

LDBIO TOXO II IgG CE0459



CONFIRMACIÓN

Prueba de inmunotransferencia de diagnóstico *in vitro*
Técnica semiautomática / manual

#TOXO II 24G : 24 pruebas

#TOXO II 12G : 12 pruebas

#TOXO II 96G : 96 pruebas

INSTRUCCIONES DE USO

Encuentre más información e instrucciones de uso en su idioma en nuestro sitio web

www.ldbiodiagnostics.com

USO PREVISTO

LDBIO TOXO II IgG se trata de un análisis cualitativo de diagnóstico serológico de IgG mediante una prueba de inmunotransferencia de toxoplasmosis previsto para las pruebas confirmatorias de un resultado positivo o ambiguo obtenido por medio de pruebas diagnósticas clásicas. Puede realizarse en suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) o humor acuoso.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Técnica Western Blot

Los antígenos de *Toxoplasma gondii*, una vez separados mediante electroforesis, se unen mediante electrotransferencia a la superficie de una membrana de nitrocelulosa (llamada de transferencia), que se corta en 24 tiras numeradas del 1 al 24.

Desarrollo de la prueba

Cada muestra de suero (o LCR/humor acuoso) del ensayo se incuba por separado con una tira. Los anticuerpos específicos, potencialmente presentes en la muestra, se unen de forma selectiva a los antígenos. El conjugado de fosfatasa alcalina con IgG antihumana se une posteriormente a los anticuerpos unidos. Finalmente, los inmunocomplejos reaccionan al sustrato. Los antígenos reconocidos por los anticuerpos específicos de tipo IgG presentes en las muestras aparecen como bandas transversales de color púrpura.

REACTIVOS SUMINISTRADOS CON EL KIT

Por defecto: Caja con 24 pruebas (#TOXO II 24G)

*cursiva: caja con 12 pruebas (#TOXO II 12G) - **negrita: Caja con 96 pruebas (#TOXO II 96G).***

ID	Cantidad	Descripción	Composición
R1	1	Carpeta(s) con 24 (12, 4x24) TIRAS: precortadas + estándares de color. (Cada carpeta y cada transferencia se identifica mediante un número de serie único)	Nitrocelulosa sensibilizada. Peso molecular codificado por colores (kDa): Azul: 250, Azul: 150, Azul: 100, Rosa: 75, Azul: 50, Verde: 37, Rosa: 25, Azul: 20, Azul: 15.
R2	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de AMORTIGUADOR DE MUESTRAS (Listo para su uso - solución rosada).	Amortiguador + tensioactivo.
R3	1	Frasco(s) de 30 (30, 2x60) ml de CONJUGADO ANTI IgG (Listo para su uso - solución azul).	Amortiguador + sueros policlonales de cabra anti-IgG humana conjugados con fosfatasa alcalina + NaN ₃ (<0,1%) + estabilizadores.
R5	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de SUSTRATO (Listo para su uso - frasco marrón opaco).	Amortiguador + nitroazul de tetrazolio (NBT) + 5-Bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) + estabilizadores.
R6	1	Frasco de 60 (60, 250) ml de AMORTIGUADOR DE LAVADO CONCENTRADO 10X (<u>Para diluir 10 veces</u> en agua destilada - solución incolora).	Amortiguador + tensioactivo + NaN ₃ (<0,1%).
R10	1	Tubo de 100 (100, 2x100) µl de SUERO de CONTROL POSITIVO (Listo para su uso - tapón rojo).	Amortiguador + mezcla de suero humano positivo en serología para Toxoplasma + NaN ₃ (<0,1%) + estabilizadores.

R2, R3, R5 y R6 son los mismos para todos los kits y tienen un número de lote único dependiendo solo de su fecha de producción. **Se recomienda realizar series multiparamétricas (véase el rango de inmunotransferencia de LDBIO), para limitar el número de frascos abiertos y asegurar un mejor control de calidad.**

El **R10** está calibrado en inmunotransferencia de acuerdo con un lote de referencia y solo está dedicado a esta técnica.

R3, R6, R10 (NaN₃): EUH 032 - En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

EUH 210 Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad, así como en nuestro sitio web www.ldbiodiagnostics.com.

