

LDBIO TOXO II IgG CE0459



CONFIRMAÇÃO

Diagnóstico *in vitro* Ensaio Immunoblot
Semi-automatizado / técnica manual

#TOXO II 24G : 24 testes

#TOXO II 12G : 12 testes

#TOXO II 96G : 96 testes

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Encontre mais informações e instruções de uso em seu idioma em nosso site

www.ldbiodiagnostics.com

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

LDBIO-TOXO II IgG é um teste qualitativo de uso único de diagnóstico serológico de IgG por immunoblot para a toxoplasmose, concebido para ser um teste confirmatório de um resultado positivo ou equívoco obtido através dos testes clássicos de despiste. Pode ser efetuado em soro, líquido cefalorraquidiano (LCR) ou humor aquoso.

PRINCÍPIO DO TESTE

Técnica de Western Blot

Os antígenos de *Toxoplasma gondii*, uma vez separados por eletroforese, são ligados por electroblotting à superfície de uma membrana de nitrocelulose (a que se chama a transferência) cortada em 24 tiras numeradas de 1 a 24.

Condução do teste

Cada amostra de soro (ou LCR/humor aquoso) a testar é incubada separadamente com uma tira. Os anticorpos anti-*Toxoplasma* potencialmente presentes na amostra ligam-se seletivamente aos antígenos de *T. gondii*. O conjugado fosfatase alcalina-anti IgG humana liga-se então aos anticorpos anti-*Toxoplasma*. Por fim, os imunocomplexos reagem com o substrato. Os antígenos reconhecidos pelos anticorpos anti-*Toxoplasma* do tipo IgG presentes nas amostras são revelados como bandas transversais de cor roxa.

REAGENTES FORNECIDOS COM O KIT

Padrão: embalagem de 24 testes (#TOXO II 24G)

- *italic*: embalagem de 12 testes (#TOXO II 12G) - **bold**: Embalagem de 96 testes (#TOXO II 96G).

ID	Quant.	Descrição	Composição
R1	1	Pasta(s) de 24 (12, 4x24) TIRAS: padrões pré-cortados + coloridos. (Cada pasta e cada transferência é identificada por um número de série único)	Nitrocelulose sensibilizada. Peso molecular colorido (kDa): Azul: 250, Azul: 150, Azul: 100, Rosa: 75, Azul: 50, Verde: 37, Rosa: 25, Azul: 20, Azul: 15.
R2	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de TAMPÃO DA AMOSTRA (Pronto a utilizar - solução rosa).	Tampão + surfactante.
R3	1	Frasco(s) de 30 (30, 2x60) ml de CONJUGADO ANTI IgG (Pronto a utilizar - solução azul).	Tampão + conjugado de soro de cabra policlonal anti-IgG humana com fosfatase alcalina + NaN3 (<0,1%) + estabilizantes.
R5	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de SUBSTRATO (Pronto a utilizar - frasco castanho opaco).	Tampão + NBT + BCIP + estabilizantes
R6	1	Frasco de 60 (60, 250) ml de TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO 10x (A diluir 10 vezes em água destilada - solução incolor).	Tampão + surfactante.
R10	1	Tubo de 100 (100, 2x100) µl de SORO DE CONTROLO POSITIVO (Pronto a utilizar - tampa vermelha).	Tampão + conjunto de soros humanos positivos para Toxoplasma por serologia + NaN3 (<0,1%) + estabilizantes.

R1: A letra antes de cada número de tira é específica para o parâmetro.

R2, R3, R5 e R6 são comuns a todos os kits e possuem um número de lote único, dependendo apenas da sua data de produção. **É recomendado efetuar séries multiparamétricas (ver gama de immunoblot LDBIO) a fim de limitar o número de frascos abertos e de assegurar um melhor controlo de qualidade.**

R10 é calibrado em immunoblot de acordo com um lote de referência e é dedicado apenas a esta técnica.

