

**LDBIO TOXO II IgG** CE0459



**CONFIRMATION**

In vitro diagnosztika Immunoblot vizsgálat  
Félautomatizált / manuális technika

#TOXO II 24G: 24 vizsgálatra

#TOXO II 12G: 12 vizsgálatra

#TOXO II 96G: 96 vizsgálatra

## HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

További információt és használati utasítást az Ön nyelvén a  
[www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

## RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

Az **LDBIO TOXO II IgG** a szerológiai IgG diagnózis egyszer használatos kvalitatív tesztje a toxoplazmózis Immunoblot Assay segítségével, amely klasszikus szűrővizsgálatokkal kapott pozitív vagy kétes eredmény megerősítő vizsgálatára szolgál. Szérum, cerebrospinális folyadék (CSF), vagy csarnokvíz használható mintaként

## A VIZSGÁLAT ELVE

### Western Blot technika

A *Toxoplasma gondii* antigéneket elektroforézis segítségével elkülönítik úgy, hogy az elektroblottolás során a 24 részre vágható (1-24-ig elnevezett) nitrocellulóz membrán (más néven transzfer) felszínéhez kötődik.

### A vizsgálat lefolytatása

Minden egyes beteganyagot külön tesztcsíkon vizsgálunk. A mintában potenciálisan jelen lévő specifikus ellenanyagok szelektív módon kapcsolódnak az antigénekhez. Az alkalikus-foszfátáz anti-humán IgG konjugátum azután kötődik magához a kikötődött ellenanyagokhoz. Végezeül, az immunkomplexek reakcióba lépnek a szubsztráttal. Az antigéneket felismert mintában jelen lévő IgG specifikus ellenanyagok a tesztcsíkon lila transzverzális sávokként jelennek meg.

## A KIT ÁLTAL BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

Alapértelmezés: 24 vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#TOXO II-WB24G)

dőlt: 12 vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#TOXO II-WB12G) félkövér: 96 vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#TOXO II-WB24G).

Azonosító	Mennyiség	Leírás	Összetétel
R1	1	24 TESZTCSÍKOT tartalmazó csomag (12, <b>4x24</b> ): előre bemetszett és színes standardokkal (Mindegyik csomag és mindegyik transzfer egyedi gyártási számmal ellátott)	Érzékenyített nitrocellulóz. Színes Molekuláris súlymarkerek (kDa): Kék: 250, kék: 150, kék: 100, rózsaszín: 75, kék: 50, zöld: 37, rózsaszín: 25, kék: 20, kék: 15.
R2	1	30ml-es (30, <b>125</b> ) MINTA PUFFER (Használatra kész – rózsaszín oldat).	Puffer + felületaktív anyag + NaN <sub>3</sub> (<0.1%).
R3	1	30ml-es (30, <b>2x60</b> ) ANTI IgG KONJUGÁTUM (Használatra kész – kék oldat).	Puffer + anti-humán IgG poliklonális kecske szérum alkalikus-foszfátázzal konjugáltatva + NaN <sub>3</sub> (<0.1%) + stabilizátorok
R5	1	30ml-es (30, <b>125</b> ) SZUBSZTRÁT (Használatra kész – barna oldat).	Puffer + NBT + BCIP + stabilizátorok
R6	1	60ml-es (60, <b>250</b> ) <i>MOSÓ KONCENTRÁTUM</i> 10X PUFFER (Desztillált vízben 10-szeresre kell hígítani – színtelen oldat).	Puffer + felületaktív anyag
R10	1	100μl mennyiségű (100, <b>2x100</b> ) of POZITÍV KONTROL SZÉRUM (Használatra kész – piros kupak)	Puffer + poolozott humán toxoplazmózis pozitív szérum + NaN <sub>3</sub> (<0.1%) + stabilizátorok

**R1:** Az egyes szalagszámok előtti betű a paraméterre jellemző.

**Az R2, R3, R5 és R6** azonosítójú reagensek az összes kithoz általánosak és egyedi gyártási számmal ellátottak, mely csak a gyártási időpontjuktól függ. Ajánlott többparaméteres vizsgálatot végezni (lásd az LDBIO immunoblot tartományt) a kinyitott ampullák számának korlátozása és a jobb minőség-ellenőrzés biztosítása érdekében.

Az **R10**-t immunoblotban kalibrálják egy referencia tétel szerint, és csak erre a technikára szolgál.