SE REQUIERE MATERIAL ADICIONAL NO SUMINISTRADO

- Bandejas de incubación de polipropileno multicanal para mini transferencias (#WBPP-08 o equivalente).
- Plataforma giratoria para inmunotransferencias, sistema de vacío para líquidos (los tubos #WBPP-08 que suministramos pueden vaciarse con un simple giro).
- Tubos y material para la extracción de muestras, cilindros graduados.
Pipetas automáticas, micropipetas y puntas desechables (volúmenes de 10 µl, 25µl, 1,2 ml y 2 ml).
- Agua destilada o desionizada. Papel absorbente (p. ej., papel de filtro Whatman), cinta adhesiva transparente.
- Guantes, pinzas para manipular las tiras, cuchilla o bisturí y regla plana transparente.

Nota: nuestros reactivos pueden utilizarse en un procesador automático de inmunotransferencia. **Se debe prestar atención a los contaminantes químicos de nuestros reactivos en caso de que el procesador sea compartido con reactivos de otro fabricante** (un ejemplo conocido: contaminación por el TWEEN 20) y contaminaciones bacterianas. Frascos de reserva para el procesador. Después del procesamiento, no vuelva a colocar los reactivos usados restantes en los frascos originales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar a una temperatura entre 2 y 8°C. Los reactivos del Kit permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja exterior y las etiquetas de los frascos. El amortiguador de lavado diluido al 1/10 permanece estable durante 2 meses a una temperatura entre +2 y +8 C y una semana a temperatura ambiente.

PRECAUCIONES DE USO

Seguridad

- Solo para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional. Solo para personal capacitado técnicamente. Manipule conforme a la buena práctica de laboratorio y tenga en cuenta cualquier reactivo y cualquier muestra como potencialmente tóxicos y/o infecciosos.
- Haga uso de una bata de laboratorio, guantes y gafas; no beba, coma ni fume en el laboratorio. No introduzca las pipetas en la boca.
- El control positivo es un suero de origen humano que ha sido inactivado para los virus VIH 1 y 2, hepatitis B y hepatitis C. No obstante, debe manipularse como si fuera un producto potencialmente infeccioso.
- El sustrato contiene una mezcla de NBT y BCIP, tóxica al contacto (con la piel y las membranas mucosas) y por inhalación.
- Los reactivos contienen azida sódica, que puede formar sales metálicas explosivas con el plomo y el cobre. Enjuague las salpicaduras con agua.
- Elimine los residuos (muestras, puntas, tubos, líquido de lavado, reactivo usado...) de acuerdo con las buenas prácticas empleadas en la industria y la normativa vigente del país.
- Cualquier incidente grave debe ser objeto de una declaración al fabricante y a la autoridad competente.

Precauciones

- Lea e interprete los resultados bajo luz blanca directa.
- No utilice los reactivos líquidos procedentes de lotes diferentes simultáneamente.
- Utilice las tiras en orden numérico. No mezcle las tiras procedentes de cajas con números de serie diferentes; utilice las transferencias consecutivamente. Establezca un plan de distribución específico antes de comenzar la prueba.
- No toque las tiras con los dedos; utilice pinzas.

- Los reactivos deben mezclarse bien antes de su uso, especialmente el amortiguador de lavado concentrado.
- Cierre los frascos después de cada uso; no se deben utilizar si se introdujera accidentalmente una sustancia en los reactivos. No utilice el reactivo de un frasco que presente indicios de fuga. No utilice soluciones turbias o precipitadas.
- Utilice solo puntas de pipetas desechables. Evite cualquier contaminación entre los canales. Vigile la formación de espuma o burbujas en las puntas de las pipetas (contaminación bacteriana de los frascos de reactivos).
- Limpie las bandejas de incubación solo con agua limpia y seguidamente con agua destilada (no utilice nunca detergente ni lejía).
- La omisión de una muestra o la distribución de un volumen inadecuado pueden dar lugar a un resultado negativo o positivo de la prueba, independientemente de su situación real.

RECOGIDA DE ESPECÍMENES

Recoja las muestras en tubos secos de forma aséptica. Se requiere una cantidad mínima de suero de 10 µl, humor acuoso o LCR. En los casos de humor acuoso o LCR, el uso de 25 µl aumentará la sensibilidad de la prueba.

