



ImmunoComb®

Toxo IgM



Código: 50441002

Formato: 3 x 12 pruebas

Para uso diagnóstico in vitro solamente

Uso Previsto

El kit ImmunoComb® Toxo IgM es una prueba para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra *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.

Niveles significativos de anticuerpos IgM anti-Toxo por lo general no persisten después de un año de la infección primaria y no son observados durante la reactivación. La detección cualitativa de anticuerpos IgM contra *T. gondii*, por lo tanto, proporciona una confirmación rápida de una

50441002/S8/OR

infección aguda o reciente. Además, las pruebas para anticuerpos IgM e IgG anti-*T. gondii* en neonatos, concurrentemente con las pruebas para IgG anti-*T. gondii* materno, permite el diagnóstico temprano de la toxoplasmosis congénita.

Principio de la Prueba

La prueba ImmunoComb® Toxo IgM 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 — IgM humano (Control Interno)

punto inferior — antígenos inactivados de *T. gondii*

La Bandeja de Desarrollo tiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos. 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.

Al comienzo de la prueba, las muestras de suero o plasma son pre-tratadas con anti-IgG humano (removedor), para prevenir interferencias como resultado de la competencia con el IgG anti-*T. gondii* y el factor reumatoideo. Las muestras previamente tratadas se incuban posteriormente con la solución en los pocillos de la fila A. Si existe IgM anti-*T. gondii* en las muestras, se unirá específicamente a los antígenos de *T. gondii* en el punto inferior de los dientes del Peine (Figura 1). Los componentes no unidos son lavados en la fila B. En la fila C, el IgM capturado en los puntos inferiores de los dientes y el IgM humano en el punto superior (Control Interno), reaccionan con anticuerpos anti-IgM humano marcados con fosfatasa alcalina (FA). En las dos filas siguientes, los componentes libres son eliminados mediante un lavado. En la fila F la fosfatasa alcalina ligada reacciona con los componentes cromogénicos. Los resultados se pueden apreciar como puntos color azul grisáceo en la superficie de los dientes del Peine.

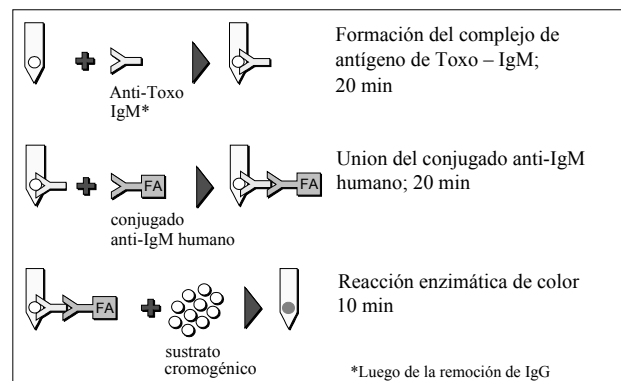


Figura 1. Principio de la Prueba

El kit incluye un Control Positivo (IgM anti-*T. gondii*) y un Control Negativo, que deben incluirse cada vez que se realiza la prueba. Al término de ésta, el diente usado con el Control Positivo debe mostrar 2 puntos de color azul grisáceo. El diente usado con el Control Negativo debe mostrar el punto superior y un punto inferior muy tenue o la ausencia del mismo. El punto superior debe también aparecer en todos los demás dientes, a fin de confirmar que el kit funciona apropiadamente y que la prueba fue realizada de manera correcta.

Contenido del Kit

Peines

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

punto superior — IgM humano (Control Interno)

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

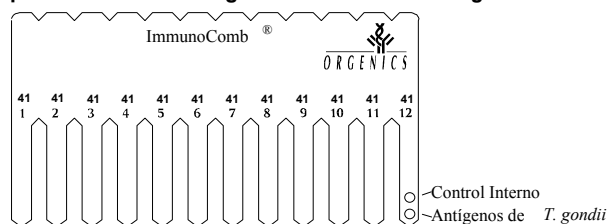


Figura 2. Peine

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 muestras con anticuerpos de cabra anti-IgG humano
- Fila B Solución de lavado
- Fila C Anticuerpos de cabra anti-IgM 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)

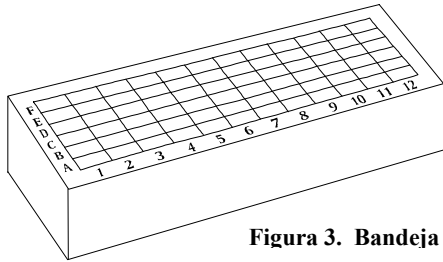


Figura 3. Bandeja de Desarrollo

Control Positivo — 1 frasco (tapa roja) de 0.15 ml de plasma humano diluido e inactivado con calor, conteniendo anticuerpos IgM anti-Toxo.

Control Negativo — 1 frasco (tapa verde) de 0.15 ml de plasma humano diluido, reconstituido e inactivado con calor, negativo para anticuerpos anti-Toxo.

Solución Removedora — 1 frasco conteniendo 4 ml de anticuerpos diluidos de cabra anti-IgG humano.

Perforador — para perforar la cubierta de aluminio de los pocillos de la Bandeja de Desarrollo.

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 el 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 periodos 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.

* A menos que sea archivado para consulta posterior

- 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.

Procedimiento de la Prueba

Equipo Necesario

- Pipetas de precisión ajustables con puntas desechables con capacidad de 10 µl, 25 µl y 100 µl
- Tijeras
- Cronómetro de laboratorio o reloj
- Microtubos o micropocillos de titulación

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 por 20 minutos; o deje a temperatura ambiente (22°-26°C) por 3 horas. Lleve todos los otros componentes (Peines, solución removedora, 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 del código del kit, "41", 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 dos 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) para mantenerlo seco. Almacene el Peine en la caja original del kit a temperaturas de 2° a 8°C para su uso posterior.

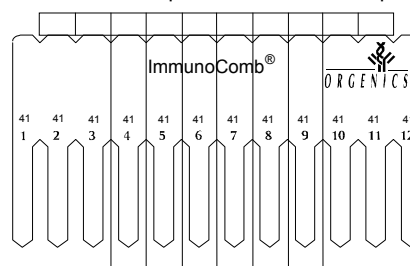


Figura 4. Fraccionamiento del Peine

Instrucciones de la Prueba

Pre-tratamiento de Muestras y Controles

1. Para cada muestra y control, vierta 100 µl de solución removedora en un microtubo o un pocillo de microtitulación.
2. A cada microtubo o pocillo, añada 10 µl de muestra, o del Control Positivo o Negativo que vienen con el kit. **Mezcle** la solución rellenando y vaciando repetidamente la pipeta.
3. Programe el cronómetro e incube por 10 minutos.

Agregar Muestras Pre-tratadas a la Bandeja de Desarrollo

4. Pipetee 25 µl de una muestra pre-tratada. Perfore la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A con la punta de la pipeta o el perforador y vacíe la muestra en el fondo del pocillo. **Mezcle** la solución rellenando y vaciando el pocillo. Deseche la punta de la pipeta.

- Repita el paso 4 para las demás muestras y los dos controles prediluidos. Use un nuevo pocillo en la fila A y cambie la punta de la pipeta para cada muestra o control.
- Programa el reloj e incube por 10 minutos.

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

- 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
- Deje el Peine en la fila A e incube por exactamente 20 minutos. Programa el reloj. Antes de cumplirse los 20 minutos, perfora la cubierta de la fila B, utilizando el perforador. No abra más pozos de los necesarios.
- Al cumplirse los 20 minutos, saque el Peine de la fila A. **Absorba el líquido adherido** a las **puntas** de los dientes apoyándolos sobre un papel absorbente limpio. No toque la superficie frontal del diente.

Primer Lavado (Fila B)

- Inserte el Peine en los pocillos en la fila B. **Agite:** retire e inserte vigorosamente el Peine en los pocillos por 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 7c.

Unión del Conjugado (Fila C)

- Inserte el Peine en los pocillos de la fila C. **Mezcle** como en el paso 7a. Incube la Bandeja de Desarrollo con el Peine por 20 minutos. Perfora el papel aluminio de la fila D. Después de 20 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Segundo Lavado (Fila D)

- Inserte el Peine en los pocillos de la fila D. **Agite** repetidamente durante 2 minutos, como en el paso 8. Mientras tanto, perfora el papel aluminio de la fila E. Después de 2 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Tercer Lavado (Fila E)

- Inserte el Peine en los pocillos de la fila E. **Agite** repetidamente durante 2 minutos. Mientras tanto, perfora el papel aluminio de la fila F. Después de 2 minutos, retire el Peine y **absorba el líquido adherido**.

Reacción de Color (Fila F)

- Inserte el Peine en los pocillos de la fila F. **Mezcle.** Incube la Bandeja de Desarrollo con el Peine por 10 minutos. Después de 10 minutos, retire el Peine.

Detención de la Reacción (Fila E)

- Inserte el Peine de nuevo en la fila E. Después 1 minuto, retire el Peine y seque al aire.

Eliminación de los Desechos

Deseche las Bandejas de Desarrollo usadas, las puntas de las pipetas, los microtubos o micropocillos de titulación, el papel absorbente y los guantes como desechos biocontaminantes.

Almacenamiento de las Partes No Usadas del Kit

Bandeja de Desarrollo

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

- Selle los pocillos usados con una 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, solución removedora, controles e instrucciones en la caja original del kit y almacene a temperatura de 2° a 8°C.

Resultados de las Pruebas

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 debe no aparecer o aparecer tenuemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
- Cada muestra analizada** debe producir un punto **superior** (Control Interno).

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

50441002/S8/OR

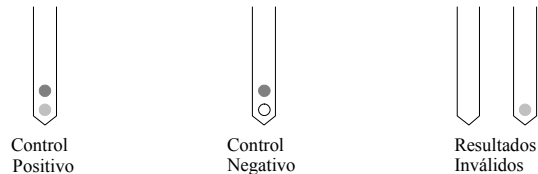


Figura 5. Validación de la Prueba

Interpretación Cualitativa de los Resultados

Interpretación Visual

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

- Un punto con una intensidad **mayor** que o **igual** a la del Control Positivo indica la presencia de anticuerpos IgM anti-*T. gondii* en la muestra.
- La **ausencia** de un punto o su presencia con una intensidad **menor** que la del Control Positivo indica la ausencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en la muestra (Resultado **Negativo**).

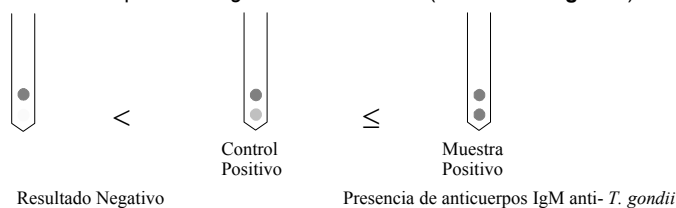


Figura 6. Resultados

Interpretación

La presencia de anticuerpos IgM anti-*T. gondii* indican una infección de *Toxoplasma* aguda o reciente.

Documentación de los Resultados

Debido a que el color que aparece en el Peine es estable, los Peines pueden ser archivados para consulta posterior.

Limitaciones

Como con otras pruebas ideadas para el diagnóstico in vitro, los resultados de la prueba deben ser evaluados en relación a la sintomatología, historia clínica y otros parámetros de laboratorio del paciente.

Características del Ensayo*

La sensibilidad y especificidad del kit **ImmunoComb® Toxo IgM** fueron evaluadas en un panel de 160 muestras de suero, en comparación con dos ensayos de referencia EIA. Los resultados discordantes fueron evaluados con un ensayo inmuno-enzimático indirecto y una prueba de aglutinación. Los resultados son resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la Prueba

Ensayos de Referencia	ImmunoComb® Toxo IgM	
	Positivo	Negativo
Positivo	14	1
Negativo	0	145**

**Incluye una muestra positiva en el EIA pero negativa en los otros dos ensayos.

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

Sensibilidad = 93.3 %

Especificidad = 100 %


* Datos detallados disponibles

Bibliografía







Desmonts G. 1982. Toxoplasmosis adquirida de la mujer embarazada. *Lyon Medical* 248: 115-123.

Krogstadt DJ, Visvesvara GS, Walls KW, Smith JW. 1991. Blood and tissue protozoa. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, Fifth edition. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 829-837.

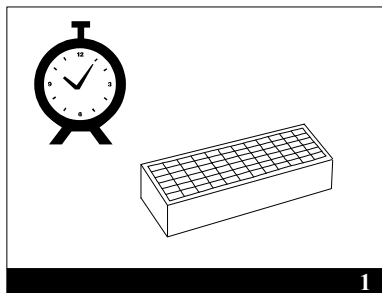
Remington JS, Krahenbuhl JL. 1982. Immunology of *Toxoplasma gondii*. In: Nahmias AJ, O'Reilly RJ, eds. *Immunology of Human Infection*, Part II. Plenum, New York, pp 327-371.

<p>Fabricante :</p>  <p>ORGENICS</p> <p>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</p>	<p>Representante autorizado en UE:</p> <p>Orgenics France S.A. 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France Tel: +33-1 41 99 92 90 Fax: +33-1 41 99 92 95</p> <p>Version: 50441002/S8/OR (04/2007)</p>
--	---

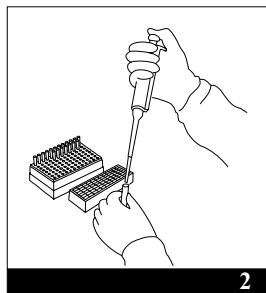
Leyenda de los símbolos

CARD	ImmunoComb® tarjeta
PLATE	Bandejas de Desarrollo
CONTROL +	Control positivo
CONTROL -	Control negativo
PERFORATOR	Perforador
DIL	Solución Removedora
	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
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
SN	Número de serie

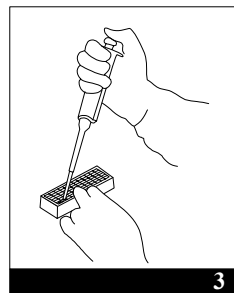
Resumen de los Principales Procedimientos de la Prueba



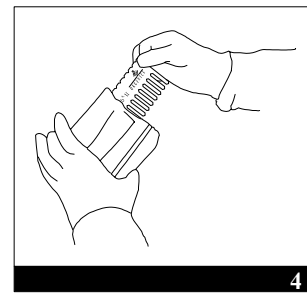
1
Preincubación de la Bandeja de Desarrollo: 3 hrs a temperatura ambiente o 20 minutos a 37°C



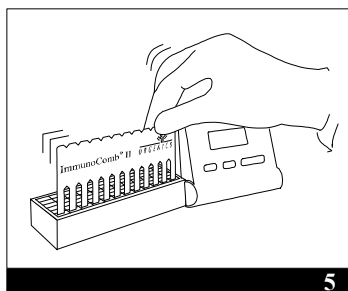
2
Tomar las muestras y controles para ser pretratadas



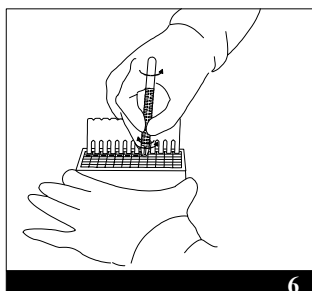
3
Agregar muestras y controles pre-tratados a la fila A. Mezclar e Incubar



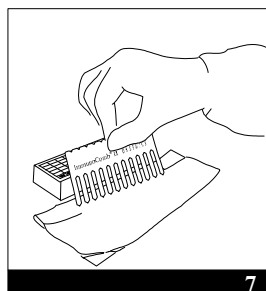
4
Sacar el Peine del empaque



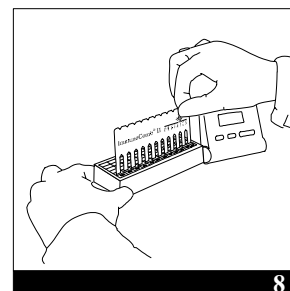
5
Insertar el Peine y mezclar en la fila A. Incubar



6
Perforación de la fila B

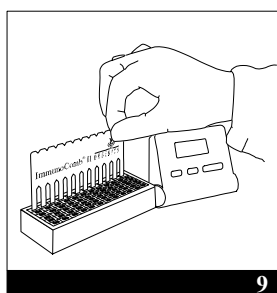


7
Absorber el líquido adherido a los dientes

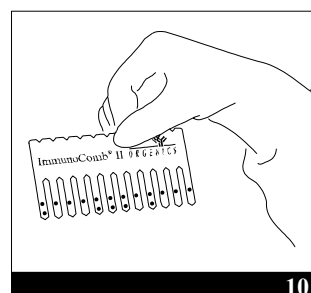


8
Insertar el Peine y agitar en la fila B. Incubar

Luego de mezclar agitar e incubar en las filas C, D y E...



9
Reacción de color en la fila F



10
Resultados

Resumen del Procedimiento de la Prueba

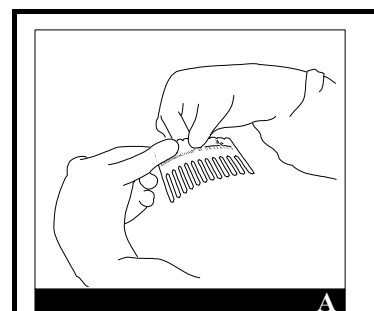
Las instrucciones abreviadas abajo son para los usuarios experimentados en el uso del kit ImmunoComb® Toxo IgM.

(Para instrucciones detalladas, favor referirse al texto completo)

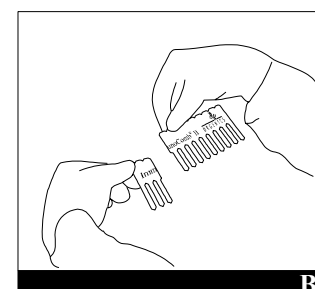
- Lleve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente.
- Pre-trate 10 µl de cada muestra y control mezclando con 100 µl de solución removedora e incube por 10 min.
- Vierta 25 µl de cada muestra y control pre-tratado en los pocillos de la fila A de la Bandeja de Desarrollo. **Mezcle** e incube por 10 minutos.
- Inserte el Peine en la fila A y continúe como se describe en la Tabla 1:

Tabla 1. Resumen del Procedimiento de la Prueba

Paso	Fila	Proceda como sigue
Reacción Antígeno-anticuerpo	A	Mezcle; incube 20 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