R3, R10 (NaN<sub>3</sub>): EUH 032 - Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

EUH 210 Kérésre biztonsági adatlap kapható valamint a [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) weboldalon.

## A KIT ÁLTAL NEM BIZTOSÍTOTT, DE SZÜKSÉGES REAGENSEK ÉS ANYAGOK

- Többcsatornás polipropilén inkubációs tálcák a mini-blottokhoz (#WBPP-08 vagy ezzel megegyező).
- Keverő/rázató laboratóriumi eszköz az immunoblottokhoz, a folyadékokhoz szükséges vákumrendszer (#WBPP-08 csövek, melyek egyszerűen elforgatással üríthetőek).
- A mintákhoz szükséges csövek és további műanyagárúk, szakszerű cilinderek, és felfogó tartályok. Automatikus pipetták, mikropipetták és eldobható, egyszer használatos hegyek (10µl, 25µl, 1.2 ml és 2 ml térfogatúak).
- Desztillált vagy ionmentesített víz. Abszorbens papír (például Whatman szűrőlapok), átlátszó ragasztószalag.
- Kesztyű, csipeszek a tesztcsíkok kezeléséhez, vágóeszköz vagy szike, lapos átlátszó vonalzó.

**Megjegyzés:** A reagenseink automatizált immunoblot processzorokban használhatóak. **Amennyiben másik gyártó reagenseivel működtetik a processzort, úgy figyeljen az ebből adódó lehetséges kémiai kontamináció (ismert példa: TWEEN 20 oldattal történő szennyezés) és bakteriális kontamináció elkerülésére.** Tartsa az injekciós üvegeket a processzorhoz. A vizsgálati folyamatot követően, ne tegye vissza a felhasznált reagenseket az eredeti injekciós üvegbe.

## TÁROLÁS ES STABILITÁS

2-8°C között tárolandó. A kitben lévő reagensek a külső dobozon és a csöveken feltüntetett lejárati ideig stabilak. Ne használjon szennyezett vagy zavaros reagenseket. A mosó puffer 1/10-es hígítása 2 hónapig stabil +2 és +8°C közötti hőmérsékleten és egy hétig szobahőmérsékleten.

## ÓVINTÉZKEDÉSEK

### Biztonság

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai célú felhasználásra. Csak professzionális használatra. Csak műszakilag képzett személyzet számára. Kezelje a Jó Laboratóriumi Gyakorlatnak (GLP) megfelelően és tekintse a reagenseket és bármely mintát potenciálisan fertőzőnek és/vagy toxikusnak.
- Viseljen laboratóriumi köpenyt, gumikesztyűt és védőszemüveget; ne egyen, ne igyon és ne dohányozzon a laboratóriumban. Ne pipettázzon szájjal.
- A pozitív kontroll egy emberi eredetű szérum, amelyet inaktiváltak HIV 1 és 2, hepatitis B és hepatitis C vírusok ellen. Bár továbbra is potenciálisan fertőzőtt terméknek kell tekinteni.
- NBT és BCIP keveréket tartalmaz a szubsztrát, bőrrel való és nyálkahártyán keresztüli érintkezés, valamint belégzés során toxikus.
- A reagensek nátrium-azidot tartalmaznak, mely ólommal és rézzel robbanékony fém sókat képezhetnek. A kiömlött anyagot öblítse le vízzel.
- A kidobandó hulladékot (minták, pipettahegyek, csövek, mosófolyadék, felhasznált reagensek...) a munkahelyi szabályozásoknak és az országban érvényes előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Minden súlyos eseményről nyilatkozatot kell benyújtani a gyártónak és az illetékes hatóságnak.

