo mínimo (toma de muestra de sangre total).

También se tomaron en cuenta las Normas Oficiales Mexicanas para el manejo de productos biológicos.

Para respetar la ética en el proyecto se tomaron en cuenta los siguientes aspectos:

Confidencialidad: se garantiza la absoluta discreción con las informaciones obtenidas y se mantendrá el secreto profesional en todo su desarrollo.

Anonimato: para la realización de la base de datos se obviará todo elemento de identificación personal.

Factibilidad: su ejecución será posible porque su costo de realización es bajo y se contará con los recursos materiales y humanos para llevarlo a cabo.

Competencia: el tutor es especialista en Gastroenterología y Enfermos Celíacos por lo que tiene la capacidad para realizar el estudio.

El *investigador principal* es el profesional de la salud que es responsable de conducir, coordinar, dirigir y vigilar la ejecución de una investigación para la salud en seres humanos y que cuenta con la formación académica y experiencia adecuada para ello.

Se aplicará lo establecido en la Ley General de Salud, sus reglamentos y en las Buenas Prácticas Clínicas (ICH-E6-R1) antes, durante y después de la conducción de la investigación, incluyendo la confidencialidad del proyecto, así como el apego al protocolo clínico. Se protegerá la vida, dignidad, integridad, derecho, privacidad, proporcionar asistencia médica y salvaguardar la salud de los sujetos que participen en la investigación propuesta; aplicando los conocimientos y ética para cumplir con este deber sobre cualquier otro interés. El equipo de trabajo tiene el conocimiento, educación y entrenamiento en Buenas Prácticas Clínicas (ICH-E6R1) y en el proceso de la investigación que se llevará a cabo, asimismo se obtendrá el consentimiento informado, en el cual se entregará a los participantes de la investigación la información de contacto (teléfono de 24 horas, correo, nombre del contacto) para los casos de emergencia. Se reportarán y garantizarán la calidad y validez de los datos obtenidos durante la investigación.

Se tendrá en cuenta la NOM-004-SSA3-2012 correspondiente al Expediente Clínico que establece los criterios científicos, éticos, tecnológicos y administrativos obligatorios en la elaboración, integración, uso, manejo, archivo, conservación, propiedad, titularidad y confidencialidad del Expediente Clínico, el cual se constituye en una herramienta de uso obligatorio para el personal del área de la salud, de los sectores público, social y privado que integran el Sistema Nacional de Salud.

Se tendrá en cuenta la NOM-012-SSA3-2012 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

Consentimiento Informado

Se ofrecerá Consentimiento Informado a cada participante, quien no lo acepte, se tratará igualmente con respeto y se le realizará la atención médica adecuada sin incluirlo al protocolo.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de interés en la propuesta de esta investigación; y tampoco se está recibiendo ningún apoyo económico por parte de ninguna empresa en particular.

Recursos humanos

Dos Gastroenterólogos.
Dos Químicos Biólogos
Una Licenciada en Nutriología.

Recursos materiales

- Tubos de ensayo sin heparina, agujas, jeringas, vendas, algodón y alcohol fueron proveídos por el Laboratorio Clínico Central del INCMNSZ.
- Kit de pruebas de serología para la determinación de los anticuerpos por Elisa fueron procesados por el Laboratorio Clínico Central del INCMNSZ.
- Kit de pruebas diagnósticas para la determinación de los anticuerpos por CIA (INOVA Diagnostics) las cuales fueron procesadas en el Laboratorio Clínico Central del INCMNSZ.

Recursos financieros

- Todos los gastos fueron cubiertos por los investigadores.

12. RESULTADOS

De una población de 80 pacientes con Enfermedad Celíaca atendida en el la Clínica de Enfermedad Celíaca del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; fueron elegibles 69 pacientes. Once pacientes fueron excluidos debido a que 6 presentaban diagnóstico reciente <12 meses y otros 5 estaban con Dieta Libre de Gluten < 12 meses. De esos 69 pacientes elegibles, solo 55 fueron incluidos en el análisis porque los otros 14 no asistieron a sus citas de control y no pudieron ser localizados (Ver Figura 1).