Mantenga las muestras a una temperatura entre 2 y 8 °C hasta su procesamiento durante más de una semana. Congele las muestras a una temperatura de -20 ± 5 °C si precisan almacenamiento. No utilice la muestra que esté contaminada. Evite la congelación y descongelación repetidamente de las muestras.

Aunque no se ha observado ninguna reacción cruzada con sueros hemolizados, ictéricos o lipídicos, se recomienda interpretar los resultados a partir del uso cauteloso de dichas muestras.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Amortiguador de lavado: para 4 pruebas, en un frasco limpio, diluya 10 ml de concentrado de lavado 10X (**R6**) en 90 ml de agua destilada o desionizada.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Nota Bene: se recomienda realizar series multiparamétricas (véase el rango de inmunotransferencia de LDBIO), para limitar el número de frascos abiertos y asegurar un mejor control de calidad.

1. Prepare un plan de distribución para las muestras y un control positivo C+ (**R10**).

Solo mediante el uso de este control será posible validar la prueba técnicamente y llevar a cabo la identificación, para un número de serie determinado de las bandas específicas desarrolladas. No puede utilizarse una tira C+ para interpretar los resultados de las tiras de una transferencia con un número de serie diferente.

2. Corte el número de tiras necesario (R1) con un bisturí y una regla plana transparente limpia, manteniendo la línea azul de posición en las tiras: sujete las tiras con firmeza de acuerdo con la posición de la regla y córtelas por el lado donde se está haciendo presión (los números son visibles a través de la regla).
3. Distribuya 1,2 ml de amortiguador de muestras (R2) en cada canal de acuerdo con el plan establecido.
4. Deposite, por orden numérico, las tiras numeradas en los canales: deje que las tiras se rehidraten en la superficie del amortiguador durante aproximadamente 2 minutos, con el número visible en la parte superior, LUEGO agitando suavemente la bandeja para sumergirlas completamente en el amortiguador.
5. Distribuya las muestras y los controles positivos: de acuerdo con el plan de distribución, a razón de 10 µl por canal (preferentemente 25 µl para humor acuoso o LCR). Agite suavemente la bandeja después de cada dispensación. Coloque la bandeja en una plataforma giratoria. **Incube durante 90 min** \pm 5 min a temperatura entre 20 y 26 °C.

6. Fase de lavado: vacíe el contenido de los canales con una pipeta Pasteur o girando la bandeja de incubación. Distribuya entre 2 y 3 ml de amortiguador de lavado diluido en cada canal. Incube en la plataforma giratoria durante 3 min. Repita 2 veces la operación, después vacíe el contenido de los canales. Asegúrese de que las tiras no se giran durante estas fases.
7. Distribuya 1,2 ml de conjugado anti-IgG (R3) en cada canal. Coloque la bandeja en la plataforma giratoria. **Incube durante 60 min \pm 5 min** a una temperatura entre 20 y 26 °C.
8. Fase de lavado: repita el paso 6.
9. Distribuya 1,2 ml de sustrato NBT/BCIP (R5) en cada uno de los canales. Coloque en la plataforma giratoria y proteja de la luz directa. **Incube durante 60 min \pm 5 min** a una temperatura entre 20 y 26 °C.

Independientemente de cuál sea el parámetro, supervise la variación del color. La variación se puede interrumpir si se oscurece el color de fondo de la tira hasta llegar a un punto en que la lectura sea difícil (la calidad de las fases de lavado influye directamente en la coloración de fondo). Es preciso tener en cuenta que las tiras tienden a aclararse a medida que se secan.

10. Interrumpa la reacción mediante la aspiración de sustrato con una pipeta Pasteur o girando el cubo de incubación y distribuyendo 2 ml de agua destilada en los canales. Repita una vez más esta última fase de lavado.
11. Secado de las tiras: con los canales todavía llenos de agua, sujete las tiras por el extremo numerado con las pinzas y deposítelas en el papel absorbente Whatman con el número visible. Deje secar al aire. El color de las tiras se aclarará de forma natural al secarse. La interpretación de la prueba solo debe realizarse una vez finalizado el secado.
12. Almacenamiento: transfiera las tiras a una hoja de papel, que se utilizará para archivarlas. Alinee las líneas de posición. Manténgalas de acuerdo con la posición de la regla plana, pegue la parte superior de las tiras con cinta adhesiva transparente.

