



Toxotest IgG

ELISA (+Avidity)

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgG anti-Toxoplasma gondii y avidez

SIGNIFICACION CLINICA

La toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa del hombre y de los animales, de distribución universal, cuyo agente etiológico es un parásito intracelular obligado, el *Toxoplasma gondii*. Es una enfermedad generalmente benigna y asintomática en individuos inmunocompetentes, convirtiéndose en una seria complicación en pacientes inmunocomprometidos. Cuando la infección se adquiere durante la gestación, existe un alto riesgo de infección del feto, pudiendo provocar abortos o lesiones graves en el mismo. Las lesiones provocadas en el feto son más severas cuanto más temprana en el embarazo sea la infección materna.

Si al determinar IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii*, ambos están aumentados, no es posible definir si se trata de una infección aguda, dado que la IgM puede resultar de una infección que transcurre desde hace meses. Como la fuerza de la unión antígeno-anticuerpo de las IgG aumenta en el curso de una infección, la determinación de este parámetro (llamado avidez) puede correlacionarse directamente con el tiempo del evento de la infección.

De todas maneras, los datos clínicos son los definitivos para diagnosticar si una infección es reciente o crónica.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La muestra diluida se coloca en la policubeta, cuyos pocillos se encuentran sensibilizados con antígenos de *T. gondii*. Si la muestra contiene anticuerpos específicos, estos formarán complejos con los antígenos y permanecerán unidos a la fase sólida. La fracción no unida se elimina por lavado y luego se agrega el conjugado que reacciona específicamente con los anticuerpos anti-*T. gondii* inmunocapturados. El conjugado no unido se elimina por lavado. La presencia de peroxidasa unida al complejo se revela mediante el agregado del sustrato cromogénico, tetrametilbencidina. Las muestras reactivas desarrollan color celeste. La reacción enzimática se detiene mediante el agregado de ácido sulfúrico, produciendo un viraje del color celeste al amarillo. La intensidad del color medido en espectrofotómetro a 450 y 405 nm será directamente proporcional a la concentración de IgG anti-*Toxoplasma gondii* en calibradores y muestras.

Cuando se determina avidez, es posible distinguir los anticuerpos de baja afinidad producidos en un período temprano de la enfermedad de aquellos con una mayor afinidad de unión que reflejan una inmunidad preexistente. Para ello se coloca la muestra en contacto con un reactivo disociante capaz de disociar las uniones de baja avidez de los anticuerpos unidos al antígeno de la placa. Por comparación de reactividad con anticuerpos no tratados con el reactivo

disociante es posible discriminar los dos tipos de anticuerpos (baja o alta avidez).

REACTIVOS PROVISTOS

Policubeta Sensibilizada: pocillos recubiertos con antígenos de *T. gondii*.

Diluyente de Muestra: buffer salino con tensioactivo. Color violeta.

Conjugado Concentrado: anticuerpo monoclonal anti-IgG humana conjugado con peroxidasa (10x). Color rojo.

Diluyente de Conjugado: buffer salino con proteínas.

Revelador: solución de tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno.

Stopper: ácido sulfúrico 2 N.

Buffer de Lavado Concentrado: buffer salino con tensioactivo (25x). Color verde.

Calibradores 1 a 3: IgG anti-*Toxoplasma gondii* en suero matriz con concentraciones: 15, 60 y 240 UI/ml. Los calibradores han sido ajustados según el 2º Estándar Internacional (SSI), 1980.

Control Negativo: solución proteica no reactiva para IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Reactivo Disociante: solución de urea 6 M.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada o desionizada

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Estufa a 37°C.
- Reloj alarma o cronómetro.
- Sistema de lavado de policubetas (manual o automático).
- Espectrofotómetro para lectura de policubetas.

PRECAUCIONES

Para obtener resultados correctos y reproducibles:

- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Evitar tocar las paredes de los pocillos con los tips.
- Las policubetas deben incubarse en estufa. No usar baño de agua.
- Asegurarse que los reactivos estén perfectamente a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
- Usar agua destilada o desionizada, perfectamente limpia.
- Utilizar material limpio, libre de metales o agentes oxidantes.
- Evitar la contaminación del conjugado (10x y 1x) con aerosoles, saliva, etc.
- No modificar la técnica de ensayo en tiempos y temperatura del ensayo.

