

BIOZIMA TOXO AVIDEZ

ENSAYO INMUNOENZIMATICO PARA LA INVESTIGACION DE ANTICUERPOS CLASE IgG CONTRA EL TOXOPLASMA GONDII Y AVIDEZ EN MUESTRAS DE SUERO O PLASMA HUMANO

Uso "In Vitro"

PRESENTACION

96 determinaciones (Cod.BTXA96)

APLICACION

BIOZIMA TOXO AVIDEZ puede ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Toxoplasmosis infiriendo su tiempo de infección o para ensayos epidemiológicos.

FUNDAMENTO DEL METODO

Es un ensayo inmunoenzimático heterogéneo, no competitivo, basado en el método indirecto para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) en muestras de suero humano. La fuerza/afinidad entre la unión Antígeno-Anticuerpo IgG aumenta con el curso de la infección determinando un parámetro relacionado denominado Avidéz.

Una dilución apropiada de las muestras se incuba en pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de *T. gondii*. Los anticuerpos contra *T. gondii* son específicamente capturados por esos antígenos, quedando unidos a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar las inmunoglobulinas no capturadas, el sistema se incuba con anticuerpos monoclonales anti-IgG humana conjugados a peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con los anticuerpos contra *T. gondii* inmunocapturados. El conjugado no unido se desecha por lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de peróxido de hidrógeno/tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. Esta incubación da como resultado la aparición de un color azul cuya intensidad depende de la concentración y de la afinidad de los anticuerpos IgG específicos contra *T. gondii* de la muestra. La reacción enzimática es detenida mediante el agregado de ácido, lo que produce un viraje de color hacia el amarillo, fotométricamente cuantificable.

Para determinar la Avidéz, se compara la reactividad de la muestra tratada con un Reactivo Disociante que rompe las uniones Antígeno-Anticuerpo IgG de baja afinidad con la muestra no tratada. De esta forma se discriminan anticuerpos de baja o alta avidéz.

REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS

Pocillos de reacción: Tiras de poliestireno, con 8 pocillos cada una sensibilizados con antígenos purificados de *T. gondii* acondicionadas en soportes envasados en presencia de silicagel como desecante. 1 soporte, 12 tiras.

Controles Positivos 1, 2 y 3 (+): Frascos conteniendo una dilución de suero reactivo para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii*, inactivado, de 10, 50 y 200 UI/ml* respectivamente, con estabilizadores proteicos. Para uso en el análisis cualitativo, cuantitativo y avidéz. Material potencialmente infectivo. Listos para usar. 1,5 ml cada uno.

*Han sido ajustados de acuerdo al 4to. Estándar Internacional WHO. NIBSC Código 13/132. Año 2016.

Control Negativo (-): Un frasco conteniendo una dilución de suero no reactivo para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii*, inactivado, con estabilizadores proteicos. Material potencialmente infectivo. Listo para usar. 1,5 ml

Solución para lavado 25X: Un frasco conteniendo solución amortiguadora, con conservadores, concentrada 25 veces. 50 ml

Diluyente de Muestras: Un frasco conteniendo solución salina proteica con conservadores. Agitar antes de usar. 100 ml

Conjugado 10X: Un frasco conteniendo una solución de anticuerpo monoclonal anti-IgG humana marcado con peroxidasa, con estabilizadores proteicos, concentrada 10 veces. 2,5 ml

Diluyente de conjugado: Un frasco conteniendo solución salina proteica con conservadores. Agitar antes de usar. 15 ml

Sustrato: Un frasco conteniendo solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) tamponado. Listo para usar. 9 ml

Cromógeno: Un frasco conteniendo solución de 3,3', 5,5' tetrametilbencidina (TMB), estabilizada. Listo para usar. 9 ml

Solución Stop: Un frasco conteniendo Solución de Acido Sulfúrico 2N. Reactivo corrosivo. Listo para usar. 15 ml.

Disociante: Un frasco conteniendo solución salina proteica con Urea 6M con conservadores. Agitar antes de usar. 6 ml.

