

TOXOPLASMA CE0459



Western Blot IgG IgM

In vitro diagnostisk Immunoblot-analyse
Semi-automatiseret / manuel teknik

#TOP-WB24GM: 24 tests

#TOP-WB12GM: 12 tests

#TOP-WB96GM: 96 tests

BRUGERVEJLEDNING

Find mere information og brugsanvisning på dit sprog på vores websted
www.ldbiodiagnostics.com

TILSIGTET BRUG

TOXOPLASMA WB IgG-IgM er en engangs-immunblotanalyse til sammenligning af immunologiske profiler (CIP-WB) for IgG og IgM, som er beregnet til diagnose:

- Medfødt toxoplasmose ved fødsel (D0): CIP-WB G+M mellem maternelt blod og navlestregsblod.
- Medfødt toxoplasmose ved monitorering efter fødsel (D+N): CIP-WB G+M mellem navlestrengsblodet ved D0 og barnets blod ved D+N.
- Okulær toxoplasmose: CIP-WB IgG mellem patientens serum og vandig væske.

Denne analyse er ikke beregnet til screening eller bekræftelse af isolerede serologier. Til det brug skal **LDBIO TOXO II IgG**-testen anvendes (ref. TOXO II IgG WB).

TESTENS PRINCIP

Western Blot-teknik

Når antigener af *Toxoplasma gondii* er separeret vha. elektroforese, er de bundet via elektroblotting til overfladen af en nitrocellulosemembran (kaldet overføreren) opskåret i 24 strimler nummereret fra 1 til 24.

Udførelse af testen

Bemærk: IgG- eller IgM-immunblotanalyserne beskrevet nedenfor udføres samtidigt under manipulering.

IgG Immunblot

Analysen består af separat inkubering, **med 2 tilstødende strimler fra den samme overførelse**, af de to prøver (sera eller vandig væske), for hvilke der ønskes en sammenligning af immunologiske profiler.

- Trin 1: Hvert seraprøve (eller vandig væske), der skal testes, inkuberes separat med en strimmel. De anti-*toxoplasma* antistoffer, der potentielt er til stede i prøven, binder sig selv selektivt til antigenerne for *T. gondii*.
- Trin 2: Det alkaline fosfatase-**anti human-IgG** konjugat binder derefter sig selv til de bundne anti-antistoffer.
- Trin 3: Immunkomplekserne reagerer med substratet. De antigener, der genkendes af **klasse IgG** anti-*toxoplasma* antistoffer til stede i prøverne vises som lilla tværgående bånd.

IgM immunblot

Analysens princip er det samme, men i trin 2 erstattes det tidligere konjugat af et alkaline fosfatase-**anti-human IgM** konjugat. Farveudviklingen vil derfor afsløre de antigenbånd, som genkendes af **klasse IgM** anti-*toxoplasma* antistoffer til stede i prøverne.

Aflæsning

Sammenligning af parvise strimler med IgG og derefter IgM (eller IgA) lige efter hinanden gør det muligt at vise den potentielle tilstedeværelse af bånd, der kun er udviklet af den ene prøve og ikke den anden (jf. afsnittet Fortolkning).

REAGENSER LEVERET

Standard: pakke med 24 tests (#TOP-WB24GM)

italic: pakke med 12 tests (nr. TOP-WB12GM) - **bold**: Pakke med 96 tests (nr. TOP-WB96GM).

ID	Antal	Beskrivelse	Sammensætning
R1	1	Mappe(r) med 24 (12, 4x24) STRIMLER: udskåret + farvet Standarder. (Hver mappe og hver overfører er identificeret ved et unikt serienummer)	Sensitiseret nitrocellulose. Farvet molekylvægt (kDa): Blå: 250, Blå: 150, Blå: 100, Pink: 75, Blå: 50, Grøn: 37, Pink: 25, Blå: 20, Blå: 15.
R2	1	Hætteglas med 30 (30, 125) mL PRØVEBUFFER (klar til brug – lyserød opløsning).	Buffer + overfladeaktivt stof.
R3	1	Hætteglas med 30 (30, 60) mL ANTI IgG KONJUGAT (klar til brug – blå opløsning).	Buffer + antihuman IgG polyklonal gedeserum konjugeret med alkalinfosfatase + NaN ₃ (<0,1 %) + stabilisatorer.
R4	1	Hætteglas med 30 (30, 60) mL ANTI IgM KONJUGAT (klar til brug – gul opløsning).	Buffer + polyklonal anti-human IgM gedeserum konjugeret til alkalinfosfatase + NaN ₃ (<0,1 %) + stabilisatorer.
R5	1	Hætteglas med 30 (30, 125) mL SUBSTRAT (klar til brug – uigennemsigtigt brunt hætteglas).	Buffer + NBT + BCIP + stabilisatorer.
R6	1	Hætteglas med 60 (60, 250) mL VASKEKONCENTRAT 10X BUFFER (Fortyndes 10 gange i destilleret vand – farveløs opløsning).	Buffer + overfladeaktivt stof.

R1: Bogstavet før hvert båndnummer er specifikt for parameteren.

R2, R3, R4, R5 og R6 er fælles for alle sæt og har et unikt lotnummer, der kun afhænger af deres produktionsdato. **Det anbefales at udføre tests med flere parametre (se LDBIO serien af immunblot) for at begrænse antallet af åbne hætteglas og sikre bedre kvalitetskontrol.**

R3, R4 (NaN₃): EUH 032 - Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre.

EUH 210 Sikkerhedsdatablad fås på anmodning såvel som på vores websted www.ldbiodiagnostics.com

YDERLIGERE MATERIALER PÅKRÆVET MEN IKKE LEVERET

- Inkubationsbakker af polypropylen med flere kanaler til miniblots (nr. WBPP- 08 eller tilsvarende).
- Rystepude til immunblotter, sugesystem til væsker (rør med nummer WBPP-08, som vi leverer, kan tømmes ved blot at vende dem på hovedet).
- Rør og materialer til udtagning af prøver, graduerede cylindere, tilpassede beholdere. Automatiske pipetter, mikropipetter og engangsspidser (volumener på 10 µL, 25 µL, 1,2 mL og 2 mL).
- Destilleret eller demineraliseret vand. Træpapir (f.eks. Whatman filterpapir), gennemsigtig klæbetape.
- Handsker, pincetter til at håndtere strimlerne, saks eller skalpel, flad gennemsigtig lineal.

Bemærk: Vores reagenser kan bruges i en mekanisk immunblotprocessor. **Mulig kemisk kontaminering af vores reagenser skal omhyggeligt undgås, hvis processoren deles med reagenser fra en anden producent** (kendt eksempel: kontaminering med TWEEN 20) og bakteriel kontaminering. Ekstra hætteglas til processoren. Efter forarbejdning må de overskydende brugte reagenser ikke kommes tilbage i de oprindelige hætteglas.

OPBEVARING OG STABILITET

Opbevares mellem 2 og 8 °C. Reagenserne fra sættet er stabile indtil udløbsdatoen angivet på den ydre karton og hætteglasetiketterne. Brug ikke forurenede eller uklare reagens. Vaskebuffer fortyndet til 1/10 er stabil i 2 måneder ved +2 til +8 ° og en uge ved stuetemperatur.

FORSIGTIGHEDSREGLER

Sikkerhed

- Kun til *in vitro* brug. Kun til professionel brug. Kun for teknisk uddannet personale. Håndteres i henhold til god laboratoriepraksis, og alle reagenser og prøver skal anses for at være potentielt toksiske og/eller smittefarlige.
- Brug en laboratoriekittel, handsker og briller. Undlad at drikke, spise eller ryge i laboratoriet. Undlad at pipettere med munden.
- Substratet indeholder en blanding af NBT og BCIP, der er toksisk ved kontakt (hud og slimhinder) og inhalation.
- Reagenserne indeholder natriumazid, som kan danne eksplosive metalliske salte med bly og kobber. Skyl alt spild med vand.
- Bortskaf affald (prøver, spidser, rør, vaskevæske, brugt reagens ...) i henhold til god praksis anvendt i branchen og gældende regulativer i landet.
- Enhver alvorlig hændelse skal være genstand for en erklæring til producenten og den kompetente myndighed.

Forsigtighedsregler

- Læs og fortolk resultaterne under direkte hvidt lys.
- Det er at foretrække at anvende alle reagenser fra samme batch. Hvis der anvendes forskellige batches, skal sporbarheden sikres.
- Anvend strimlerne i numerisk rækkefølge. Undlad at blande strimler fra forskellige serienumre; anvend overførslerne i rækkefølge. Vedtag en specifik distributionsplan inden påbegyndelse af testen.
- Undlad at berøre strimlerne med fingrene; brug pincetter.
- Reagenserne skal blandes godt før brug, især den koncentrerede vaskebuffer.
- Luk hætteglassene efter brug; må ikke anvendes hvis et stof utilsigtet blev introduceret i reagenserne. Undlad at bruge reagens fra et hætteglas, der viser tegn på lækage. Undlad at bruge en uklar eller grumset opløsning.
- Brug kun engangspipettespidser. Undgå kontaminering i kanalerne. Hold øje med dannelse af skum eller bobler i pipettespidserne (bakteriel kontamination af reagenshætteglas).
- Rengør kun inkubationsbakker med destilleret vand (brug aldrig sæbe eller blegemiddel).
- Udeladelse af en prøve eller distribution af et utilstrækkeligt volumen kan medføre et negativt eller positivt testresultat, uanset dets faktiske status.