R3, R10 (NaN₃): EUH 032 - Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

EUH 210 Ficha de segurança fornecida a pedido e em nosso site www.ldbiodiagnostics.com.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO DISPONIBILIZADO

- Tabuleiros de incubação multicanal em polipropileno para mini-blots (#WBPP-08 ou equivalente).
- Plataforma oscilatória para immunoblots, sistema de vácuo para líquidos (os tubos #WBPP-08 que fornecemos podem ser esvaziados por simples inversão).
- Tubos e material para recolher as amostras, cilindros graduados, contentores adaptados.
Pipetas automáticas, micropipetas e pontas descartáveis (volumes de 10 µl, 25µl, 1,2 ml e 2 ml).
- Água destilada ou desionizada. Papel absorvente (por ex. papel de filtro Whatman), fita adesiva transparente.
- Luvas, pinça para manipular as tiras, cortador ou bisturi, régua plana transparente.

Nota: Os nossos reagentes podem ser utilizados num processador automático de immunoblots. **Devem tomar-se precauções relativamente a possíveis contaminações químicas dos nossos reagentes se o processador for partilhado com reagentes de outro fabricante** (exemplo conhecido: contaminação por TWEEN 20) e a possíveis contaminações bacterianas. Frascos de reserva para o processador. Depois do processamento, não voltar colocar os restos de reagentes utilizados nos frascos originais.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conservar entre 2 e 8 °C. Os reagentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na embalagem exterior e nos rótulos dos frascos. Não use reagente contaminado ou turvo. O tampão de lavagem diluído a 1:10 é estável durante 2 meses a +2 a +8 °C e uma semana à temperatura ambiente.

CUIDADOS NA UTILIZAÇÃO

Segurança

- Apenas para utilização *in vitro*. Apenas para uso profissional. Apenas para pessoal treinado tecnicamente. Manusear de acordo com as Boas Práticas Laboratoriais e considerar todos os reagentes e todas as amostras como potencialmente tóxicos e/ou infecciosos.
- Usar bata, luvas e óculos: não beber, comer ou fumar no laboratório. Não pipetar com a boca.
- O controle positivo é um soro de origem humana que foi inativado para os vírus HIV 1 e 2, hepatite B e hepatite C. Contudo, deve ser manuseado como um produto potencialmente infeccioso.
- O substrato contém uma mistura de NBT e BCIP, tóxica por contacto (pele e mucosas) e por inalação.
- Os reagentes contêm azida de sódio, que pode formar sais metálicos explosivos com o chumbo e o cobre. Enxaguar qualquer derrame com água.
- Eliminar os resíduos (amostras, pontas, tubos, líquido de lavagem, reagentes usados, ...) de acordo com as boas práticas utilizadas na indústria e as regulamentações atuais do país.
- Qualquer incidente grave deve ser objeto de declaração ao fabricante e à autoridade competente.

Cuidados

- Leia e interprete os resultados sob luz branca direta.
- É preferível utilizar todos os reagentes de um mesmo lote. Se forem utilizados lotes diferentes, assegurar a rastreabilidade.
- Utilizar as tiras por ordem numérica. Não misturar tiras com diferentes números de série; utilizar as transferências em sequência. Estabelecer um plano de distribuição específico antes de iniciar o teste.
- Não tocar nas tiras com os dedos; utilizar uma pinça.
- Os reagentes devem ser bem misturados antes da utilização, em especial o tampão de lavagem concentrado.
- Fechar os frascos após a utilização; não utilizar se tiver ocorrido introdução acidental de uma substância nos reagentes. Não utilizar reagente de um frasco que apresente sinais de vazamento. Não utilizar soluções turvas ou precipitadas.
- Utilizar apenas pontas de pipeta descartáveis. Evitar qualquer contaminação entre canais. Ter atenção à formação de espuma ou bolhas nas pontas de pipeta (contaminação bacteriana dos frascos de reagentes).
- Lavar os tabuleiros de incubação apenas com água limpa seguida de água destilada (nunca utilizar detergente ou lixívia).
- A omissão de uma amostra ou a distribuição de um volume inadequado pode tornar o teste negativo ou positivo, independentemente do seu verdadeiro estado.

RECOLHA DE AMOSTRAS

Colher as amostras em tubos secos, de forma asséptica. É necessário um mínimo de 10 µl de soro, humor aquoso ou LCR. Nos casos de humor aquoso ou LCR, o uso de 25 µl aumentará a sensibilidade do teste.