1 instructivo

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Agua destilada o desionizada
- Material volumétrico de vidrio.
- Viales ó Tubos apropiados para Prediluir las Muestras.
- Micropipetas de 10 µl, 50µl, 100 µl
- Incubador termostatzado a 37 °C
- Lector de ELISA longitud de onda 450 nm o bicromática a 450/620-650 nm. Para Densidades Ópticas superiores al máximo de lectura usar 405/620-650 nm. (de uso alternativo).
- Sistema de aspiración/lavado de policubetas con recipiente colector de desechos potencialmente infectivos.
- Materiales de bioseguridad
- Papel absorbente
- Cinta adhesiva
- Cronómetro

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

1. El kit tiene que ser conservado entre 2 y 8°C siempre en posición vertical y usarse antes de la fecha de vencimiento declarada en los rótulos. No congelar.
2. Los Pocillos de Reacción deben ser llevados a temperatura ambiente antes de abrir su envase. Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase en presencia del desecante. Cierrelo herméticamente y colóquelos nuevamente entre 2 y 8 °C.
3. La Solución de Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.
4. Todos los otros reactivos son estables entre 2 y 8°C siempre que se hayan manipulado cuidadosamente para evitar la contaminación.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos contenidos en el kit son sólo para uso diagnóstico “in vitro”.
2. Coloque todos los reactivos a temperatura ambiente al menos 1 hora antes de comenzar con la prueba.
3. No utilice el kit o los reactivos después de la fecha del vencimiento declarada en los rótulos. El kit tiene que ser conservado entre 2 y 8°C.

4. Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables. Los tiempos de distribución e incubación deben ser los mismos para todos los pocillos; evite interrupciones entre los pasos del ensayo.
5. Evite cualquier contaminación de los reactivos al sacarlos de sus recipientes. Nosotros recomendamos utilizar pipetas automáticas con puntas descartables. Cuando dispense los reactivos no toque las paredes y el fondo de los pocillos.
6. No mezcle reactivos de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes reactivos componentes del kit.
7. Asegúrese que el Sustrato/Cromógeno no entre en contacto con agentes oxidantes o con superficies metálicas; evite su exposición a la luz durante la etapa de incubación o en su manipulación. Cuando utilice el reactivo hágalo sólo en recipientes y materiales plásticos descartables, perfectamente limpios o estériles.
8. Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.
9. Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2.5% durante 24 horas.
10. Evite cualquier contacto de líquidos con la piel y mucosas. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad.
11. La Solución Stop es Irritante por lo tanto manipúlela con cuidado.
12. En el procedimiento de lavado, use sólo la Solución para Lavado proporcionada con el kit y siga cuidadosamente las indicaciones expresadas en la sección “Instrucciones de Lavado”.
13. El color desarrollado en la última incubación es estable como máximo 20 minutos en la oscuridad.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Pocillos de Reacción: Abrir cuidadosamente el envase que contiene los Pocillos de Reacción y retirar la cantidad necesaria. En caso de usar menos de 8 pocillos, separarlos quebrando la tira. Volver a cerrar inmediatamente en presencia del desecante y almacenar entre 2 y 8 °C.

Solución para lavado: Diluir una parte del contenido del frasco con Solución para Lavado 25X en 24 partes de agua destilada o desionizada. Homogeneizar bien. La solución final así preparada es estable 7 días conservada entre 2 y 8 °C.

Diluyente de Muestras y Diluyente de conjugado: Agitar antes de usar.

Conjugado: Inmediatamente antes de usar preparar la Solución de Conjugado. Para ello diluir una parte del contenido del frasco con Conjugado 10X en 9 partes de Diluyente de conjugado. Homogeneizar.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Puede utilizarse suero o plasma (EDTA, Heparina, Citrato) humano. La sangre se extraerá de un paciente preferentemente en ayunas siguiendo las normas generales.

Las muestras deben ser límpidas. Ante la presencia de turbiedad, precipitados o coágulos recomendamos centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente o filtrar con membranas de 0.22µ. No utilizar muestras con contaminación bacteriana dado que pueden producir falsos resultados.

Muestras altamente lipémicas, ictericas o hemolizadas no deberían ser usadas ya que pueden dar falsos resultados en el ensayo. No utilice muestras inactivadas por calor.

Si las muestras no son usadas inmediatamente pueden guardarse entre 2 y 8°C durante 1 semana. En caso de almacenamiento prolongado congélelas a -20°C. Evite congelamientos y descongelamientos reiterados. Muestras congeladas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.

INSTRUCCIONES DE LAVADO

Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos correctos y precisos. Recomendamos que utilice un equipo lavador automático de microplacas de Elisa, calibrado y en buen funcionamiento. Normalmente 6 ciclos de lavado automático de 300-400 µl/pocillo cada uno, con un reposo de 30 segundos entre cada ciclo, son suficientes para remover falsos positivos y ruido de fondo. Recomendamos calibrar el sistema de lavado sobre el propio kit para tener reproducibilidad en el desarrollo analítico.

En caso de lavado manual, se sugiere realizar 6 ciclos, distribuyendo y aspirando 300-400 µl/pocillo por ciclo.

En todos los casos, los desechos potencialmente infectivos del lavado de las microplacas tienen que ser inactivados con Hipoclorito de Sodio al 2.5% en concentración final durante 24 horas y desechados según la legislación vigente como residuos patogénicos.

Elimine el exceso de Solución de lavado de los pocillos golpeándolos en forma invertida sobre papel absorbente.

PROCEDIMIENTO

- 1) Extraer del envase la cantidad de Pocillos de Reacción necesarios para el ensayo considerando las Muestras y los Controles.
- 2) En un vial ó tubo apropiado diluir las Muestras 1:101 con el Diluyente de Muestras utilizando 10 µl de Muestra y 1000 µl de Diluyente de Muestras (ver Preparación de los Reactivos). Homogeneizar. Los Controles NO deben ser diluidos.
- 3) Transferir 100 µl de cada Muestra diluida y los Controles a los pocillos correspondientes.
- 4) Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Sellar los pocillos con cinta adhesiva.
- 5) Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
- 6) Descartar el contenido total de los pocillos por aspiración y lavarlos 6 veces. Para esto llenarlos con aproximadamente 300-400 µl/vez/pocillo de Solución para Lavado (ver Preparación de los Reactivos) con un reposo de 60 segundos y vaciarlos cada vez por aspiración. Por último invertir los pocillos y golpearlos sobre papel absorbente para eliminar el líquido residual.
- 7) Dispensar en cada pocillo 100µl de la Solución de Conjugado (ver Preparación de los Reactivos).
- 8) Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Sellar los pocillos con cinta adhesiva.
- 9) Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
- 10) Descartar la solución de conjugado y lavar 6 veces como se indicó en el punto 6.
- 11) Agregar a cada pocillo 50 µl de Sustrato y a continuación 50 µl de Cromógeno. Homogeneizar bien durante 10 segundos aplicando sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales
- 12) Incubar a temperatura ambiente (20-25 °C) y oscuridad durante 30 minutos.
- 13) Leer los resultados en forma visual inmediatamente ó alternativamente frenar la reacción enzimática con el agregado de 100 µl de Solución Stop, homogeneizar bien durante 10 segundos y medir la Densidad Óptica a 450 nm o bicromática a 450/620-650 nm con un lector de ELISA empleando blanco de aire, dentro de los 20 minutos de agregada la solución. Para Densidades Ópticas superiores al máximo de lectura usar 405/620-650 nm que permite un mayor rango de lectura.

Esquema del procedimiento

Dilución de Muestras	10 µl de Muestras en 1000 µl de Diluyente de Muestras (Agitar antes de usar)
Homogeneizar	
Muestras diluidas y Controles	100 µl por pocillo a utilizar.
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a 37 °C.	
Lavar 6 veces con Solución para Lavado (Ver Preparación de los Reactivos)	
Solución de Conjugado (Ver Preparación de los Reactivos)	100 µl
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a 37 °C	
Lavar 6 veces con Solución para Lavado (Ver Preparación de los Reactivos)	
Sustrato	50 µl
Cromógeno	50 µl
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.	
Leer inmediatamente los resultados o frenar la reacción con 100 µl de Solución Stop. Homogeneizar y leer espectrofotométricamente contra blanco de aire.	

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN FORMA VISUAL

El Control Negativo debe ser incoloro o puede presentar una coloración celeste tenue. El Control Positivo de 10 UI/ml debe ser de color celeste diferenciable del Control Negativo. El Control Positivo de 50 UI/ml debe presentar una coloración mayor que la del Control Positivo de 10 UI/ml. El Control Positivo de 200 UI/ml debe presentar una coloración mayor que la del Control Positivo de 50 UI/ml.