### Óvintézkedések

- Olvassa el és értelmezze az eredményeket közvetlen fehér fény alatt.
- Célszerű az összes reagenseket ugyanabból a tételből használni. Különböző tételek használata esetén biztosítani kell a nyomon követhetőséget.
- Használja a tesztcsíkokat a számozott sorrendben. Ne keverje a különböző gyártási számú tesztcsíkokat, használja a transzfereket egymás után. A vizsgálat előtt hozzon létre egy speciális beállítási munkatervet.
- Ne érjen a tesztcsíkokhoz az ujjaival, használjon csipeszt a kezelésükhöz.
- A reagenseket használatuk előtt alaposan össze kell keverni, különösen a koncentrált mosópuffert.
- Használat után zárja be a flaskskákat, ne használja, ha egy anyag véletlenül bekerült a reagensbe. Ne használjon reagenst olyan injekciós flaskskából, amely a szívárgás jeleit mutatja. Ne használja a zavaros vagy kicsapódott oldatot.
- Használjon kizárólag eldobható, egyszer használatos pipettahegyeket. Kerülje a csatornák közötti kontaminációt. Ügyeljen arra, hogy ne keletkezzen a pipettahegyek végeiben hab vagy buborék (a reagens flaskskák bakteriális kontaminációja).
- Az ikbuációs tálcákat csak desztillált vízzel tisztítsa (soha ne használjon detergenset vagy hipót).
- A minta kihagyása vagy a minta nem megfelelő térfogata negatívvá vagy pozitívvá teheti a vizsgálat eredményét, függetlenül annak tényleges állapotától.

### MINTAVÉTEL

Aszeptikus körülmények között a mintákat száraz csövekbe gyűjtjük. Minimum 10 µL szérum, csarnokvíz, vagy CSF szükséges. Csarnokvíz, vagy CSF esetén 25 µL használata növeli a teszt érzékenységét.

Tartsa a mintákat feldolgozásukig 2-8°C közötti hőmérsékleten. Ha szükséges a minták tárolása több mint egy héten át, akkor fagyassza a mintákat -20 ± 5°-os hőmérsékleten. Ne használja a kontaminálódott mintákat. Kerülje a minták ismétlődő olvasztását fagyasztását.

Habar a hemolizált, ikterikus vagy lipides szérumok esetében nem tapasztaltunk különös keresztreakciót, ajánlatos az ilyen minták feldolgozásakor a kapott eredményeket körültekintően értelmezni.

### REAGENSEK ELŐKÉSZÍTÉSE

**Mosó puffer:** 4 vizsgálatra elegendő mennyiséghez egy tiszta csőben higítsa meg a 10X Mosó Koncentrátumot (R6) úgy, hogy 10ml-jét 90ml desztillált vagy ionmentes vízhez adja. Óvatosan keverje össze a hígított puffert.

## VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

*Nota Bene:* Ajánlott többparaméteres vizsgálatot végezni (lásd az LDBIO immunoblot tartományt) a kinyitott ampullák számának korlátozása és a jobb minőség-ellenőrzés biztosítása érdekében.

1. Készítse el a minták és a pozitív kontroll (C+; **R10**) beállítási tervét.

Kizárólag ezen kontroll felhasználásával lehet technikailag validálni a vizsgálatot, és az adott sorozatszám alapján azonosítani kell a kialakuló konkrét sávokat. A pozitív kontroll (C+) tesztcsík nem használható arra, hogy egy másik sorozatszámú blotból származó tesztcsíkok eredményeit kiértékelje.

2. Vágja le a szükséges számú tesztcsíkot (**R1**) szike és tiszta és száraz, lapos átlátszó vonalzó segítségével, a kék pozicionáló vonalakat hagyja meg a tesztcsíkokon. A tesztcsíkokra nyomja rá szorosan a vonalzót és vágja le a tesztcsík oldala mentét a csíkokat (a számok a vonalzón keresztül láthatóak).
3. Az elkészített beállítási tervnek megfelelően a mintatartó tálca egyes csatornáiba osszon el 1,2 ml minta puffert (**R2**).
4. A számozási sorrendnek megfelelően helyezze el a tesztcsíkokat a mintatartó tálca csatornáiba úgy, hogy a tesztcsíkok tetején látható számok felfelé álljanak: Hagyja, hogy a tesztcsíkok felülete körülbelül 2 percig rehidratálódjon a minta pufferben, majd óvatosan ütögessen meg a tálcát, hogy teljesen elmerüljenek a pufferben.
5. A minták és a pozitív kontroll kiosztása: a beállítási munkaterv alapján a mintákból és a kontrollból a megfelelő helyekre 10µl-t mérjünk a mintatartó tálca csatornáiba (csarnokvíz, vagy CSF esetén előnyösebb a 25 µL). Minden bemérésnél alaposan ütögessen meg a tálcát. Az utolsó bemérést követően a tesztcsík tároló tálcát helyezze egy keverő/rázató berendezésre. Helyezze a tálcát rázó inkubátorra : **Inkubálja 90±5 percig**, 20-26°C közötti hőmérsékleten.
6. Mosási lépés: Üritse ki a csatornák tartalmát vagy Pasteur pipetta segítségével vagy pedig az inkubációs tálca felfordításával. A tálca egyes csatornáiba 2-3ml hígított mosópuffert pipettázzon. Inkubálja a keverő/rázató eszközön a tesztcsíkokat 3 percig. Ismétlje meg az előző folyamatot kétszer, majd ürítse ki a csatornák tartalmait. Bizonyosodjon meg affelől, hogy a tesztcsíkok nem fordultak meg ezen lépések alatt.
7. Adjon 1,2ml anti-IgG konjugátumot (**R3**) minden egyes csatornába. Helyezze a tálcát a keverő/rázató eszközre. **Inkubálja 60±5 percig**, 20-26°C közötti hőmérsékleten.
8. Mosási lépés: Ismétlje meg a 6. lépést.
9. Adjon 1,2 ml NBT/BCIP szubsztrát keveréket (**R5**) minden egyes csatornához. Helyezze a tálcát a keverő/rázató eszközre és most már védje meg a tesztcsíkokat a közvetlen napfénytől. Majd így **inkubálja 60±5 percig**, 20-26°C közötti hőmérsékleten a csíkokat.

