

# LDBIO TOXO II IgG

## BESTÄTIGUNG

CE0459



*In-vitro*-Diagnostik Immunoblot-Assay  
Halbautomatische / manuelle Technik

#TOXO II 24G : 24 tests

#TOXO II 12G : 12 tests

#TOXO II 96G : 96 tests

## GEBRAUCHSANWEISUNG

Weitere Informationen und die Gebrauchsanweisung in Ihrer Sprache finden Sie auf unserer Website [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

## VERWENDUNGSZWECK

**LDBIO TOXO II IgG** ist ein Einwegtest für den qualitativer serologischen IgG-Diagnose mittels Immunoblot-Assay auf Toxoplasmose, der als Bestätigungstest bei einem positiven oder mehrdeutigen Ergebnis in klassischen Screeningtests vorgesehen ist. Er kann mit Sera, Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) oder Kammerwasser durchgeführt werden.

## TESTPRINZIP

### Western blot-Technik

Die Antigene von *Toxoplasma gondii* werden nach der Trennung durch Elektrophorese mittels Elektroblothing an die Oberfläche einer Nitrocellulosemembran gebunden (Transfer genannt), die in 24 von 1 bis 24 nummerierte Streifen geschnitten wird.

### Durchführung des Tests

Jede zu prüfende Serumprobe (oder CSF/Kammerflüssigkeit) wird separat mit einem Streifen inkubiert. Die potenziell in der Probe vorhandenen Anti-*Toxoplasma*-Antikörper binden selektiv an die Antigene von *T. gondii*. Das alkalische Phosphatase Anti-Human-IgG-Konjugat bindet dann an die gebundenen Anti-*Toxoplasma*-Antikörper. Abschließend reagieren die Immunkomplexe mit dem Substrat. Die in den Proben vorhandenen, von den Anti-*Toxoplasma*-Antikörpern erkannten Antigene vom Typ IgG werden als violette querverlaufende Banden dargestellt.

## IM KIT ENTHALTENE REAGENZIEN

Standard: Packung mit 24 Tests (#TOXO II 24G)

- *kursiv*: Packung mit 12 Tests (#TOXO II 12G) - **fett**: Packung mit 96 Tests (#TOXO II 96G).

ID	Menge	Beschreibung	Zusammensetzung
R1	1	Block/Blöcke mit 24 (12, <b>4 x 24</b> ) STREIFEN: vorgeschchnittener + gefärbter Standard. (Jeder Block und jeder Transfer sind mit einer eigenen einzigartigen Seriennummer gekennzeichnet)	Sensibilisierte Nitrocellulose. Gefärbtes Molekulargewicht (kDa): Blau: 250, Blau: 150, Blau: 100, Rosa: 75, Blau: 50, Grün: 37, Rosa: 25, Blau: 20, Blau: 15.
R2	1	Fläschchen mit 30 (30, <b>125</b> ) ml PROBENPUFFER (Gebrauchsfertig – rosafarbene Lösung).	Puffer + Tensid.
R3	1	Fläschchen mit 30 (30, <b>2 x 60</b> ) ml ANTI-IgG-KONJUGAT (Gebrauchsfertig – blaue Lösung).	Puffer + anti-humane IgG polyklonale Ziegensera konjugiert mit alkalischer Phosphatase + NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %) + Stabilisatoren.
R5	1	Fläschchen mit 30 (30, <b>125</b> ) ml SUBSTRAT (Gebrauchsfertig – opakbraunes Fläschchen).	Puffer + NBT + BCIP + Stabilisatoren.
R6	1	Fläschchen mit 60 (60, <b>250</b> ) ml WASCHKONZENTRAT 10X PUFFER (Muss in destilliertem Wasser 10-fach verdünnt werden – farblose Lösung).	Puffer + Tensid.
R10	1	Röhrchen mit 100 (100, <b>2 x 100</b> ) µl POSITIVEM KONTROLLSERUM (Gebrauchsfertig – rote Kappe).	Puffer + Sammelprobe von Humanseren mit positiver <i>Toxoplasma</i> -Serologie + NaN <sub>3</sub> (< 0,1 %) + Stabilisatoren.

**R1:** Der Buchstabe vor jeder Streifennummer ist spezifisch für den Parameter.

**R2, R3, R5 und R6** sind Bestandteil aller Kits und weisen eine eigene einzigartige Chargennummer auf, die nur vom jeweiligen Produktionsdatum abhängt. **Es wird die Durchführung von Multiparameterserien empfohlen**

(siehe Immunoblot-Bandbreite von LDBIO), um die Anzahl geöffneter Fläschchen zu begrenzen und eine bessere Qualitätskontrolle zu erreichen.

R10 wird im Immunoblot gemäß einer Referenzcharge kalibriert und ist nur dieser Technik gewidmet.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 - Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

EUH 210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage sowie auf unserer Website [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) erhältlich.

## ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHES MATERIAL, DAS NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN IST

- Multikanal-Polypropylen-Inkubationswannen für Mini-Blots (#WBPP-08 oder gleichwertig).
- Wippschüttler für Immunoblots, Vakuumsystem für Flüssigkeiten (die von uns gelieferten #WBPP-08-Wannen können durch einfaches Umdrehen geleert werden).
- Röhrchen und Material zur Probenahme, Messzylinder, angepasste Behälter. Automatische Pipetten, Mikropipetten und Einwegspitzen (Mengen von 10 µl, 25µl, 1,2 ml und 2 ml).
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser. Saugpapier (z. B. Whatman Filterpapier), transparentes Klebeband.
- Handschuhe, Pinzetten zur Handhabung der Streifen, Cutter oder Skalpell, flaches transparentes Lineal.

Hinweis: Unsere Reagenzien können in einem automatisierten Immunoblot-Prozessor verwendet werden. **Es sollte darauf geachtet werden, dass keine chemischen Kontaminationen unserer Reagenzien auftreten, wenn im Prozessor auch Reagenzien anderer Hersteller verwendet werden** (bekanntes Beispiel: Kontamination durch TWEEN 20), und keine bakteriellen Kontaminationen. Fläschchen für den Prozessor reservieren. Nach der Verarbeitung dürfen Reste verwendeter Reagenzien nicht zurück in die Originalfläschchen gegeben werden.

## LAGERUNG UND STABILITÄT

Zwischen 2 und 8 °C lagern. Die Reagenzien des Kits sind bis zum auf der Außenverpackung und den Fläschchenetiketten angegebenen Ablaufdatum stabil. Verwenden Sie kein kontaminiertes oder trübes Reagenz. 1/10 verdünnter Waschpuffer bleibt bei +2 bis +8 °C zwei Monate und bei Raumtemperatur eine Woche stabil.

## WARNHINWEISE FÜR DEN GEBRAUCH

### Sicherheit

- Nur für *In-vitro*-Anwendung. Nur für professionelle Anwendung. Nur für technisch geschultes Personal. Entsprechend der Guten Laborpraxis handhaben und jedes Reagenz und jede Probe als potenziell toxisch und/oder infektiös behandeln.
- Laborkittel, Handschuhe und Brille tragen; im Labor nicht trinken, essen oder rauchen. Pipetten nicht mit dem Mund handhaben.
- Die Positivkontrolle ist ein Serum menschlichen Ursprungs, das für die Viren HIV 1 und 2, Hepatitis B und Hepatitis C inaktiviert wurde. Trotzdem muss sie wie ein potenziell infektiöses Produkt behandelt werden.
- Das Substrat enthält eine Mischung aus NBT und BCIP und wirkt bei Kontakt (Haut und Schleimhäute) und Inhalation toxisch.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid, das mit Blei und Kupfer explosive Metallsalze bilden kann. Verschüttungen mit Wasser reinigen.
- Abfall (Proben, Spitzen, Röhrchen, Waschflüssigkeit, gebrauchtes Reagenz...) gemäß guter Praxis der Branche und aktuellen nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Jeder schwerwiegende Zwischenfall muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde gemeldet werden.

### Vorsichtsmaßnahmen

- Lesen und interpretieren Sie die Ergebnisse unter direktem weißem Licht.
- Vorzugsweise sollten alle Reagenzien aus derselben Charge verwendet werden. Wenn unterschiedliche Chargen verwendet werden, muss die Rückverfolgbarkeit.

- Die Streifen in numerischer Reihenfolge verwenden. Streifen mit verschiedener Seriennummer nicht mischen; die Transfers der Reihe nach verwenden. Vor Testbeginn sollte ein spezifischer Aufteilungsplan erstellt werden.
- Die Streifen nicht mit den Fingern berühren; eine Pinzette verwenden.
- Die Reagenzien müssen vor der Verwendung gut vermischt werden, insbesondere der konzentrierte Waschpuffer.
- Die Fläschchen nach der Verwendung verschließen; nicht verwenden, wenn versehentlich eine Substanz in die Reagenzien gelangt ist. Reagenzien aus Fläschchen, die Anzeichen ausgelaufenen Materials aufweisen, nicht verwenden. Trübe oder ausgefällte Lösung nicht verwenden.
- Nur Einwegpipettenspitzen verwenden. Kontamination zwischen den Kanälen vermeiden. Darauf achten, ob sich in den Pipettenspitzen Schaum oder Bläschen bilden (bakterielle Kontamination der Reagenzfläschchen).
- Inkubationswannen nur mit klarem Wasser reinigen, gefolgt von destilliertem Wasser (niemals Detergenzien oder Bleichmittel verwenden).
- Das Auslassen einer Probe oder die Zugabe einer ungeeigneten Menge kann unabhängig vom tatsächlichen Status zu einem negativen oder positiven Testergebnis führen.

## PROBENAHEME

Die Proben aseptisch in trockenen Röhrchen sammeln. Es sind mindestens 10 µl Serum, Kammerflüssigkeit oder CSF erforderlich. Im Fall von Kammerflüssigkeit oder CSF erhöht die Verwendung von 25 µl die Sensitivität des Tests.