Las muestras que den reacción incolora o con coloración celeste tenue inferior a la del Control Positivo de 10 UI/ml, se considerarían **no reactivas** para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii*. Las muestras que evidencien una coloración azul o celeste, igual o mayor a la del Control Positivo de 10 UI/ml, se considerarían **reactivas** para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii*. Por el agregado de la Solución Stop el color celeste vira hacia el amarillo, que por lectura espectrofotométrica, obtendrá resultados análogos a los de la lectura visual.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CON UN LECTOR DE ELISA

Luego del agregado de la Solución de la Solución Stop, homogeneizar y medir la Densidad Óptica (D.O.) como se indicó anteriormente, dentro de los 20 minutos de agregada la solución. La presencia o ausencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, debe ser analizada teniendo en cuenta el límite de decisión (cut-off value).

Límite de decisión o cut-off value = D.O. del Control Positivo de 10 UI/ml

Una muestra se consideraría presumiblemente no reactiva para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii* si su valor de D.O. es menor que el valor límite de decisión.

Una muestra se consideraría presumiblemente reactiva para anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii* si su valor de D.O. es igual o mayor que el límite de decisión.

Criterio de aceptabilidad del ensayo

Un ensayo se considerará aceptable si:

- La D.O. del Control Negativo es menor que 0.150.
- La D.O. del Control Positivo de 200 UI/ml es mayor que la D.O. del Control Positivo de 50 UI/ml, es mayor que la D.O. del Control Positivo de 10 UI/ml y es mayor que la D.O. del Control Negativo.

Si no se cumplen las condiciones mencionadas deberá repetir el test para descartar una posible falla operativa o del funcionamiento del kit.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

El test permite una determinación cuantitativa de los anticuerpos IgG específicos contra *T.gondii* en UI/ml. Para ello, establecer la Curva de Calibración con los Valores de Densidad Óptica de los Controles Positivos 1, 2 y 3 en función de su concentración en UI/ml. El Control Negativo se toma como el primer punto de la Curva (0 UI/ml). El valor en UI/ml de la muestra se obtiene extrapolando su Densidad Óptica.

Toda muestra que evidencie una D.O. superior al valor máximo debe ser convenientemente diluida para encontrar su valor en la línea standard. Luego expresar su resultado multiplicando por el factor de dilución.

Las lecturas obtenidas dependerán de la sensibilidad del aparato empleado.

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS

Un resultado reactivo (mayor o igual que 10 UI/ml) indicaría infección previa o en curso por *Toxoplasma gondii*. Un resultado no reactivo indicaría que probablemente no exista protección contra la infección.

Durante el período agudo de la Toxoplasmosis, los anticuerpos IgG específicos aumentan gradualmente, alcanzando un nivel máximo entre los 2-5 meses postinfección.

Aproximadamente 40-50% de la población adulta normal presenta anticuerpos IgG específicos contra *Toxoplasma gondii*.

Una determinación aislada de anticuerpos contra *T.gondii* es poco significativa, por eso es importante estudiar una nueva muestra, cada 4 semanas, que permita evidenciar cambios en la concentración de anticuerpos IgG específicos, indicativos de una posible Toxoplasmosis aguda. En este caso, debe ser confirmado con la detección de anticuerpos IgM específicos.

Para verificar estos posibles cambios de concentración entre muestras de un mismo paciente tomadas con un intervalo de tiempo deben ser realizados en forma apareada.

No es posible intercambiar los resultados obtenidos utilizando productos de otros fabricantes.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE AVIDEZ

- 1) Extraer del envase la cantidad de Pocillos de Reacción necesarios para el ensayo considerando POR DUPLICADO, las Muestras, el Control Negativo, y el Control Positivo 2 de 50 UI/ml.
- 2) En un tubo apropiado Diluir las Muestras 1:101 con el Diluyente de Muestras utilizando 10 µl de Muestra y Controles y 1000 µl de Diluyente de Muestras (ver Preparación de los Reactivos). Homogeneizar. Los Controles NO deben ser diluidos.
- 3) Transferir POR DUPLICADO en pocillos adyacentes 100µl de cada Muestra diluida y los Controles.
- 4) Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Sellar los pocillos con cinta adhesiva.
- 5) Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
- 6) Descartar el contenido total de los pocillos por aspiración y lavarlos 6 veces. Para esto llenarlos con aproximadamente 300-400 µl/vez/pocillo de Solución para Lavado (ver Preparación de los Reactivos) con un reposo de 60 segundos y vaciarlos cada vez por aspiración. Por último invertir los pocillos y golpearlos sobre papel absorbente para eliminar el líquido residual.
- 7) Dispensar 100µl de Disociante en uno de los pocillos duplicados y 100µl de Diluyente de Muestras en el otro pocillo del duplicado.
- 8) Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Sellar los pocillos con cinta adhesiva.
- 9) Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
- 10) Descartar las soluciones anteriores y lavar 6 veces como se indicó en el punto 6.
- 11) Dispensar en cada pocillo 100µl de la Solución de Conjugado (ver Preparación de los Reactivos).