Az inkubációs paramétertől függetlenül folyamatosan figyelje a szín fejlődését. A színfejlődés leállítható, ha a tesztcsík háttérszíne sötétebbé válik, ami megnehezíti a leolvasást (a mosási lépések minősége alapvetően befolyásolja a háttérszínt). Ne feledje, hogy a tesztcsíkok kivilágosodnak, ha megszáradtak.

10. Állítsa le a reakciót a szubsztrát vagy Pasteur pipettával történő leszívásával vagy az inkubációs kád felfordításával, majd 2ml desztillált vizet adjon minden egyes csatornába. Ismétlje meg ezt az utolsó mosási lépést még egyszer.
11. Tesztcsíkok megszáritása: A még vízzel telített csatornákból vegye ki csipesz segítségével a tesztcsíkokat, majd jól látható módon, a számozott végükkel helyezze el Whatman abszorbens szűrőpapírra. Hagyja megszáradni a tesztcsíkokat a levegőn.
12. Tárolás: Tegye át a megszáradt tesztcsíkokat egy papírlapra, amit az archiváláshoz fog használni. Igazítsa a tesztcsíkokat a pozicionáló vonalak egymáshoz illesztésével. Tartsa tesztcsíkokat a lapos vonalzó segítségével ebben a helyzetben, majd átlátszó ragasztószalaggal ragassza a tesztcsíkokat a laphoz a felső részüknél fogva.

A megfelelő kiértékelés érdekében, a tesztcsíkokat a számsorrendben kell egymáshoz igazítani, egymástól legfeljebb néhány milliméter távolságra. Az egymástól távol eső tesztcsíkok összehasonlítása nem megbízható a kiértékelés során (például 2. a 15. tesztcsíkhhoz képest). **Nagyon kerülendő** (fals eredményt eredményez) azon tesztcsíkok összehasonlítása, melyek különböző kitekből (tesztcsíkok eltérő gyártási számúak) származnak.

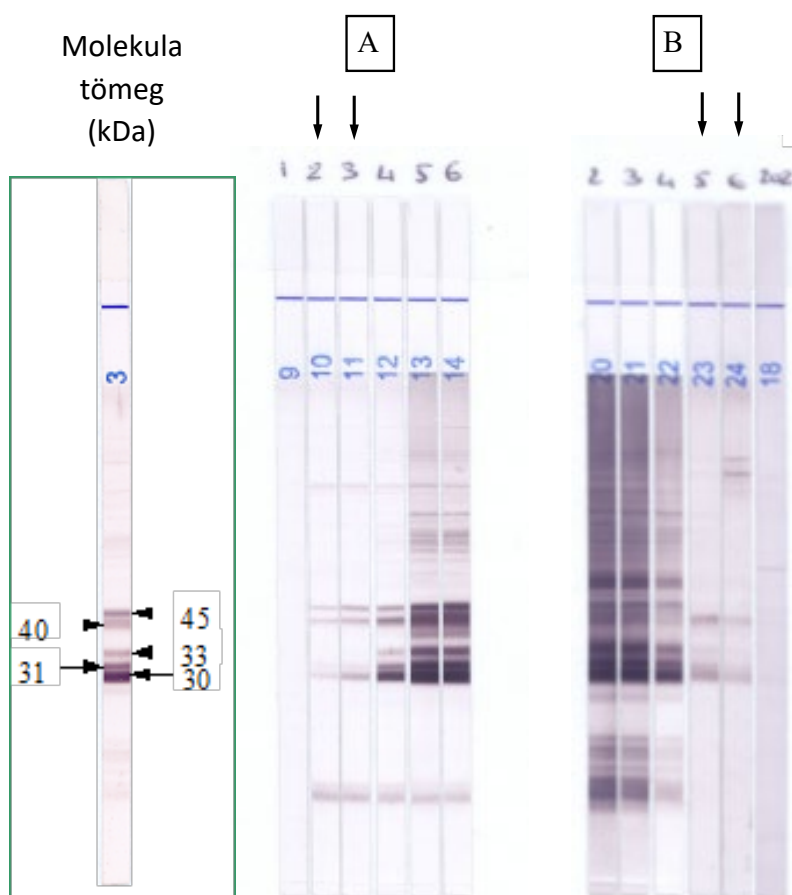
## MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS ÉS KIÉRTÉKELÉS

A kithoz biztosított szérum kontrollt (R10) szisztematikusan be kell állítani minden immunoblot vizsgálatkor. Megmutatja a tipikus profilt és lehetővé teszi a vizsgálat megfelelő lefolyásának technikai validálását (a tesztcsíkon a sávoknak nagyon tisztán olvashatónak kell lenniük), és bekalibrálja pontosan a pozíciót és a specifikus sávokat, így lehetővé téve a tesztcsíkok eredményeinek kiértékelését a hasonló transzferhez (hasonló gyártási számú) képest.

*Nota Bene:* A pozitív kontroll (R10) profilja az alkalmazott reagensek tételszámától függően változhat. A megfelelő képek a [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) weboldalon találhatóak példaként.

### A sávok jellemzői

Egy pozitív minta számos sávot mutathat, amelyek 15 és 200 000 kilodalton (kDa) között helyezkednek el. Keresse meg a 30-45 kDa-os területen specifikus sávok jelenlétét minden vizsgált mintánál a fent leírt kalibrációs eszközökkel. Ezek a csoportosított és jól elkülönített sávok tipikusak, és általában nagyon könnyen megtalálhatók.



1. ábra: Példák pozitív és negatív eredményekre

A profilokat példaként adjuk meg. A csíkok az „50016” tétel paraméterére jellemző „K” betűvel vannak jelölve.

## Értelmezés

A 30., 31., 33., 40. és 45. specifikus sávból legalább 3 sáv jelenléte a csíkon, valamint a 30 kDa-os sáv beépítése lehetővé teszi, hogy a vizsgálat pozitívként értelmezhető, és arra a következtetésre juthasson, hogy az anti-*T. gondii* IgG antitestek vannak jelen a vizsgált mintában.

- **A: szerokonverziós példa.** Az LDBIO TOXO II IgG-vel pozitív 2-es és 3-as szérum negatív volt a szűrési technikával (a teljesítményvizsgálatban alább ELISA 2 IgG néven).
- **B: példa az újszülöttek monitorozására.** Az LDBIO TOXO II IgG-vel pozitív 5-ös és 6-os szérum negatív volt az ELISA 2 IgG szűrési technikával.

*Megjegyzés:* Más sávok is észlelhetőek lehetnek. Ezeket nem kell figyelembe venni a kiértékeléskor.

*Az eredmények validálásához mindig hasonlítsa össze az egyes minták immunoblotjának profilját az R10 pozitív kontroll profiljával. A sávok megjelenése, helyzete fontos a vizsgálat kiértékelésekor.*

## A KIT KORLÁTAI

- A fertőző betegség diagnózisát egyetlen vizsgálati eredmény alapján nem lehet felállítani.
- A szerológiai eredményeket az elérhető információkkal (például járványügyi, klinikai, képalkotói, biológiai stb.) együtt kell értelmezni és a diagnózist felállítani. Ezek nem használhatók a diagnózis alapjául pusztán a pozitivitásuk alapján.

## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (lásd az irodalmi hivatkozásokat)

Az értékelést a toxoplazmózis diagnosztizálására szakosodott referencialaboratóriumban végezték.

Az értékelés alapelve az LDBIO-TOXO II IgG technikával kapott 529 szérum, a Sabin és Feldman's Dye Testtel kapott eredmények, valamint a két forgalomba hozott szűrési technika, az „ELISA 1 IgG” és az „ELISA 2 IgG” összehasonlításából állt, valamint a betegek klinikai és biológiai adatait vették figyelembe.

- **Az alkalmazott technikák küszöbértéke**

	NEGATÍV	NEM EGYÉRTELMEŰ	POZITÍV
DYE TEST (IU/mL)	< 2	-	≥ 2
ELISA 1 (IU/mL)	< 4	4 - 8	≥ 8
ELISA 2 (IU/mL)	< 6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- **Az eredmények statisztikai elemzése**

Lehetőség szerint meghatároztuk az érzékenységi és specificitási értékeket. A konfidencia intervallumokat a Wilson-féle módszer szerint számítják ki, folytonossági korrekcióval. A különböző technikákkal talált eredmények közötti korrelációt McNemar CHI-2 tesztjével értékelték össze illesztett sorozatokon.

- **Betegminták**

Az összes elemzést -20 °C-on fagyasztva tárolt szérumokon végeztük. A minták 5 különböző betegcsoportból származnak.

### I. csoport – Festékteszt

200 olyan szérum vizsgálata, amelyet a toxoplazmózis szűrése során nyertek terhes nőknél, és a festékteszttel tesztelték. A „pozitív” alcsoport a *T. gondii* ellen immunizált nők 98 szérumának felel meg, amelyek a festékteszttel pozitívak. Ebbe az alcsoportba mérsékelt IgG-titerű szérumok tartoztak a Dye Testtel (2-32 IU/ml), hogy teszteljék az LDBIO TOXO II IgG érzékenységét a többi technikával szemben. A „negatív” alcsoport 102 szérumnak felelt meg, amelyek negatívak a festékteszttel, olyan terhes nőktől, akik nem immunizáltak

toxoplazmózis ellen. Ezt a 200 szérumot párhuzamosan teszteltük az LBDIO-TOXO II IgG, ELISA 1 IgG és ELISA 2 IgG technikákkal.

## II. csoport – Szerokonverziók

Ez 17 szérumszekvencia (101 minta) retrospektív elemzése olyan betegektől, akiknél terhességük alatt toxoplazmózis szerokonverziót mutattak be.

Minden egymást követő sorozat tartalmazza az utolsó negatív szérumot, majd egy 3-5 szérumból álló sorozatot, amely a specifikus IgM-ek megjelenését és a specifikus IgG-k szintézisét mutatja (ELISA 2 IgG).

## III. csoport – Nem fertőzött gyermekek monitorozása

Ez egy 74 minta retrospektív elemzése, amelyek megfelelnek a terhesség alatt a toxoplazmózis szerokonverzióját mutató anyák gyermekeinek születés utáni monitorozásának 20 szekvenciájának. Minden 2-6 szérumból álló szekvencia az átvitt anyai IgG-k titerének csökkenését mutatja addig, amíg a szerológia negatív lett az ELISA 2 IgG technikával (5 és 13 hónap között).

## IV. csoport – A fertőzött gyermekek monitorozása

Ez 30 veleszületett fertőzésben szenvedő gyermek szülés utáni megfigyeléséből származó 85 minta retrospektív elemzése. A szerológiai monitorozást ELISA 2 IgG-vel végeztük.

## V. csoport – Érzékenység – Specifitás (malária és vírusfertőzések)

Maláriában vagy vírusfertőzésben szenvedő betegek 69 szérumának vizsgálata (1. táblázat). Ezeket a mintákat ELISA 2 IgG-vel tesztelték (Mindegyik negatív volt az IgM-szűrés során). Az összes negatív és ellentmondásos eredményt a festékteszttel teszteltük.

Fertőző ágens (n = 69)	POZITÍV ELISA 2 IgG (n = 44)	NEGATÍV ELISA 2 IgG (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

- **1. táblázat:** A vizsgálatban tesztelt különböző fertőzések

### Eredmények

#### I. csoport – Festékteszt

	DYE TEST	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POZITÍV	98	97	61	93
NEGATÍV	102	103	114	107
NEM EGYÉRTELMŰ	-	-	25	-
SPECIFICITÁS	-	100%	100%	100%
ÉRZÉKENYSÉG	-	99%	85%	95%

- **2. táblázat:** A festékteszt korrelációja a 3 technikával. Az ELISA 1 IgG technika kétértelmű területet mutat

- 4 negatív ELISA 2 IgG szérum pozitív az LDBIO TOXO II IgG és festék teszttel
- 11 negatív ELISA 1 IgG szérum pozitív az LDBIO TOXO II IgG és festék teszttel
- 25 ELISA 1 IgG szérum kétértelmű: 24 pozitív az LDBIO TOXO II IgG és festék teszttel, és 1 szérum negatív az LDBIO TOXO II IgG és festék teszttel



## II. csoport – Szerokonverziók

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍV	NEGATÍV
LDBIO TOXO II IgG	POZITÍV	70	10
	NEGATÍV	0	21

**3. táblázat:** LDBIO-TOXO II IgG/ELISA 2 IgG korreláció 101 szerokonverziós szérum között.  $p = 0,0016$

8/17 szerokonverzió esetén (47%) az IgG-ket korábban LDBIO-TOXO II IgG teszttel szűrték.

## III. és IV. csoport: Újszülöttek monitorozása

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍV	NEGATÍV
LDBIO TOXO II IgG	POZITÍV	130	18
	NEGATÍV	0	11

**4. táblázat:** Az LDBIO-TOXO II IgG/TEST 2 IgG korrelációja 159 szérumban posztnatális monitorozásból.  $p < 0,0001$

Nem fertőzött gyermekek: 13 szérum, ami 10/20 posztnatális monitorozási esetnek felel meg (50%), ELISA 2 IgG-vel negatív, LDBIO TOXO II IgG-vel pozitív marad, amely felfedi a továbbított anyai antitesteket, míg az ELISA 2 IgG technika már nem észleli őket.

Fertőzött gyermekek: 3 gyermeknek megfelelő 5 szérum nem egyeztethető össze. Az egyik azt mutatja, hogy a szerológiai eredménye átmenetileg negatív ELISA 2 IgG-vel. Az LDBIO TOXO II IgG teszt pozitív marad, ami megerősíti a fertőzést. A másik 2 gyermek esetében az LDBIO TOXO II IgG teszt korábban pozitív eredményt mutat, mint az ELISA 2 IgG.

Mindazonáltal lehetetlen megerősíteni az IgG neoszintézisét, mivel ez a teszt nem különbözteti meg a továbbított anyai antitesteket az újonnan szintetizált antitestektől.

## V. csoport: érzékenység és specifitás (malária és vírusfertőzések)

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍV	NEGATÍV
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POZITÍV	42	2
	NEGATÍV	2	23

**5. táblázat:** LDBIO-TOXO II IgG/FESTÉKTESZT/ELISA 2 IgG korreláció 69 malária vagy vírusfertőzés szérumával.

Ebben a populációban 100%-os megegyezés van az LDBIO-TOXO II IgG és a festékteszt között: ezek az eredmények megerősítik az LDBIO-TOXO II IgG teszt specifitását és érzékenységét.

A tanulmány 4 ellentmondó eredményt tár fel az ELISA 2 IgG technikával, 2 hamis negatívot (1 HIV és 1 *P. falciparum*) és 2 hamis pozitív eredményt (2 *P. falciparum*), hangsúlyozva a megerősítő technika hasznosságát minden közeli eredmény esetében. a küszöbig.

### • Következtetés

#### I. csoport – Festékteszt

Az LDBIO-TOXO II IgG/festék teszt korrelációja kiváló.

**Érzékenység = 99% [95CI 94-100%]**

**Specifitás = 100% [95CI 95 - 100%]**

**Az LDBIO-TOXO II IgG** megerősítheti azon betegek immunállapotát, akiknél a szűrés során kétértelmű eredményt vagy alacsony antitesttitert mutattak be.

## II. csoport – Szerokonverziók

Az LDBIO TOXO II IgG érzékenysége nagyobb, mint az ELISA 2 IgG-é ( $p = 0,0016$ ). Az LDBIO TOXO II IgG korábban megerősítheti a szerokonverziót, mint az ELISA 2 IgG.

## III. és IV. csoport: Újszülöttek monitorozása

Az LDBIO TOXO IgG érzékenysége sokkal nagyobb, mint az ELISA 2 IgG-é ( $p < 0,0001$ ). Gyermek monitorozása során az LDBIO TOXO II IgG használható a negatív szerológiai eredmények megerősítésére vagy félretételére.

Ennek ellenére az LDBIO TOXO II IgG nem különbözteti meg a továbbított anyai antitesteket a gyermek által újonnan szintetizált antitestektől.