Para impedir la contaminación personal y del medio ambiente:

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Los calibradores han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y hepatitis C (HCV), encontrándose no reactivos. Sin embargo, se recomienda manipularlos con las precauciones requeridas para muestras potencialmente infecciosas.
- Evitar contacto del ácido sulfúrico (Stopper) con piel y mucosas. Si esto ocurre enjuagar con abundante agua. H315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- Evitar el derrame de líquidos y formación de aerosoles.
- Los líquidos de desecho pueden ser desinfectados con hipoclorito de sodio (concentración final 5%) durante por lo menos 60 minutos.
- No pipetear con la boca. Usar guantes descartables y protección en los ojos durante la manipulación de las muestras y reactivos del ensayo.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa vigente.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Buffer de Lavado: a baja temperatura los componentes del reactivo concentrado pueden precipitar. En tal caso, llevar la solución a 37°C hasta disolución completa. Para la obtención del buffer de lavado listo para usar, diluir una parte de Buffer de Lavado Concentrado (25x) con 24 partes de agua destilada o desionizada. Ej.: 20 ml con 480 ml para una policubeta.

Conjugado: diluir una parte de Conjugado Concentrado (10x) con 9 partes de Diluyente de Conjugado (ej.: ver tabla siguiente con volumen requerido de Conjugado Concentrado y Diluyente de Conjugado):

Nº de Pocillos	Conjugado concentrado	Diluyente de conjugado
8	100 µl	0,9 ml
16	200 µl	1,8 ml
24	300 µl	2,7 ml
32	400 µl	3,6 ml
96	1200 µl	10,8 ml

Policubeta sensibilizada, Diluyente de Muestra, Diluyente de Conjugado, Revelador, Stopper, Reactivo Disociante, Calibradores y Control Negativo: listos para usar.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provisos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Buffer de Lavado Concentrado y Stopper: se pueden conservar a temperatura entre 2 y 25°C.

Buffer de Lavado (1x): una vez diluido es estable 3 meses a temperatura entre 2 y 25°C.

Conjugado: una vez diluido es estable 6 horas a temperatura entre 2 y 25°C.

Policubeta Sensibilizada: no abrir el sobre hasta el momento de usar, ni antes que haya tomado temperatura ambiente. Las tiras no utilizadas deben conservarse a 2-10°C dentro del sobre con desecante bien cerrado. Las tiras conservadas en estas condiciones pueden ser utilizadas dentro de los 4 meses posteriores mientras no supere la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección de muestra: obtener de la manera habitual.

b) Aditivos: no se requieren para suero. Para las muestras de plasma se puede emplear heparina, citrato o EDTA como anticoagulante.

c) Sustancias Interferentes conocidas: no se ha observado interferencia con muestras que contienen hasta 30 mg/dl de bilirrubina, 50 mg/dl de ácido ascórbico, 1500 mg/dl de triglicéridos o 300 mg/dl de hemoglobina. Muestras conteniendo partículas deberán clarificarse mediante centrifugación.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra se debe conservar refrigerada (2-10°C). En caso de no realizar el análisis dentro de las 72 horas se debe congelar a -20°C. No es recomendable realizar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. En caso de utilizar muestras congeladas, éstas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de su uso.

La inactivación por calor puede afectar el resultado.

No utilizar muestras con contaminación microbiana.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1- Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar la prueba.

2- Colocar en el soporte de tiras, el número de pocillos requeridos para la cantidad de determinaciones a realizar

3- Diluir la muestra 1:101 con el Diluyente de Muestra, colocando 10 µl de muestra y 1000 µl de diluyente (en tubo). Los Calibradores y el Control Negativo no deben ser diluidos.

4- Pipetear 100 µl de Controles o Calibradores y de las muestras diluidas.

5- Para evitar la evaporación, cubrir la placa con la cinta autoadhesiva provista, e incubar 30 ± 2 minutos a 37°C ± 1°C. En forma paralela, preparar el conjugado diluido (ver tabla en PREPARACION DE LOS REACTIVOS).

6- Después de la incubación eliminar el líquido de cada pocillo por completo. Lavar 5 veces según instrucción de lavado (ver PROCEDIMIENTO DE LAVADO).

7- Agregar 100 µl de Conjugado. Homogeneizar con pequeños golpecitos laterales durante 5 segundos. Para evitar la evaporación cubrir la policubeta con cinta autoadhesiva.