Manter as amostras a 2 a 8 °C até serem processadas. Se for necessário armazená-las mais de uma semana,, congelar as amostras a -20 ± 5 °C. Não utilizar uma amostra contaminada. Evitar congelar e descongelar as amostras repetidamente.

Embora não tenha sido observada nenhuma reação cruzada especial com soro hemolizado, ictérico ou lipídico, é recomendado interpretar os resultados da utilização deste tipo de amostras com cuidado.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Tampão de lavagem: Para 4 testes, num frasco limpo, diluir 10 ml de concentrado de lavagem 10x (**R6**) em 90 ml de água destilada ou desionizada. Tenha o cuidado de misturar bem o tampão diluído.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Nota importante: É recomendado efetuar séries multiparamétricas (ver gama de immunoblot LDBIO) a fim de limitar o número de frascos abertos e de assegurar um melhor controlo de qualidade.

1. Preparar o plano de distribuição das amostras e do controlo positivo C+ (**R10**).

O teste só pode ser tecnicamente validado e a identificação feita, para um determinado número de série, ou reveladas as bandas específicas, através da utilização deste controlo. Uma tira C+ não pode ser usada para interpretar os resultados das tiras de um blot com um número de série diferente.

2. Cortar o número necessário de tiras (R1) utilizando um bisturi e uma régua plana transparente limpa e seca, mantendo a linha azul de posicionamento nas tiras: manter as tiras firmemente no seu lugar com a régua e cortá-las pelo lado da tensão (os números são visíveis através da régua).
3. Distribuir 1,2 ml de tampão da amostra (R2) em cada canal, de acordo com o plano estabelecido.

4. Deixe as tiras se reidratarem na superfície do tampão por aproximadamente 2 minutos, com o número visível no topo, ENTÃO, agite suavemente a bandeja para mergulhá-las totalmente no tampão
5. Distribuir as amostras e controlo(s) positivo(s): de acordo com o plano de distribuição, a uma taxa de 10 µl por canal (de preferência 25 µl para humor aquoso ou LCR). Agitar suavemente o tabuleiro após cada dispensa. Colocar o tabuleiro numa plataforma oscilatória. **Incubar durante 90 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.
6. Passo de lavagem: Esvaziar o conteúdo dos canais com uma pipeta de Pasteur ou voltando o tabuleiro de incubação ao contrário. Verter 2 a 3 ml de tampão de lavagem diluído em cada canal. Incubar na plataforma oscilatória durante 3 min. Repetir duas vezes e, em seguida, esvaziar o conteúdo dos canais. Assegurar que as tiras não se voltam durante estes passos.
7. Verter 1,2 ml de conjugado anti IgG (R3) em cada canal. Colocar o tabuleiro na plataforma oscilatória. **Incubar durante 60 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.
8. Passo de lavagem: repetir o passo 6.
9. Deitar 1,2 ml de substrato NBT/BCIP (R5) em cada um dos canais. Colocar na plataforma oscilatória e proteger da luz direta. **Incubar durante 60 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.

Independentemente do parâmetro, monitorizar a revelação da cor. A revelação pode ser interrompida se a cor de fundo da tira escurecer de tal modo que a leitura seja difícil (a qualidade dos passos de lavagens possui uma influência fundamental na cor de fundo). Ter em atenção que as tiras ficarão mais claras quando secas.

10. Interromper a reação, aspirando o substrato com uma pipeta de Pasteur ou voltando a tina de incubação ao contrário e deitando 2 ml de água destilada nos canais. Repetir este último passo de lavagem mais uma vez.
11. Secagem das tiras: Com os canais ainda cheios de água, pegar nas tiras pela extremidade numerada utilizando uma pinça e depositá-las, com o número visível, sobre um papel absorvente de Whatman. Deixar secar ao ar. A cor das tiras aclarará naturalmente enquanto secam. A interpretação só deve ser feita depois de concluída a secagem.
12. Conservação: Transferir as tiras para uma folha de papel, que será utilizada para as arquivar. Alinhar as linhas de posicionamento. Mantendo-as no lugar com a régua plana, colar a extremidade superior das tiras com a fita adesiva transparente.