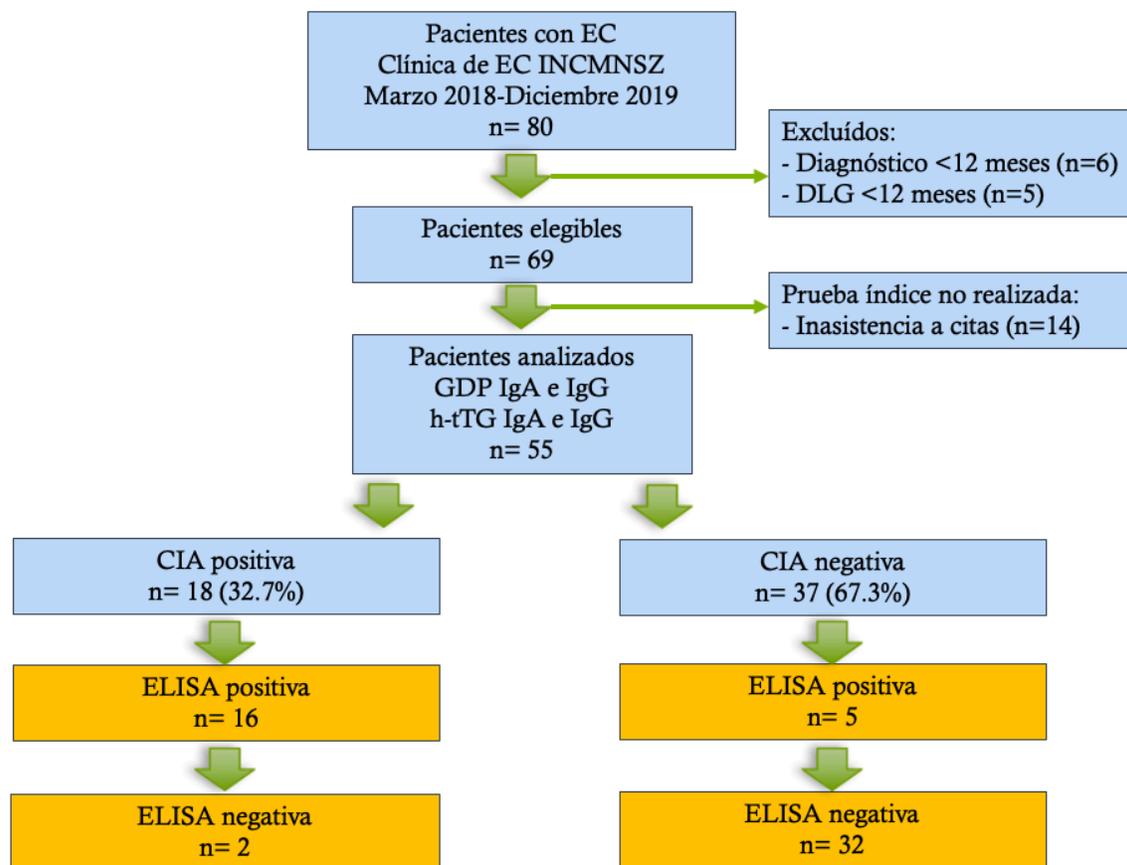


Figura 1. Flujograma de los pacientes con Enfermedad Celíaca incluidos en el estudio.

En los 55 pacientes analizados el sexo femenino fue el más frecuente (76.4% vs 23.6%) con una relación Mujeres:Hombres de 2.3:1; y la mediana de edad fue 56 con RIC 46-70. La mayoría de los pacientes estaban en normopeso con un IMC de 23.9 (RIC 21.5-26.9). La mediana en años de evolución de la Enfermedad Celíaca fue de 8 años con un RIC de 4-14 años; y las comorbilidades más frecuentes presentadas en los pacientes fueron Osteoporosis, Dermatitis Herpetiforme, Diabetes Mellitus e Hipotiroidismo (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Características generales de los pacientes con Enfermedad Celíaca.

Pacientes con EC n= 55 (% o RIC)	
Sexo	
femenino	42 (76.4)
masculino	13 (23.6)
Edad (años)	56 (46-70)
Índice de masa corporal	23.9 (21.5-26.9)
Tiempo de diagnóstico de EC (años)	8 (4-14)
Comorbilidad	
Ninguna	28 (50.91)
Hipertensión arterial	1 (1.82)
Dermatitis Herpetiforme	5 (9.1)
Osteoporosis	7 (12.7)
Anemia Perniciosa	3 (5.4)
Diabetes mellitus	5 (9.1)
Hipotiroidismo	4 (7.3)
Sjögren	2 (3.6)
Enfermedad autoinmune	10 (18.2)
EC: Enfermedad Celíaca; RIC: rango intercuartilar.	

Diez de los 55 pacientes analizados (18.2%) presentaron alguna enfermedad relacionada con la autoinmunidad dentro de las cuales se menciona Síndrome de Sjögren, Dermatitis Herpetiforme e Hipotiroidismo (Ver Tabla 1).

Dentro de los hallazgos encontrados en los pacientes relacionados con el tratamiento se pudo determinar que aunque la mayoría de ellos sigue de forma adecuada la DLG (34/55, 61.8%); existe una frecuencia relativa de 34.6% que siguen de forma parcial dicha dieta, la cual es fundamental para mantener un adecuado control de la enfermedad (Ver Tabla 2).

Los principales motivos por el cual no seguían la DLG o la seguían de forma parcial fueron relacionados a la inaccesibilidad a productos libres de gluten y principalmente a que necesitaban comer fuera de casa durante las horas laborales, que aunque solicitaban alimentos libres de gluten, durante su preparación pudieron estar contaminados de forma inadvertida. Asimismo, se encontró una frecuencia relativa de 29.1 % de pacientes que presentaba intolerancia a lácteos (Ver Tabla 2).

Tabla 2. Características generales relacionadas con el tratamiento en pacientes con Enfermedad Celíaca.

Pacientes con EC n= 55 (% o RIC)	
Cumple la DLG	
No	2 (3.6)
Parcialmente	19 (34.6)
Sí	34 (61.8)
Motivo por el cual probablemente no sigue la DLG	
Desinterés	6 (25)
Inaccesibilidad a productos LG	7 (29.2)
Come fuera	11 (45.8)
Intolerancia a lácteos	16 (29.1)
EC: Enfermedad Celíaca; RIC: rango intercuartil; DLG: dieta libre de gluten; LG: libre de gluten.	

Respecto a la presencia de síntomas en los pacientes evaluados se identificaron como principales síntomas la Flatulencia definido como >32 gases expulsados en menos de 24 horas lo cual estuvo presente en 24 de los 55 pacientes (43.6 %); así como la sensación de Distensión Abdominal presente en 26 pacientes (47.3 %) y la presencia de diarrea crónica definida por una duración >30 días (29.1 %). Datos complementarios como el número de diarreas por día y los meses de duración con la misma pueden observarse en la Tabla 3.

Tabla 3. Características clínicas en pacientes con Enfermedad Celíaca que están en tratamiento con Dieta Libre de Gluten > 12 meses.

	Pacientes con EC n= 55 (% o RIC)
Flatulencia (>32 gases/día)	24 (43.6)
Distensión abdominal	26 (47.3)
Diarrea crónica > 30 días	16 (29.1)
Número de diarreas por día	4 (2-5)
Meses con presencia de diarrea	3 (1-8)
Pérdida de peso	15 (27.3)
Número de kg perdidos	4 (2-5)
Tiempo con pérdida de peso (meses)	4 (3-10)
Dermatitis herpetiforme activa	0
Anemia	0
EC: Enfermedad Celíaca; RIC: rango intercuartilar; Kg: kilogramos.	

No se identificaron alteraciones crónicas relacionadas con signos de desnutrición, anemia, o actividad inflamatoria en los pacientes que presentaron Dermatitis Herpetiforme durante el diagnóstico según los antecedentes.

En relación a los análisis que responden al objetivo primario del presente trabajo; los anticuerpos detectados en los pacientes estudiados con Enfermedad Celíaca en tratamiento con una Dieta Libre de Gluten de al menos 12 meses se exponen en medianas con Rangos Intercuartilares en la Tabla 4. Sin embargo, para observar mejor el comportamiento de los datos también se exponen en medias con Desviaciones Estándar en la Tabla 5.