8- Incubar 30 ± 2 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

9- Lavar 5 veces según instrucción de lavado.

10- Dispensar 100 µl del Revelador. Homogeneizar con pequeños golpecitos laterales durante 5 segundos

11- Incubar 30 ± 2 minutos a temperatura ambiente ($18-25^{\circ}\text{C}$), protegido de la luz.

12- Agregar 100 µl de Stopper

13- Leer absorbancia en espectrofotómetro en forma bicromática a 450/620-650 nm o a 450 nm.

En caso de absorbancias elevadas (por encima del valor máximo de lectura del espectrofotómetro usado) leer a 405/620-650 nm. Esto permite un mayor rango de la curva.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 10 minutos, por lo que los resultados deben leerse dentro de ese lapso.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Eliminar el líquido de los pocillos por aspirado o volcado. Los pocillos se lavan con 350 µl de Buffer de Lavado diluido. Evitar desbordes de líquido. La solución de lavado debe estar en contacto con los pocillos entre 30 y 60 segundos. Garantizar que luego del último lavado no quede líquido residual. Realice un doble aspirado para eliminar el excedente de buffer. También se puede invertir la placa sobre papel absorbente y golpearla varias veces, de lo contrario podrán obtenerse resultados erróneos.

Nota: el procedimiento de lavado es crítico para el resultado del ensayo. Si queda Buffer de Lavado en el pocillo o si los pocillos no están completamente llenos se obtendrán resultados erróneos. No dejar que los pocillos se sequen durante el procedimiento.

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

ETAPA	PROCEDIMIENTO
Dilución de la Muestra	10 µl de muestra en 1000 µl de Diluyente de Muestra
Muestras	Agregar 100 µl de Muestra diluida, CN y calibradores
Incubación	Incubar durante 30 ± 2 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
Lavado	Lavar cada pocillo con 350 µl de Buffer de Lavado (5 veces)
Dilución del conjugado	Preparación del conjugado (1x)
Conjugado	Agregar 100 µl de Conjugado diluido
Incubación	Incubar durante 30 ± 2 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
Lavado	Idem al lavado anterior
Revelado	Agregar 100 µl de Revelador
Incubación	Durante 30 ± 2 minutos entre $18-25^{\circ}\text{C}$
Detención	Agregar 100 µl de Stopper
Lectura	Leer en espectrofotómetro

CALCULO DE RESULTADOS

Ensayo cualitativo

Se debe considerar la densidad óptica del Control Negativo y del Calibrador de 15 UI/ml (considerado cut-off). La presencia o ausencia de anticuerpos IgG de *Toxoplasma gondii* se define por comparación con la absorbancia del Calibrador Cut-off. Las muestras con una densidad óptica menor que la del Calibrador de 15 UI/ml son consideradas no reactivas para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*. Las muestras con una densidad óptica mayor que la del Calibrador Cut-off son consideradas reactivas para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*.

Ensayo cuantitativo

El Control Negativo se toma como el primer punto de la curva de calibración (0 UI/ml).

Dibujar la curva de calibración colocando la concentración del calibrador en el eje de las x y las absorbancias obtenidas para cada calibrador en el eje de las y. Las concentraciones en UI/ml correspondientes a cada muestra se obtienen por interpolación a las absorbancias de cada calibrador.

Las muestras con valores de IgG por debajo de 15 UI/ml deben considerarse no reactivas para anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Las muestras con valores de IgG por encima de 15 UI/ml deben considerarse reactivas para anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Ejemplo de cálculo:

Los valores siguientes deben tomarse solo como ejemplo y no ser usados en lugar de datos experimentales:

Descripción	Absorbancia (450-620 nm)	Anti-IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	Absorbancia (405-620 nm)
Control Negativo	0,010	0 UI/ml	0,011
Calibrador 1	0,325	15 UI/ml	0,108
Calibrador 2	1,502	60 UI/ml	0,445
Calibrador 3	3,351	240 UI/ml	0,982
Muestra	1,230	50 UI/ml	0,408

Al interpolar sobre la curva de calibración la muestra dosada resulta en un título de IgG anti-*Toxoplasma gondii* de 50 UI/ml.

CRITERIOS DE VALIDACION DEL ENSAYO

El ensayo se considera válido si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones (con lectura a 450-620 nm):

- 1- La absorbancia del Control Negativo debe ser $\leq 0,100$.
- 2- La absorbancia del Calibrador 1 (15 UI/ml)/Absorbancia Control Negativo > 6
- 3- La absorbancia del Calibrador 3 (240 UI/ml)/Absorbancia Calibrador 15 UI/ml > 6

Si una de estas condiciones no se cumple, repetir el ensayo. Recordar que las lecturas obtenidas dependerán de la sensibilidad del aparato empleado.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Muestras No Reactivas: son consideradas negativas para anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*.

Muestras Reactivas o dudosas: son consideradas positivas para anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Muestras sucesivas del mismo paciente pueden compararse solo si son testeadas en el mismo ensayo. En este caso una absorbancia aumentada en un 60% en la segunda muestra puede considerarse como una indicación significativa de infección reciente o en progreso. Si es así, se deben testear IgM específicas.

Toda muestra inicialmente reactiva debe ser repetida por duplicado. Si una o ambas repeticiones dan positivas, la misma debe considerarse reactiva.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en Muestra.

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR AVIDEZ

Se debe pipetear muestras, Calibrador 2 (Control) y blanco de muestra por duplicado.

- 1- Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar la prueba.
- 2- Colocar en el soporte de tiras, el número de pocillos requeridos para la cantidad de determinaciones a realizar, incluyendo dos pocillos para el Control.
- 3- Diluir la muestra 1:101 con el Diluyente de Muestra, colocando 10 μ l de muestra y 1000 μ l de diluyente (en tubo).

El Calibrador no debe ser diluido.

4- Pipetear 100 μ l de Calibrador 2, de las muestras diluidas y del blanco (Diluyente de Muestra) en dos pocillos paralelos:

En los pocillos A1/A2 colocar el Calibrador 2 (Control de corrida).

En los pocillos B1/B2 colocar Diluyente de Muestra (blanco de corrida).

En los pocillos C1/C2 colocar la primera muestra diluida. En los pocillos D1/D2 colocar la segunda muestra diluida, etc

5- Para evitar la evaporación, cubrir la placa con la cinta autoadhesiva provista, e incubar 30 ± 2 minutos a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

6- Después de la incubación eliminar el líquido de cada pocillo por completo. Lavar 5 veces según instrucción de lavado (ver Procedimiento de Lavado).

7- Agregar 100 μ l de Reactivo Disociante en los pocillos A1, B1, C1, D1 etc

Agregar 100 μ l de Diluyente de Muestra en los pocillos A2, B2, C2, D2 etc.

Homogeneizar con pequeños golpecitos durante 5 segundos

8- Para evitar la evaporación, cubrir la placa con la cinta autoadhesiva provista, e incubar 30 ± 2 minutos a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

En forma paralela, preparar el conjugado diluido (ver tabla en PREPARACION DE LOS REACTIVOS).

9- Después de la incubación eliminar el líquido de cada pocillo por completo. Lavar 5 veces según instrucción de lavado (ver Procedimiento de Lavado).

10- Agregar 100 μ l de Conjugado y homogeneizar con pequeños golpecitos laterales durante 5 segundos.

Para evitar la evaporación cubrir la policubeta con cinta autoadhesiva.

11- Incubar 30 ± 2 minutos a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

12- Lavar 5 veces según instrucción de lavado.

13- Dispensar 100 μ l de Revelador.

Homogeneizar con pequeños golpecitos laterales durante 5 segundos.

14- Incubar 30 ± 2 minutos a temperatura ambiente ($18-25^\circ\text{C}$), protegido de la luz.

15- Agregar el 100 μ l de Stopper

16- Leer absorbancia en espectrofotómetro en forma bicromática a 450/620-650 nm o a 450 nm.

En caso de absorbancias elevadas (por encima del valor máximo de lectura del espectrofotómetro usado) leer a 405/620-650 nm. Esto permite un mayor rango de la curva.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 10 minutos.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

Ver procedimiento de lavado anterior.

Nota: el procedimiento de lavado es crítico para el resultado del ensayo. Si queda buffer de lavado en el pocillo o si los pocillos no están completamente llenos se obtendrán resultados erróneos. No dejar que los pocillos se sequen durante el procedimiento. Los lavadores automáticos deben ser enjuagados con agua destilada o desionizada al final del día para evitar obstrucciones debido a las sales presentes en el Buffer de Lavado.