Para uma boa interpretação, as tiras deve ser ordenadas por transferência e pela sua ordem numérica, espaçadas com um máximo de alguns milímetros entre si. Não é fiável comparar tiras que estejam muito afastadas (por ex. a nº 2 com a nº 15). É **perigoso** (resultados falsos) comparar tiras de diferentes kits (tiras com números de série diferentes).

CONTROLO DE QUALIDADE E INTERPRETAÇÃO

O controlo do soro (R10) disponibilizado com o kit deve ser sistematicamente incluído em qualquer série de immunoblot. Ele mostra o perfil típico e permite a validação técnica da boa execução do teste (as bandas devem aparecer muito distintamente na tira) e calibrar exatamente a posição e aspeto das bandas específicas de modo a permitir a interpretação dos resultados das tiras da mesma transferência (mesmo número de série).

Nota Bene: O perfil de controle positivo (R10) pode variar de acordo com o número de lote dos reagentes utilizados. As imagens correspondentes estão disponíveis em nosso website www.ldbiodiagnostics.com como exemplo.

Descrição das bandas:

Uma amostra positiva pode apresentar diversas bandas situadas entre 15 e 200k Kilo-Daltons (kDa). Procurar a presença de bandas específicas na zona 30-45 kDa para cada uma das amostras testadas com a ajuda das ferramentas de calibragem descritas acima.

Estas bandas, agrupadas e bem isoladas, são características e geralmente são muito fáceis de ver.

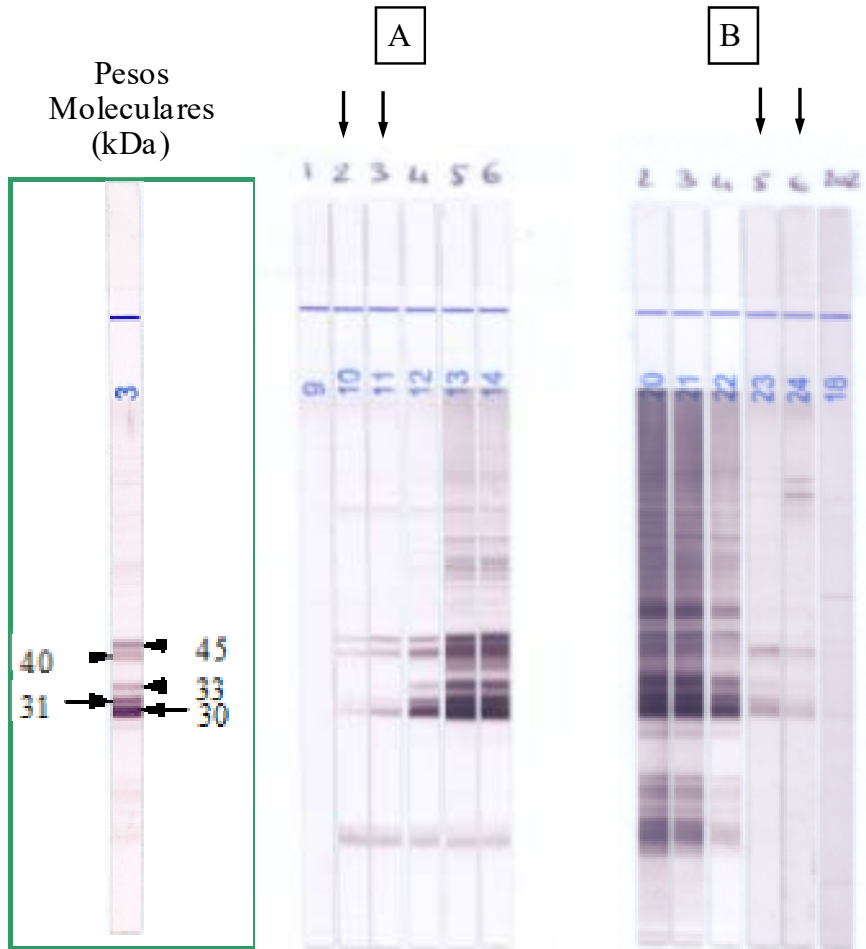


Fig. 1: Exemplos de resultados positivos e negativos

Os perfis são dados como exemplos. As tiras são marcadas com a letra "K" específica do parâmetro do lote "50016".

Interpretação

A presença na tira de no mínimo 3 bandas entre as bandas específicas 30, 31, 33, 40, 45, incluindo a banda de 30 kDa, permite interpretar o teste como positivo e concluir sobre a presença de anticorpos IgG anti-*T. gondii* na amostra testada.

A: exemplo de uma seroconversão. Os soros 2 e 3, positivos pelo LDBIO-TOXO II IgG, eram negativos na técnica de rastreio (doravante designada *ELISA 2 IgG* no estudo dos desempenhos).

B: exemplo sobre um acompanhamento neonatal. Os soros 5 e 6, positivos pelo LDBIO-TOXO II IgG, eram negativos na técnica de rastreio *ELISA 2 IgG*.

Nota: é possível observar outras bandas. Estas não são tidas em consideração na leitura do teste.

Para validar os resultados, compare sempre o perfil do immunoblot de cada amostra com o do controlo positivo R10. O aspeto das bandas é importante para a interpretação do teste.

LIMITAÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- O diagnóstico de uma doença infecciosa não pode ser estabelecido com base em um único resultado de teste.
- Os resultados serológicos devem ser interpretados de acordo com as informações disponíveis (por exemplo, epidemiologia, clínica, imagem, biologia, etc.) de forma a estabelecer um diagnóstico. Não devem ser utilizados como base para o diagnóstico apenas com base na sua positividade.

Desempenhos (ver referências bibliográficas)

A avaliação foi realizada num laboratório de referência, especializado no diagnóstico da toxoplasmose.

O princípio da avaliação consistiu em comparar em 529 soros os resultados obtidos pela técnica LDBIO-TOXO II IgG, os resultados do Dye Test de Sabin e Feldman, os resultados das duas técnicas de rastreio comercializadas, “ELISA 1 IgG” e “ELISA 2 IgG”, assim como os dados clínicos e biológicos dos doentes.

- Limiar das técnicas utilizadas:

	NEGATIVO	EQUÍVOCO	POSITIVO
DYE TEST (UI/ml)	<2	-	≥ 2
ELISA 1 (UI/ml)	<4	4 - 8	≥ 8
ELISA 2 (UI/ml)	<6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- Análise estatística dos resultados:

Estabelecemos os valores de sensibilidade e especificidades assim que tal foi possível. Os intervalos de confiança são calculados de acordo com o método de Wilson com correcção de continuidade.

A correlação dos resultados encontrados por diferentes técnicas foi avaliada pelo teste CHI-2 de Mac Nemar sobre séries emparelhadas.

- Pacientes:

Todas as análises foram efetuadas em soros conservados congelados a -20 b°C. As amostras provêm de 5 grupos de doentes diferentes.

Grupo I – Dye Test

Estudo em 200 soros obtidos aquando do rastreio da toxoplasmose em mulheres grávidas, e testados pelo Dye Test. O subgrupo “positivo” corresponde a 98 soros positivos no Dye Test proveniente de mulheres imunizadas contra a *T. gondii*. Este subgrupo incluía soros que apresentavam títulos de IgG moderados em Dye Test (de 2 a 32 UI/ml) a fim de testar a sensibilidade do LDBIO-TOXO II IgG relativamente a outras técnicas. O subgrupo “negativo” correspondia a 102 soros negativos em Dye Test, provenientes de mulheres grávidas não imunizadas contra a toxoplasmose. Estes 200 soros foram testados paralelamente com as técnicas LDBIO-TOXO II IgG, ELISA 1 IgG e ELISA 2 IgG.

Grupo II – Seroconversões

Trata-se da análise retrospectiva de 17 sequências de soros (101 amostras) provenientes de doentes que apresentaram uma seroconversão toxoplásmica durante a sua gravidez.

Cada série sequencial inclui o último soro negativo, depois uma série de 3 a 5 soros que mostram o aparecimento das IgM específicas e a síntese de IgG específicas (ELISA 2 IgG).

Grupo III – Acompanhamento de crianças não infetadas

Trata-se da análise retrospectiva de 74 amostras correspondentes a 20 sequências do acompanhamento pós-natal de crianças nascidas de mães que apresentaram uma seroconversão toxoplásmica durante a gravidez. Cada sequência de 2 a 6 soros mostra o decréscimo do título das IgG maternas transmitidas até à negatificação da serologia pela técnica ELISA 2 IgG (entre 5 e 13 meses).

Grupo IV – Acompanhamento de crianças infetadas

Trata-se da análise retrospectiva de 85 amostras provenientes do acompanhamento pós-natal de 30 crianças que tiveram uma infecção congénita. O acompanhamento serológico foi realizado por *ELISA 2 IgG*.

Grupo V – sensibilidade - especificidade (infecções víricas e paludismo)

Estudo em 69 soros de doentes atingidos por infecções víricas ou de paludismo (tabela 1). Estas amostras foram testadas por ELISA 2 IgG. (Todos foram negativos em pesquisa de IgM). Todos os negativos, assim como os discordantes, foram testados em Dye Test.

Agente infeccioso (n=69)	ELISA 2 IgG POSITIVO (n=44)	ELISA 2 IgG NEGATIVO (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
PALU (n=25)	18	7

Tabela 1: diferentes infecções testadas no estudo

- Resultados:

Grupo I: Dye Test

	DYE TEST	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POSITIVO	98	97	61	93
NEGATIVO	102	103	114	107
EQUÍVOCO	-	-	25	-
ESPECIFICIDADE	-	100%	100%	100%
SENSIBILIDADE	-	99%	85%	95%

Tabela 2: Correlação do Dye Test com as 3 técnicas. (A técnica ELISA 1 IgG apresenta uma zona equívoca).

- 4 soros ELISA 2 IgG negativos são positivos em LDBIO-TOXO II IgG e Dye test

- 11 soros ELISA 1 IgG negativos são positivos em LDBIO-TOXO II IgG e Dye test

- 25 soros ELISA 1 IgG são equívocos: 24 são positivos em LDBIO-TOXO II IgG e Dye test, 1 soro é negativo em LDBIO-TOXO II IgG e Dye test

Grupo II: Seroconversões

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II	POSITIVO	70	10
	NEGATIVO	0	21

Tabela 3: Correlação LDBIO-TOXO II IgG / ELISA 2 IgG em 101 soros de seroconversão. $p=0,0016$

Para 8 / 17 seroconversão (47%) as IgG são rastreadas mais precocemente por **LDBIO-TOXO II IgG**.

Grupos III e IV: Acompanhamentos de recém-nascidos

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II	POSITIVO	130	18
	NEGATIVO	0	11

Tabela 4: Correlação LDBIO-TOXO II IgG / TEST 2 IgG em 159 soros de acompanhamento pós-natal. $p<0,0001$

Crianças indemnes: 13 soros, correspondendo a 10 / 20 acompanhamentos pós-natais (50%) negativos em ELISA 2 IgG, continuam positivos em LDBIO-TOXO II IgG que evidencia anticorpos maternos transmitidos quando a técnica ELISA 2 IgG já não os deteta.

Crianças contaminadas: 5 soros correspondentes a 3 crianças são discordantes. Um deles mostra uma negatificação temporária da sua serologia por ELISA 2 IgG. O teste LDBIO-TOXO II IgG continua positivo, confirmando a sua contaminação. Para as outras 2 crianças, o teste LDBIO TOXO II IgG mostra uma positividade mais precoce que o ELISA 2 IgG.

No entanto, é impossível afirmar uma neossíntese de IgG, dado que este teste não diferencia os anticorpos maternos transmitidos pelos anticorpos neossintetizados.

Grupo V: Sensibilidade e especificidade (infecções víricas e paludismo)

		ELISA 2 IgG	
		POSITIVO	NEGATIVO
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POSITIVO	42	2
	NEGATIVO	2	23

Tabela 5: Correlação LDBIO-TOXO II IgG / Dye Test / ELISA 2 IgG em 69 soros de infecções víricas ou de paludismo.

Nesta população, a concordância de LDBIO-TOXO II IgG com o Dye Test é de 100%: estes resultados confirmam a especificidade e a sensibilidade do teste LDBIO-TOXO II IgG.

O estudo evidencia quatro resultados discordantes pela técnica ELISA 2 IgG, 2 falsos negativos (um HIV e um *P.falciparum*) e 2 falsos positivos (dois *P.falciparum*) sublinhando o interesse de uma técnica de confirmação para todos os resultados próximos do limiar.

