

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en Suero Humano

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Paso	Temp. ambiente 20 - 25°C	Volumen	Tiempo de incubación
1	Dilución de la muestra 1:40 (5µL / 200µL)		
2	Muestras diluidas, controles y calibrador	100 µL	30 minutos
3	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
6	TMB Substrato Cromogénico	100 µL	15 minutos
7	Solución de paro	100 µL	
8	Lectura a una densidad óptica de 450 nm		

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

La toxoplasmosis es causada por el parásito intracelular *Toxoplasma gondii* y puede ser contraído al consumir carne contaminada o por contacto con heces de gato que contengan ooquistes. En la adolescencia y en la edad adulta, la mayoría de las infecciones son subclínicas. Sin embargo, si una mujer embarazada contrae toxoplasmosis, ésta podría pasar al feto a través de la placenta, causando toxoplasmosis congénita, la cual es una causa de mortalidad y de malformaciones. Los infantes asintomáticos podrían desarrollar anomalías más adelante en su vida.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El antígeno *Toxoplasma gondii* purificado está cubierto sobre la superficie de los micro pozos. El suero diluido del paciente es agregado a los depósitos, y el anticuerpo específico de *Toxoplasma gondii* IgG si se encontrara presente, se adhiere al antígeno. Todos los materiales no adheridos son lavados para su retiro. Después de agregar el conjugado de enzima, éste se adhiere al complejo del antígeno-anticuerpo. El exceso de conjugado de enzima es lavado para su retiro y el substrato cromogénico es agregado. La reacción catalítica del conjugado de enzima es detenida en un tiempo específico. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad del anticuerpo específico de IgG en la muestra. Los resultados son interpretados en un lector de Elisa y comparados de una manera paralela con un calibrador y controles.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Placa de micropozos cubiertos con antígeno de *Toxoplasma* (12x8)
2. Diluyente de la muestra. 1 Frasco

3. Solución Lavado Concentrado 20x. 1 Frasco
4. Substrato Cromogénico TMB. 1 Frasco
5. Enzima Conjugada. 1 Frasco
6. Calibrador Negativo. 0 UI/mL. 1 Vial
7. Calibrador Cut-off. 8 UI/mL. Índice Toxo G= 1. 1 Vial
8. Calibrador Positivo. 50 UI/mL. 1 Vial
9. Calibrador Positivo. 150 UI/mL. 1 Vial
10. Control Negativo: Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
11. Control Positivo: Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
12. Solución de Paro. 1 Frasco

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenaje del equipo de 2 a 8 °C.
2. Siempre mantenga los micropozos herméticamente sellados en la bolsa con el desecante. Se recomienda utilizar todos los micropozos dentro de las 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración del equipo.
4. No exponer los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenamiento o uso.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Materiales potencialmente bio-peligrosos: Los calibradores y controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y se han encontrado no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B así como el anticuerpo de HIV con los reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, como con cualquier método de prueba no se puede ofrecer una completa seguridad de que los virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén ausentes, estos reactivos deben manejar el Nivel 2 de Bio seguridad, como es recomendado en los Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". 1984
2. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en que las muestras o equipos son manejados.
3. Los componentes en este equipo son para el uso de una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse. Estos productos contienen componentes preservados con azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar una azida metálica explosiva. En disposición, vacíe con un gran volumen de agua.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte muestras sanguíneas y separe el suero.
2. Los especímenes pueden ser refrigerados a 2-8°C por hasta siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.

PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare solución amortiguadora de lavado 1x. Agregar agua destilada o desionizada a la solución de lavado concentrado 20x para obtener un volumen final de 1 litro.
2. Ponga todos los especímenes y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20 - 25°C) y mezcle suavemente.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Colocar el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
- Preparar una dilución 1:40 de las muestras de prueba, control negativo, control positivo y calibrador al agregar 5 µL de la muestra a 200 µL del diluyente de muestra. Mezcle bien.
- Dispensar 100 µL de suero diluido, calibrador, y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, vierta 100 µL de diluyente de muestra en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
- Retirar el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con el buffer de lavado.
- Dispensar 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
- Retirar la enzima conjugada de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el buffer de lavado.
- Dispensar 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pocillo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Agregar 100 µL de solución de paro para detener la reacción. *Nota: Asegúrese que no existan burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.*
- Leer a 450 nm D.O. con un lector de micro-pozos.

INTERPRETACIÓN

- NEGATIVO:** El índice Toxo M es de 0.90 o menor. Es negativo para el anticuerpo IgM para *T. Gondii*.
- INDETERMINADO:** Índice Toxo M entre 0.91-0.99 es indeterminado. La muestra debe ser vuelta a probar.
- POSITIVO:** Índice Toxo M de 1.00 o mayor es positivo para el anticuerpo IgM para *T. Gondii* e indica la probabilidad de toxoplasmosis presente o reciente.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

- Calcule la media del valor x_c del calibrador duplicado.
- Calcule la media de los duplicados del control positivo, el control negativo y las muestras de pacientes.
- Calcule el índice de Toxo IgG de cada determinación al dividir los valores de la media de cada muestra entre el valor x_c de la media del calibrador.

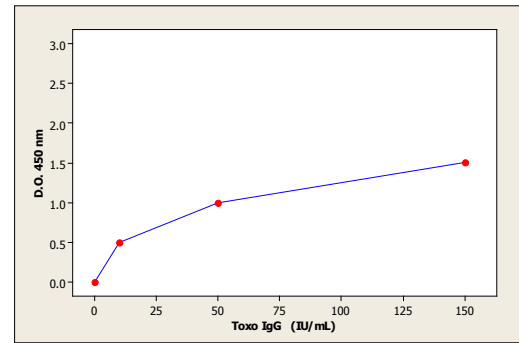
Ejemplo:

Cut-off Calibrador. Índice Toxo G = 1.0

- D.O. de Calibrador Cut-Off = 0.550, 0.565 $X_c = 0.558$
- D.O. del control Negativo = 0.210, 0.234 $X_n = 0.222$
Índice Toxo G = $0.222 / 0.558 = 0.39$
- D.O. de Control Positivo = 0.830, 0.873 $X_p = 0.852$
Índice Toxo G = $0.852 / 0.558 = 1.53$
- D.O. de Muestra del Paciente = 1.826, 1.789 $X_s = 1.808$
Índice Toxo G = $1.808 / 0.558 = 3.24$

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE TOXOPLASMA IgG:

Para una determinación cuantitativa de los niveles de anti-Toxo IgG en las muestras en IU/mL. Coloque la densidad óptica Del calibrador en el eje Y y Las concentraciones de anti-Toxo IgG (0, 8, 50 y 150 IU/mL) en el eje X. Los niveles estimados de suero de pacientes son leídos punto a punto usando los valores individuales de densidad óptica, por ejemplo:



CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Un total de 100 muestras de pacientes fueron utilizadas para evaluar la sensibilidad y especificidad de la prueba. Los resultados de la prueba de la prueba TOXOPLASMA IgG fueron comparados con un equipo comercial de prueba ELISA, los resultados son los siguientes:

		ELISA REFERENCIA			
		N	E	P	Total
TOXOPLASMA IgG	N	56 (D)	0	2 (B)	58
	E	0	0	0	0
	P	0 (C)	0	30 (A)	30
	Total	56	0	32	88

$$\text{Sensibilidad} = A / (A+B) = 30/32 = 94\%$$

$$\text{Especificidad} = D / (C+D) = 56 / 56 = 100\%$$

$$\text{Precisión} = (A+D) / (A+B+C+D) = 86 / 88 = 98\%$$

PRECISIÓN

La precisión del ensayo (análisis) fue evaluada por medio de la prueba de tres diferentes sueros de ocho réplicas durante 3 días. El C.V. de intra-ensayo y el inter-ensayo están resumidos enseguida:

	NEGATIVO	POSITIVO	BAJO NEGATIVO
INTRA-ENSAYO	9.7%	7.8%	6.5%
INTER-ENSAYO	10.7%	8.5%	7.3%

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Sueros lipémicos, hemolizados, ictericos o inactivados por el calor pueden causar resultados erróneos.
- Anticuerpos de *Toxoplasma* están presentes en sujetos aparentemente normales en ciertas regiones y poblaciones de ciertos grupos geográficos. Una sola prueba no es diagnóstico de una infección activa. Obtener dos muestras con un intervalo de dos semanas y realizar la prueba para obtener un resultado más significativo.

REFERENCIAS

- Turune, H.J., P.O. Leinik, and K.M. Saari. *Demonstration of Intraocular Synthesis of Immunoglobulin G Toxoplasma Antibodies for Specific diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis by Enzyme Immunoassay. J.Clin. Microbiol. 17:988-992, 1983.*
- Lin, T.M., S.P. Halbert and G.R. O'Connor. *Standardized Quantitative Enzyme-linked Immunoassay for Antibodies to Toxoplasma Gondii. J.Clin. Microbiol. 17:675-681, 1980.*
- Roller, A., D.E. Bidwell, A. Barlett, D.G. Flick, M. Perkins and B. Oladshin. *A microplate Enzyme-immunoassay for Toxoplasma Antibodies. J.Clin. Path. 29:150-153, 1976.*

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS

1155 CHESS DRIVE No. 121

FOSTER CITY, CA 94404 USA