Tabla 4. Anticuerpos detectados en pacientes con Enfermedad Celíaca en tratamiento con Dieta Libre de Gluten > 12 meses (Md con RIC).

Pacientes con EC n= 55 (Md y RIC)	
Técnica de CIA (CU)	
GDP IgA	6.3 (5.2-37.5)
GDP IgG	2.8 (2.8-10.4)
h-tTG IgA	4.8 (2.1-21.8)
h-tTG IgG	3.8 (3.8-4.4)
Técnica de ELISA (U/mL)	
GDP IgA	10.7 (6.5-50.5)
GDP IgG	3.7 (1.9-12.7)
h-tTG IgA	1.23 (1.2-4.7)
h-tTG IgG	2.9 (1.6-4.3)
IgA total	234 (167-345)
EC: Enfermedad Celíaca; Md: mediana; RIC: rango intercuartilar; CIA: quimioluminiscencia; ELISA: ensayo inmunoabsorbente; GDP: anticuerpos antigliadina deaminada; h-tTG: anticuerpos antitransglutaminasa tisular.	

Es de notar que los rangos de referencia para todos los anticuerpos determinados con la técnica de quimioluminiscencia (CIA) el valor normal siempre es < 20 unidades quimioluminiscentes (CU); positivo débil se refiere a un rango de 21 a 30 CU; y positivo fuerte cuando el valor es >30 unidades CU; así como se exponen en las Tablas 4 y 5.

A diferencia de los rangos de referencia de los resultados de la determinación de los anticuerpos por CIA; los anticuerpos determinados por ELISA (ensayo inmunoabsorbente) varían de la siguiente forma: el rango normal de los anticuerpos antigliadina IgA e IgG es < 20 U/mL, positivo débil es entre 20 a 30 U/mL, y positivo fuerte cuando es > 30 U/mL. Los anticuerpos antitransglutaminasa IgA son positivo débil con un rango de 4 a 10 U/mL y > 10 U/mL es positivo fuerte; por último, los anticuerpos antitransglutaminasa IgG son postivo débil si se encuentran entre 6 a 9 U/mL y positivo fuerte si son > 9 U/mL.

Tabla 5. Anticuerpos detectados en pacientes con Enfermedad Celíaca en tratamiento con Dieta Libre de Gluten > 12 meses (Media con DE).

Pacientes con EC n= 55 (media y DE)	
Técnica de CIA (CU)	
GDP IgA	91.7 (± 341)
GDP IgG	27.1 (± 69)
h-tTG IgA	363 (± 1500)
h-tTG IgG	6.6 (± 13.8)
Técnica de ELISA (U/mL)	
GDP IgA	40.9 (± 50.9)
GDP IgG	16.8 (± 30.8)
h-tTG IgA	9.4 (± 21.3)
h-tTG IgG	4.9 (± 9.2)
IgA total	315 (± 344)
EC: Enfermedad Celíaca; DE: desviación estándar; CIA: quimioluminiscencia; ELISA: ensayo inmunoabsorbente; GDP: anticuerpos antigliadina deaminada; h-tTG: anticuerpos antitransglutaminasa tisular.	

Los pacientes que presentaron anticuerpos positivos en el seguimiento que los convierte en pacientes con Enfermedad Celíaca no respondedora a una Dieta Libre de Gluten se presentan en la Tabla 6 clasificados según la técnica con la que se midieron (CIA vs ELISA).

Es de notar que los que presentaron anticuerpos positivos en su mayoría fueron anticuerpos GDP IgA y h-tTG IgA por ambas técnicas. Solamente 2 pacientes de los 55 incluidos en el análisis presentaron deficiencia de IgA total y ninguno de ellos presentó positividad en los anticuerpos antigliadina IgG y antitransglutaminasa IgG (Ver Tabla 6).

Tabla 6. Pacientes con Enfermedad Celíaca en tratamiento con Dieta Libre de Gluten > 12 meses quienes presentan anticuerpos positivos en el seguimiento.

	EC no respondedora n= 55 (%)	EE (IC 95%)	IC 95%
Técnica de CIA			
GDP IgA	16 (29.1)	0.06	0.18-0.42
GDP IgG	11 (20)	0.05	0.11-0.33
h-tTG IgA	15 (27.3)	0.06	0.17-0.41
h-tTG IgG	2 (3.6)	0.02	0.01-0.14
Técnica de ELISA			
GDP IgA	21 (38.18)	0.07	0.26-0.52
GDP IgG	10 (18.2)	0.05	0.09-0.31
h-tTG IgA	14 (25.4)	0.05	0.15-0.39
h-tTG IgG	8 (14.5)	0.05	0.07-0.27
Deficiencia de IgA	2 (3.6)	0.02	0.01-0.14
EC: Enfermedad Celíaca; EE: error estándar; IC: intervalo de confianza; CIA: quimioluminiscencia; ELISA: ensayo inmunoabsorbente; GDP: anticuerpos antigliadina deaminada; h-tTG: anticuerpos antitransglutaminasa tisular.			

Los errores estándar de las frecuencias relativas de los pacientes con anticuerpos positivos para EC no respondedora a DLG fue bajo con intervalos calculados por debajo de la unidad. Es de notar también que los pacientes con deficiencia de IgA total se interpretarían como positivos exclusivamente por la evaluación de los anticuerpos DGP IgG y htTG IgG y no los anticuerpos contra IgA.

Para evaluar los desenlaces primarios del presente estudio se consideró como estándar de referencia la medición de los anticuerpos por la técnica de inmunoensayo por CIA, lo cual coincide con el diagnóstico certero de la presencia de EC no respondedora a una DLG cuando dichos anticuerpos se encontraban positivos (y no por ser positivo débil). La prevalencia de EC no respondedora en el presente estudio fue de 32 % al considerar como casos positivos aquellos pacientes que tuvieran cualquiera de los anticuerpos positivos con un rango de referencia de positivo y no positivo débil.

Cuando la prevalencia de EC no respondedora a DLG de > 12 meses de tratamiento se midió respecto a cada uno de los anticuerpos de forma individual, la misma fue de 20 a 37 %, respectivamente; así como se muestra en la Tabla 7.

La utilidad diagnóstica de cada uno de los anticuerpos para confirmar la presencia de EC no respondedora mediante su positividad también se muestra en la Tabla 7. En dicha tabla se encuentra la sensibilidad, especificidad, tasa de falsos negativos y positivos, los valores predictivos y negativos y las razones de verosimilitud. Es de notar que la mejor Sensibilidad se alcanzó con los anticuerpos h-tTG IgG con un 100%, seguido de GDP IgA, GDP IgG y h-tTG IgA, respectivamente. La mejor Especificidad se alcanzó con los anticuerpos GDP IgG con un 98%, seguido de h-tTG IgA, h-tTG IgG y GDP IgA, respectivamente. Según las razones de verosimilitud o cocientes de probabilidad (LR o CP), los anticuerpos de mayor utilidad diagnóstica para un LR+ fue GDP IgG y h-tTG IgA; y para un LR- fue h-tTG IgG y GDP IgA, respectivamente. De forma relevante, al considerar todos los anticuerpos y tomar como casos diagnosticados de EC no respondedora al estar positivo cualquiera de los anticuerpos, la Sensibilidad y Especificidad fueron del 89% y 86%, respectivamente; con un LR+ y LR- que demuestra buena utilidad diagnóstica cuando se determinaron los anticuerpos por el inmunodensayo de ELISA al usar como estándar de referencia el inmunoensayo por CIA (Ver Tabla 7).

Tabla 7. Utilidad del inumunonensayo por ELISA frente a CIA en el diagnóstico de Enfermedad Celíaca no respondedora a Dieta Libre de Gluten > 12 meses.

	P	S	E	FN	FP	VPP	VPN	LR +	LR -
Técnica de ELISA									
GDP IgA	0.29	0.87	0.82	0.13	0.18	0.66	0.94	4.8	0.15
GDP IgG	0.20	0.81	0.98	0.19	0.02	0.9	0.95	40.5	0.19
h-tTG IgA	0.27	0.8	0.95	0.2	0.05	0.85	0.92	16	0.21
h-tTG IgG	0.37	1	0.88	0	0.12	0.25	1	8.3	0
ELISA (todos los Acs)	0.32	0.89	0.86	0.11	0.14	0.76	0.94	6.35	0.13
EC: Enfermedad Celíaca; DE: desviación estándar; Kg: kilogramos; Acs: anticuerpos. P: prevalencia; S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR: Likelihood Ratio (razón de verosimilitud o cociente de probabilidad).									

En el análisis de asociación para identificar los factores que se encuentran asociados a la presencia de EC no respondedora a una DLG por más de 12 meses de tratamiento se encontraron como causas estadísticamente significativas el cumplimiento de la dieta de forma parcial y no plena (11/18 vs 8/18 pacientes, p 0.01); y la inaccesibilidad a productos libres de gluten (6/11 vs 1/11 pacientes, p 0.05). La presencia de comorbilidad, enfermedad autoinmune o intolerancia a los lácteos no fueron factores asociados (Ver Tabla 8).

Tabla 8. Factores asociados con la presencia de Enfermedad Celíaca no respondedora a una Dieta Libre de Gluten > 12 meses. A: Chi², B: Regresión Logística.

A.

	Con EC no respondedora n=18	Sin EC no respondedora n=37	p (Chi ² o Fisher)
Cumple la DLG			0.01
No	0	2	
Parcialmente	11	8	
Sí	7	27	
Motivo de no cumplir DLG			0.05
Desinterés	3/11	3/10	
Inaccesibilidad	6/11	1/10	
Come fuera	2/11	6/10	
Comorbilidad	11	16	0.25
Enfermedad autoinmune	6	10	0.75
Intolerancia a lácteos	3	13	0.21

EC: Enfermedad Celíaca; DLG: dieta libre de gluten.

B.

```
Multinomial logistic regression      Number of obs =      21
LR chi2(2)                          =      7.66
Prob > chi2                          =     0.0217
Pseudo R2                            =     0.2635
Log likelihood = -10.703122
```

cia	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
negativo					
cumpledlg	-18.7698	2745.613	-0.01	0.995	-5400.072 5362.532
motivoincumpdlg	1.481525	.8012319	1.85	0.064	-.0888606 3.051911
_cons	33.81694	5491.225	0.01	0.995	-10728.79 10796.42
positivo	(base outcome)				

13. DISCUSIÓN

La importancia del seguimiento de los pacientes con EC consiste en prevenir complicaciones nutricionales mediante la estrategia de evitar el contacto con el gluten en la dieta. Esto se logra a través de una DLG.(1) En este estudio se evaluó la utilidad diagnóstica de los anticuerpos para EC en una muestra de pacientes que llevan > 12 meses de estar en tratamiento con una DLG mediante dos técnicas: el inmunoensayo absorbente (ELISA) o la quimioluminiscencia (CIA). Tanto las guías clínicas como la mayoría de estudios publicados respecto al seguimiento de los pacientes con EC recomiendan realizar controles y evaluar la remisión serológica a los 6 y 12 meses de haber iniciado la DLG para prevenir complicaciones, y posteriormente cada año.(1,23-32)

Los Kits de ELISA son inmunoensayos versátiles utilizados en el laboratorio para la detección de anticuerpos, pero frente a la necesidad de detectar anticuerpos en más bajas concentraciones, ELISA presenta limitaciones en relación a la Sensibilidad. ELISA utiliza anticuerpos conjugados a una enzima que al añadir el sustrato cromogénico cataliza una reacción química que produce cambio de color visible y cuantificable. Para medir la concentración del analito se debe generar una curva estándar mediante concentraciones conocidas del antígeno. Los ensayos de CIA tienen el mismo fundamento que ELISA, pero con la diferencia que la enzima acoplada al anticuerpo de detección cataliza una reacción quimioluminiscente que emite fotones que generan luz en vez de cambio de color visible; esto permite un amplio rango de detección y mediciones cuantitativas que incrementan considerablemente la Sensibilidad.

En resumen, ELISA usa sustratos cromogénicos (TMB o ABTS), mide el cambio de color con alta sensibilidad pero a partir de más de 500 pg/mL, es ampliamente utilizado y estandarizado; la lectura debe hacerse en un corto período de tiempo y conlleva múltiples pasos realizados por el laboratorista en los cuales puede incurrir el error humano, tanto en la técnica como en la medición, y antes de procesarse cada prueba se debe tener un número suficiente para que al abrir el kit se costo-efectivo. CIA utiliza sustratos luminiscentes (luminol o éster de acridinio), mide la emisión de luz, es un ensayo ultrasensible porque detecta a partir de 1 pg/mL, utiliza reactivos altamente estables, de mayor rango dinámico, bajo fondo y es analizado dentro de un equipo automatizado que tiene un lector de quimioluminiscencia; este sistema automatizado disminuye el error humano y dentro del equipo las pruebas se pueden ir procesando conforme las muestras vayan entrando al laboratorio y no esperar hasta acumular un número determinado.

En el presente estudio se incluyeron 55 pacientes con EC en tratamiento con DLG >12 meses; en los cuales hubo una frecuencia mayor de mujeres que hombres con una relación de 2.3:1, con predominio del sexo femenino del 76.4%. Aunque no existen muchos estudios que evalúen la EC no respondedora a una DLG seguida por más de 12 meses, en estudios de diagnóstico y

seguimiento de pacientes con EC son comparables las proporciones reportadas, las cuales varían en un rango de 27% a 43% del sexo masculino y 57% a 73% del sexo femenino, respecto al sexo encontradas en el presente estudio.(33)

Tomando como estándar de referencia para el diagnóstico la positividad de los anticuerpos detectados por CIA; se encontró una Prevalencia del 32% de EC no respondedora a una DLG >12 meses, lo cual indica que un tercio de los pacientes con EC no están respondiendo de forma adecuada a dicha dieta. Dentro de los factores más importantes encontrados después de un análisis de asociación y de regresión logística se identificó el cumplimiento parcial de la DLG por parte de los pacientes (p 0.01), y de forma más específica fue la inaccesibilidad a productos libres de gluten como el factor asociado para cumplir de forma parcial dicha dieta (p 0.05). Esto es comparable a la literatura publicada respecto a la EC no respondedora, en donde se reporta una Prevalencia de 30% y como principales causas el consumo inadvertido de gluten y la DLG implementada de forma parcial por el mismo paciente; más que una refractariedad de la enfermedad en donde pueden existir otros factores incluyendo factores genéticos y que requieren tratamientos específicos como el uso de corticosteroides.(34)

Dentro de los principales síntomas clínicos presentados en los pacientes analizados se encontraron la flatulencia (43.6%), distensión abdominal (47.3%), diarrea crónica malabsortiva (29.1%) y pérdida de peso (27.3%), con una mediana de 4 kg (RIC 2-5) en 4 meses (RIC 3-10). Estos síntomas presentados por los pacientes pertenecen a la presentación típica, la cual corresponde a la clasificación descrita por Lionetti E et al en 2011 en donde menciona las manifestaciones clínicas de la EC divididas en EC típica, EC atípica, EC con enfermedad autoinmune asociada y EC con enfermedades genéticas asociadas. Aplicando esta clasificación a pacientes en seguimiento; en el presente estudio la principal presentación fue EC no respondedora típica, seguida de EC asociada a enfermedades autoinmunes como hipotiroidismo, Sjögren, Diabetes Mellitus tipo 1; seguido de casos aislados de EC atípica manifestada por Dermatitis Herpetiforme inactiva.(3)

Los anticuerpos investigados para el diagnóstico de EC no respondedora a una DLG fueron GDP IgA, GDP IgG, h-tTG IgA y h-tTG; de los cuales, los anticuerpos que presentaron mejor Sensibilidad y Especificidad fueron GDP IgA (S 0.87, E 0.82) y h-tTG IgG (S 1.0, E 0.88), respectivamente; determinados por inmunoensayo de ELISA frente al estándar de referencia CIA en este estudio. Es de notar, que se usó como estándar de referencia a CIA debido a que es una técnica ultrasensible y muy específica; y se decidió retar a ELISA debido a que es la técnica que se usa de forma estandarizada en el INCMNSZ y en la mayoría de laboratorios. Por muchos años se ha considerado a los anticuerpos para EC de clase IgA como la mejor prueba para monitorizar la respuesta serológica al tratamiento con una DLG.(1) Un Meta-análisis reciente demostró que la sensibilidad de los anticuerpos IgA para EC, en especial h-tTG IgA e incluso

Antiendomiso IgA, presentan relativamente baja sensibilidad para detectar actividad serológica (0.42 IC95% 0.32-0.53 y 0.45 IC95% 0.34-0.57, respectivamente); lo cual es comparable a los resultados presentados en el presente estudio, en donde la sensibilidad de h-tTG fue menor en la clase IgA que en la IgG.(33)

Los anticuerpos con mejores valores predictivos fueron GDP IgG (VPP 0.9, VPN 0.95) y h-tTG IgA (VPP 0.85, VPN 0.92). Estos mismos anticuerpos presentaron la mejor utilidad diagnóstica a partir de los cocientes de probabilidad o razones de verosimilitud en caso de que la prueba saliera positiva (LR+ 40.5 y 16), o en caso que saliera negativa (LR- 0.19 y 0), respectivamente, lo cual también puede compararse en múltiples estudios publicados en la última década.(23-32)

Dentro de las nuevas tecnologías aplicadas en el laboratorio clínico para la detección de anticuerpos está el inmunoensayo por CIA que es una de las más importantes debido a su ultrasensibilidad y gran especificidad, como se mencionó previamente. Permite resultados más precisos y más sensibles que ELISA, lo cual, consecuentemente tiene un impacto tanto epidemiológico en el diagnóstico de enfermedades inmunológicas como en el seguimiento durante el tratamiento, como es el caso de la EC, que permite detectar concentraciones bajas de anticuerpos positivos durante la evaluación de la respuesta a la DLG. Las detecciones de anticuerpos con ELISA en el presente estudio demostraron que se encuentran con Sensibilidad y Especificidad alrededor de 80 a 90 % que aunque son cifras altas quedan por debajo del nivel de detección de la técnica más novedosa (CIA). Por esa razón, este estudio también permite sugerir una actualización en las técnicas de detección de anticuerpos para EC con la implementación del ensayo de CIA en el seguimiento de los pacientes con EC que están en una DLG. Un reciente estudio que evaluó la respuesta a la DLG en pacientes con EC pediátricos comparó ELISA vs CIA. Ellos encontraron resultados más precisos, mejor sensibilidad y mayor utilidad diagnóstica con el inmunoensayo de CIA.(35) La relevancia de CIA también se ha probado en la detección de anticuerpos para otras enfermedades.(36)

El número de pacientes en el presente estudio es probablemente una de las principales limitaciones; no obstante se incluyó a todos los pacientes que asistieron a sus citas control y que estaban en una DLG por al menos 12 meses. Otra limitación importante es que no se investigó la respuesta de los pacientes a las intervenciones dietéticas en los casos con EC no respondedora quienes presentaron anticuerpos positivos ni se investigó la presencia de EC refractaria en casos en que realmente estuvieran cumpliendo de forma completa la DLG, sin ingestión inadvertida de gluten y en la cual pueden existir otros factores implicados. Cabe destacar que en este estudio se retó al ensayo de ELISA, que es por lo general la técnica estándar de medición de anticuerpos para EC, frente al novedoso ensayo de CIA como una técnica ultrasensible por su capacidad de detección de concentraciones bajas de anticuerpos.

14. CONCLUSIONES

La Prevalencia de EC no respondedora a DLG seguida por al menos 12 meses es de 32 % en los pacientes con diagnóstico previo de EC incluidos en el presente estudio. Los anticuerpos detectados por ensayo de ELISA (GDP IgA, GDP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG) tienen alta sensibilidad (>80%) y especificidad (>80%); de los cuales, tuvieron mayor utilidad diagnóstica DGP IgG y h-tTG IgA (LR+ >16 y LR- <0.21). Los factores asociados a la presencia de EC no respondedora fueron seguir de forma parcial la DLG y la inaccesibilidad a productos libres de gluten. Aunque ELISA presenta buena utilidad diagnóstica como técnica de laboratorio en la detección de anticuerpos para EC, tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de los pacientes que están en DLG, sigue siendo inferior a CIA, por lo cual se sugiere implementar la CIA en la práctica clínica por su capacidad ultrasensible y la posibilidad de hacer cambios en la conducta terapéutica de forma temprana.

15. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses respecto al desarrollo del presente estudio.

16. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a LN Viridiana Romero y a QC. Adriana Telio Aguirre por su importante colaboración en el desarrollo del presente estudio; así como a la Clínica de Enfermedad Celíaca del INCMNSZ liderada por el Dr. Luis F. Uscanga Domínguez, y al Laboratorio Central del INCMNSZ liderado por el Dr. Reynerio Fagundo Sierra.

Referencias:

1. Rubio-Tapia A, Hill I, Kelly C, *et al.* ACG Clinicals Guidelines: Diagnosis and management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:656-676.
2. Bai J, Zeballos E, Fried M, *et al.* Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Enfermedad Celíaca. *Gastroenterol Latinoam* 2010; 21(1):34-44.
3. Lionetti E, Catassi C. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *Int Rev Immunol* 2011; 30:219-31.
4. Remes-Troche JM, Uscanga-Domínguez LF, Aceves-Tavares RG, *et al.* Guía clínica para diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en México. *Rev Gastroenterol Mex* 2018; 83(4):434-50.
5. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet* 2009; 373:1480-93.
6. Reilly NR, Fasano A, Green PH. Presentation of celiac disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012; 22:613-21.
7. Murray JA, Watson T, Clearman B *et al.* Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:669-73.
8. Villalta D, Alessio M, Tampoia M, *et al.* Diagnostic accuracy of IgA anti-tissue transglutaminase antibody assays in celiac disease patients with selective IgA deficiency. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1109:212-20.
9. Abdulkarim AS, Burgart LJ, See J *et al.* Etiology of nonresponsive celiac disease: results of a systematic approach. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:2016-21.
10. Lanzini A, Lanzarotto F, Villanacci V *et al.* Complete recovery of intestinal mucosa occurs very rarely in adult coeliac patients despite adherence to gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29:1299-308.
11. Leffler DA, Dennis M, Hyett B *et al.* Etiologies and predictors of diagnosis in nonresponsive celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5:445–50.
12. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC *et al.* The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013; 62:43-52.
13. Cellier C, Delabesse E, Helmer C, *et al.*, French Coeliac Disease Study Group. Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group. *Lancet* 2000; 356:203-8.

14. Sárdy M, Odenthal U, Kárpáti S, *et al.* Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Clin Chem* 1999; 45:2142-49.
15. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, *et al.* Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterology* 2000; 95:1253-57.
16. Sugai E, Vázquez H, Nachman F, *et al.* Accuracy of testing antibodies to synthetic Gliadin-related peptides in celiac disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2006; 4:1112-17.
17. Kurppa K, Lindfors K, Collin P, *et al.* Antibodies against deamidated gliadin peptides in early stage celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45(8):673-8.
18. Volta U, Granito A, Parisi C, *et al.* Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44:186-90.
19. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, *et al.* Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. *Clin Chem* 2002; 48:1546-50.
20. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005; 128:S25-S32.
21. Prince H. Evaluations of the INOVA Diagnostics enzyme-linked immunosorbent assay kits for measuring serum immunoglobulins G (IgG) and IgA to deamidated gliadin peptides. *Clinical Vaccine Immunol* 2006; 4(1):150-1.
22. Previtali G, Licini L, D'Antiga L, *et al.* Celiac disease diagnosis without biopsy: Is a 10^x ULN antitransglutaminase result suitable for a chemiluminescence method?. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66(4):645-650.
23. Bannister EG, Cameron DJ, Ng J, *et al.* Can celiac serology alone be used as a marker of duodenal mucosal recovery in children with celiac disease on a gluten-free diet?. *Am J Gastroenterol.* 2014; 109:1478–83.
24. Lichtwark IT, Newnham ED, Robinson SR, *et al.* Cognitive impairment in coeliac disease improves on a gluten-free diet and correlates with histological and serological indices of disease severity. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40:160–70.

25. Pekki H, Kurppa K, Maki M, *et al.* Predictors and Significance of Incomplete Mucosal Recovery in Celiac Disease After 1 Year on a Gluten-Free Diet. *Am J Gastroenterol.* 2015; 110:1078–85.
26. Sharkey LM, Corbett G, Currie E, *et al.* Optimizing delivery of care in coeliac disease - comparison of the benefits of repeat biopsy and serological follow-up. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 38:1278–91.
27. Volta U, Granito A, Fiorini E, *et al.* Usefulness of Antibodies to Deamidated Gliadin Peptides in Celiac Disease Diagnosis and Follow-up. *Dig Dis Sci.* 2008; 53:1582–88.
28. Zanini B, Magni A, Caselani F, *et al.* High tissue-transglutaminase antibody level predicts small intestinal villous atrophy in adult patients at high risk of celiac disease. *Dig Liver Dis* 2012; 44:280–85.
29. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, *et al.* What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6:314–20.
30. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, *et al.* Self-transglutaminase-based rapid coeliac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:147–54.
31. Rubio-Tapia A, Rahim MW, See JA, *et al.* Mucosal recovery and mortality in adults with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:1412–20.
32. Sjöberg V, Hollén E, Pietz G, *et al.* Non-contaminated dietary oats may hamper normalization of the intestinal immune status in childhood celiac disease. *Clin Transl Gastroenterol* 2014; 5(6):e58.
33. Silvester J, Kurada S, Szwajcer A, *et al.* Tests for serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies do not detect most patients with Celiac Disease and persistent villous atrophy on gluten-free diets: A Meta-analysis. *Gastroenterology* 2017; 153(3):689-701.
34. Penny H, Baggus E, Rej A, *et al.* Non-responsive Coeliac Disease: A comprehensive review from the NHS England National Centre for Refractory Coeliac Disease. *Nutrients* 2020; 12(1). pii E216.
35. Sansotta N, Alessio M, Norsa L, *et al.* Trend of anti-tissue transglutaminase antibody normalization in children with celiac disease started on gluten free diet: a comparative study between Chemiluminescence and ELISA serum assays. *J Ped Gastroenterol Nut* 2020; 70(1):37-41.

36. Madiyal M, Sagar S, Vishwanath S, *et al.* Comparing assay performance of ELISA and Chemiluminescence immunoassay in detecting antibodies to Hepatitis B surface antigen. *J Clin Diag Res* 2016; 10(11):DC22-DC25.

17. ANEXOS

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION EN SALUD

Utilidad de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG determinados por quimioluminiscencia (CIA) y comparados con ELISA en el seguimiento de pacientes con Enfermedad Celíaca

Lugar y fecha: Ciudad de México, _____ de _____ de 20____.

Por favor tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga, para decidir si participa o no deberá tener el conocimiento suficiente acerca de los beneficios y riesgos del presente estudio de investigación.

Estimado Señor

(a): _____, se le invita a participar en el estudio arriba mencionado, que se desarrollará en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, cuyo objetivo será Evaluar la presencia de EC no respondedora mediante la determinación de los anticuerpos por ELISA y Quimioluminiscencia (CIA) en pacientes >12 meses con dieta libre de gluten.

Su participación en el estudio consiste en acudir a la Clínica de Enfermedad Celíaca a sus citas de seguimiento para el control y evaluación de la la respuesta al tratamiento de la Dieta Libre de Gluten relacionada con la Enfermedad Celíaca.

Como primer punto se le harán preguntas relacionadas con sus características socio-demográficas como nombre, edad, sexo, número de expediente clínico, antecedentes personales patológicos; y preguntas relacionadas con el seguimiento de su enfermedad y especialmente de la Dieta Libre de Gluten y la respuesta a la misma mediante la presencia o ausencia de síntomas como diarrea y pérdida de peso.

También se realizará examen clínico general en el cual se pretende identificar características relacionadas con la actividad clínica de la enfermedad incluyendo el índice de masa corporal, estado general, lesiones dermatológicas como Dermatitis Herpetiforme, signos clínicos de carencias nutricionales.

Por último se le pedirá su autorización para poder obtener una parte del suero de la sangre extraída de forma habitual en sus citas controles para poder determinar los niveles séricos de los anticuerpos **DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA,**

y **h-tTG IgG** con el objeto de identificar su positividad o negatividad y así poder evaluar si existe respuesta o actividad serológica. Los anticuerpos serán medidos por dos técnicas de laboratorio; es decir, por ensayo inmunoabsorbente (ELISA) o Quimioluminiscencia (CIA).

Los Kits de ELISA son inmunoensayos versátiles utilizados en el laboratorio para la detección de anticuerpos, pero frente a la necesidad de detectar anticuerpos en más bajas concentraciones, ELISA presenta limitaciones en relación a la Sensibilidad. ELISA utiliza anticuerpos conjugados a una enzima que al añadir el sustrato cromogénico cataliza una reacción química que produce un cambio de color visible y cuantificable. Para medir la concentración del analito se debe generar una curva estándar mediante concentraciones conocidas del antígeno. Los ensayos de CIA tienen el mismo fundamento que ELISA, pero con la diferencia que la enzima acoplada al anticuerpo de detección cataliza una reacción quimioluminiscente que emite fotones que generan luz en vez de cambio de color visible; esto permite un amplio rango de detección y mediciones cuantitativas que incrementan considerablemente la Sensibilidad.

En resumen, ELISA usa sustratos cromogénicos (TMB o ABTS), mide el cambio de color con alta sensibilidad pero a partir de más de 500 pg/mL, es ampliamente utilizado y estandarizado; la lectura debe hacerse en un corto período de tiempo y conlleva múltiples pasos realizados por el laboratorista en los cuales puede incurrir el error humano, tanto en la técnica como en la medición. CIA utiliza sustratos luminiscentes (luminol o éster de acridinio), mide la emisión de luz, es un ensayo ultrasensible (>1 pg/mL), utiliza reactivos altamente estables, de mayor rango dinámico, bajo fondo y es analizado dentro de un equipo automatizado que tiene un lector de quimioluminiscencia; este sistema automatizado disminuye el error humano.

Como resultado de aplicar las dos técnicas se obtendrá las características de la utilidad diagnóstica de ELISA frente a CIA, lo cual permitirá conocer si es válido seguirlo utilizando cuando existe una técnica más novedosa y automatizada que disminuye, incluso, el error humano en su aplicación.

Asimismo, y no menos importante, se conocerá la prevalencia de Enfermedad Celíaca no respondedora en los pacientes de la Clínica y además, se investigará cuáles son los factores por los cuales no hay respuesta adecuada a una Dieta Libre de Gluten.

RIESGOS:

Los riesgos más relevantes están relacionados con la toma de sangre para procesar los anticuerpos. No obstante en este estudio no se tomará una muestra extra de sangre. Simplemente de la muestra de sangre que le solicitan regularmente en la cita de la Clínica de Enfermedad Celíaca se tomará una parte del suero para poder procesarla por las técnicas de inmunoensayo descritas previamente.

BENEFICIOS:

“El presente estudio tendrá un beneficio directo para usted. Con la realización de este estudio se espera diagnosticar la presencia de Enfermedad Celíaca no respondedora en el caso que los anticuerpos sean positivos. Un beneficio extra se obtendrá con la aplicación de la técnica de Quimioluminiscencia debido a que es una técnica ultrasensible en la detección de los anticuerpos incluso a concentración muy bajas. Una vez obtenidos los resultados se le notificarán en la cita subsecuente o por contacto telefónico para agendar una cita más cercana y poder ajustar el tratamiento.

DISPONIBILIDAD DE TRATAMIENTO MEDICO Y/O INDEMINIZACIÓN EN SU CASO: Este estudio no conlleva riesgos relacionados a reacciones adversas a medicamentos porque no se le administrarán medicamentos o medidas invasivas terapéuticas durante la realización. Sin embargo, si se determinaran consecuencias médicas de algún tipo, tanto los investigadores como el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición darán asistencia.

PARTICIPACIÓN

Su participación es VOLUNTARIA, usted puede decidir libremente participar o no, esto no afectará su derecho para recibir atención médica en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Si participa puede retirarse del estudio en el momento en que lo desee sin que esto influya sobre el tratamiento habitual que le ofrece el hospital para su enfermedad de base.

INFORMACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ALTERNATIVOS O TRATAMIENTOS EXISTENTES: no existen procedimientos y/ o tratamientos alternativos por el momento durante el curso del estudio.

MANEJO DE LA INFORMACIÓN.

En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la ley (art. 6): licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger sus datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado.

“Su nombre no será usado en ninguno de los estudios, las muestras biológicas obtenidas, cuestionarios, etc., no contendrán ninguna información personal y se codificarán con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Los códigos que identifican, su muestra o información estarán solo disponibles a los investigadores titulares quienes están obligados por ley a no divulgar su identidad”. Usted podrá tener acceso a la información sobre este estudio en caso de solicitarlo.

PARTICIPANTE:

Confirmando haber recibido información suficiente y clara sobre el estudio propuesto, doy mi autorización para ser incluido en este proyecto de investigación, reservándome el derecho de abandonarlo en cualquier momento si así lo decido.

Nombre: _____ Firma: _____
Nombre y firma del Participante o Representante legal.
Parentesco: _____
Domicilio: _____

TESTIGOS:

_____ (1) Nombre y firma	_____ (2) Nombre y firma
Parentesco: _____	Parentesco: _____
Domicilio: _____	Domicilio: _____

INVESTIGADOR O MÉDICO QUE INFORMA:

Dr. Mario René Pineda De Paz / Dr. Luis F. Uscanga Domínguez

Le he explicado al Sr (a) _____, la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He dado respuesta a todas sus dudas, y le he preguntado si ha comprendido la información proporcionada, con la finalidad de que pueda decidir libremente participar o no en este estudio. Acepto que he leído, conozco y me apego a la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos, que pondré el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación, por encima de cualquier otro objetivo.

Investigador responsable:

Dr. Mario René Pineda De Paz / Dr. Luis F. Uscanga Domínguez

Teléfono: _____

Firma: _____

El documento se expide por duplicado, entregando una copia al participante.

ANEXO 2. AVISO DE PRIVACIDAD

AVISO DE PRIVACIDAD

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: Utilidad de los anticuerpos DGP IgA, DGP IgG, h-tTG IgA, y h-tTG IgG determinados por quimioluminiscencia (CIA) y comparados con ELISA en el seguimiento de pacientes con Enfermedad Celíaca.

El presente Aviso de Privacidad tiene como objeto informarles sobre el tratamiento que se le dará a sus datos personales cuando los mismos son recabados, utilizados y almacenados.

Investigador responsable de recabar sus datos personales, de su uso y protección:

Nombre: Dr. Mario René Pineda De Paz, Dr. Luis F. Uscanga Domínguez
Domicilio: Avenida Vasco de Quiroga No. 15 Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Delegación Tlalpan C.P. 14080, Ciudad de México.
Teléfono: 5566119327 Correo electrónico: mariopinedadp@gmail.com

Su información personal será utilizada con la finalidad de proporcionar información sobre exámenes clínicos y de laboratorios practicados, información sobre su padecimiento y antecedentes patológicos para lo cual requerimos obtener los siguientes datos personales: nombre, edad, sexo, comorbilidades, tratamientos medicamentosos, alergias, antecedentes quirúrgicos, antecedentes patológicos personales, información del padecimiento actual,. Estos datos son considerados como sensibles de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos proporcionados por usted serán tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad. En el caso de este proyecto las medidas que se tomaran para ello serán: utilizar códigos, y número de expediente y se almacenaran en archivos electrónicos en bases de datos en programa de Word, Power Point, Excel, SPSS y STATA a cargo del investigador

Le aclaramos que la información de sus datos personales puede no será compartida y manejada por personas distintas a esta institución excepto en caso de publicarse o presentarse en ponencias, se utilizarán datos que no incluyan su información personal como nombre dirección,

número de expediente u otro dato que pueda identificarlo(a) con la finalidad de aportar conocimiento a la comunidad científica en beneficio de la atención de más pacientes.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al manejo de los mismos o anular el consentimiento que nos haya otorgado para tal fin, presentando una carta escrita dirigida a el/ la investigador responsable Dr. Mario René Pineda De Paz y Dr. Luis F. Uscanga Domínguez.

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: Manifiesto estar de acuerdo con el tratamiento que se dará a mis datos personales.

Nombre y firma del sujeto de investigación o paciente:

Nombre: _____ Firma: _____

Fecha: _____ Ciudad de México: _____ de _____ de 20 _____