- **Conclusão:**

Grupo I: (Dye Test):

A correlação **LDBIO-TOXO II IgG / Dye Test** é excelente:

- **Sensibilidade = 99% [95CI 94 - 100%]**
- **Especificidade = 100% [95CI 95 - 100%]**

O *LDBIO-TOXO II IgG* permitiria confirmar o estado imunitário dos doentes que apresentavam no rastreio um resultado equívoco ou um título de anticorpos baixo.

Grupo II: (Seroconversões):

A sensibilidade do *LDBIO-TOXO II IgG* é superior ao do *ELISA 2 IgG* ($p=0,0016$). O *LDBIO-TOXO II IgG* permitiria confirmar uma seroconversão mais precocemente que o *ELISA 2 IgG*.

Grupos III e IV: (Acompanhamentos de recém-nascidos):

a sensibilidade do *LDBIO-TOXO II IgG* é muito superior ao do *ELISA 2 IgG* ($p=0,0001$).

Durante o acompanhamento da criança, o *LDBIO-TOXO II IgG* poderia ser utilizado para confirmar ou invalidar a negatificação da serologia.

No entanto, o *LDBIO-TOXO II IgG* não permite diferenciar os anticorpos maternos transmitidos dos anticorpos neossintetizados pela criança.

Grupo V: (Infecções víricas e paludismo):

A correlação *LDBIO-TOXO II IgG* / Dye Test é excelente (sensibilidade 100% [95CI 90-100%], especificidade 100% [95CI 95-100%]). Estes resultados evidenciam a necessidade de utilizar um teste de confirmação para controlar as amostras que apresentem no rastreio um resultado próximo do limiar.

Os excelentes resultados do estojo *LDBIO-TOXO II IgG* justificam a sua utilização na confirmação de resultados obtidos pelas técnicas de *IgG* de rastreio (resultados equívocos, fracamente positivos ou que coloquem problemas de interpretação).

Reprodutibilidade:

Foi testada a reprodutibilidade inter-série e inter-lote. Em ambos os casos, a correlação soro a soro relativamente às bandas específicas é excelente.

Interferências:

Embora não tenha sido observada nenhuma reação cruzada especial com soro hemolizado, icterico ou lipídico, é recomendado interpretar os resultados da utilização deste tipo de amostras com cuidado.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

"As bandas estão pálidas, com pouco contraste": Certos soros com baixas concentrações de anticorpos podem dar este tipo de resultados.

"São visíveis áreas sombreadas, mais ou menos coloridas, ligeiramente difusas": A tira não foi totalmente mergulhada num dos reagentes e não incubou corretamente ao longo de todo o seu comprimento. Também podem ocorrer manchas nos locais onde a amostra foi depositada se o tabuleiro não tiver sido agitado após a distribuição.

"O ruído de fundo é significativo, tornando a leitura muito difícil": As lavagens foram insuficientes ou a última incubação foi demasiado longa. Assegurar boas técnicas de desempenho do teste, respeitar os tempos de lavagem e assegurar a boa qualidade da água. Reduzir o tempo da última incubação. Excepcionalmente, alguns soros poderão reagir de modo inespecífico. Neste caso, o resultado do immunoblot não pode ser utilizado.

Este ruído de fundo inespecífico pode envolver apenas parte da tira, invalidando a interpretação dos resultados apenas para aquela porção.

"Aparece um precipitado na solução durante o último passo da revelação": o substrato pode, efetivamente, precipitar parcialmente (flocos pretos) no tampão no final da revelação. Este fenómeno não altera a qualidade da revelação, que deve ser continuada normalmente. A última lavagem com água destilada elimina as eventuais partículas sólidas presentes.

BIBLIOGRAFIA

- Franck, 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.

ACTUALIZAÇÃO DA NOTIFICAÇÃO - Por favor, leia atentamente

DATA DE LANÇAMENTO	VERSÃO	RESUMO DA MODIFICAÇÃO
09/08/2021	Vs 12	Remoção do aviso de segurança R5 - Endereço de e-mail de contacto – EUH 032 (NaN3)
30/11/2022	Vs13	Novo endereço
22/12/2022	Vs14	R6 sem NaN3. Tira identificada pela letra. Possível utilização de reagentes de diferentes lotes.



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