INDSAMLING AF PRØVER

Indsaml prøverne aseptisk i tørre rør. Der kræves et minimum af 35 µL serum eller 10 µL vandig væske. I tilfælde af vandig væske vil det øge testens følsomhed, hvis der bruges 25 µL (Se § Testprocedure).

Hold prøverne ved 2-8 °C, indtil de er forarbejdet. Hvis de skal opbevares mere end en uge, skal prøverne fryses ved -20 ±5 °C. En kontamineret prøve må ikke anvendes. Undgå at fryse og optø prøverne gentagne gange.

Selv om der ikke er observeret nogen bestemt krydsreaktion med hæmolyseret, ikterisk eller lipid sera, anbefales det at fortolke resultaterne opnået med brug af sådanne prøver forsigtigt.

KLARGØRING AF REAGENSER

Vaskebuffer: Til 4 tests fortyndes 10 mL vaskekonzentrat 10X (**R6**) i 90 mL destilleret eller demineraliseret vand i en ren flaske. Vær omhyggelig med at blande den fortyndede buffer godt.

TESTPROCEDURE

Bemærk: Det anbefales at udføre tests med flere parametre (se LDBIO serien af immunblot) for at begrænse antallet af åbne hætteglas og sikre bedre kvalitetskontrol.

1. Forbered omhyggeligt prøvens distributionsplan.

Det er **strengt påkrævet** at sammenligne et prøvepar med forbundne strimler (tilstødende numre) fra en given overførsel (samme serienummer). Det er ikke pålideligt at sammenligne strimler med for stort mellemrum (f.eks. nr. 2 med nr. 15). Det er **farligt** (falske resultater) at sammenligne strimler fra forskellige sæt (strimler med forskellige serienumre).

2. Skær det påkrævede antal strimler (R1) med en skalpel og en ren og tør, flad, gennemsigtig lineal, idet den blå positioneringsstreg holdes på strimlerne: Hold strimlerne på plads med linealen og skær dem på siden af stammen (tallene kan ses gennem linealen).

3. Fordel 1,2 mL af prøvebufferen (R2) i hver kanal i henhold til den vedtagne plan.
4. Anbring de nummererede strimler i kanalerne i numerisk rækkefølge: Lad strimlerne blive rehydrerede i overfladen i ca. 2 minut med tallet synligt på oversiden. Ryst DEREFTER bakken forsigtigt for at nedsænke dem helt i bufferen.
5. Fordel prøverne i henhold til den fastsatte distributionsplan (trin 1) og følgende volumener:

	Serum	Vandig væske
IgG	10 µL	10 eller 25 µL
IgM	25 µL	-

I tilfælde af vandig væske vil det øge testens følsomhed, hvis der anvendes 25 µL.

Ryst forsigtigt bakken efter hver distribution. Anbring bakken på en rysteplade. **Inkubér i 90 min.** ± 5 min. ved 20-26 °C.

6. Vasketrin: Tøm indholdet i kanalerne med en Pasteur-pipette eller ved at vende inkubationsbakken på hovedet. Kom 2-3 mL fortyndet vaskebuffer i hver kanal. Inkubér på rystepladen i 3 minutter. Gentag 2 gange og tøm derefter indholdet ud af kanalerne. Sørg for, at strimlerne ikke vendes under disse trin.
7. Fordel i henhold til den fastsatte distributionsplan 1,2 mL anti-IgG konjugat (R3) eller 1,2 mL anti-IgM konjugat (R4) i hver af de tilsvarende brønde. Anbring bakken på rystepladen.
Inkubér i 60 min. ± 5 min. ved 20-26 °C.
8. Vasketrin: Gentag trin 6.
9. Fordel 1,2 mL NBT/BCIP-substrat (R5) i hver kanal. Anbring på rystepladen og beskyt mod direkte lys. **Inkubér i 60 min.** ± 5 min. ved 20-26 °C.

Monitorér farveudviklingen, uanset parameter. Udviklingen kan stoppes, hvis strimlens baggrundsfarve bliver så mørk, at aflæsning er svær (kvaliteten af vasketrinnene har en grundlæggende indflydelse på baggrundsfarven). Bemærk, at strimlerne bliver lysere, når de tørrer.

- Det er vigtigt at stoppe farveudviklingen af de to strimler af et givent par for en given underklasse af antistoffer samtidigt, men det er muligt at stoppe udviklingen uafhængigt af IgG'er eller IgM'er (IgM'er i en mindre koncentration udvikles normalt langsommere end IgG'er).
- Børns serum har generelt en lavere koncentration af IgM. Reaktionen skal have tid til at udvikles korrekt, og det giver ikke anledning til bekymring, hvis den maternelle IgM-strimmel bliver lidt mørkere.
- Vandig væske har generelt en lavere koncentration af antistoffer. Reaktionen skal have tid til at udvikles korrekt, og det giver ikke anledning til bekymring, hvis serum-strimlerne bliver lidt mørkere.

10. Stop reaktionen ved at aspirere substrat med en Pasteur-pipetter eller ved at vende inkubationsbakken om og komme 2 mL destilleret vand i kanalerne. Gentag dette sidste vasketrin én gang til.
11. Tørring af strimlerne: Stadig med vand i kanalerne tages strimlerne i den nummererede ende med pincetten og anbringes på et Whatman-trækpapir med nummeret synligt. Lad lufttørre. Farven på strimlerne vil lysne naturligt, når de tørrer. Fortolkning må kun foretages, efter tørring er komplet.
12. Opbevaring: Overfør strimlerne til det ark papir, der skal bruges til at opbevare dem. Juster de blå positioneringslinjer. Hold strimlerne fast med linealen, og klæb dem fast ovenfra med den gennemsigtige tape.

Match IgG- og IgM-strimlerne for hvert par side om side i stigende numerisk rækkefølge ved at følge den fastsatte distributionsplan (trin 1).

Det er strengt påkrævet at sammenligne et prøvepar med forbundne strimler (tilstødende numre) fra en given overførsel (samme serienummer). Det er tilfældigt at sammenligne fjerntliggende strimler (f.eks. nr. 2 med nr. 15). **Det er farligt** (falske resultater) at sammenligne strips fra forskellige kits (forskellige strips serienumre).

KVALITETSKONTROL OG FORTOLKNING

Beskrivelse af båndene

En positiv prøve kan fremvise et betydeligt antal bånd mellem 15 og 200 kDa. Kun bånd med en molekylær vægt under 120 kDa kan anvendes til at sammenligne profilerne.

Fortolkning

CIP WB G+M (medfødt toxoplasmose)

- Ved fødsel (mor/barn-par):

Sammenlign IgG-strimlerne og IgM-strimlerne uafhængigt.

Læs de 2 tilstødende strimler samtidigt fra top til bund og læg mærke til alle antigenbånd, der er **til stede** i navlestrengsblodet **og fraværende** i det materielle blod.

Alle bånd, der har en veldefineret resolution, en molekylær vægt (MW) under 120 kDa og som *kun er til stede hos barnet* er bevis på, at barnet har syntetiserede antitoxoplasma-antistoffer, hvilket antyder medfødt toxoplasmose.

- Under monitorering efter fødslen (barn D0/barn D+N par):

Sammenlign IgG-strimlerne og IgM-strimlerne uafhængigt.

Læs de 2 tilstødende strimler samtidigt fra top til bund og læg mærke til alle antigenbånd, der er **til stede** i serummet ved D+N **og fraværende** i navlestrengsblodet.

Alle bånd, der har en veldefineret resolution, en MW <120 kDa og som *kun er til stede ved D+N* er bevis på, at barnet har syntetiserede antitoxoplasma-antistoffer, hvilket antyder medfødt toxoplasmose.

Bemærk: Indikationen for CIP-WB IgG/IgM ved monitorering efter fødslen er bevidst begrænset til 3 måneder for IgG og 1 måned for IgM.

Bemærkninger: Juxtapositionen af den farvede molekylær vægt-standard (mappe R1) gør det muligt at estimere den molekylære vægt for de udviklede antigenbånd (den skal skæres på forhånd med en lineal og skalpel, som en almindelig strimmel og håndteres med en pincet).

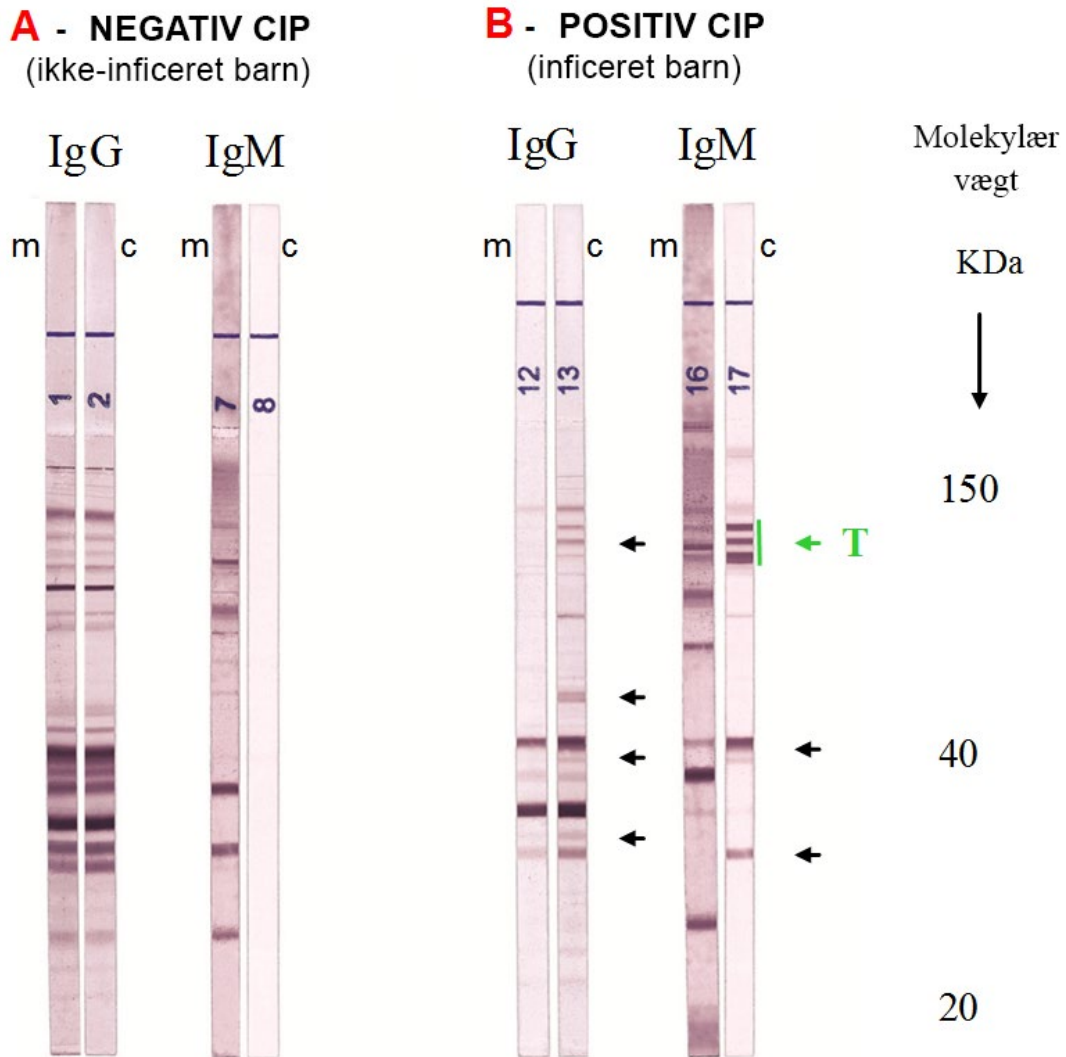


Fig. 1: Medfødt toxoplasmose – Eksempler på positive og negative resultater – (m=mor; b=barn)

Profilerne er angivet som eksempler. **Strimlerne er markeret med bogstavet "A", der er specifikt for parameteren fra parti "00011".**

Mor-barn parret (A) svarer til en mor, der er inficeret under graviditeten, men hvis barn ikke er inficeret: IgG-profilerne er fuldt ud identiske (overførte IgG'er), der er ingen yderligere bånd til stede på barnets IgG- og/eller IgM-strimler: **CIP-WB ER NEGATIV.**

Parret (B), medfødt toxoplasmose, svarer til en mor, der er inficeret under graviditeten, og hvis barn også er inficeret. Udover de overførte antistoffer bemærkes tydeligt tilstedeværelsen af yderligere bånd (←), for IgG og/eller IgM, på barnets strimler, svarende til antistofferne nyligt syntetiseret af barnet: **CIP-WB ER POSITIV.**

CIP WB IgG (okulær toxoplasmose)

Læs de 2 tilstødende strimler samtidigt fra top til bund og læg mærke til alle antigenbånd, der er **til stede** i kammervæsken **og fraværende** i serummet.

Alle bånd, der har en veldefineret resolution, en molekylær vægt (MW) under 120 kDa, og som *kun er til stede i kammervæsken*, er bevis på lokal syntese af antitoxoplasma-antistoffer, hvilket tyder på okulær toxoplasmose.

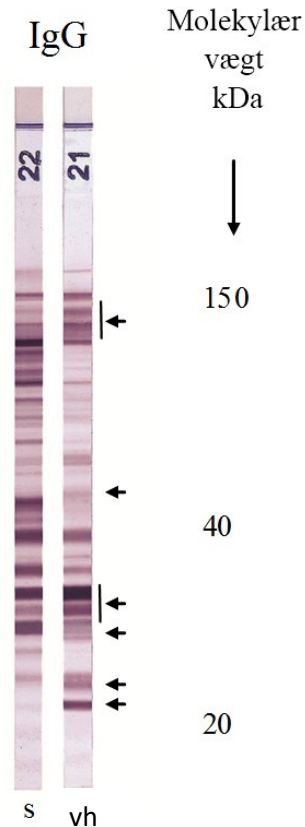


Fig. 2: Okulær toxoplasmose – eksempel på positivt resultat – (s= serum; vh= vandig humor)

Profilerne er angivet som eksempler. **Strimlerne er markeret med bogstavet "A", der er specifikt for parameteren fra parti "00011".**

Meget vigtige punkter

1. CIP-WB IgG/IgM-resultaterne skal fortolkes i betragtning af andre oplysninger såsom kliniske, serologiske, parasitologiske, epidemiologiske og billeddannelses for at kunne fastsætte diagnosen medfødt eller okulær toxoplasmose.
2. Et negativt CIP-WB IgG/IgM-resultat udelukker ikke diagnosen medfødt eller okulær toxoplasmose. Disse patienter skal altid monitoreres over tid, indtil diagnosen toxoplasmose kan bekræftes eller udelukkes med sikkerhed.
3. Båndenes aspekter kan variere meget: smal, tyk, mere eller mindre farvet, intens osv.
Inden man begynder at anvende denne teknik, anbefales det at man udfører flere sammenligninger af profiler med kendte prøvepar for at blive bekendt med aflæsningen af resultaterne.
I starten anbefales det også, at CIP-WB aflæsningen foretages uafhængigt af to personer på laboratoriet. I tilfælde af forskellige fortolkninger skal der udføres en kontrol CIP-WB.
4. Antigenfraktionerne med meget høj molekylær vægt (MW) ligger meget tæt på hinanden i strimlens øverste del til fordel for en bedre resolution i fraktionerne med middel og lav molekylær vægt. Båndene med MW >120 kDa kan derfor ikke anvendes til at fortolke analysen: Prøver, der kun har disse profilforskelle, kan derfor ikke komme tilbage som positive.
5. I modsætning hertil (medfødt toxoplasmose) findes en "tredobbelt" (tre meget let genkendelige bånd), der ligger mellem 75 og 100 kDa, meget ofte på positive CIP-WB IgM'er (se "T" fig. 1, strimmel nr. 17 til højre).
6. Ved fødsel (medfødt toxoplasmose) skal der lægges nøje mærke til generelt kraftigere intensitet i båndene (hæmokoncentration), som kan være tegn på, at yderligere bånd findes i navlestrengsblodet. Sera, som kun viser sådanne profilforskelle, kommer tilbage som negative.
7. I modsætning hertil (medfødt toxoplasmose, okulær toxoplasmose) anses væsentlig forstærkning (ofte i bredde og intensitet) af et eller to isolerede bånd, mens alle de andre bånd har samme eller svagere intensitet, for at være et kriterium for positivitet.
8. Naturlige antistoffer (medfødt toxoplasmose):
Immunblotteknikken er yderst følsom, og antigenet anvendt til CIP-WB-testen blev valgt på grund af mangfoldigheden af antigene bånd til stede på strimlen.

Adskillige publikationer nævner bånd udviklet ved immunblot for personer, som tilsyneladende aldrig fik toxoplasmose. Disse antistoffer (IgG og IgM) detekteres kun sjældent af andre teknikker, men detekteres meget ofte af immunblot. De kunne skyldes krydsreaktioner med antistoffer rettet mod en type immunogener, som endnu ikke er blevet bestemt.

Derfor er indikationen for **TOXOPLASMA WB IgG-IgM**-testen forbeholdt til at sammenligne profiler. (For at bekræfte IgG-serologier skal man anvende den specifikke **LDBIO TOXO II IgG**-test, som er beregnet til denne brug) Nyfødte har ikke naturlige antistoffer (bortset fra overførte antistoffer fra moderen), men sandsynligheden for at naturlige antistoffer forekommer, stiger med barnets alder efter 3 måneder, og de findes kun sjældent mellem 3 og 6 måneder.

Derfor er indikationen for CIP-WB IgG/IgM ved monitorering efter fødslen bevidst begrænset til 3 måneder for IgG og 1 måned for IgM: ikke-specifikke bånd forekommer faktisk tidligere for IgM.

9. "Heat Shock Protein" (medfødt toxoplasmose): Et ikke-specifikt, smalt bånd med en svag men varierende intensitet kan være til stede for IgM op til 37 kDa. Det er et artefakt forbundet med klargøringen af antigenet og kaldes "Heat Shock Protein". Det er til stede på begge strimler af mor-barn parret, men kan dog sommetider forekomme mere udtalt med visse sera i løbet af monitoreringen af barnet. Dette bånd skal ikke tages i betragtning.
10. CIP-WB (okulær toxoplasmose): CIP-WB IgM kan ikke bruges til diagnosen af okulær toxoplasmose. Imidlertid er CIP-IgA af diagnostisk interesse. For mere information om CIP-IgA, bedes du kontakte os.

BEGRÆNSNING AF BRUG

- Diagnosen af en infektiøs sygdom kan ikke fastlægges på baggrund af et enkelt testresultat.
- Serologiske resultater skal fortolkes i henhold til tilgængelig information (f.eks. Epidemiologi, klinisk, billeddannelse, biologi ...) for at etablere en diagnose. De bør ikke anvendes som grundlag for en diagnose alene på grundlag af deres positivitet.

YDEEVNE (se litteraturhenvisninger S. 11)

Disse studier blev udført af uafhængige referencelaboratorier

CIP-WB G+M: MEDFØDT TOXOPLASMOSE ved fødsel (mor/barn)

		TOXOPLASMA WB IgG-IgM	
		POS	NEG
KLINISKE DATA	POS ANTAL n = 54	41	13
	NEG ANTAL n = 60	0	60

Tabel 1: Resultat af CIP-WB IgG/IgM ved fødsel (n = 114):

Specificitet = 100 %

Positiv prædiktiv værdi = 100 %

Sensitivitet = 76 %

Negativ prædiktiv værdi = 83 %

CIP-WB G+M: MEDFØDT TOXOPLASMOSE ved monitorering efter fødsel (barn D0/D20)

Ud af 54 børn tidligere testet ved D0 (**Tabel 1**) blev 10 ikke-inficerede børn og 12 inficerede børn (n = 22) monitoreret indtil D20 og efterfølgende analyseret med TOXOPLASMA WB IgG-IgM-testen.

- **Ved D0:** 4 ud af 12 inficerede børn havde ikke en profil, der var forskellig fra fødslen (falske negative).
- **Ved D20:** 1 enkelt barn var stadig negativ.

		TOXOPLASMA WB IgG-IgM	
		POS	NEG
KLINISKE DATA	POS ANTAL n = 12	11	1
	NEG ANTAL n = 10	0	10

Tabel 2: Resultat af CIP-WB IgG/IgM ved D20 (n = 22):

Specificitet = 100 %
Positiv prædiktiv værdi = 100 %

Sensitivitet = 92 %
Negativ prædiktiv værdi = 91 %

CIP-WB IgG: OKULÆR TOXOPLASMOSE (serum/vandig væske)

Resultaterne vist nedenfor er fra meta-analysen af fire studier publiceret af referencecentre.

Disse studier sammenligner resultaterne af CIP-WB IgG med resultaterne af Goldmann Witmer Coefficient (GWC) og resultaterne af PCR. De viser også de diagnostiske resultater opnået ved den kombinerede association af to eller tre af disse teknikker.

De fire studier anvendte alle LDBIO-testen i overensstemmelse med anbefalingerne i sættets brugervejledning.

Sensitivitet blev bestemt på 113 patienter, som havde klinisk påvist okulær toxoplasmose. Specificitet blev beregnet på en kontrolpopulation med en anden okulær sygdom end toxoplasmisk infektion: okulær toxocariase (n=5), viral infektion (n=10), andre infektioner (n=4), ikke-infektiøse okulære sygdomme (n=126), hvoraf grå stær (n=42).

Sensitivitet (Se)

Den overordnede sensitivitet for CIP-WB IgG er **62,8%** (n=113), resultat, der kan sammenlignes med GWC (Se=61,0 %, n=113) og større end PCR (Se=43,5 %, n=92, p=0,0028).

Kombinationen af CIP-WB med GWC og PCR forbedrer diagnosens sensitivitet:

CIP-WB + GWC: Se=78,1 % (n=96, p=0,0082)
CIP-WB + GWC + PCR: 86,3 % (n=95, p=0,0001)

Specificitet (Sp)

Den overordnede sensitivitet for CIP-WB IgG er **92,8%** (n=111), resultat, der kan sammenlignes med GWC (Se=94,2 %, n=139) og mindre end PCR (Sp=100 %, n=131, p=0,0009).

Kombinationen af de to teknikker, CIP-WB IgG + GWC, reducerer diagnosens specificitet en smule (Sp=91,1 %, n=101, p=0,32). Kombinationen med PCR påvirker ikke specificiteten.

Konklusion

TOXOPLASMA WB IgG IgM immunassay har fremragende ydeevne til diagnosticering af medfødt eller okulær toxoplasmose.

I medfødt toxoplasmose har CIP-WB G + M en følsomhed på **76%** [95CI 62-86%] og en specificitet på **100%** [95CI 92-100%] ved fødslen. Gentestning i den første måned af livet øger følsomheden af CIP-WB G + M. yderligere.

I okulær toxoplasmose har CIP-WB IgG en følsomhed på **62,8%** [95CI 53,2-71,6%] og en specificitet på **92,8%** [95CI 85,9-96,6%]. Kombination med andre teknikker (GWC og / eller PCR) øger diagnostisk ydeevne.

Reproducerbarhed

Reproducerbarhed inden for serier og inden for lot blev testet. I begge tilfælde er korrelationen serum til serum fremragende for specifikke bånd.

Interferenser

Selv om der ikke er observeret nogen bestemt krydsreaktion med hæmolyseret, ikterisk eller lipid sera, anbefales det at fortolke resultaterne opnået med brug af sådanne prøver forsigtigt.

FEJLFINDING

"Båndene er blege med meget lille kontrast": Visse sera med lave koncentrationer af antistoffer kan give sådanne resultater.