Para una interpretación acertada, las tiras deben ordenarse por transferencia y por orden numérico y debe haber un espacio de separación máximo entre ellas de varios milímetros. No es fiable comparar las tiras que están muy separadas (p. ej., la n.º 2 con la n.º 15). **Es arriesgado** (resultados falsos) comparar las tiras de kits diferentes (tiras con números de serie diferentes).

CONTROL DE CALIDAD E INTERPRETACIÓN

El control de suero (R10) suministrado con el kit debe incluirse sistemáticamente en las series de inmunotransferencia. Muestra el perfil típico y permite (1) la validación técnica del desarrollo satisfactorio de la prueba (las bandas deben ser claramente visibles en la tira) y (2) calibrar con precisión la posición y el aspecto de las bandas específicas para permitir la interpretación de los resultados de las tiras de la misma transferencia (con el mismo número de serie).

Nota Bene: El perfil del control positivo (R10) puede variar según el número de lote de los reactivos utilizados. Las imágenes correspondientes están disponibles en nuestro sitio web www.ldbiodiagnostics.com como ejemplo.

Descripción de las bandas:

Una muestra positiva puede presentar numerosas bandas con un peso molecular de entre 15 y 200 kilodaltons (kDa). Los instrumentos de calibración descritos anteriormente permiten localizar la presencia de las bandas específicas en la zona 30-45 kDa para cada una de las muestras analizadas.

Estas bandas, agrupadas y bien aisladas, son características y, por lo general, fácilmente identificables.

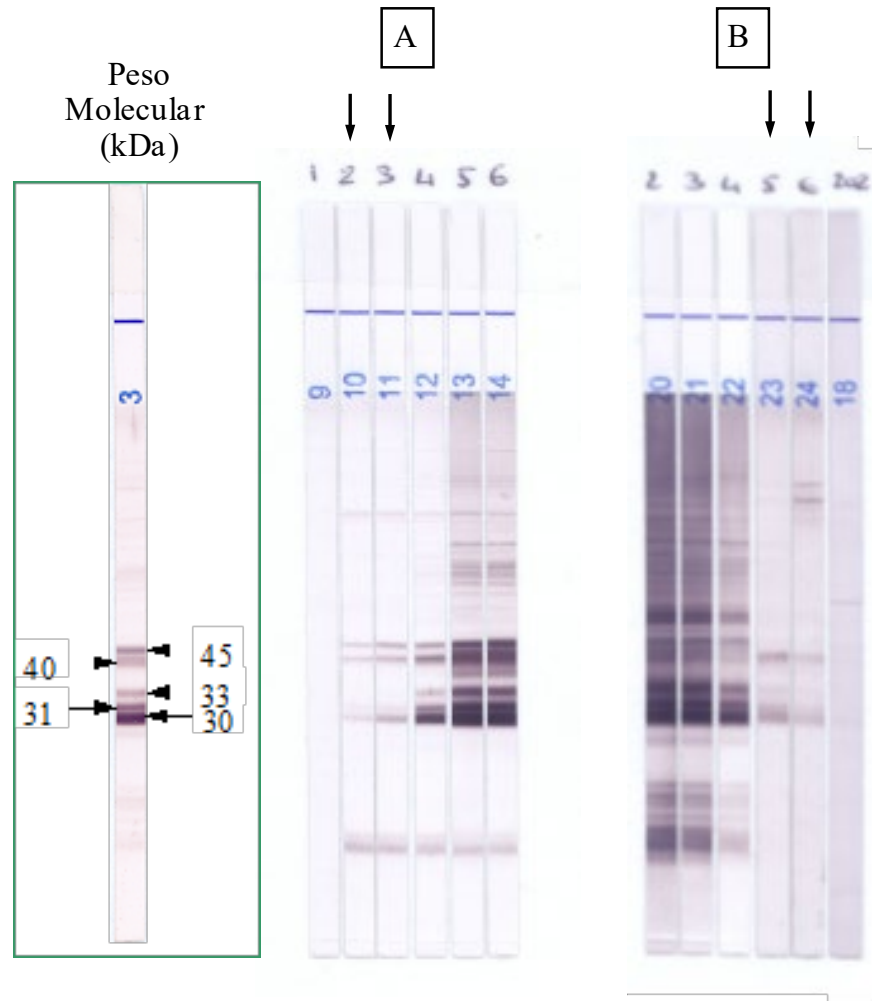


Fig. 1: ejemplos de resultados positivos y negativos

Interpretación:

La presencia en la tira de un mínimo de 3 bandas entre las bandas específicas 30, 31, 33, 40 y 45, incluida la banda de 30 kDa, permite interpretar la prueba como positiva y determinar la presencia de anticuerpos IgG anti*T. gondii* en la muestra analizada.

A: ejemplo de una seroconversión. Los sueros 2 y 3, positivos en LDBIO-TOXO II IgG, fueron negativos en técnica de detección (en lo sucesivo denominada *ELISA 2 IgG* en el estudio de resultados).

B: ejemplo a partir de un seguimiento neonatal. Los sueros 5 y 6, positivos en LDBIO-TOXO II IgG, fueron negativos en técnica de detección *ELISA 2 IgG*.

Nota: se pueden observar otras bandas. No se tendrán en cuenta en la lectura de la prueba.

Para validar los resultados, se debe comparar siempre el perfil de la inmunotransferencia de cada muestra con la del control positivo (R10). El aspecto de las bandas es importante a la hora de interpretar la prueba.

LIMITACIONES DE USO

- El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se puede establecer sobre la base de un solo resultado de prueba.
- Estos resultados serológicos deben interpretarse de acuerdo con la información disponible (por ejemplo epidemiológica, clínica, imagenológica, biológica, etc.) para poder establecer un diagnóstico. No deben utilizarse como base para el diagnóstico basándose únicamente en su positividad.

PERFORMANCE (ver referencias bibliográficas)

La evaluación se ha llevado a cabo en un laboratorio de referencia, especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis.

El principio de evaluación consiste en comparar a partir de 529 sueros los resultados obtenidos mediante la técnica *LDBIO-TOXO II IgG*, los resultados de la prueba Dye Test de Sabin y Feldman, los resultados de dos técnicas de detección comercializadas, "*ELISA 1 IgG*" y "*ELISA 2 IgG*", además de los datos clínicos y biológicos de los pacientes.

- **Umbral de las técnicas utilizadas:**

	NEGATIVO	AMBIGUO	POSITIVO
DYE TEST (UI/ml)	< 2	-	≥ 2
ELISA 1 (UI/ml)	< 4	4 - 8	≥ 8
ELISA 2 (UI/ml)	< 6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- **Análisis estadístico de los resultados:**

Hemos establecido los valores de sensibilidad y especificidad en la medida de lo posible. Los intervalos de confianza se calculan según el método Wilson con corrección de continuidad.

La correlación de los resultados obtenidos mediante diferentes técnicas se ha evaluado utilizando la prueba CHI-2 de Mac Nemar con series apareadas.

- **Pacientes:**

Todos los análisis se han realizado a partir de sueros que se han conservado congelados a -20 °C. Las muestras proceden de cinco grupos de pacientes distintos.

Grupo I – Dye Test

Estudio a partir de 200 sueros obtenidos durante la detección de la toxoplasmosis en mujeres embarazadas y analizados con el Dye Test. El subgrupo "positivo" corresponde a 98 sueros positivos en Dye Test procedentes de mujeres inmunizadas contra *T. gondii*. Este grupo incluía los sueros con títulos de IgG moderados en Dye Test (de 2 a 32 UI/ml) con el objetivo de analizar la sensibilidad de *LDBIO-TOXO II IgG* con respecto a las otras técnicas. El subgrupo "negativo" corresponde a 102 sueros negativos en Dye Test procedentes de mujeres embarazadas no inmunizadas contra la toxoplasmosis. Estos 200 sueros se han analizado en paralelo con las técnicas *LDBIO-TOXO II IgG*, *ELISA 1 IgG* y *ELISA 2 IgG*.

Grupo II – Seroconversiones

Se trata del análisis retrospectivo de 17 secuencias de sueros (101 muestras) procedentes de pacientes que hayan presentado una seroconversión toxoplásmica durante su embarazo.

Cada serie secuencial incluye el último suero negativo más una serie de tres a cinco sueros que evidencian la aparición de IgM específicos y la síntesis de IgG específicos (*ELISA 2 IgG*).

Grupo III – Seguimiento de niños no infectados

Se trata del análisis retrospectivo de 74 muestras correspondientes a 20 secuencias de seguimiento postnatal de niños nacidos de madres que han experimentado una seroconversión toxoplásmica durante el embarazo. Cada secuencia de dos a seis sueros muestra la disminución del título de IgG maternos transmitidos hasta la negativización de la serología mediante la técnica *ELISA 2 IgG* (entre 5 y 13 meses).

Grupo IV – Seguimiento de niños infectados

Se trata del análisis retrospectivo de 85 muestras procedentes del seguimiento postnatal de 30 niños que padecen una infección congénita. El seguimiento serológico se realizó mediante ELISA 2 IgG.

Grupo V – Sensibilidad - especificidad (infecciones víricas y paludismo)

Estudio a partir de 69 sueros de pacientes que padecen infecciones víricas o paludismo (tabla 1). Estas muestras se han analizado mediante ELISA 2 IgG. (Todas arrojaron resultados negativos en la búsqueda de IgM.) Todos los resultados negativos, así como los discordantes, se han analizado mediante DYE TEST.

Agente infeccioso (n=69)	ELISA 2 IgG POSITIVO (n=44)	ELISA 2 IgG NEGATIVO (n=25)
EBV (n=5)	0	5
VZV (n=3)	2	1
CMV (n=5)	2	3
HBV (n=9)	8	1
HAV (n=2)	0	2
HCV (n=10)	8	2
HIV (n=10)	6	4
PALU (n=25)	18	7

Tabla 1: Diferentes infecciones analizadas en el estudio

● RESULTADOS:

Grupo I: Dye test

	DYE TEST	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POSITIVO	98	97	61	93
NEGATIVO	102	103	114	107
AMBIGUO	-	-	25	-
ESPECIFICIDAD	-	100 %	100 %	100 %
SENSIBILIDAD	-	99 %	85 %	95 %

Tabla 2: Correlación del DYE TEST con las tres técnicas. (La técnica ELISA 1 IgG presenta una zona ambigua.)

- 4 sueros ELISA 2 IgG negativos son positivos en LDBIO-TOXO II IgG y Dye test
- 11 sueros ELISA 1 IgG negativos son positivos en LDBIO-TOXO II IgG y Dye test
- 25 sueros ELISA 1 IgG son ambiguos: 24 son positivos en LDBIO-TOXO II IgG y Dye test, 1 suero es negativo en LDBIO-TOXO II IgG y Dye test

Grupo II: Seroconversiones

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II	POSITIVO	70	10
	NEGATIVO	0	21

Tabla 3: Correlación LDBIO-TOXO II IgG / ELISA 2 IgG a partir de 101 sueros de seroconversión. $p=0,0016$

En 8/17 seroconversiones (47 %) los IgG se detectan en una fase más temprana mediante LDBIO-TOXO II IgG.

Grupos III y IV: Seguidos de recién nacidos

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II	POSITIVO	130	18
	NEGATIVO	0	11

Tabla 4: Correlación LDBIO-TOXO II IgG / TEST 2 IgG a partir de 159 sueros de seguimiento postnatal. $p<0,0001$

Niños sanos: 13 sueros, correspondientes a 10/20 seguimientos postnatales (50 %) negativos en ELISA 2 IgG, siguen siendo positivos en LDBIO-TOXO II IgG, lo que evidencia la existencia de anticuerpos maternos transmitidos cuando la técnica ELISA 2 IgG ya no los detecta.

Niños contaminados: Cinco sueros correspondientes a tres niños son discordantes. Uno de ellos muestra una negativización transitoria de su serología mediante *ELISA 2 IgG*. La prueba *LDBIO-TOXO II IgG* sigue siendo positiva, lo que confirma su contaminación. En el caso de los dos niños restantes, la prueba *LDBIO TOXO II IgG* muestra una positividad más temprana que *ELISA 2 IgG*.

No obstante, resulta imposible afirmar una neosíntesis de IgG, ya que esta prueba no diferencia los anticuerpos maternos transmitidos de los anticuerpos neosintetizados.

Grupo V: Sensibilidad y especificidad (infecciones víricas y paludismo)

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POSITIVO	42	2
	NEGATIVO	2	23

Tabla 5: Correlación LDBIO-TOXO II IgG / DYE TEST / ELISA 2 IgG a partir de 69 sueros de infecciones víricas o paludismo.

En esta población, la concordancia de *LDBIO-TOXO II IgG* con el DYE TEST es del 100 %: estos resultados confirman la especificidad y la sensibilidad de la prueba *LDBIO-TOXO II IgG*.

El estudio pone de relieve cuatro resultados discordantes mediante la técnica *ELISA 2 IgG*, dos falsos negativos (un VIH y un *P.falciparum*) y dos falsos positivos (dos *P.falciparum*), lo que subraya el interés de una técnica de confirmación para todos los resultados cercanos al umbral.

- **CONCLUSIÓN:**

Grupo I (Dye Test):

La correlación *LDBIO-TOXO II IgG* / Dye Test es excelente:

sensibilidad = 99% [95CI 94 - 100%]

specificidad = 100% [95CI 95 - 100%]

LDBIO-TOXO II IgG permitiría confirmar el estado inmunitario de los pacientes que en la detección presentan un resultado ambiguo o un título débil de anticuerpos.

Grupo II (seroconversiones):

La sensibilidad de *LDBIO-TOXO II IgG* es superior a *ELISA 2 IgG* ($p=0,0016$). *LDBIO-TOXO II IgG* permitiría confirmar una seroconversión en una fase más temprana que *ELISA 2 IgG*.

Grupos III y IV (seguimientos de recién nacidos):

La sensibilidad de *LDBIO-TOXO II IgG* es muy superior a *ELISA 2 IgG* ($p<0,0001$).

Durante el seguimiento del niño, *LDBIO-TOXO II IgG* se podría utilizar para confirmar o invalidar la negativización de la serología.

No obstante, *LDBIO-TOXO II IgG* no permite diferenciar los anticuerpos maternos transmitidos de los anticuerpos neosintetizados por el niño.

Grupo V (infecc. víricas y paludismo):

La correlación *LDBIO-TOXO II IgG* / Dye Test es excelente (sensibilidad 100 % [95CI 90-100%], especificidad 100 % [95CI 95-100%]).

Estos resultados ponen de relieve la necesidad de utilizar una prueba de confirmación para controlar las muestras que en la detección presentan un resultado cercano al umbral.

El excelente rendimiento mostrado por el estuche LDBIO-TOXO II IgG justifica su uso como confirmación de los resultados obtenidos por las técnicas IgG de detección (resultados ambiguos, débilmente positivos o que plantean problemas de interpretación).

Reproducibilidad

Se analizó la reproducibilidad entre series y entre lotes. En ambos casos, la correlación entre los sueros con respecto a las bandas específicas es excelente.

Interferencia

Aunque no se ha observado ninguna reacción cruzada con sueros hemolizados, ictericos o lipídicos, se recomienda interpretar los resultados a partir del uso cauteloso de dichas muestras.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

"Las bandas son pálidas con poco contraste": Algunos sueros con concentraciones bajas de anticuerpos pueden aportar esos resultados.

"Pueden apreciarse áreas sombreadas, más o menos coloreadas y ligeramente difusas": La banda no se sumergió totalmente en uno de los reactivos y no incubó correctamente en toda su longitud. Puede asimismo haber presencia de manchas donde se depositó la muestra si no se sacudió la bandeja después de la dispensación.

"El ruido de fondo es considerable, lo que dificulta la lectura": Los lavados fueron insuficientes o la última incubación fue demasiado larga. Asegure unas buenas técnicas de ejecución de las pruebas, respete los tiempos de lavado y la calidad del agua. Reduzca el tiempo de la última incubación. Excepcionalmente, algunos sueros pueden reaccionar de manera no específica. Entonces, no es posible utilizar el resultado de la inmunotransferencia.

Este ruido de fondo no específico puede comprometer solo parte de la tira, arrojando resultados no interpretables para esa parte únicamente.

"Aparece un precipitado en la solución durante la última fase de desarrollo": Puede haberse precipitado el sustrato (escamas negras) en el amortiguador al final del desarrollo. Este fenómeno no altera la calidad del desarrollo, el cual debe continuarse normalmente. El último lavado con agua destilada elimina las posibles partículas sólidas presentes.

BIBLIOGRAFÍA

Franck, Jacqueline, Yves Jean-François Garin, et Henri Dumon. « LDBio-Toxo II immunoglobulin G Western blot confirmatory test for anti-toxoplasma antibody detection ». *Journal of clinical microbiology* 46, n° 7 (juillet 2008): 2334-38. doi:10.1128/JCM.00182-08.

Jost, C, F Touafek, A Fekkar, R Courtin, M Ribeiro, D Mazier, et L Paris. « Utility of immunoblotting for early diagnosis of toxoplasmosis seroconversion in pregnant women ». *Clinical and vaccine immunology: CVI* 18, n° 11 (novembre 2011): 1908-12. doi:10.1128/CVI.05303-11.

Khammari, Imen, Fatma Saghrouni, Sami Lakhal, Aida Bouratbine, Moncef Ben Said, et Jalel Boukadida. « A New IgG Immunoblot Kit for Diagnosis of Toxoplasmosis in Pregnant Women ». *The Korean Journal of Parasitology* 52, n° 5 (22 octobre 2014): 493-99. doi:10.3347/kjp.2014.52.5.493.

- Khammari, Imen, Fatma Saghrouni, Alia Yaacoub, Sondoss Gaied Meksi, Hinda Ach, Lamia Garma, Akila Fathallah, et Moncef Ben Saïd. « IgG Western Blot for Confirmatory Diagnosis of Equivocal Cases of Toxoplasmosis by EIA-IgG and Fluorescent Antibody Test ». *The Korean Journal of Parasitology* 51, n° 4 (août 2013): 485-88. doi:10.3347/kjp.2013.51.4.485.
- Leslé, F, F Touafek, A Fekkar, D Mazier, et L Paris. « Discrepancies between a new highly sensitive *Toxoplasma gondii* ELISA assay and other reagents: interest of Toxo IgG Western blot ». *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 30, n° 10 (octobre 2011): 1207-12. doi:10.1007/s10096-011-1214-1.
- Maudry, A., G. Chene, R. Chatelain, B. Bellete, H. Patural, J. Hafid, H. Raberin, R. Tran Manh Sung, et P. Flori. « Expertise du nouveau test Access® TOXO-IgGII et comparaison avec trois autres techniques automatisées et la technique Western Blot LDBIO TOXO II IgG® ». *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 24, n° 1 (février 2009): 42-49. doi:10.1016/j.immbio.2008.11.004.
- Maudry, Arnaud, Gautier Chene, Rémi Chatelain, Hugues Patural, Bahrie Bellete, Bernard Tisseur, Jamal Hafid, et al. « Bivalent evaluation of six anti-toxoplasma immunoglobulin G (IgG) automated immunoassays and comparison to the Toxo II IgG Western blot ». *Clinical and vaccine immunology: CVI* 16, n° 9 (septembre 2009): 1322-26. doi:10.1128/CVI.00128-09.
- Robert-Gangneux, F., et M.-L. Darde. « Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis ». *Clinical Microbiology Reviews* 25, n° 2 (1 avril 2012): 264-96. doi:10.1128/CMR.05013-11.
- Villard, O., B. Cimon, C. L'Ollivier, H. Fricker-Hidalgo, N. Godineau, S. Houze, L. Paris, H. Pelloux, I. Villena, et E. Candolfi. « Serological Diagnosis of *Toxoplasma Gondii* Infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 18 septembre 2015. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.09.009.

Notificación de actualización: lea atentamente

FECHA DE LANZAMIENTO	VERSION	RESUMEN DE MODIFICACIONES
04/08/2020	Vs 11	Diseño - Reactivos suministrados - Precauciones de uso - Estabilidad - Recogida de muestras - Procedimiento de prueba - Control de calidad e interpretación
09/08/2021	Vs 12	Eliminación de la advertencia de seguridad R5 - Dirección de correo electrónico de contacto – EUH 032 (NaN3)



NF EN ISO 13485

19A rue Louis Loucheur – 69009 LYON – FRANCE
 Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com