



ImmunoComb®

TOXO IgG



Código: 50440002

Formato: 3 x 12 pruebas

Para uso diagnóstico in vitro solamente

Uso Previsto

El kit ImmunoComb® Toxo IgG es una prueba rápida para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en el suero o plasma humano. Treinta y seis pruebas pueden ser realizadas con un kit.

Introducción

La Toxoplasmosis es una enfermedad sistémica, causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*. Este parásito es muy difundido y capaz de infectar muchas especies mamíferas, con altos porcentajes de incidencia particularmente en los trópicos, y bajos porcentajes en las regiones frías y áridas. Los estudios serológicos han indicado incidencias de infecciones de toxoplasma desde menos de 1% en adultos jóvenes en algunas áreas hasta 90% en personas mayores en otros lugares. Las principales vías de transmisión en el hombre son congénitas y orales, a través de la ingestión de alimentos contaminados. Menos frecuente, pero de mayor importancia clínica, es la transmisión de persona a persona a través de productos sanguíneos contaminados o trasplantes de tejidos.

La más común manifestación clínica de infección es una linfadenopatía febril auto-limitante, progresando subclínicamente o sólo con manifestaciones clínicas leves en adultos sanos. Sin embargo, la infección en pacientes con deficiencias inmunológicas y en el feto puede conducir a consecuencias muy severas. La infección oportunista de toxoplasmosis o la reactivación de una infección subclínica en pacientes con deficiencias inmunológicas pueden causar encefalitis, pneumonitis y miocarditis, a menudo con consecuencias fatales.

En el feto infectado congénitamente la infección puede esparcirse al sistema nervioso central. Las consecuencias incluyen aborto u óbito cuando la infección se produce durante el primer trimestre del embarazo, y lesiones neurológicas irreversibles en los casos de infecciones en el segundo o tercer trimestre.

La lectura cuantitativa de anticuerpos IgG contra *T. gondii* constituye un enfoque pragmático para la determinación del status inmunológico de mujeres embarazadas y recién nacidos. Los anticuerpos IgG anti-Toxo pueden persistir durante toda la vida. Como consecuencia, un título constante de IgG anti-Toxo muestra la exposición previa, mientras que un aumento cuádruple o mayor constituye un diagnóstico de infección activa. En el niño, la determinación serial del nivel de IgG anti-Toxo ayuda a

diferenciar entre la infección de *T. gondii* ocurrida congénitamente (nivel constante) o neonatalmente (aumento en el título).

Principio de la Prueba

La prueba ImmunoComb® Toxo IgG es un ensayo inmuno-enzimático indirecto de fase sólida (EIA). La fase sólida es un Peine con 12 proyecciones ("dientes"). Cada diente está sensibilizado en dos áreas reactivas:

punto superior — inmunoglobulina humana (Control Interno).

punto inferior — antígenos inactivados de *T. gondii*

La Bandeja de Desarrollo tiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una. Cada fila contiene una solución reactiva lista para ser usada en cada etapa del ensayo. La prueba es realizada en etapas, pasando el Peine de una fila a otra, con un período de incubación en cada etapa.

Para comenzar la prueba, se agregan muestras de suero o plasma al diluyente en los pocillos de la fila A de la Bandeja de Desarrollo. Luego se inserta el Peine en los pocillos de la fila A. Los anticuerpos anti-*T. gondii*, en caso de estar presentes en las muestras, se unirán específicamente a los antígenos de toxoplasma en el punto inferior de los dientes del Peine (Figura 1). Los componentes no unidos son eliminados con un lavado en la fila B. En la fila C, el IgG anti-Toxo capturado en los dientes, y la inmunoglobulina humana en los puntos superiores (Control Interno) reaccionan con los anticuerpos anti-IgG humano marcados con fosfatasa alcalina (FA). En las dos filas siguientes, los componentes no unidos son eliminados mediante un lavado. En la fila F, la fosfatasa alcalina unida reacciona con componentes cromogénicos. Los resultados son visibles como puntos de color azul grisáceo en la superficie del diente del Peine.

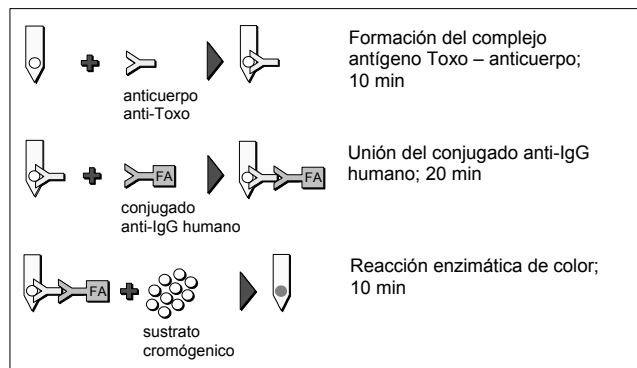


Figura 1. Principio de la Prueba

El kit incluye un Control Positivo (IgG anti-Toxo) y un Control Negativo, que deben incluirse cada vez que se realiza la prueba. Al término de esta, el diente usado con el Control Positivo debe mostrar 2 puntos de color azul grisáceo y el diente usado con el Control Negativo debe mostrar sólo el punto superior. Este punto también debe aparecer en los demás dientes para confirmar que el kit funciona apropiadamente y que la prueba fue realizada correctamente.

Contenido del Kit

Peines

El kit contiene 3 Peines de plástico. Cada Peine tiene 12 dientes, uno para cada prueba (Figura 2). Cada diente es sensibilizado en dos áreas reactivas:

punto superior — inmunoglobulina humana (Control Interno)

punto inferior — antígenos inactivados de *T. gondii* RH

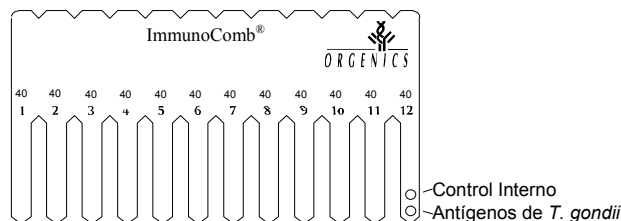


Figura 2. Peine

Los Peines son suministrados en empaques de aluminio que contienen una bolsa desecante.

Bandejas de Desarrollo

El kit contiene 3 Bandejas de Desarrollo, cubiertas con papel de aluminio. Cada Bandeja de Desarrollo (Figura 3) contiene todos

los reactivos necesarios para la prueba. La Bandeja de Desarrollo consiste de 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una. Los contenidos de cada fila son los siguientes:

- Fila A Diluyente de la muestra
- Fila B Solución de lavado
- Fila C Anticuerpos de cabra anti-IgG humano marcados con fosfatasa alcalina
- Fila D Solución de lavado
- Fila E Solución de lavado
- Fila F Solución de sustrato cromogénico conteniendo 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitro azul tetrazolio (NBT)

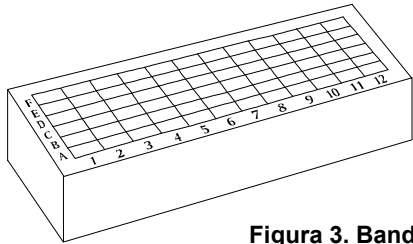


Figura 3. Bandeja de Desarrollo

Control Positivo — 1 frasco (tapa roja) de 0.2 ml de plasma humano diluido, inactivado con calor, diluido a un nivel crítico de 10 IU/ml para anticuerpos IgG anti-Toxo.

Control Negativo — 1 frasco (tapa verde) de 0.2 ml de plasma humano diluido, inactivado con calor y negativo para anticuerpos contra Toxoplasma.

Perforador — para perforar el papel aluminio que cubre los pocillos de la Bandeja de Desarrollo

CombScale™ — para leer los resultados de la prueba.

Seguridad y Precauciones

- Todos los materiales de origen humano usados en la preparación del kit pasaron pruebas que demostraron que no son reactivos al antígeno de superficie de la hepatitis B, así como a anticuerpos de HIV o el virus de la hepatitis C. Ya que ningún método puede garantizar por completo la ausencia de contaminación viral, todas las soluciones de referencia y todas las muestras humanas deben ser manejadas como si fueran potencialmente infecciosas.
- Use guantes quirúrgicos y ropas de laboratorio. Siga los procedimientos de laboratorio aceptados para el trabajo con suero o plasma humano.
- No use la pipeta aspirando con la boca.
- Deseche todas las muestras, Peines usados*, Bandejas de Desarrollo y otros materiales usados con el kit como desechos biocontaminantes.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.
- No use este kit después de la fecha de caducidad.

Conservación y estabilidad del kit

- El kit es enviado a 2-8° C. Durante el transporte el kit puede ser conservado a menos de 30° C durante cortos períodos de tiempo que no excedan de 48 horas. Los controles internos indican que el kit no ha sido dañado durante el transporte.
- Conservar el kit en su caja original a 2-8° C.
- No congelar el kit.
- Después de abrir el kit inicialmente, los componentes deben ser conservados a 2-8° C.
- El funcionamiento del kit después de su apertura inicial, es estable hasta la fecha de caducidad del mismo si se conserva a 2-8° C.
- Después del uso inicial, el peine y la bandeja de reactivos no pueden ser utilizados más de tres veces.

Manejo de las Muestras

- Es posible usar suero o plasma en la prueba.
- Las muestras pueden ser almacenadas por 7 días a temperaturas de 2° a 8°C antes de la prueba. Para almacenar las muestras por más de 7 días, congélelas a -20°C o a temperaturas más bajas.
- Después de descongelar las muestras de suero, centrifúguelas. Use el sobrenadante para la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente.
- Los anticoagulantes como heparina, EDTA y citrato sódico no han mostrado tener efecto sobre los resultados del test.

* A menos que sea archivado para consulta posterior

Procedimiento de la Prueba

Equipo Necesario (no proporcionado)

- Pipetas de precisión con puntas desechables y capacidad de 10 µl
- Tijeras
- Cronómetro de Laboratorio o reloj

Preparación de la Prueba

Ponga todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente(22°-26°C).

Preparación de la Bandeja de Desarrollo

1. Incube la Bandeja de Desarrollo en una incubadora a 37°C durante 20 minutos; o deje a temperatura ambiente (22°-26°C) durante 3 horas. Lleve todos los otros componentes (Peines, controles y muestras) a temperatura ambiente.
2. Cubra la mesa de trabajo con papel absorbente, para ser desechado como desecho biocontaminante al concluir la prueba.
3. Mezcle los reactivos sacudiendo la Bandeja de Desarrollo.

Nota: No retire la cubierta de aluminio de la Bandeja de Desarrollo; rómpala usando la punta desechable de la pipeta o el perforador, sólo cuando las instrucciones de la prueba así lo indiquen.

Preparación del Peine

Precaución: para asegurar el funcionamiento apropiado de la prueba, no toque los dientes del Peine.

1. Abra el empaque de aluminio por el borde perforado. Retire el Peine.
2. Es posible utilizar todo el Peine y la Bandeja de Desarrollo o una parte. Para utilizar parte del Peine:
 - a. Determine cuantos dientes va a necesitar para analizar las muestras y los controles. Se necesita un diente para cada prueba. Cada diente tiene impreso el número de código del kit, "40", para permitir la identificación de los dientes sueltos.
 - b. Doble y rompa verticalmente el Peine, o córtelo con tijeras (ver Figura 4) para separar el número requerido para las pruebas (Nro. de pruebas mas 2 controles).
 - c. Vuelva a meter la porción no utilizada del Peine en el empaque de aluminio (con la bolsa desecante). **Cierre bien el empaque** (con un clip, por ejemplo) a fin de mantenerlo seco. Almacene el Peine en la caja original del kit a temperaturas de 2°-8°C para su uso posterior.

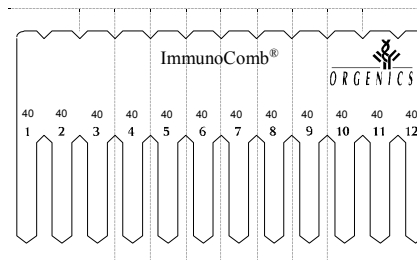


Figura 4. Fraccionamiento del Peine

Instrucciones de la Prueba

Reacción Antígeno-Anticuerpo (Fila A de la Bandeja de Desarrollo)

1. Tome 10 µl de la muestra con la pipeta. Perfóre con la punta de la pipeta o el perforador la cubierta de papel de aluminio de un pocillo en la fila A de la Bandeja de Desarrollo y vierta la muestra en el fondo del pocillo. **Mezcle** vaciando y rellenando repetidamente la solución con la pipeta. Deseche la punta de la pipeta.
2. Repita el paso 1 para las demás muestras, incluyendo un control positivo y uno negativo provistos en el kit. Use un nuevo pocillo en la fila A y cambie la punta de la pipeta para cada muestra o control..
3. a. Inserte el Peine (con el lado **impreso** hacia Ud.) en los pocillos de la fila A que contienen las muestras y los controles.
Mezcle: Retire e inserte el Peine en los pocillos varias veces.
b. Deje el Peine en la fila A durante exactamente 10 minutos. Active el cronómetro. Hacia el final de los 10 minutos, perfóre el papel aluminio en la fila B usando el perforador. No abra más pocillos de los necesarios.
c. Al cumplirse los 10 minutos, saque el Peine de la fila A.
Absorba el líquido adherido a las **puntas** de los dientes apoyandolos sobre un papel absorbente limpio. No toque la superficie frontal del diente.

Primer Lavado (Fila B)

4. Inserte el Peine en los pocillos de la fila B. **Agite:** inserte y retire vigorosamente el Peine en los pocillos durante al menos 10 segundos para que quede bien lavado. Repita el lavado varias

veces agitando en el transcurso de 2 minutos; mientras tanto, perfora el papel aluminio de la fila C. Después de dos minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido** como en el paso 3c.

Unión del Conjugado (Fila C)

5. Inserte el Peine en los pocillos de la fila C. **Mezcle** como en el paso 3a. Programe el cronómetro para 20 minutos. Perfore el papel aluminio de la fila D. Después de 20 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Segundo Lavado (Fila D)

6. Inserte el Peine en los pocillos de la fila D. **Agite** como en el paso 4. Espere 2 minutos; mientras tanto, perfora el papel aluminio en la fila E. Después de dos minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Tercer Lavado (Fila E)

7. Inserte el Peine en los pocillos de la fila E. **Agite**. Espere 2 minutos; mientras tanto, perfora el papel aluminio de la fila F. Después de dos minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Reacción de Color (Fila F)

8. Inserte el Peine en los pocillos de la fila F. **Mezcle**. Programe el cronómetro para 10 minutos. Después de 10 minutos, retire el Peine.

Detención de la Reacción (Fila E)

9. Inserte de nuevo el Peine en la fila E. Después de un minuto, retire el Peine y déjelo secar al aire.

Almacenamiento de Partes No Usadas del Kit

Bandeja de Desarrollo

Si no usó todos los pocillos de la Bandeja de Desarrollo, puede almacenarla para ser usada posteriormente:

- Selle los pocillos usados con cinta adhesiva ancha a fin de que nada se derrame fuera de los pocillos, incluso en caso de que la Bandeja de Desarrollo sea volcada.

Otros Materiales del Kit

- Vuelva a colocar la(s) Bandeja(s) de Desarrollo, Peine(s), perforador, controles e instrucciones en la caja original del kit y almacene a temperaturas de 2° a 8°C.

Resultados de la Prueba

Validación

A fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, deben cumplirse las siguientes tres condiciones (ver Figura 5):

- El **Control Positivo** debe producir **dos** puntos en el diente del Peine.
- El **Control Negativo** debe producir un punto **superior** (Control Interno). El punto inferior no aparece o aparece muy tenuemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
- Cada muestra analizada** debe producir un punto **superior** (Control Interno).

Si cualquiera de estas tres condiciones no se cumple, los resultados de la prueba no son válidos y las muestras y controles deben ser reexaminados.

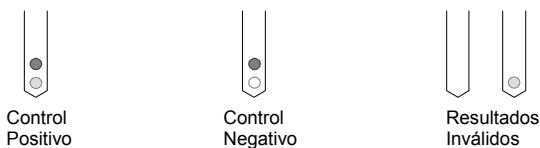


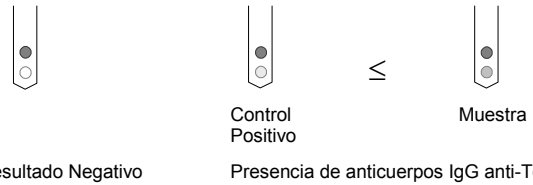
Figure 5. Validación de la Prueba

Interpretación de los Resultados

Lectura Cualitativa

Compare la intensidad del punto **inferior** de cada diente de muestra con la del punto **inferior** del diente del **Control Positivo** (Figura 6).

- Un punto con intensidad **mayor** que o **igual** a la del Control Positivo indica la presencia de anticuerpos IgG anti-Toxo.
- La **ausencia** de puntos, o la presencia de un punto con una intensidad **menor** que la del Control Positivo son consideradas como un resultado **negativo**.



Resultado Negativo

Presencia de anticuerpos IgG anti-Toxo

Figure 6. Resultados de la Prueba

Interpretación Semicuantitativa por Lectura Visual

El nivel de IgG anti-Toxo en cada muestra puede ser evaluado comparando la intensidad del color del punto **inferior** en cada diente, con la escala de color del CombScale™ suministrado con el kit. Esto se hace como sigue (Figura 7):

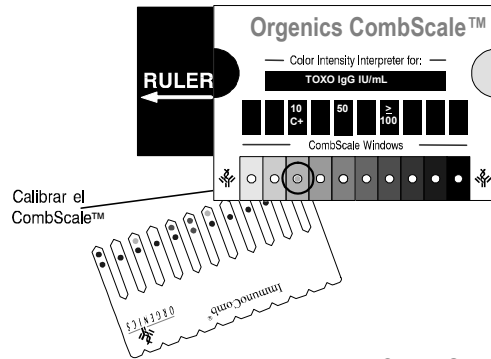


Figura 7. CombScale™

- Calibre el CombScale™. Coloque el punto **inferior** en el diente del **Control Positivo** bajo la intensidad de color más similar en la escala de colores. Ajuste la regla hasta que aparezca la lectura "10; C+" en la ventanilla sobre la intensidad de color seleccionada.
- Lea los resultados* sin cambiar la posición calibrada de la regla. Compare la intensidad de color de cada punto **inferior** con la intensidad más similar en la escala de colores. Registre el valor indicado en la ventanilla (en IU/ml) sobre esa intensidad como el título aproximado de IgG anti-T. gondii para la muestra correspondiente.

Documentación de los Resultados

Debido a que el color que aparece en el Peine es estable, es posible archivar los Peines para consulta posterior.

Limitaciones

Al igual que otras pruebas ideadas para ser usadas en diagnósticos in vitro, los resultados de esta prueba deben ser evaluados en relación a la sintomatología, el historial clínico y otros parámetros de laboratorio del paciente.

Características del Ensayo*

La sensibilidad y especificidad del kit **ImmunoComb® Toxo IgG** fueron evaluadas en un panel de 728 muestras de suero, en comparación con un ensayo de referencia EIA. Los resultados son resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la Prueba

Ensayos de Referencia	ImmunoComb® Toxo IgG	
	Positivo	Negativo
Positivo	366	22
Negativo	10	330

Se calcularon las características del ensayo, encontrándose los siguientes resultados:

- Sensibilidad — 97.2 %
- Especificidad — 93.75 %

Repetibilidad

Diez peines fueron escogidos al azar de diferentes partes de un lote de producción. Un suero positivo fue analizado 12 veces en cada peine. Todas las veces el suero fue positivo para Toxo IgG.

Reproducibilidad

Tres muestras positivas para Toxo IgG fueron analizadas en peines tomados de tres diferentes lotes de producción. En todos los casos, Todas las muestras positivas se detectaron.

* Datos detallados disponibles

Interferencia

No se encontró interferencia con muestras hemolisadas (hemoglobina hasta 10 mg/ml), lipémicas (Colesterol hasta 281.6 mg/dL; Triglicéridos 381.0 mg/dL) y bilirrubina alta (hasta 20 mg/dl).

Bibliografía


Montoya JG, Remington JS. 1995. Studies on the serodiagnosis of toxoplasmic lymphadenitis. Clin. Infect. Dis. 20(4):781-789.

Naot Y, Guptill DR, Remington JS. 1982. Duration of IgM antibodies of Toxoplasma gondii after acquired toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 145:770.







Remington JS, McLeod R, Desmots G. 1995. Toxoplasmosis. In: JS Remington and JO Klein (ed.), Infectious diseases of the fetus and newborn infant, 4th ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 140-266.

Roulet E. 1999. Opportunistic infections of the central nervous system during HIV-1 infection. J. Neurol. 246(4):237-243.

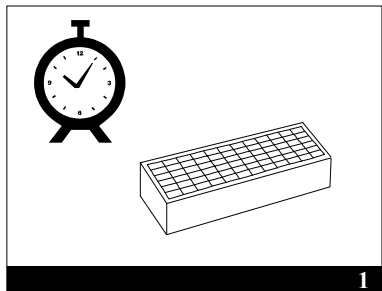
Stay-Pedersen B. 1993. Toxoplasmosis in pregnancy. Baillieres. Clin. Obstet Gynaecol. 7:107-137.

Fabricante :  ORGENICS Orgenics Ltd., part of the Inverness Medical Innovations Group. P.O.B 360 Yavne 70650, Israel Tel: ++ 972 8 942 92 01 Fax: ++ 972 8 943 87 58	Representante autorizado en UE: Orgenics France S.A. 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France Tel: +33-1 41 99 92 90 Fax: +33-1 41 99 92 95 Version: 50440002/S9/OR (04/2007)
---	--

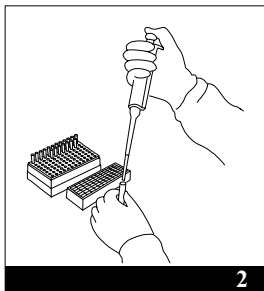
Leyenda de los símbolos

CARD	ImmunoComb® tarjeta
PLATE	Bandejas de Desarrollo
CONTROL +	Control positivo
CONTROL -	Control negativo
PERFORATOR	Perforador
	Consulte las instrucciones de uso
	Atención, ver instrucciones de uso
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura
	Contenido suficiente para n ensayos
	Fabricante
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
REF	Número de catálogo
COMBSCALE	CombScale™
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
SN	Número de serie

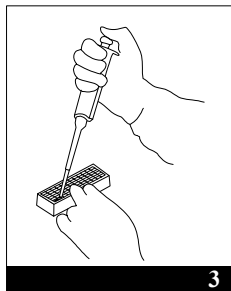
Resumen de los Principales Procedimientos de la Prueba



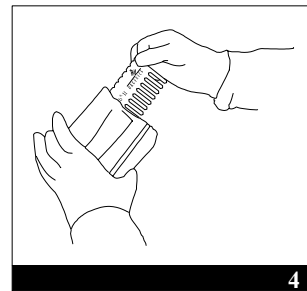
1
Preincubación de la Bandeja de Desarrollo: 3 hrs. a temperatura ambiente o 20 min. a 37°C



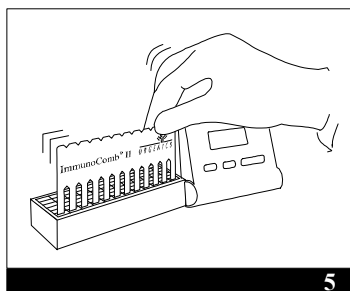
2
Tomar las muestras y controles



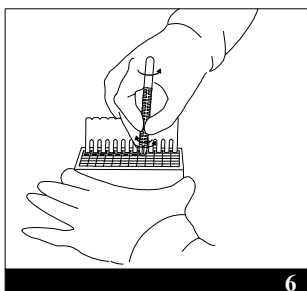
3
Agregar muestras y controles a la fila A. Mezclar



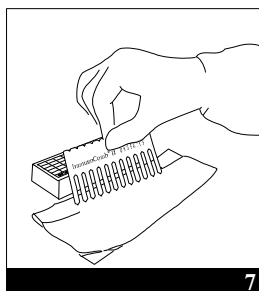
4
Sacar el Peine del empaque



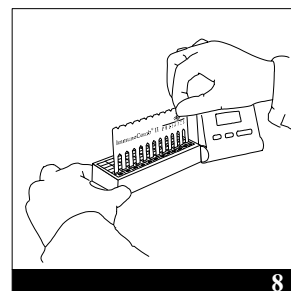
5
Insertar el Peine y mezclar en la fila A. Incubar



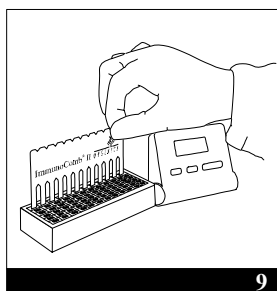
6
Perforación de la fila B



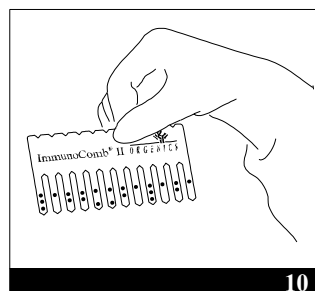
7
Absorber el líquido adherido a los dientes



8
Insertar el Peine y agitar en la fila B. Incubar



9
Reacción de color en la fila F



10
Resultados

Después de mezclar/agitar e incubar en filas C, D y E ...

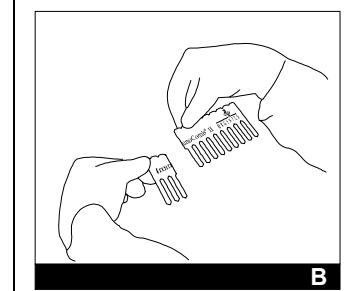
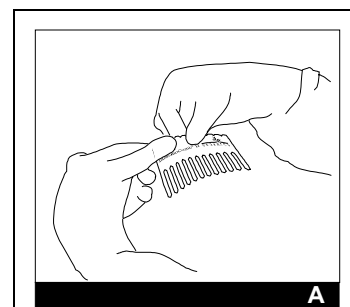
Resumen del Procedimiento de la Prueba

Las instrucciones abreviadas a continuación son para personas experimentadas en el uso del kit **ImmunoComb® Toxo IgG** (Para instrucciones detalladas favor de referirse al texto completo)

1. Ponga todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente.
2. Vierta 10 µl de cada muestra y control en pocillos separados de la fila A de la Bandeja de Desarrollo y mezcle.
3. Inserte el Peine en la fila A y continúe según se describe en la Tabla 1:

Tabla 1. Resumen del Procedimiento de la Prueba

Etapas	Fila	Proceda como se indica
Reacción antígeno-anticuerpo	A	Mezcle; incube 10 minutos; absorba.
Lavado	B	Agite; incube 2 minutos; absorba.
Unión del conjugado	C	Mezcle; incube 20 minutos; absorba.
Lavado	D	Agite; incube 2 minutos; absorba.
Lavado	E	Agite; incube 2 minutos; absorba.
Reacción de color	F	Mezcle; incube 10 minutos.
Detención de la reacción	E	Incube 1 minuto; seque al aire.



A
B
Manera de romper el Peine