## V. csoport (malária és vírusfertőzés.)

Az LDBIO TOXO II IgG/Dye Test korrelációja kiváló (100%-os érzékenység [95CI 90-100%] és 100%-os specificitás [95CI 95-100%]).

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy megerősítő vizsgálatot kell alkalmazni azon minták tesztelésére, amelyek a szűrés során a küszöbhez közeli eredményt mutatnak.

Az LDBIO TOXO II IgG készlet kiváló teljesítménye indokolja annak használatát az IgG szűrési technikákkal kapott eredmények megerősítésére (kétértelmű, enyhén pozitív vagy értelmezési problémákat okozó eredmények).

## Reprodukálhatóság

Megvizsgálták a sorozatok közötti és a lot-ok közötti reprodukálhatóságot. Mindkét esetben, a szérum-szérum korreláció a specifikus sávok vonatkozásában kiválóan bizonyult.

## Interferencia

A hemolizált, ikterikus vagy lipides szérumok esetében nem tapasztaltunk különös keresztreakciót, ajánlatos az ilyen minták feldolgozásakor a kapott eredményeket körültekintően értelmezni.

## HIBAELHÁRÍTÁS

**"A sávok kevésbé kontrasztosak"**: Bizonyos alacsony ellenanyagtartalmú szérumok ilyen eredményeket adhatnak.

**"Árnyékolt területek láthatók, többé-kevésbé színesek, egyhén diffúzak"**: A tesztcsík nem volt teljesen egyik reagensbe alámerítve és nem volt a leírtaknak megfelelően (teljes időhossz) inkubálva. Foltok megjelenhetnek ott is, ahol a minta rá lett téve a tesztcsíkra, ha a tálca nem volt rázatva a reagensek adagolását követően.

**"A háttérzaj nagyon jelentős, így a tesztcsík leolvasása nagyon nehézkes"**: A mosás elégtelen volt, vagy az utolsó inkubáció túl sokáig tartott. Ügyeljen a vizsgálat megfelelően történő kivitelezésére, tartsa be a mosási időket, és biztosítsa a víz minőségét. Csökkentse le az utolsó inkubáció idejét.

Kivételes esetben, bizonyos szérumok nem specifikus módon reagálhatnak. A háttér festés néha úgy nézhet ki, mint egy csík (Mikado aspekt, ld. 1. ábra, 7. csík), mely a leolvasást nagyon nehézvé teszi. Ebben az esetben az immunoblot eredménye nem használható.

Ez a nem-specifikus háttérzaj magába foglalhatja a tesztcsík egy részét, így az eredmények az adott terület számára értelmezhetetlenek.

**"A színfejlődési utolsó lépésben az oldatban csapadék jelenik meg"**: a szubsztrát valójában részlegesen kicsapódik (fekete pelyhek) a pufferben a színfejlődés végén. Ez a jelenség nem változtatja meg a színfejlődés minőségét, melyet szükséges tovább folytatni. Az utolsó desztillált vizes mosás eltávolítja ezen szilárd részecskéket.

## BIBLIOGRÁFIA

- Franck J, Garin Y, et Dumon H. « 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, Touafek F, Fekkar A, Courtin R, Ribeiro M, Mazier D, et Paris L. « 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 I, Saghrouni F, Lakhal S, Bouratbine A, Ben Said M, et Boukadida J. « 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 I, Saghrouni F, Yaacoub A, Gaied Meksi S, Ach H, Garma L, Fathallah A, et Ben Saïd M. « 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, Touafek F, Fekkar A, Mazier D, et Paris L. « 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, Chene G, Chatelain R, Bellele B, Patural H, Hafid J, Raberin H, Tran Manh Sung R, et Flori P. « 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 A, Chene G, Chatelain R, Patural H, Bellele B, Tisseur B, Hafid J, 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 Darde ML. « 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, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, et Candolfi E. « 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.

### ÉRTESÍTÉS A FRISSÍTÉSE - Olvassa el figyelmesen

KIADÁSI DÁTUM	VÁLTOZAT	MODIFIKÁCIÓS ÖSSZEFOGLALÓ
06/08/2021	Vs12	A biztonsági figyelmeztetés eltávolítása R5 - Éjszakai lappangási idő - Kapcsolattartó e-mail címe – NaN3 EUH 032
30/11/2022	Vs13	Új cím
	Vs14	R6 NaN3 nélkül. Betűvel jelölt szalag. Különböző tételekből származó reagensek lehetséges használata.



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)