

**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](http://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, <b>4x24</b> ) 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, <b>125</b> ) ml de TAMPÃO DA AMOSTRA (Pronto a utilizar - solução rosa).	Tampão + surfactante.
R3	1	Frasco(s) de 30 (30, <b>2x60</b> ) 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, <b>125</b> ) ml de SUBSTRATO (Pronto a utilizar - frasco castanho opaco).	Tampão + NBT + BCIP + estabilizantes
R6	1	Frasco de 60 (60, <b>250</b> ) ml de TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO 10x (A diluir 10 vezes em água destilada - solução incolor).	Tampão + surfactante.
R10	1	Tubo de 100 (100, <b>2x100</b> ) 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 (NaN<sub>3</sub>): 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](http://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 assética. 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

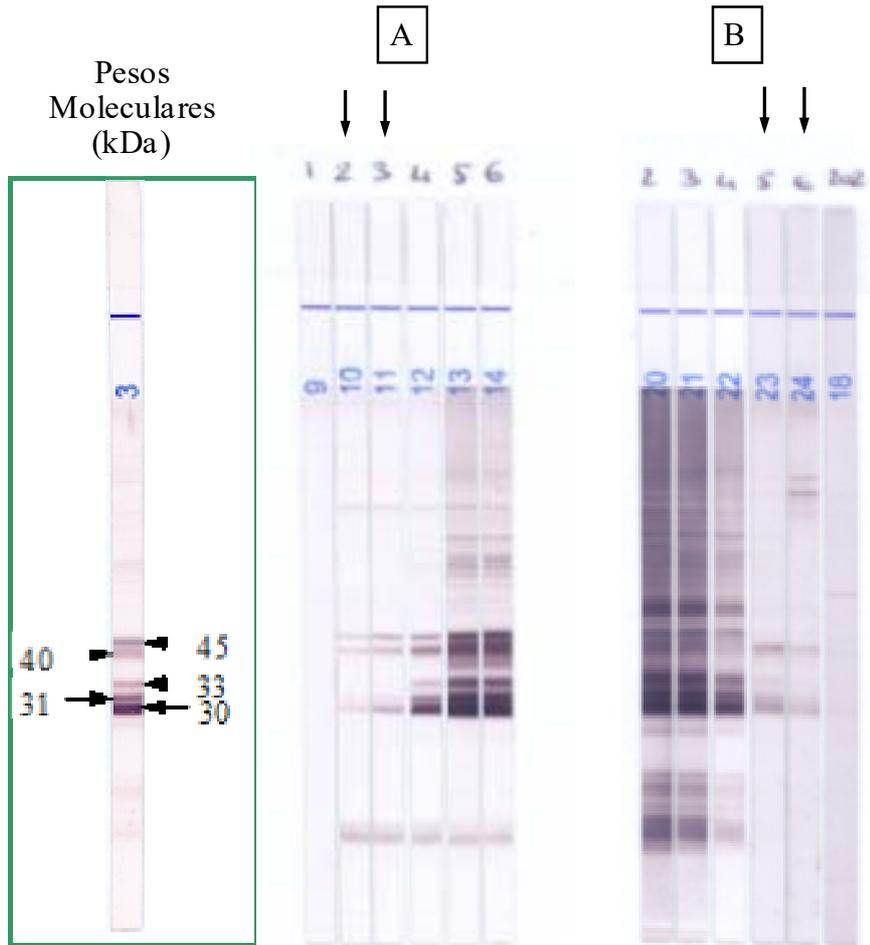
O controlo do soro (R10) disponibilizado com o kit deve ser sistematicamente incluído em qualquer série de immunoblot. Ele mostra o perfil típico e permite a validação técnica da boa execução do teste (as bandas devem aparecer muito distintamente na tira) e calibrar exatamente a posição e aspeto das 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](http://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 imunoblot 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](http://www.ldbiodiagnostics.com) – [info@ldbiodiag.com](mailto:info@ldbiodiag.com)