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

ETAPA	PROCEDIMIENTO
Dilución de la Muestra	10 µl de muestra en 1000 µl de Diluyente de Muestra
Muestras	Agregar 100 µl de Muestra diluida por duplicado, Control, Blanco
Incubación	Incubar durante 30 ± 2 minutos a 37°C ± 1°C
Lavado	Lavar cada pocillo con 350 µl de Buffer de Lavado (5 veces)
Avidez	Agregar 100 µl Reactivo Disociante a 1 hilera de pocillos Agregar 100 µl de Diluyente de Muestra a la otra hilera
Incubación	Incubar durante 30 ± 2 minutos a 37°C ± 1°C
Lavado	Idem al lavado anterior
Dilución del conjugado	Preparación del Conjugado (1x)
Conjugado	Agregar 100 µl de Conjugado diluido
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar durante 30 ± 2 minutos a 37°C ± 1°C
Lavado	Idem al lavado anterior
Revelado	Agregar 100 µl de Revelador
Incubación	Durante 30 ± 2 minutos entre 18-25°C
Detención	Agregar 100 µl de Stopper
Lectura	Leer en espectrofotómetro

CALCULO DE RESULTADOS

Verificar para cada muestra que la densidad óptica de los pocillos incubados con el Diluyente de Muestras sea superior a 0,700 D.O. o una concentración de más de 30 UI/ml. En caso contrario, la muestra no presenta una concentración de IgG suficiente para valorar su avidéz. En caso de que la lectura sea superior a 0,700 D.O. o más de 30 UI/ml proceder al cálculo de avidéz. En los casos de lecturas superiores a 3,000 a 450 nm, se debe leer a 405 nm y hacer el cálculo con este dato. Calcular para cada paciente y control la relación porcentual entre la absorbancia (D.O.) del pocillo tratado con el Reactivo Disociante con la absorbancia (D.O.) de los pocillos incubados con el Diluyente de Muestras, multiplicadas por 100.

$$\frac{\text{D.O. con Reactivo Disociante}}{\text{D.O. con Diluyente de Muestra}} \times 100 = \text{Avidéz (\%)}$$

Ejemplo de cálculo:

Los valores siguientes deben tomarse solo como ejemplo y no ser usado en lugar de datos experimentales:

Descripción	Absorbancia (450- 620 nm) Con Reactivo Disociante	Absorbancia (450- 620 nm) Con Diluyente de Muestra	Avidéz
Control	0,395	1,100	36%
Muestra 1	1.520	1.780	85.4%
Muestra 2	0.325	1.860	17.5%
Muestra 3	0.029	1.450	2.0%

CRITERIOS DE VALIDACION DEL ENSAYO

El ensayo se considera válido si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones (con lectura a 450-620 nm):

- 1- El Control debe tener una lectura superior a 0.700 de D.O.
- 2- El % de avidéz del Control debe ser mayor a 15%.

Si una de estas condiciones no se cumple, repetir el ensayo. Recordar que las lecturas obtenidas dependerán de la sensibilidad del aparato empleado.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Porcentaje	Avidéz	Interpretación
> 30%	Presencia de IgG anti- <i>T gondii</i> de avidéz alta	Infección pasada
Entre 15-30%	Presencia de IgG anti- <i>T gondii</i> de avidéz media (zona gris)	No puede determinarse si se trata de una infección reciente o pasada. Tomar una nueva muestra a las 2 semanas.
< 15%	Presencia de IgG anti- <i>T gondii</i> de avidéz baja	Infección reciente

Importante: los resultados obtenidos deben convalidarse con valoraciones clínicas y otras pruebas diagnósticas. Los resultados de baja avidéz no pueden ser usados para diagnosticar toxoplasmosis aguda. Los resultados de alta avidéz se refieren a una infección de más de 4 meses. Si

los resultados de avidez no son consistentes con la evidencia clínica, se sugiere efectuar pruebas adicionales para confirmar el resultado. Para propósitos diagnósticos, los resultados deben ser usados en conjunto con otros datos (IgG, IgM, hallazgos clínicos, etc).

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE PARA TOXOTEST IgG ELISA

Sensibilidad

Sensibilidad clínica en Paneles de Performance

En un estudio realizado sobre un panel comercial internacional, se obtuvieron los siguientes resultados:

PTT 201 (Anti-*T. gondii* Performance Panel, BBI, USA): se detectaron 22 de las 22 muestras reactivas.

PTT202 (Anti-*T. gondii* Performance Panel, BBI, USA): se detectaron 20 de las 20 muestras reactivas.

Sensibilidad clínica

En un estudio realizado sobre 202 muestras con anticuerpos IgG para *T. gondii* confirmadas por diferentes métodos, se encontraron reactivas un 98,5% con el kit Toxotest IgG ELISA (+Avidity).

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica o límite de detección del sistema, es decir la mínima cantidad de analito específico detectable por el ensayo, es de 0,6 UI/ml.

Especificidad

En un estudio realizado sobre 439 muestras con menos de 15 UI/ml de anticuerpos IgG para *T. gondii* de 3 centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 99,1%.

Se estudió la posible aparición de reactividades cruzadas ensayando muestras provenientes de 97 individuos negativos para anticuerpos anti *Toxoplasma* pero con diferentes condiciones clínicas que pueden ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo Toxotest IgG ELISA (+Avidity). Estas condiciones incluyen pacientes con enfermedades autoinmunes (factor reumatoideo, anticuerpos anti-núcleo, etc) o enfermedades infecciosas diferentes a *Toxoplasmosis* (Chagas, HIV, HTLV, hepatitis C, hepatitis B, sífilis, otras). Para esta población la especificidad fue de 100%, correspondiendo el falso positivo a una muestra con factor reumatoideo alto.

Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP15A recomendado por la CLSI. Los ensayos fueron realizados con muestras de diferentes niveles de reactividad. Se realizó 1 ensayo diario evaluando cada muestra por cuadruplicado por el transcurso de 5 días.

	Media UI/ml	Intra-ensayo		Total	
		S	CV	S	CV
Muestra 1	14,41	1,570	10,87%	2,543	17,61%
Muestra 2	24,68	1,144	4,64%	1,616	6,55%
Muestra 3	39,81	1,693	4,25%	3,220	8,09%
Muestra 4	109,21	8,049	7,37%	7,850	7,19%

n = 5

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE PARA AVIDEZ

Especificidad

La especificidad diagnóstica se evaluó con un panel de 100 muestras con infecciones crónica o pasada, clínicamente comprobada, resultando ser de un 97%.

Sensibilidad

La sensibilidad diagnóstica se evaluó con un panel de 42 muestras con infección primaria, resultando ser igual a 100%.

Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP15A recomendado por la CLSI. Los ensayos fueron realizados con muestras de diferentes niveles de avidez de IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Se realizó 1 ensayo diario evaluando cada muestra por cuadruplicado por el transcurso de 5 días.

	Media Avidéz (%)	Intra-ensayo		Total	
		S	C.V.	S	C.V.
Muestra 1	6,3	0,59	9,38%	0,941	14,96%
Muestra 2	54,9	4,95	8,50%	5,033	8,65%
Muestra 3	26,5	2,257	8,71%	2,279	8,80%

n = 5

PRESENTACION

Kit para 96 determinaciones (Cód. 1743252).

BIBLIOGRAFIA

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- Appropriate Calibration Curve Fitting in Ligand Binding Assays. The AAPS Journal 2007; 9 (2) Article 29 (<http://www.aapsj.org>). John W. A. Findlay 1,2 and Robert F. Dillard 3
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, EP17-A (2004).
- User Demonstration of Performance for Precision and Accuracy – Approved Guideline EP15-A (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.

EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS

Policubeta **Sensib.**

Policubeta sensibilizada

Diluyente **Muestra**

Diluyente de Muestra

Conjugado **Conc.**

Conjugado Concentrado

Conjugado **Diluy.**

Diluyente de Conjugado

Revelador

Revelador

Buf. Lavado **Conc.**

Buffer de Lavado Concentrado

Calibr

Calibrador 1-3

Control **-**

Control Negativo

Stopper

Stopper

Reactivo **Dis.**

Reactivo Disociante

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC **REP** Representante autorizado en la Comunidad Europea

IVD Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución

Cont. Contenido

LOT Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso


Calibr. Calibrador

CONTROL Control

CONTROL **+** Control Positivo

CONTROL **-** Control Negativo

REF Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-100



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina