

Una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM contra *Toxoplasma Gondii* (*T.gondii*) en suero o plasma humano
Solo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*

【USO PREVISTO】

El casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgM anti-Toxoplasma Gondii (*T. gondii*) e IgG anti-*T. gondii* en suero o plasma humano. Este kit está destinado a ser utilizado como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de infección por *T. gondii*. Cualquier muestra reactiva con el casete de prueba rápida Toxo IgG / IgM debe confirmarse con métodos de prueba alternativos y hallazgos clínicos.

【RESUMEN】

T. gondii es un parásito protozoario intracelular obligado con una distribución mundial². Los datos serológicos indican que aproximadamente el 30% de la población de la mayoría de las naciones industrializadas está infectada crónicamente con el organismo³. Se han utilizado una variedad de pruebas serológicas para anticuerpos contra *T. gondii* como ayuda en el diagnóstico de infección aguda y para evaluar la exposición previa al organismo. Estas pruebas son la prueba de tinte Sabin-Feldman, aglutinación directa, hemaglutinación indirecta, aglutinación de látex, inmunofluorescencia indirecta y ELISA⁴⁻⁷. Recientemente, el inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral, como el casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM, se introdujo en la clínica para el serodiagnóstico de la infección por *T. gondii*.

【PRINCIPIO】

El casete de prueba rápida TOXO IgG es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consiste en: 1) un conjugado de color púrpura que contiene antígenos recombinantes de *T. gondii* conjugados con oro coloidal (conjugados de *T. gondii*) y conjugados IgG-oro de ratón, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una banda de prueba (banda T) y un banda de control (banda C). La banda T está recubierta previamente con IgG monoclonal antihumana para la detección de anti-*T. gondii* IgG. Cuando se aplica un volumen adecuado de muestra de prueba en la almohadilla de muestra de la prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la tira. La IgG anti-*T.gondii* si está presente en la muestra se unirá a los conjugados de *T. gondii*. El inmunocomplejo es luego capturado por los reactivos pre-recubiertos en la membrana, formando una banda T de color púrpura, lo que indica un resultado positivo de la prueba *T.gondii* IgG. La ausencia de banda T sugiere un resultado negativo.

El casete de prueba rápida TOXO IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consiste en: 1) un conjugado de color púrpura que contiene antígenos recombinantes de *T. gondii* conjugados con oro coloidal (conjugados de *T. gondii*) y conjugados IgG-oro de ratón, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene una banda de prueba (banda T) y un banda de control (banda C). La banda T está recubierta previamente con IgM monoclonal antihumana para la detección de anti-*T. gondii* IgM. Cuando se aplica un volumen adecuado de muestra de prueba en la almohadilla de muestra de la prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la tira. Anti-*T.gondii* IgM si está presente en la muestra se unirá a los conjugados de *T. gondii*. El inmunocomplejo es luego capturado en la membrana por el anticuerpo IgM anti-humano pre-recubierto, formando una banda T de color púrpura, lo que indica un resultado positivo de la prueba de IgG contra *T. gondii*. La ausencia de banda T sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color púrpura del inmunocomplejo del conjugado IgG de ratón anti IgG de ratón / IgG de ratón de oro, independientemente del desarrollo de color en la banda T. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra se debe volver a analizar con otro dispositivo.

【REACTIVOS】

La prueba contiene IgM antihumana de ratón, IgG antihumana de ratón y antígeno Toxo plasma *T.gondii*. Se emplea un anticuerpo de cabra en el sistema de línea de control.

【PRECAUCIONES】

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*. No usar después de la fecha de vencimiento.
- No fume, beba ni coma en áreas donde se manipulan muestras o kits de reactivos.
- Deseche todas las muestras y materiales utilizados para realizar la prueba como desecho biopeligroso.
- Este prospecto debe leerse completamente antes de realizar la prueba.
- Lleve todos los reactivos a temperatura ambiente (15 °C -30 °C) antes de usar.

【ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD】

Almacene como está empaquetado en la bolsa sellada a temperatura ambiente o refrigerado (2-30 ° C).

La prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use más allá de la fecha de vencimiento.

【RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS】

- El casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM se puede realizar con suero o plasma.
- Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Solo se pueden utilizar muestras transparentes no hemolizadas.
- Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que se hayan recolectado las muestras. No deje las muestras a temperatura ambiente por períodos prolongados. Las muestras pueden almacenarse a 2-8 ° C por hasta 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
- Si se van a enviar muestras, se deben embalar de acuerdo con las regulaciones

locales.

【MATERIALES】

Materiales suministrados

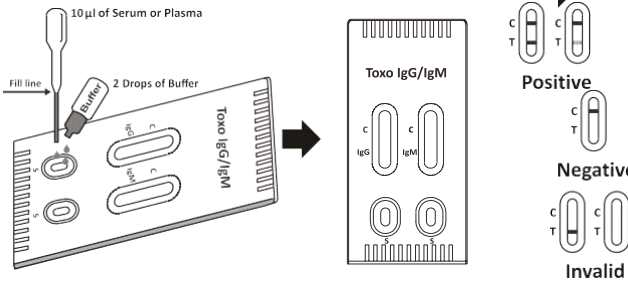
- Cassettes de prueba
- Goteros
- Ficha técnica
- Búfer

Materiales requeridos pero no suministrados

- Contenedor de recolección de muestra
- Centrífuga
- Cronómetro

【INSTRUCCIONES DE USO】

- Lleve la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úselo lo antes posible. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de una hora.
- Coloque el casete de prueba en una superficie limpia y nivelada. Sostenga el cuentagotas verticalmente, extraiga la muestra hasta la línea de llenado (aproximadamente 10 ul), y transfiera la muestra al pocillo del cassette de prueba, luego agregue 2 gotas de tampón (aproximadamente 80 ul) y comience el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en la muestra bien. Vea la siguiente ilustración.
- Espera a que aparezcan las líneas de color. El resultado debe leerse a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



【INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS】

(Consulte la ilustración de arriba)

POSITIVO: * Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color siempre debe aparecer en la región de la línea de control (C) y otra línea de color debe estar en la región de la línea de prueba.

***NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba puede variar según la concentración de anticuerpos contra el toxoplasma presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba debe considerarse positivo.

NEGATIVO: aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de línea de prueba (T).

INVALIDO: la línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

【CONTROL DE CALIDAD】

Internal procedural controls are included in the test. A colored line appearing in the control region (C) is an internal positive procedural control. Control standards are not supplied with this kit; however, it is recommended that positive and negative controls be tested as a good laboratory practice to confirm the test procedure and to verify the proper test procedure.

【LIMITACIONES】

- El procedimiento de ensayo y la interpretación del resultado de la prueba deben seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra *T.gondii* en suero o plasma de sujetos individuales. No seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos. El procedimiento de ensayo y la interpretación del resultado de la prueba deben seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos contra *T.gondii* en suero o plasma de sujetos individuales. No seguir el procedimiento puede dar resultados inexactos
- El casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos contra *T.gondii* en suero o plasma humano. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo para un sujeto individual indica ausencia de anticuerpos detectables de *T. gondii*. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o infección con *T. gondii*
- Puede producirse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos contra *T. gondii* presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge una muestra
- Algunas muestras que contienen un título inusualmente alto de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.
- Los resultados obtenidos con esta prueba solo deben interpretarse junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

【VALORES ESPERADOS】

El casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM (suero y plasma) se ha comparado con una prueba comercial ELISA TOXO IgG / IgM líder. La correlación entre estos dos sistemas es superior al 98%.

【CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO】

Sensibilidad y especificidad

Se realizó una evaluación clínica comparando los resultados obtenidos utilizando el casete de prueba rápida TOXO IgG / IgM con la prueba TOXO IgG / IgM ELISA. El estudio incluyó 264 muestras para la prueba de IgG y 247 muestras para la prueba de IgM.

Método	Resultados de IgG			Resultados totales
	<i>T.Gondii</i> EIA (IgG)			
	Resultados	Positivo	Negativo	
Casete de prueba rápida TOXO IgG/IgM para IgG	Positivo	30	2	32
	Negativo	3	229	232
Resultados totales		33	231	264

Sensibilidad: 90.9% (95%CI: 75.7%-98.1%)* Especificidad: 99.1% (95%CI: 96.9%-99.9%)* Precisión: 98.1% (95%CI: 95.6%-99.4%)* *Intervalo de Confianza

Resultados de IgM

Método	<i>T.Gondii</i> EIA (IgM)			Resultados totales
	<i>T.Gondii</i> EIA (IgM)			
	Resultados	Positivo	Negativo	
Casete de prueba rápida TOXO IgG/IgM para IgM	Positivo	25	1	26
	Negativo	2	219	221
Resultados totales		27	220	247

Sensibilidad: 92.6% (95%CI: 75.7%-99.1%)* Especificidad: 99.5% (95%CI: 97.5%-99.9%)* Precisión: 98.8% (95%CI: 96.5%-99.7%)* * Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La precisión dentro de la ejecución se ha determinado mediante el uso de 15 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Los valores negativos, positivos bajos y positivos altos se identificaron correctamente > 99% de las veces.

Inter-Ensayo

La precisión entre corridas ha sido determinada por 15 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: negativa, baja positiva, media positiva y alta positiva. Se probaron tres lotes diferentes del casete de prueba rápida TOXO IgG/IgM (suero/plasma) durante un período de 3 días utilizando muestras negativas, positivas bajas y positivas altas. Las muestras se identificaron correctamente > 99% del tiempo.

Reactividad cruzada

El casete de prueba rápida TOXO IgG/IgM (suero/plasma) ha sido probado para detectar HAV, HBV, HCV, VIH, sífilis, HEV, H. Pylori, HAMA, RF, MONO, HSV, CMV y muestras positivas para rubéola. Los resultados no mostraron reactividad cruzada.

Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas de TOXO.

Acetaminofen: 20 mg/dL	Cafeína: 20 mg/dL	Albúmina: 2 g/dL
Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL	Ácido genticónico: 20 mg/dL	Etanol: 1%
Ácido ascórbico: 2g/dL	Creatina: 200mg/dl	Bilirrubina: 1g/dL
Hemoglobina: 1000mg/dl	Ácido oxálico: 60mg/dL	Ácido úrico: 20mg/ml

Ninguna de las sustancias a la concentración probada interfirió en el ensayo. interfered in the assay.

【BIBLIOGRAFÍA】

- Krick JA and Remington JS: Toxoplasmosis in the adult: An overview. New Eng. J. Med. 1978, 298:550-553
- Anderson SE and Remington JS: The diagnosis of Toxoplasmosis. So. Med. J. 1975, 68:1433-1443
- Wilson CB, Remington JS, Stagno S, and Reynolds DW: Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital Toxo plasma infection. Pediatrics, 1980, 66:767-774
- Berrebi A; Kobuch WE; Bessieres MH; Bloom MC; Rolland M; Sarramon MF; Roques C; Fournie A: Termination of pregnancy formaternal toxoplasmosis. Lancet 1994, 344:36-9
- Fraser KB, Shirodaira PV, and Stanford CF: Fluorescent staining and human IgMBr.Med. J. 1971, 3:707
- Pyndiah N, Krech U, Price P and Wilhelm J: Simplified chromatographic separation of immunoglobulin M from G and its application to Toxoplasma indirect immunofluorescence. J. Clin. Micro.1979, 9:170-174
- Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol.2005, 32(3):705-26.