”Der kan ses nuancerede områder med mere eller mindre farve, lettere diffuse”: Strimlen var ikke helt nedsænket i en af reagenserne og blev ikke inkuberet korrekt langs hele strimlen. Der kan også være pletter, hvor prøven blev anbragt, hvis bakken ikke blev rystet efter anbringelse.

”Baggrundsstøjen er betydelig og gør aflæsning vanskelig”. Vasketrinnene var utilstrækkelige, eller den sidste inkubation var for længe. Sørg for at anvende gode testteknikker, overhold vasketider og sørg for god vandkvalitet. Reducér den sidste inkubationstid. I sjældne tilfælde kan visse sera reagere på en ikke-specifik måde. I så fald kan resultatet af immunblotten ikke anvendes.

Denne ikke-specifikke baggrundsstøj involverer muligvis kun en del af strimlen, og gør det kun umuligt at fortolke resultaterne for den del.

”Et bundfald forekommer i opløsningen i løbet af den sidste udviklingstrin”: Substratet kan delvis udfældes (sorte flager) i bufferen ved slutningen af udviklingen. Dette fænomen ændrer ikke kvaliteten af udviklingen, som skal fortsættes normalt. Den sidste vask med destilleret vand fjerner eventuelle faste partikler, der er til stede.

BIBLIOGRAFI

- Fekkar, A. *et al.* Comparison of immunoblotting, calculation of the Goldmann-Witmer coefficient, and real-time PCR using aqueous humor samples for diagnosis of ocular toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 1965–1967 (2008).
- Garweg, J. G. Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. *Parasite Immunol.* **27**, 61–68 (2005).
- Garweg, J. G., de Groot-Mijnes, J. D. F. & Montoya, J. G. Diagnostic Approach to Ocular Toxoplasmosis. *Ocular Immunology and Inflammation* **19**, 255–261 (2011).
- Garweg, J. G., Garweg, S.-D. L., Flueckiger, F., Jacquier, P. & Boehnke, M. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin types G, A, M, and E in cases of human ocular toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 4593–4598 (2004).
- Goldmann, H. & Witmer, R. [Antibodies in the aqueous humor]. *Ophthalmologica* **127**, 323–330 (1954).
- L’ollivier, C. *et al.* Comparison of Mother and Child Antibodies That Target High-Molecular-Mass *Toxoplasma gondii* Antigens by Immunoblotting Improves Neonatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *Clin. Vaccine Immunol.* **19**, 1326–1328 (2012).
- Maenz, M. *et al.* Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. *Prog Retin Eye Res* **39**, 77–106 (2014).
- Magi, B. & Migliorini, L. Western blotting for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *New Microbiol.* **34**, 93–95 (2011).
- Pinon, J. M. *et al.* Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 2267–2271 (2001).
- Potasman, I., Araujo, F. G. & Remington, J. S. *Toxoplasma* antigens recognized by naturally occurring human antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **24**, 1050–1054 (1986).
- Remington, J. S., Thulliez, P. & Montoya, J. G. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 941–945 (2004).
- Rilling, V., Dietz, K., Krczal, D., Knotek, F. & Enders, G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **22**, 174–180 (2003).
- Robert-Gangneux, F. *et al.* Usefulness of immunoblotting and Goldmann-Witmer coefficient for biological diagnosis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **23**, 34–38 (2004).
- Robert-Gangneux, F. & Darde, M.-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews* **25**, 264–296 (2012).
- Ronday, M. J., Ongkosuwito, J. V., Rothova, A. & Kijlstra, A. Intraocular anti-*Toxoplasma gondii* IgA antibody production in patients with ocular toxoplasmosis. *Am. J. Ophthalmol.* **127**, 294–300 (1999).
- Talabani, H. *et al.* Contributions of Immunoblotting, Real-Time PCR, and the Goldmann-Witmer Coefficient to Diagnosis of Atypical Toxoplasmic Retinochoroiditis. *Journal of Clinical Microbiology* **47**, 2131–2135 (2009).

- Tridapalli, E. *et al.* Congenital toxoplasmosis: the importance of the western blot method to avoid unnecessary therapy in potentially infected newborns. *Acta Paediatr.* **97**, 1298–1300 (2008).
- Turunen, H. J., Leinikki, P. O. & Saari, K. M. 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).
- Villard, O. *et al.* Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Immunoblotting, and PCR for Diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 3537–3541 (2003).
- Villard, O. *et al.* Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2015).

OPDATERINGSMEDDELELSE - læs omhyggeligt

UDGIVELSESDATO	VERSION	ÆNDRINGSOVERSIGT
26/07/2021	Vs 18	Fjernelse af sikkerhedsadvarsel R5 - Kontakt e-mail-adresse – NaN3 EUH 032
25/07/2022	Vs 19	R6 uden NaN3. Strimmel identificeret med bogstavet A. Eventuel brug af reagenser fra forskellige batches
30/11/2022	Vs20	Ny adresse



NF EN ISO 13485

24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
 Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com