- 12) Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos. Sellar los pocillos con cinta adhesiva.
- 13) Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
- 14) Descartar la solución de conjugado y lavar 6 veces como se indicó en el punto 6.
- 15) Agregar a cada pocillo 50 µl de Sustrato y a continuación 50 µl de Cromógeno. Homogeneizar bien durante 10 segundos aplicando sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales
- 16) Incubar a temperatura ambiente (20-25 °C) y oscuridad durante 30 minutos.
- 17) Frenar la reacción enzimática con el agregado de 100 µl de Solución Stop, homogeneizar bien durante 10 segundos y medir la Densidad Óptica a 450 nm o bicromática a 450/620-650 nm con un lector de ELISA empleando blanco de aire, dentro de los 20 minutos de agregada la solución. Para Densidades Ópticas superiores al máximo de lectura usar 405/620-650 nm que permite un mayor rango de lectura.

Esquema del procedimiento

Dilución de Muestras	10 µl de Muestras en 1000 µl de Diluyente de Muestras (Agitar antes de usar)
Homogeneizar	
Muestras diluidas, Control Negativo y Control Positivo 2	100 µl POR DUPLICADO en los pocillos a utilizar.
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a 37 °C.	
Lavar 6 veces con Solución para Lavado (Ver Preparación de los Reactivos)	
Disociante	100 µl en uno de los DUPLICADOS.
Diluyente de Muestras	100 µl en el otro DUPLICADO.
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a 37 °C.	
Lavar 6 veces con Solución para Lavado (Ver Preparación de los Reactivos)	
Solución de Conjugado (Ver Preparación de los Reactivos)	100 µl
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a 37 °C	
Lavar 6 veces con Solución para Lavado (Ver Preparación de los Reactivos)	
Sustrato	50 µl
Cromógeno	50 µl
Homogeneizar 10 segundos e incubar 30 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.	
Frenar la reacción con 100 µl de Solución Stop. Homogeneizar y leer espectrofotométricamente contra blanco de aire.	

CALCULO E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE AVIDEZ

Luego del agregado de la Solución Stop, homogeneizar y medir la Densidad Optica (D.O.) como se indicó anteriormente.

Para cada muestra asegurarse que la Densidad Optica de los pocillos incubados con Diluyente de Muestras sea mayor que 0,500. Si no es así, la muestra no presenta IgG suficiente para ser evaluada por Avidéz.

Muestras con lecturas a 450 nm superiores a 3,000 tiene que ser leídas a 405 nm para hacer el cálculo.

Calcular para cada Muestra y Controles la relación entre al D.O del pocillo incubado con el Disociante y el pocillo incubado con el Diluyente de Muestras multiplicado por 100:

$$\frac{\text{D.O. con Disociante}}{\text{D.O. con Diluyente de Muestras}} \times 100 = \% \text{ de Avidéz}$$

% Avidéz >30 % = IgG anti-Toxoplasma gondii de Alta Avidéz ⇒ Infección pasada.
% Avidéz 20-30 % = IgG anti-Toxoplasma gondii de Media Avidéz (zona gris) ⇒ No puede determinarse Infección pasada o reciente. Tomar nueva muestra a las dos semanas.
% Avidéz <20 % = IgG anti-Toxoplasma gondii de Baja Avidéz ⇒ Infección reciente.

Criterio de aceptabilidad del ensayo

Un ensayo se considerará aceptable si:

- c) La D.O. del Control Negativo es menor que 0.150.
- d) La D.O. del Control Positivo 2 de 50 UI/ml tratado con el Diluyente de Muestras es mayor que 0,500.
- e) El % de Avidéz del Control positivo 2 es mayor 20%.

Si no se cumplen las condiciones mencionadas deberá repetir el test para descartar una posible falla operativa o del funcionamiento del kit.

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS DE AVIDEZ

Los resultados de avidéz deben ser convalidados con evaluaciones clínicas y otras pruebas diagnósticas. Resultados de baja avidéz no pueden ser utilizados para diagnosticar Toxoplasmosis aguda. Resultados de Alta avidéz refieren presumiblemente a una infección pasada de más de cuatro meses.

No es posible intercambiar los resultados obtenidos utilizando productos de otros fabricantes.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE PARA IgG

SENSIBILIDAD CLINICA

Por estudio de 118 muestras reactivas para anticuerpos IgG contra el Toxoplasma gondii confirmados por otras técnicas inmunoserológicas, BIOZIMA TOXO AVIDEZ presentó 99,1% de sensibilidad considerando como límite de detección 10 UI/ml.

SENSIBILIDAD ANALITICA

La mínima concentración de analito específico que se pudo distinguir del estándar cero ha sido de 0,9 UI/ml.

ESPECIFICIDAD

Por estudio de 270 muestras consideradas presumiblemente no reactivas para anticuerpos contra el Toxoplasma gondii por otras técnicas inmunodiagnósticas se obtuvo una especificidad del 99.3%.

Se estudió la posible reacción cruzada con muestras con serología reactiva para otras parasitosis como Tripanosomiasis, Hidatidosis, muestras provenientes de mujeres embarazadas, Factor Reumatoideo y otras enfermedades infectocontagiosas. En esta población, la especificidad total sobre 101 muestras no reactivas para anticuerpos contra el Toxoplasma gondii por otras técnicas inmunodiagnósticas, fue del 100%.

REPRODUCIBILIDAD

Se obtuvieron CV% intraensayos e interensayos menores que el 20% utilizando una muestra no reactiva y tres muestras de diferente reactividad repetidamente probadas en días diferentes.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE PARA AVIDEZ

SENSIBILIDAD

Se estudió la sensibilidad diagnóstica para Aidez empleando un Panel constituido por 31 muestras de pacientes de diferente origen con infección primaria para Toxoplasmosis y confirmadas serológicamente por otras técnicas inmunológicas de ELISA con Aidez. Se obtuvo para este estudio 100% de sensibilidad.

ESPECIFICIDAD

Se estudió la especificidad diagnóstica para Aidez empleando un Panel de 44 muestras de pacientes con infecciones crónicas para Toxoplasmosis confirmadas serológicamente por otras técnicas inmunológicas, obteniéndose un resultado de 97.8 %.

REPRODUCIBILIDAD

Se obtuvieron CV% intraensayos e interensayos menores que el 20% utilizando tres muestras de diferente nivel de aidez repetidamente probadas en días diferentes.

CONCLUSIONES

Toda muestra que ha sido reactiva en una primera prueba debería ser ensayada nuevamente para su confirmación. Si el resultado es negativo en el segundo ensayo, la muestra se consideraría no reactiva. Resultados no reproducibles en la reactividad de las muestras o de los controles podrían deberse a algunas de las siguientes causas:

Lavado incorrecto de los pocillos.

Contaminación de una muestra no reactiva con una muestra reactiva adyacente.

Contaminación de los Sustratos A y B con agentes oxidantes (como por ejemplo cloro).

Mal dispensado y homogeneizado de las muestras.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. BIOZIMA TOXO AIDEZ, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

En infecciones muy recientes (menos de 10/20 días de evolución) o durante el período de incubación, el test puede presentar resultados no reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cantarero, L.A.; Butler, J.E. and Osborne, J.W.: The adsorptive characteristics of proteins for polystyrene and their significance in solid-phase immunoassays. *Analytical Biochemistry* 105: 375-382 (1980).
2. Lin, T.M.; Halbert, S.P. and O'Connor, G.R.: Standardized quantitative enzyme-linked immunoassay for antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Journal of Clinical Microbiology*. 11(6): 675-681 (June 1980).
3. Voller, A.; Bidwell, D.E. and Bartlett, A.: The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): a guide with abstracts of microplate applications. Fowline Press, Guernsey, Channel Islands 1-125 (1979).
4. Engvall, E.; Perlmann, P.: Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. *The Journal of Immunology*. 109(1): 129-135 (July 1972).

LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162

C1075AAX. C.A.B.A. Argentina

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: info@lab-lemos.com

www.lab-lemos.com

Autorizado por A.N.M.A.T. PM-1545-3.

USO PROFESIONAL-VENTA EXCLUSIVA
A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS.

Industria Argentina