Die Proben bis zur Verarbeitung bei 2-8 °C aufbewahren. Wenn sie länger als eine Woche gelagert werden sollen, die Proben bei -20 ± 5 °C einfrieren. Keine kontaminierten Proben verwenden. Die Proben dürfen nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Obwohl keine besondere Kreuzreaktion mit hämolysierten, ikterischen oder lipämischen Seren beobachtet wurde, wird empfohlen, die Ergebnisse der Verwendung solcher Proben mit Vorsicht zu interpretieren.

## VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

**Waschpuffer:** Für 4 Tests in einer sauberen Flasche müssen 10 ml Waschkonzentrat 10X (**R6**) in 90 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnt werden. Achten Sie darauf, den verdünnten Puffer gut zu mischen.

## TESTVERFAHREN

*Anmerkung:* Es wird die Durchführung von Multiparameterserien empfohlen (siehe Immunoblot-Bandbreite von LDBIO), um die Anzahl geöffneter Fläschchen zu begrenzen und eine bessere Qualitätskontrolle zu erreichen.

1. Für die Proben und C+ positiven Kontrollen muss ein Aufteilungsplan erstellt werden (**R10**).

Nur durch Anwendung dieser Kontrolle kann der Test technisch validiert und eine Identifikation der spezifischen entwickelten Banden für eine bestimmte Seriennummer festgestellt werden. Ein C+ Streifen kann nicht verwendet werden, um die Ergebnisse von Streifen eines Blots einer anderen Seriennummer zu interpretieren.

2. Mit einem Skalpell und einem sauberen und trockenen, flachen, transparenten Lineal die erforderliche Anzahl Streifen (R1) zurechtschneiden, wobei die blaue Positionierungslinie auf den Streifen erhalten bleibt; die Streifen mit dem Lineal festhalten und auf der Seite mit dem Stamm schneiden (die Nummern sind durch das Lineal zu sehen).
3. 1,2 ml des Probenpuffers (R2) gemäß dem erstellten Plan in jeden Kanal verteilen.
4. Die nummerierten Streifen in numerischer Reihenfolge in den Kanälen platzieren: Lassen Sie die Streifen an der Oberfläche des Puffers etwa 2 Minuten rehydrieren, so dass die Markierung nach oben zeigt. Danach die Schale

leicht schütteln, damit die Streifen vollständig in den Puffer einzutauchen.

5. Proben und positive Kontrolle(n) verteilen: gemäß Aufteilungsplan mit 10 µl pro Kanal (möglichst 25 µl bei Kammerwasser oder CSP). Die Wanne nach jeder Dosierung leicht schütteln. Die Wanne auf einen Wippschüttler stellen. **Für 90 Min.** ± 5 Min. bei 20-26 °C inkubieren.
6. Waschschrift: Den Inhalt des Kanals mit einer Pasteurpipette oder durch Umdrehen der Inkubationswanne entleeren. 2 bis 3 ml verdünnten Waschpuffer in jeden Kanal geben. Auf dem Wippschüttler für 3 Min. inkubieren. Zweimal wiederholen, dann den Inhalt der Kanäle entleeren. Sicherstellen, dass sich die Streifen während dieser Schritte nicht umdrehen.
7. 1,2 ml eines Anti-IgG-Konjugats (R3) in jeden Kanal geben. Die Wanne auf den Wippschüttler stellen. **Für 60 Min.** ± 5 Min. bei 20-26 °C inkubieren.
8. Waschschrift: Schritt 6 wiederholen.
9. 1,2 ml NBT/BCIP-Substrat (R5) in jeden der Kanäle geben. Auf den Wippschüttler stellen und vor direkter Lichteinstrahlung schützen. **Für 60 Min.** ± 5 Min. bei 20-26 °C inkubieren.

Unabhängig vom Parameter die Farbentwicklung überwachen. Die Entwicklung kann beendet werden, wenn die Hintergrundfarbe des Streifens so dunkel wird, dass Ablesen schwierig wird (die Qualität der Waschschriffe hat einen grundlegenden Einfluss auf die Einfärbung des Hintergrunds). Es muss beachtet werden, dass die Streifen beim Trocknen heller werden.

10. Die Reaktion wird durch Absaugen des Substrats mit einer Pasteurpipette oder Umdrehen der Inkubationswanne und Hinzufügen von 2 ml destillierten Wassers in die Kanäle gestoppt. Dieser letzte Waschschrift wird noch einmal wiederholt.
11. Trocknen der Streifen: Während die Kanäle noch mit Wasser gefüllt sind, werden die Streifen mit der Pinzette am nummerierten Ende herausgenommen und so, dass die Nummer sichtbar ist, auf Whatman Saugpapier gelegt. An der Luft trocknen lassen. Die Farbe der Streifen wird beim Trocknen natürlicherweise heller. Die Auswertung darf erst stattfinden, wenn die Trocknung abgeschlossen ist.
12. Lagerung: Die Streifen auf ein Blatt Papier legen, auf dem sie archiviert werden. Die Positionslinien ausrichten. Die Streifen werden mit dem flachen Lineal fixiert und oben an den Streifen transparentes Klebeband angebracht.

Für eine gute Auswertung müssen die Streifen nach Transfer und in ihrer numerischen Reihenfolge mit einem maximalen Abstand von ein paar Millimetern angeordnet sein. Der Vergleich von Streifen mit großem Abstand (z. B. Nr. 2 mit Nr. 15) ist unzuverlässig. **Es ist gefährlich** (aufgrund falscher Ergebnisse), Streifen aus verschiedenen Kits (mit verschiedenen Seriennummern) miteinander zu vergleichen.

## QUALITÄTSKONTROLLE UND AUSWERTUNG

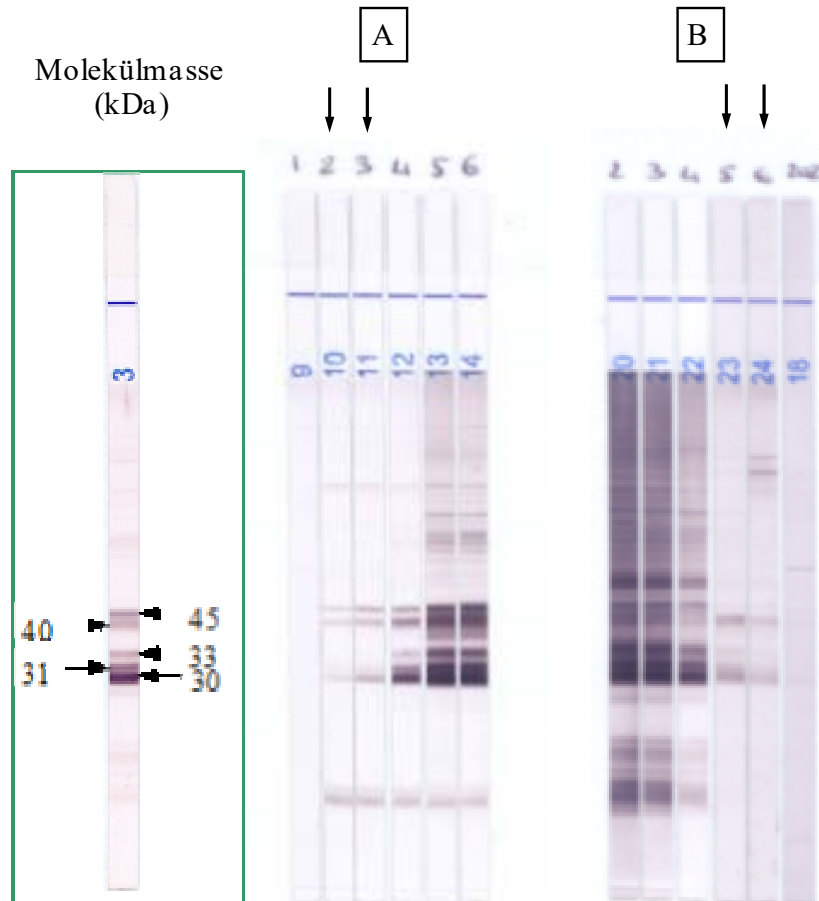
Die im Kit vorhandene Serumkontrolle (R10) muss systematisch in alle Immunoblotserien integriert werden. Sie zeigt das typische Profil und ermöglicht (1) die technische Validierung einer guten Testdurchführung (die Banden müssen auf dem Streifen sehr deutlich erscheinen) und (2) die präzise Kalibrierung der Position und Aspekte der spezifischen Banden für die Auswertung der Ergebnisse von Streifen desselben Transfers (gleiche Seriennummer).

Hinweis: Das Positivkontrollprofil (R10) kann je nach Chargennummer der verwendeten Reagenzien variieren. Entsprechende Bilder finden Sie beispielsweise auf unserer Website [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

### Beschreibung der Banden:

Eine positive Probe kann zahlreiche Banden zwischen 15 und 200 kDa (Kilodalton) aufweisen. Überprüfen jeder getesteten Probe auf Vorhandensein spezifischer Banden im Bereich 30-45 kDa mithilfe der oben beschriebenen Kalibrierungsinstrumente.

Diese gruppierten und gut isolierten Banden sind charakteristisch und leicht auffindbar.



**Abb. 1:** Beispiele positiver und negativer Ergebnisse

Die Profile sind als Beispiele angegeben. Die Streifen sind mit dem Buchstaben "K" gekennzeichnet, der für den Parameter der Charge "50016" steht.

### Auswertung:

Bei Vorhandensein von mindestens 3 Banden im Bereich der spezifischen Banden 30, 31, 33, 40, 45 und gleichzeitigem Vorhandensein des 30 kDa Bandes auf dem Streifen kann der Test als positiv betrachtet werden und auf das Vorhandensein von Anti- IgG *T. gondii* -Antikörpern in der geprüften Probe geschlossen werden.

**A: Beispiel einer Serokonversion.** Die Serumproben 2 und 3, die beim LDBIO-TOXO II IgG Test positiv ausfielen, lieferten beim Erkennungsverfahren (nachfolgend in der Leistungsanalyse als *ELISA 2 IgG bezeichnet*) ein negatives Ergebnis.

**B: Beispiel anhand der Nachsorge eines Neugeborenen.** Die Serumproben 5 und 6, die beim LDBIO-TOXO II IgG Test positiv ausfielen, lieferten beim Erkennungsverfahren *ELISA 2 IgG* ein negatives Ergebnis.

Anmerkung: Weitere Banden können beobachtet werden. Sie werden bei der Auswertung des Testes nicht berücksichtigt.

Zur Validierung der Ergebnisse muss immer das Profil des Immunoblots jeder Probe mit dem der positiven Kontrolle R10 verglichen werden. Die Aspekte der Banden sind für die Auswertung des Tests wichtig.

## ANWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Die Diagnose einer Infektionskrankheit kann nicht anhand eines einzigen Testergebnisses gestellt werden.
- Serologische Ergebnisse müssen gemäß den verfügbaren Informationen (z. B. Epidemiologie, klinische, Bildgebung, Biologie usw.) interpretiert werden, um eine Diagnose zu erstellen. Sie sollten nicht allein aufgrund ihrer Positivität als Grundlage für die Diagnose verwendet werden.

## LEISTUNG (siehe Literaturhinweise)

Die Bewertung wurde in einem Referenzlabor durchgeführt, das auf die Toxoplasmose-Diagnose spezialisiert ist.

Das Bewertungsprinzip bestand im Vergleich der Ergebnisse, die 529 Serumproben im Verfahren LDBIO-TOXO II IgG, beim DYE-TEST von Sabin und Feldman, in den beiden vermarkteten Erkennungsverfahren „ELISA 1 IgG“ und „ELISA 2 IgG“ lieferten, sowie im Vergleich der klinischen und biologischen Daten der Patienten.

- **Schwellenwerte der angewandten Verfahren:**

	NEGATIV	MEHRDEUTIG	POSITIV
DYE TEST (IE/ml)	<2	-	≥ 2
ELISA 1 (IE/ml)	<4	4 - 8	≥ 8
ELISA 2 (IE/ml)	<6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- **Statistische Analyse der Ergebnisse**

Wir haben die Sensitivitäts- und Spezifitätswerte ermittelt, soweit dies möglich war. Die Konfidenzintervalle werden nach der Wilson'schen Methode mit Kontinuitätskorrektur berechnet.

Die Korrelation der durch verschiedene Verfahren erzielten Ergebnisse wurde durch den CHI-2-Test von McNemar an paarweise angeordneten Reihen bewertet.

- **PATIENTEN**

Alle Analysen wurden an konservierten Serumproben durchgeführt, die bei - 20°C eingefroren waren. Die Proben stammten von 5 verschiedenen Patientengruppen.

### Gruppe I – Dye Test

Studie mit 200 Serumproben, die beim Toxoplasmose-Test von schwangeren Frauen entnommen und durch das Dye Test Verfahren untersucht wurden. Die Untergruppe „positiv“ entspricht 98 Serumproben, die sich im Dye Test als positiv erwiesen haben und von Frauen stammen, die gegen *T. gondii* immunisiert sind. Diese Untergruppe umfasste Serumproben, bei denen geringe IgG Werte im Dye Test nachgewiesen wurden (zwischen 2 und 32 IE/ml), damit die Sensitivität des LDBIO-TOXO II IgG im Vergleich mit den anderen Verfahren bewertet werden konnte. Die Untergruppe „negativ“ entsprach 102 Serumproben, die sich im Dye Test als negativ erwiesen haben und von schwangeren Frauen stammen, die gegen Toxoplasmose nicht immunisiert sind. Diese 200 Serumproben wurden parallel durch die Verfahren LDBIO-TOXO II IgG, ELISA 1 IgG und ELISA 2 IgG geprüft.

### Gruppe II - Serokonversionen

Es handelt sich hierbei um die retrospektive Analyse von 17 Serumsequenzen (101 Proben), die von Patientinnen stammen, die während ihrer Schwangerschaft eine Toxoplasmose-spezifische Serokonversion aufwiesen.

Jede sequentielle Reihe umfasst die letzte negative Serumprobe und anschließend 3 bis 5 Serumproben, anhand derer das Auftreten der spezifischen IgM und die Bildung der spezifischen IgG nachweisbar ist (ELISA 2 IgG).

### Gruppe III - Untersuchung nicht-infizierter Kinder

Hierbei handelt es sich um die retrospektive Analyse von 74 Proben, die 20 Sequenzen aus der postnatalen Nachsorge der Kinder von Müttern, welche während der Schwangerschaft eine Toxoplasma-spezifische

Serokonversion aufgewiesen haben, entsprechen. Durch das Verfahren *ELISA 2 IgG* konnte in jeder Sequenz von 2 bis 6 Serumproben der Rückgang des übertragenen mütterlichen IgG-Wertes bis zur Negativierung des serologischen Befundes (zwischen 5 und 13 Monaten) nachgewiesen werden.

#### Gruppe IV - Untersuchung infizierter Kinder

Hierbei handelt es sich um die retrospektive Analyse von 85 Proben, die aus der postnatalen Nachsorge von 30 Kindern mit einer kongenitalen Infektion stammen. Die serologische Untersuchung erfolgte durch das Verfahren *ELISA 2 IgG*.

#### Gruppe V - Sensitivität - Spezifität (Virale Infektionen und Malaria)

Studie anhand von 69 Serumproben von Patienten, die von viralen Infektionen oder von Malaria betroffen sind (Tabelle 1). Diese Proben wurden durch das Verfahren *ELISA 2 IgG* getestet. (Die Suche nach IgM-Antikörpern fiel bei allen Proben negativ aus.) Alle negativen Proben sowie die Proben mit widersprüchlichem Ergebnis wurden einem Dye Test unterzogen.

Infektionserreger (n=69)	ELISA 2 IgG POSITIV (n=44)	ELISA 2 IgG NEGATIV (n=25)
EBV (n=5)	0	5
VZV (n=3)	2	1
CMV (n=5)	2	3
HBV (n=9)	8	1
HAV (n=2)	0	2
HCV (n=10)	8	2
HIV (n=10)	6	4
MALARIA (n=25)	18	7

**Tabelle 1:** Verschiedene in der Studie getestete Infektionen

- Ergebnisse:

#### Gruppe I : Dye Test

	DYE TEST	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POSITIV	98	97	61	93
NEGATIV	102	103	114	107
MEHRDEUTIG	-	-	25	-
SPEZIFITÄT	-	100 %	100 %	100 %
SENSITIVITÄT	-	99 %	85 %	95 %

**Tabelle 2:** Korrelation des DYE TEST mit den 3 Verfahren. (Das Verfahren *ELISA 1 IgG* weist einen mehrdeutigen Bereich auf.)

- 4 negative Serumproben aus dem *ELISA 2 IgG* Verfahren erweisen sich im LDBIO-TOXO II IgG Test und im Dye Test als positiv.
- 11 negative Serumproben aus dem *ELISA 1 IgG* Verfahren erweisen sich im LDBIO-TOXO II IgG Test und im Dye Test als positiv.
- 25 Serumproben sind im *ELISA 1 IgG* Verfahren mehrdeutig: 24 Proben sind im LDBIO-TOXO II IgG Test und im Dye Test positiv, 1 Serumprobe ist im LDBIO-TOXO II IgG Test und im Dye Test negativ.



**Gruppe II : Serokonversionen**

		ELISA 2 IgG	
		POSITIV	NEGATIV
LDBIO TOXO II	POSITIV	70	10
	NEGATIV	0	21

**Tabelle 3:** Korrelation LDBIO-TOXO II IgG / ELISA 2 IgG anhand von 101 Serumproben mit Serokonversion.  $p=0,0016$

Bei 8 / 17 Serokonversionen (47%) werden die IgG Antikörper im LDBIO-TOXO II IgG Test früher erkannt.

**Gruppen III et IV: Nachsorge bei Neugeborenen**

		ELISA 2 IgG	
		POSITIV	NEGATIV
LDBIO TOXO II	POSITIV	130	18
	NEGATIV	0	11

**Tabelle 4:** Korrelation LDBIO-TOXO II IgG / TEST 2 IgG anhand von 159 postnatalen Serumproben.  $p<0,0001$

Gesunde Kinder: 13 Serumproben aus 10 / 20 postnatalen Untersuchungen (50 %) waren im *ELISA 2 IgG Verfahren* negativ, blieben im LDBIO-TOXO II IgG Test positiv, da dieser die übertragenen mütterlichen Antikörper nachweist, während das Verfahren *ELISA 2 IgG* diese nicht mehr erkennt.

Infizierte Kinder: 5 Serumproben von 3 Kindern liefern widersprüchliche Ergebnisse. Eine von ihnen weist im Verfahren *ELISA 2 IgG* eine vorübergehende Negativierung ihrer Serologie auf. Der Test LDBIO-TOXO II IgG bleibt positiv und bestätigt die Infektion des Kindes. Bei den 2 anderen Kindern ermittelt der LDBIO TOXO II IgG Test früher als das Verfahren *ELISA 2 IgG* ein positives Ergebnis.

Es ist jedoch nicht möglich, eine Neubildung von IgG Antikörpern nachzuweisen, da dieser Test nicht zwischen den übertragenen mütterlichen Antikörpern und den neugebildeten Antikörpern unterscheidet.

**Gruppe V : Sensitivität und Spezifität (Virale Infektionen und Malaria)**

		ELISA 2 IgG	
		POSITIV	NEGATIV
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POSITIV	42	2
	NEGATIV	2	23

**Tabelle 5:** Korrelation LDBIO-TOXO II IgG / DYE TEST / ELISA 2 IgG anhand von 69 Serumproben, die virale Infektionen oder eine Malaria-Infektion aufweisen.

Bei dieser Population beträgt die Übereinstimmung des LDBIO-TOXO II IgG Tests mit dem Dye Test 100 %: Diese Ergebnisse bestätigen die Spezifität und die Sensitivität des LDBIO-TOXO II IgG Tests.

Die Studie ermittelt vier widersprüchliche Ergebnisse im Verfahren *ELISA 2 IgG*, 2 falsch negative Ergebnisse (ein HIV und ein *P.falciparum*) und 2 falsch positive Ergebnisse (zwei *P.falciparum*), was die Wichtigkeit eines Bestätigungsverfahrens für alle Ergebnisse nahe am Schwellenwert hervorhebt.

- **SCHLUSSFOLGERUNG:**

**Gruppe I (Dye Test):**

Die Korrelation **LDBIO-TOXO II IgG** / Dye Test ist ausgezeichnet:

**Sensitivität Se = 99% [95CI 94 - 100%]**

**Spezifität Sp = 100% [95CI 95 - 100%]**

Der LDBIO-TOXO II IgG Test könnte zur Bestätigung des Immunstatus von Patienten dienen, die beim Erkennungstest ein mehrdeutiges Ergebnis oder einen geringen Antikörper-Wert aufweisen.

**Gruppe II (Serokonversionen):**

Die Sensitivität des LDBIO-TOXO II IgG Tests ist höher als die Sensitivität des Verfahrens *ELISA 2 IgG* ( $p=0,0016$ ). Der LDBIO-TOXO II IgG Test könnte frühzeitiger als das Verfahren *ELISA 2 IgG* eine Serokonversion bestätigen.

**Gruppen III und IV (Nachsorge bei Neugeborenen) :**

Die Sensitivität des LDBIO-TOXO II IgG Tests ist deutlich höher als die Sensitivität des Verfahrens *ELISA 2 IgG* ( $p=0,0001$ ).

Der LDBIO-TOXO II IgG Test könnte bei der Untersuchung von Kindern dazu dienen, die Negativierung der Serologie zu bestätigen oder zu widerlegen.

Jedoch ermöglicht der LDBIO-TOXO II IgG Test keine Unterscheidung zwischen den übertragenen mütterlichen Antikörpern und den durch das Kind neu gebildeten Antikörpern.

**Gruppe V (Virus- und Malaria-Infektionen):**

Die Korrelation LDBIO-TOXO II IgG / Dye Test ist ausgezeichnet (Sensitivität von 100 % [95CI 90-100%], Spezifität von 100 % [95CI 95-100%]).

Diese Ergebnisse beweisen die Notwendigkeit der Anwendung eines Bestätigungstests zur Kontrolle von Proben, die beim Erkennungstest ein Ergebnis nahe am Schwellenwert aufweisen.

Die ausgezeichnete Leistungsfähigkeit des LDBIO-TOXO II IgG Kits rechtfertigt seine Verwendung zur Bestätigung der in den IgG-Antikörper-Erkennungsverfahren ermittelten Ergebnisse (mehrdeutige Ergebnisse, schwach positive Ergebnisse oder schwer auszuwertende Ergebnisse).

**Reproduzierbarkeit:**

Es wurde die Reproduzierbarkeit zwischen Serien und Chargen geprüft. In beiden Fällen ist die Korrelation hinsichtlich der spezifischen Banden zwischen Sera sehr gut.

**Beeinträchtigung:**

Obwohl keine besondere Kreuzreaktion mit hämolysierten, ikterischen oder lipidischen Sera beobachtet wurde, wird empfohlen, die Ergebnisse der Verwendung solcher Proben aufmerksam zu beobachten.

**FEHLERBEHEBUNG**

**„Die Banden sind blass und weisen kaum Kontrast auf“:** Bestimmte Sera mit niedrigen Konzentrationen von Antikörpern können solche Ergebnisse zeigen.

**„Es sind schattierte Bereiche sichtbar, mehr oder weniger farbig, leicht diffus“:** Der Streifen wurde in eins der Reagenzien nicht vollständig eingetaucht und wurde nicht über seine gesamte Länge korrekt inkubiert. Es können auch Flecken an den Stellen vorhanden sein, an denen die Probe platziert wurde, wenn die Wanne anschließend nicht geschüttelt wurde.

**„Der Hintergrund ist dominant, wodurch das Ablesen sehr schwer wird“:** Die Waschungen waren unzureichend oder die letzte Inkubation zu lang. Gute Techniken zur Testleistung sicherstellen, die Waschzeiten einhalten und die Wasserqualität sicherstellen. Die Zeit der letzten Inkubation reduzieren. In Ausnahmefällen können bestimmte Sera unspezifisch reagieren. Dann ist das Ergebnis des Immunoblots unbrauchbar.

Dieser unspezifische, dominante Hintergrund kann nur einen Teil des Streifens betreffen und somit können nur hier die Ergebnisse nicht ausgewertet werden.

**„Während des letzten Entwicklungsschritts erscheint eine Ausfällung in der Lösung“:** das Substrat kann tatsächlich zum Ende der Entwicklung im Puffer teilweise ausfallen (schwarze Flocken). Dieses Phänomen verändert die Qualität der Entwicklung nicht, die normal fortgesetzt werden sollte. Die letzte Waschung mit destilliertem Wasser entfernt möglicherweise vorhandene feste Partikel.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Franch, Jacqueline, Yves Jean-François Garin, et Henri Dumon. « LDBio-Toxo II immunoglobulin G Western blot confirmatory test for anti-toxoplasma antibody detection ». *Journal of clinical microbiology* 46, n° 7 (juillet 2008): 2334-38. doi:10.1128/JCM.00182-08.
- Jost, C, F Touafek, A Fekkar, R Courtin, M Ribeiro, D Mazier, et L Paris. « Utility of immunoblotting for early diagnosis of toxoplasmosis seroconversion in pregnant women ». *Clinical and vaccine immunology: CVI* 18, n° 11 (novembre 2011): 1908-12. doi:10.1128/CVI.05303-11.
- Khammari, Imen, Fatma Saghrouni, Sami Lakhal, Aida Bouratbine, Moncef Ben Said, et Jalel Boukadida. « A New IgG Immunoblot Kit for Diagnosis of Toxoplasmosis in Pregnant Women ». *The Korean Journal of Parasitology* 52, n° 5 (22 octobre 2014): 493-99. doi:10.3347/kjp.2014.52.5.493.
- Khammari, Imen, Fatma Saghrouni, Alia Yaacoub, Sondoss Gaied Meksi, Hinda Ach, Lamia Garma, Akila Fathallah, et Moncef Ben Saïd. « IgG Western Blot for Confirmatory Diagnosis of Equivocal Cases of Toxoplasmosis by EIA-IgG and Fluorescent Antibody Test ». *The Korean Journal of Parasitology* 51, n° 4 (août 2013): 485-88. doi:10.3347/kjp.2013.51.4.485.
- Leslé, F, F Touafek, A Fekkar, D Mazier, et L Paris. « Discrepancies between a new highly sensitive *Toxoplasma gondii* ELISA assay and other reagents: interest of Toxo IgG Western blot ». *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 30, n° 10 (octobre 2011): 1207-12. doi:10.1007/s10096-011-1214-1.
- Maudry, A., G. Chene, R. Chatelain, B. Bellete, H. Patural, J. Hafid, H. Raberin, R. Tran Manh Sung, et P. Flori. « Expertise du nouveau test Access® TOXO-IgGII et comparaison avec trois autres techniques automatisées et la technique Western Blot LDBIO TOXO II IgG® ». *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 24, n° 1 (février 2009): 42-49. doi:10.1016/j.immbio.2008.11.004.
- Maudry, Arnaud, Gautier Chene, Rémi Chatelain, Hugues Patural, Bahrie Bellete, Bernard Tisseur, Jamal Hafid, et al. « Bicentric evaluation of six anti-toxoplasma immunoglobulin G (IgG) automated immunoassays and comparison to the Toxo II IgG Western blot ». *Clinical and vaccine immunology: CVI* 16, n° 9 (septembre 2009): 1322-26. doi:10.1128/CVI.00128-09.
- Robert-Gangneux, F., et M.-L. Darde. « Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis ». *Clinical Microbiology Reviews* 25, n° 2 (1 avril 2012): 264-96. doi:10.1128/CMR.05013-11.
- Villard, O., B. Cimon, C. L'Ollivier, H. Fricker-Hidalgo, N. Godineau, S. Houze, L. Paris, H. Pelloux, I. Villena, et E. Candolfi. « Serological Diagnosis of *Toxoplasma Gondii* Infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 18 septembre 2015. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.09.009.

### UPDATE-BENACHRICHTIGUNG - bitte sorgfältig lesen

VERÖFFENTLICHUNGSDATUM	VERSION	SÄNDERUNGS-ZUSAMMENFASSUNG
09/08/2021	Vs 12	Beseitigung der Sicherheitswarnung R5 - Kontakt-E-Mail-Adresse – EUH 032 (NaN3)
30/11/2022	Vs13	Neue Adresse
22/12/2022	Vs14	R6 ohne NaN3. Streifen mit Buchstabe gekennzeichnet. Möglicherweise Verwendung von Reagenzien aus verschiedenen Chargen.



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](http://www.ldbiodiagnostics.com) – [info@ldbiodiag.com](mailto:info@ldbiodiag.com)