



# Toxotest

## látex

Prueba de aglutinación de látex para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*

### 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 como los que tienen el síndrome de inmunodeficiencia adquirido o los que se hallan bajo terapia inmunosupresora.

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 como coriorretinitis, hidrocefalia, microcefalia, calcificaciones cerebrales y retardos psicomotrices. Las lesiones provocadas en el feto son más severas cuanto más temprana en el embarazo sea la contaminación materna. Si la infección es previa al embarazo, la madre se considera inmunizada y el embrión protegido. Las determinaciones serológicas son las más convenientes y certeras para el diagnóstico de la toxoplasmosis ya que la detección del parásito no siempre es confiable y es inadecuada para el diagnóstico masivo.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La muestra se pone en contacto con un reactivo de látex sensibilizado con antígenos purificados de *Toxoplasma gondii*. Si la muestra contiene anticuerpos anti-*T. gondii*, éstos reaccionarán en forma sensible y específica produciéndose una aglutinación visible macroscópicamente.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** suspensión al 1% de partículas de látex sensibilizadas con antígenos de *T. gondii*.

**Control Positivo:** dilución de suero humano inactivado, conteniendo anticuerpos contra el *T. gondii*.

**Control Negativo:** dilución de suero no reactivo, inactivado.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica (ClNa, 8,5 g/l) cuando se usa la técnica semicuantitativa.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** homogeneizar por agitación suave y luego cambiar la tapa ciega por la tapa gotero suministrada adicionalmente. Llevar a temperatura ambiente y agitar suavemente antes de usar.

**Control Positivo:** listo para usar. Llevar a temperatura ambiente antes de usar.

**Control Negativo:** listo para usar. Llevar a temperatura ambiente antes de usar.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y virus de inmunodeficiencia humana (HIV), encontrándose no reactivos. Sin embargo deben ser empleados como si se tratara de material infectivo ya que ningún método puede ofrecer la total seguridad de la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos.

Si bien tanto el reactivo como los controles poseen conservantes, son susceptibles a la contaminación, por lo que deben manipularse con cuidado.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

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

No utilizar los reactivos una vez superada la fecha de vencimiento del equipo.

El Reactivo A presenta, una vez agitado, un aspecto uniforme. Luego de un período prolongado de almacenamiento puede presentar sedimentación que no altera el correcto funcionamiento del mismo.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La presencia de grumos en el Reactivo A que no desaparece por agitación, son indicio de deterioro del mismo. En tal caso, desechar.

Una conservación inadecuada de los reactivos, sobre todo a temperaturas elevada, ocasiona el deterioro de los mismos. Esto puede verificarse procesando los controles provistos en el equipo.

### MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual. El paciente debe estar preferentemente en ayunas. No es necesario inactivar. No usar plasma. Descartar los sueros

contaminados o hemolizados.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** la hemólisis o hiperlipemia son causa de resultados erróneos.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el suero debe ser límpido, libre de partículas y preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse en refrigerador (2-10°C) durante no más de 48-72 horas a partir del momento de la extracción. Si se debe conservar por periodos más prolongados, congelar a -20°C. Evitar los congelamientos y descongelamientos sucesivos.

## MATERIAL REQUERIDO

### 1- Provisto

- placas de plástico o vidrio fondo negro
- 1 gotero para dispensar 40 ul

### 2- No provisto

- goteros o micropipetas capaces de dispensar 50 ul
- palillos mezcladores descartables
- cronómetro
- lámpara o fuente de luz
- agitador automático de rotación horizontal (opcional)

## PROCEDIMIENTO

Llevar a temperatura ambiente (18-25°C) los reactivos y las muestras antes de usar.

### Control del Reactivo A

Antes de realizar una serie de determinaciones, se recomienda controlar el funcionamiento del Reactivo A con los Controles Positivo y Negativo provistos según lo indicado en la técnica cualitativa.

### I- TECNICA CUALITATIVA

Agitar suavemente el Reactivo A antes de usar. En uno de los sectores de la placa colocar:

<b>Muestra</b>	1 gota (50 ul)
<b>Reactivo A</b>	1 gota (40 ul)

Mezclar durante 4-5 segundos con palillo descartable hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie del sector.

Colocar la placa en un agitador de rotación horizontal (100 r.p.m.), inmediatamente disparar el cronómetro, agitar la placa durante 5 minutos y luego observar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación, manteniendo la placa bien iluminada.

En caso de no disponerse de un agitador mecánico, la agitación se puede realizar en forma manual.

### II- TECNICA SEMICUANTITATIVA

Las diluciones de la muestra se realizarán sobre 2 placas con secciones marcadas para la lectura de las aglutinaciones (ver esquema de diluciones).

Colocar 50 ul de solución fisiológica en las secciones 2 a 6 de las placas. Agregar 50 ul de muestra en las secciones 1 y 2 de la primera placa. Con la misma micropipeta

mezclar 3 o 4 veces por aspiración en la sección 2, obteniéndose así una dilución 1:2. Tomar 50 ul de esta dilución y colocarlos en la sección 3. Mezclar como se describió anteriormente y continuar con este procedimiento hasta la sección 6. Tomar 50 ul de esta sección y desecharlos.

### Esquema de diluciones

sección	1	2	3	4	5	6
s. fisiol. (ul)	-	50	50	50	50	50
muestra (ul)	50	50	-	-	-	-
Mezclar y transferir		└─┬─┘	└─┬─┘	└─┬─┘	└─┬─┘	└─┬─┘
dilución	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
Ul/ml	10	20	40	80	160	320

Agitar suavemente el Reactivo A y agregar una gota (40 ul) a cada una de las secciones de la placa conteniendo las diluciones de la muestra. Mezclar con un palillo descartable cubriendo toda la superficie de la sección. Agitar la placa rotándola con movimiento suave, ya sea manualmente o con agitador mecánico rotatorio (100 r.p.m.) durante 5 minutos. Observar presencia o ausencia de aglutinación.

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

### a) Técnica cualitativa

**No Reactivo:** suspensión que se mantiene homogénea hasta el tiempo sugerido indica que la muestra no presenta anticuerpos anti-T. gondii detectables. En caso de obtener un resultado no reactivo en una muestra de embarazada, se recomienda repetir la determinación periódicamente para detectar una posible seroconversión.

**Reactivo:** cualquier aglutinación visible, ya sea débil o intensa, distinta de un control No Reactivo, indica la presencia de anticuerpos anti-T. gondii. Se califica de 1 a 4 cruces. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

Cuando el resultado es Reactivo se recomienda diferenciar entre una infección antigua y una toxoplasmosis en evolución, especialmente si la muestra proviene de una embarazada. En este caso se procederá a la determinación del nivel de anticuerpos anti-T. gondii mediante las técnicas cuantitativas habituales así como al análisis de IgM específicas.

### b) Técnica semicuantitativa

El título de la muestra corresponde al de la dilución más alta que presenta aglutinación (1+ según la escala anterior).

## VALORES DE REFERENCIA

Los valores de prevalencia dependen mucho de los hábitos alimenticios y el contacto con gatos de la población estudiada.

Además, es importante tener en cuenta la edad del paciente, pues en algunas áreas, la prevalencia en poblaciones adultas puede llegar a más del 70%.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Aunque en la evaluación realizada (ver PERFORMANCE)

no se encontró ninguna muestra que presentara efecto de prozona inhibitorio de la aglutinación, si se sospecha que esto pudiera suceder, se recomienda repetir el análisis con una dilución 1:10 de la muestra en solución fisiológica.

- Recordar que el gotero provisto debe utilizarse en posición vertical.
- Antes de tapar el frasco de Reactivo A debe tenerse la precaución de descargar el gotero.
- Si la punta del gotero se rompiera, deberá utilizarse micropipeta de 40 ul.
- Debe recordarse que los reactivos de látex deben tomar temperatura ambiente (18-25°C) para poder ser empleados correctamente, de lo contrario podrían obtenerse resultados erróneos.

## PERFORMANCE

**Sensibilidad analítica:** 10 UI/ml

a) Sobre una población de 312 muestras ensayadas se obtuvieron los siguientes resultados: una sensibilidad clínica de 91,0%, una especificidad de 96,4%, valor predictivo del positivo de 95,6% y un valor predictivo del negativo de 92,6%. Cuando se realizó la comparación de títulos con inmunofluorescencia indirecta para las 312 muestras, se encontró un coeficiente de correlación  $r = 0,86$ .

b) En otra población de 136 muestras se comparó **Toxotest látex** con HAI sin 2-ME tomada como referencia, obteniéndose una especificidad del 96,2% y una sensibilidad del 86,4%.

## PRESENTACION

Equipos para 100 determinaciones (Cód. 1743151).

## BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M; Plotz, C.M. "The Latex Fixation Test" - Am. J.Clin. Path. 21:888 (1956).
- Gomez Lus, R - Medicine 33 2ª Serie, pág. 1459 (1984).
- Johnson, J. y Cols. - Direct agglutination test and other assays for measuring antibodies to Toxoplasma gondii - J. Clin. Pathol. 42:536 (1984).
- Chabalgoity, A; Miraballes, I.; Villavedra, M.; Battistoni, J. - Cátedra de Inmunología, Laboratorio de desarrollo Biotecnológico de Reactivos de Inmunodiagnóstico, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay - "Evaluación de un látex para el diagnóstico de la toxoplasmosis" - Comunicación personal.

## SIMBOLOS

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"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



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



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



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.  
Cert. N°: 3627/00



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina