

TOXOPLASMA CE0459



Western Blot IgG IgM

in vitro Test imunoblot
Tehnica semi-automată / manuală

#TOP-WB24GM: 24 teste
#TOP-WB12GM: 12 teste
#TOP-WB96GM: 96 teste

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Găsiți mai multe informații și instrucțiuni de utilizare în limba dvs. pe site-ul nostru
www.ldbiodiagnostics.com

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

TOXOPLASMA Western Blot (WB) IgG IgM este un test imunoblot de o singură utilizare ce urmărește Compararea Profilurilor Imunologice (CPI-WB) pentru IgG și IgM care este destinată pentru a diagnostica:

- Toxoplasmoza congenitală la naștere (D0): CPI-WB G+M între sângele matern și sângele din cordon.
- Toxoplasmoza congenitală în monitorizarea post-natală (D+N): CPI-WB G+M între sângele din cordon la D0 și sângele copilului la D+N.
- Toxoplasmoza oculară CPI-WB IgG între serul pacientului și umoarea apoasă.

Acest test nu este destinat examinării sau confirmării serologiilor izolate. Pentru aceste aplicații, utilizați testul **LDBIO TOXO II IgG** (ref. TOXO II IgG WB).

PRINCIPIUL TESTULUI

Metoda Western Blot

Antigenii *Toxoplasma gondii*, odată separați prin electroforeză, se leagă prin electroblotting la suprafața unei membrane de nitroceluloză (numită transfer) tăiată în 24 de benzi numerotate de la 1 la 24.

Efectuarea testului

Notă: Testările imunoblot IgG sau IgM descrisă mai jos sunt efectuate simultan pe durata manipulării.

IgG imunoblot

Testul constă în incubarea separată, **cu 2 strip-uri contigue de la același transfer**, a celor două probe (ser sau umoare apoasă) pentru care este dorită o comparare a profilurilor imunologice.

- Pasul 1: Fiecare specimen de ser (sau umoare apoasă) ce va fi testat este incubat separat cu un strip. Anticorpul anti-*Toxoplasma* potențial prezent în probă se leagă selectiv de antigenii *T. gondii*.
- Pasul 2: Conjugatul fosfatului alcalin-**anti uman IgG** se leagă apoi de anti-anticorpul legați.
- Pasul 3: Imunocomplexele reacționează cu substratul. Antigenele recunoscute de anticorpul anti-*Toxoplasma* **clasa IgG** prezente în probe sunt descoperite ca benzi transversale purpurii.

IgM imunoblot

Principiul testului este identic, dar în pasul 2 conjugatul anterior este înlocuit de un conjugat fosfat alcalin-**anti-uman IgM**. Dezvoltarea culorii va releva, prin urmare, benzile cu antigeni recunoscute de anticorpul anti-*Toxoplasma* **clasa IgM** prezente în probe.

Citire

Compararea succesivă a perechilor de benzi IgG și apoi IgM (sau IgA) permite indicarea prezenței potențialelor benzi care sunt dezvoltate doar de una dintre probe și nu de celălalt (Interpretare cf. §).

Reactivii furnizați

Implicit: pachet de 24 de teste #TOP-WB24GM

italic: pachet de 12 teste #TOP-WB12GM - **bold**: pachet de 96 teste (#TOP-WB96GM).

ID	Cantitate	Descriere	Compoziție
R1	1	Dosar(e) de 24 (<i>12, 4x24</i>) BENZI: Standarde pre-secționate + colorate. (Fiecare dosar și fiecare transfer se identifica printr-un număr de serie unic)	Nitroceluloza sensibilizată. Greutate moleculară colorată (kDa): Albastru: 250, albastru: 150, albastru: 100, roz: 75, albastru: 50, verde: 37, roz: 25, albastru: 20, albastru: 15
R2	1	Flacoane de 30 (<i>30, 125</i>) ml de SOLUȚIE-TAMPON PENTRU PROBE (Gata de utilizare - soluție roz).	Soluție-tampon + surfactant.
R3	1	Flacoane de 30 (<i>30, 60</i>) ml de CONJUGAT ANTI IgG (Gata de utilizare – soluție albastră).	Soluție-tampon + seruri de caprine policlonale IgG anti-umane conjugate cu fosfatază alcalină + NaN ₃ (<0,1%) + stabilizatori.
R4	1	Flacoane de 30 (<i>30, 60</i>) ml de CONJUGAT ANTI-IgM (gata de utilizare – soluție galbenă).	Soluție-tampon + seruri policlonale de caprine IgG anti-umane conjugate cu fosfatază alcalină + NaN ₃ (< 0.1%) + stabilizatori.
R5	1	Flacoane de 30 (<i>30, 125</i>) ml de SUBSTRAT (Gata de utilizare – flacon maro opac).	Soluție-tampon + NBT + BCIP + stabilizatori.
R6	1	Flacoane de 60 (<i>60, 250</i>) ml de SOLUȚIE-TAMPON CONCENTRATĂ DE SPĂLARE 10X (Se diluează de 10 ori în apă distilată - soluție incoloră).	Soluție-tampon + surfactant.

R1: Litera de dinaintea fiecărui număr de bandă este specifică parametrului.

R2, R3, R4, R5 și R6 sunt comune tuturor kiturilor și au un număr de lot unic, în funcție de data producerii lor. **Se recomandă efectuarea testelor multi-parametru (a se vedea gama imunoblot LDBIO) pentru a limita numărul de flacoane deschise și pentru a asigura un control mai bun al calității.**

R3, R4, R10 (NaN₃): EUH 032 - În contact cu acizi, degajă un gaz foarte toxic.

EUH 210 Fișa cu date de securitate disponibilă la cerere, precum și pe site-ul www.ldbiagnostics.com.

MATERIAL SUPLIMENTAR NECESAR, DAR NEFURNIZAT

- Tăvi de incubație din polipropilenă cu canale multiple pentru mini-bloturi (# WBPP-08 sau echivalent).
- Agitator oscilant pentru imunoblot, sistem de vid pentru lichide (tuburile # WBPP-08 pe care le furnizăm pot fi golite prin simpla rotire a acestora).
- Tuburi și materiale pentru scoaterea probelor, cilindri gradați, recipiente adaptate.
Pipete automate, micropipete și vârfuri de unică folosință (volume de 10 μ L, 25 μ L, 1,2 ml și 2 ml).
- Apă distilată sau deionizată. Hârtie absorbantă (de exemplu, hârtie de filtru Whatman), bandă adezivă transparentă.
- Mănuși, pensete pentru a manipula benzile, cutter sau bisturiu, riglă transparentă.

Notă: reactivii noștri pot fi utilizați într-un procesor de imunoblot automatizat. **Trebuie să aveți grijă cu eventualele contaminări chimice ale reactivilor noștri, dacă procesorul este împărțit cu reactivi de la un alt producător** (exemplu cunoscut: contaminarea cu TWEEN 20) și contaminări bacteriene. Rezervați flaconul pentru procesor. După procesare, nu puneți reactivii rămași înapoi în flacoanele originale.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

A se păstra între 2 și 8°C. Reactivii din kit sunt stabili până la data de expirare indicată pe cutia exterioră și etichetele flaconului. Nu utilizați reactiv contaminat sau tulbure. Soluția-tampon de spălare diluat la 1/10 este stabilă timp de 2 luni la +2 până la +8 °C și o săptămână la temperatura camerei.

PRECAUȚIUNI DE UTILIZARE

Siguranță

- Numai pentru utilizare *in vitro*. Numai pentru uz profesional. Numai pentru personalul instruit tehnic. Manipulați în conformitate cu Bunele Practici de Laborator și considerați orice reactiv și orice probă ca având potențial toxic și/ sau infecțios.
- Purtați un halat de laborator, mănuși și ochelari; nu beți, nu mâncați sau nu fumați în laborator. Nu atingeți cu gura pipetele.
- Substratul conține un amestec de NBT și BCIP, toxic la contact (piele și mucoase) și inhalare.
- Reactivii conțin azidă de sodiu, care poate forma săruri metalice explozive cu plumb și cupru. Clătiți cu apă orice scurgere.
- Evacuați deșeurile (probe, vârfuri, tuburi, lichid de spălare, reactiv utilizat ...) în conformitate cu bunele practici utilizate în domeniu și reglementările actuale din țară.
- Orice incident grav trebuie să facă obiectul unei declarații către producător și autoritatea competentă.

Măsuri de precauție

- Citiți și interpretați rezultatele sub lumină albă directă.
- Este preferabil să se utilizeze toți reactivii din același lot. În cazul în care se utilizează loturi diferite, asigurați trasabilitatea.
- Utilizați benzile în ordine numerică. Nu amestecați benzi din numere de serie diferite; utilizați transferurile succesiv. Stabiliți un plan de distribuție specific înainte de a începe testul.
- Nu atingeți benzile cu degetele; utilizați pensete.
- Reactivii trebuie amestecați bine înainte de utilizare, în special soluția-tampon de spălare concentrată.
- Închideți flacoanele după utilizare; nu utilizați dacă o substanță a fost introdusă accidental în reactivi. Nu utilizați reactivul dintr-un flacon care prezintă semne de scurgere. Nu utilizați soluție tulbure sau precipitată.
- Utilizați doar vârfuri de pipetă de unică folosință. Evitați orice contaminare intra-canal. Urmăriți formarea de spumă sau bule în vârfurile pipetelor (contaminarea bacteriană a flacoanelor cu reactiv).
- Curățați tăvile de incubație numai cu apă distilată (nu folosiți niciodată detergent sau înălbitor).
- Omiterea unei probe sau distribuirea unui volum necorespunzător poate face ca rezultatul testului să fie negativ sau pozitiv, indiferent de starea reală a acestuia.

COLECTAREA SPECIMENELOR

Se colectează aseptice probe în tuburi uscate. Un minim de 35 µl de ser sau 10µl de umoare apoasă este necesar. În cazul umorii apoase, folosirea a 25 µl va crește sensibilitatea testului (Consultați § Procedura de Testare).

Păstrați probele la 2-8 °C până când acestea sunt prelucrate. Dacă este necesar să le depozitați mai mult de o săptămână, congelați probele la -20 ± 5°C. Nu utilizați probe contaminate. Evitați înghețarea și dezghețarea probelor în mod repetat.

Chiar dacă nu s-a observat o reacție încrucișată specială cu serurile hemolizate, icterice sau lipidice, se recomandă interpretarea cu grijă a rezultatelor obținute din utilizarea acestor probe.

PREPARAREA REACTIVILOR

Soluție-tampon de spălare: Pentru 4 teste, într-o sticlă curată, se diluează 10 ml de concentrat de spălare 10X (R6) în 90 ml de apă distilată sau deionizată. Aveți grijă să amestecați bine Soluție-tampon diluat.

PROCEDURA DE TESTARE

Nota Bene: Se recomandă efectuarea testelor multiparametrice (vezi gama de imunoblot LDBIO) pentru a limita numărul de flacoane deschise și pentru a asigura un control mai bun al calității.

1. Pregătiți planul de distribuție a probelor.

Este strict obligatoriu să comparați o pereche de probe cu benzile alăturate (numere contigue) dintr-un transfer dat (aceiași număr de serie). Nu este fiabilă compararea strip-urilor care au o distanță foarte mare între ele (de exemplu, nr.2 cu nr.15). **Este periculos** (rezultate false) să comparați benzile din kituri diferite (strip-uri cu numere de serie diferite).

2. Tăiați numărul necesar de strip-uri (R1) folosind un bisturiu și o riglă transparentă, curată și uscată, păstrând linia albastră de poziționare pe benzi: țineți strip-urile ferm în poziție cu rigla și tăiați-le pe partea tulpinii (numerele sunt vizibile prin riglă).
3. Distribuți 1,2 ml de soluție-tampon pentru probe (R2) în fiecare canal, în conformitate cu planul stabilit.
4. Depuneți, în ordinea lor numerică, strip-urile numerotate în canale: Lăsați strip-urile să se rehidrateze la suprafață timp de aproximativ 2 minute, cu numărul vizibil în partea de sus, APOI scuturați ușor tava pentru a le scufunda complet în soluție-tampon.
5. Distribuți probele în acord cu planul de distribuție stabilit (pasul 1) și volumele următoare:

	Ser	Umoare apoasă
IgG	10µl	10 sau 25µl
IgM	25µl	-

În cazul umorii apoase, folosirea a 25 µl va îmbunătăți sensibilitatea testului. Scuturați ușor tava după fiecare dispersare. Așezați tava pe un agitator oscilant.

Se incubează timp de 90 min ± 5 minute la 20-26 ° C.

6. Pasul de spălare: Goliți conținutul canalelor cu o pipetă Pasteur sau întorcând tava de incubație. Se distribuie 2 până la 3 ml de soluție-tampon de spălare diluată în fiecare canal. Incubați pe agitatorul oscilant timp de 3 minute. Repetați de 2 ori, apoi goliți conținutul canalelor. Asigurați-vă că benzile nu se rotesc în timpul acestor pași.

7. Distribuți, în acord cu planul de distribuție stabilit, 1.2 ml de conjugat anti-IgG (R3) sau 1.2 ml de conjugat anti-IgM (R4) în fiecare godeu corespunzător. Plasați tava pe un agitator oscilant.

Se incubează timp de 60 min ± 5 minute la 20-26 ° C.

8. Pasul de spălare: repetați etapa 6.

9. Distribuți 1,2 ml de substrat NBT / BCIP (R5) în fiecare dintre canale. Așezați-l pe agitatorul oscilant și protejați-l de lumina directă. **Se incubează timp de 60 min ± 5 minute** la 20-26 ° C.

Indiferent de parametru, monitorizați dezvoltarea culorii. Dezvoltarea poate fi oprită dacă culoarea de fundal a benzii se întunecă până la punctul în care citirea este dificilă (calitatea pașilor de spălare are o influență fundamentală asupra colorării fundalului). Rețineți că benzile se vor decolora pe măsură ce se usucă.

- Este esențial să opriți simultan dezvoltarea culorii a 2 strip-uri dintr-o pereche dată pentru o pereche dintr-o sub-clasă de anticorpi, dar una se poate opri independent din IgG sau IgM (IgM, într-o concentrație mică, de obicei se dezvoltă mai greu decât IgG).
- Serul de la copii are, în general, o concentrație mai mică de IgM. Reacției îi trebuie timp să se dezvolte corect și nu trebuie să fiți preocupați dacă vedeți banda IgM maternală înnegrită puțin mai mult.
- Umoarea apoasă are, în general, o concentrație mai mică de anticorpi. Reacției îi trebuie timp să se dezvolte corect și nu trebuie să fiți preocupați dacă vedeți benzile de ser înnegrite puțin mai mult.

10. Opriți reacția prin aspirarea substratului cu o pipetă Pasteur sau prin rotirea tubului de incubație și distribuirea a 2 ml de apă distilată în canale. Repetați ultima etapă de spălare încă o dată.

11. Uscarea benzilor: Cu canalele încă pline cu apă, apucați benzile de capătul numerotat folosind pensetele și așezați-le, cu numărul vizibil, pe o hârtie absorbantă Whatman. Lăsați-le să se usuce la aer. Culoarea benzilor se va deschide în mod natural în timpul uscării. Interpretarea trebuie efectuată numai după finalizarea procesului de uscare.

12. Depozitare: transferați benzile pe foaia de hârtie care va fi folosită pentru a le arhiva. Aliniați liniile albastre de poziționare. Păstrați-le în poziție cu rigla plată, lipiți partea superioară a benzilor cu bandă adezivă transparentă.

Se împerechează benzile de IgG și IgM din fiecare pereche de probe, una lângă alta, în ordine crescătoare, urmând planul de distribuție stabilit (etapa 1).

Este strict obligatoriu să comparați o pereche de probe cu benzile alăturate (numere contigue) dintr-un transfer dat (aceleși număr de serie). Nu este fiabilă compararea benzilor care au o distanță foarte mare între ele (de exemplu, nr.2 cu nr.15). **Este periculos** (rezultate false) să comparați strip-urile din kituri diferite (strip-uri cu numere de serie diferite).

CONTROLUL CALITĂȚII ȘI INTERPRETAREA

Descrierea benzilor

O probă pozitivă poate prezenta un număr semnificativ de benzi situate între 15 și 200 kDa. Doar benzile cu o greutate moleculară mai mică decât 120 kDa pot fi utilizate pentru a compara profilurile.

Interpretarea

CIP WB G+M (toxoplasmoza congenitală)

- La naștere (perechile mamă/copil):

Comparați independent strip-urile de IgG și strip-urile de IgM. Citiți cele 2 strip-uri contigue simultan de sus în jos în timp ce notați orice bandă antigenă ce este **prezentă** în sângele din cordon și **absentă** din serul matern.

Orice bandă care are o rezoluție bine definită, o Greutate Moleculară (MW) mai mică de 120 kDa și care este *prezentă doar la copil* este dovada că un copil are anticorpi sintetizați anti-toxoplasma, sugerând toxoplasmoza congenitală.

- Pe durata monitorizării post-natale (perechi copil D0/copil D+N):

Comparați independent strip-urile de IgG și strip-urile de IgM.

Citiți cele două strip-uri contigue simultan de sus în jos în timp ce notați orice bandă antigenă ce este **prezentă** în serul la D+N **și absentă** din sângele din cordon.

Orice bandă ce are o rezoluție bine definită, o MW < 120 kDa și care este *prezentă doar la D+N* este dovada că un copil are anticorpi sintetizați anti-toxoplasma, sugerând toxoplasmoza congenitală.

Nota bene: indicarea CPI-WB IgG/IGM în monitorizarea post-natală este limitată intenționat la 3 luni pentru IgG și 1 lună pentru IgM.

Note: Juxtapunerea greutății moleculare pătate standard (dosar R1) permite estimarea MW a benzilor antigene dezvoltate (trebuie tăiat dinainte cu o riglă și un bisturiu, ca o bandă normală, și manevrată cu penseta).

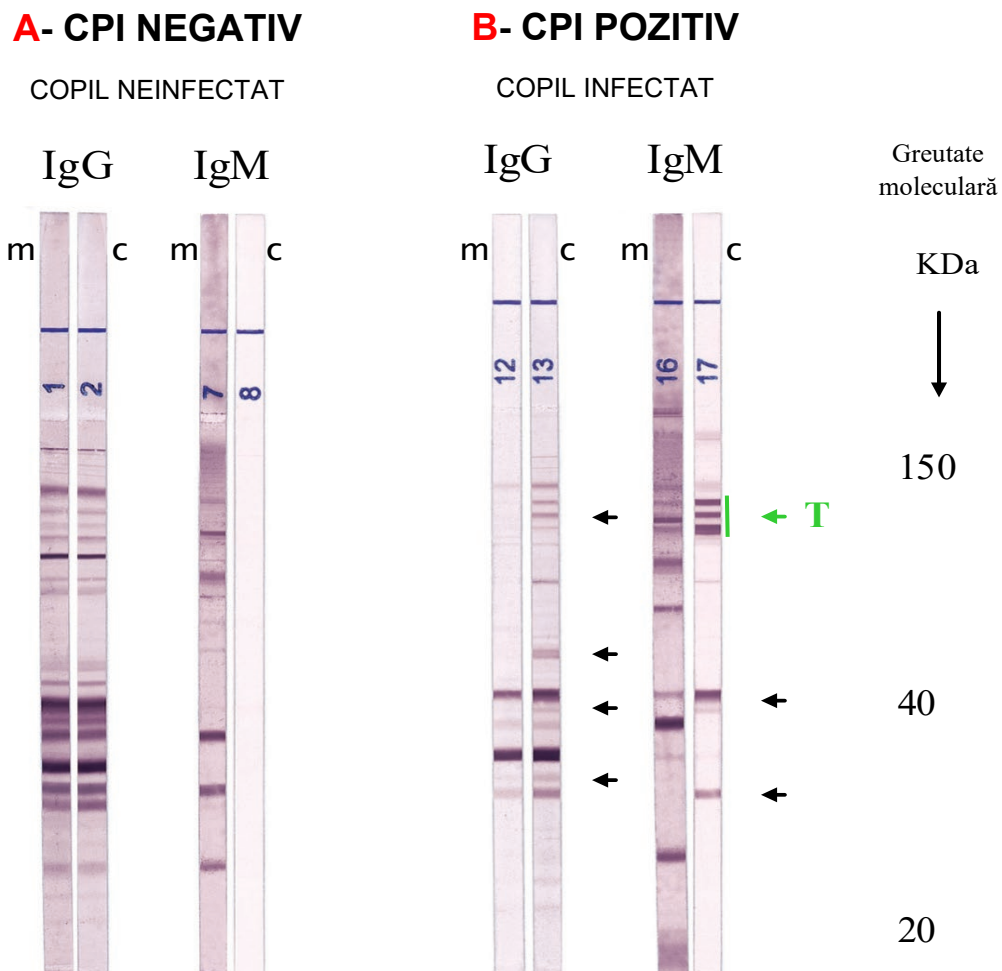


Fig. 1: Toxoplasmoza congenitală – Exemple de rezultate pozitive și negative (m= mama; c=copil)
Profilurile sunt prezentate ca exemple. **Benzile sunt marcate cu litera "A" specifică parametrului din lotul "00011".**

Perechea mamă-copil (A) corespunde unei mame infectate pe durata sarcinii dar al cărei copil nu este infectat: Profilurile IgG sunt strict identice (IgG transmise); nu este altă bandă adițională prezentă pe strip-urile IgG-ul și/sau IgM ale copilului: **CPI-WB ESTE NEGATIV**.

Perechea (B), toxoplasmoza congenitală, corespunde unei mame infectate pe durata sarcinii și al cărei copil a fost, de asemenea, infectat. Pe lângă anticorpii transmiși, se observă perfect prezența benzilor suplimentare (←), pentru IgG și/sau IgM, pe strip-urile copilului, corespunzând anticorpilor recent sintetizați de copil: **CPI-WB ESTE POZITIV**.

CIP WB IgG (toxoplasmoza oculară)

Citiți cele 2 strip-uri contigue simultan de sus în jos în timp ce notați orice bandă antigenă **prezentă** în umoarea apoasă **și absentă** din ser.

Orice bandă care are o rezoluție bine definită, o Greutate Moleculară (MW) mai mică de 120 kDa și care este *prezentă doar în umoarea apoasă* dovedește sintetizarea locală a anticorpilor anti-toxoplasma, sugerând toxoplasmoza oculară.

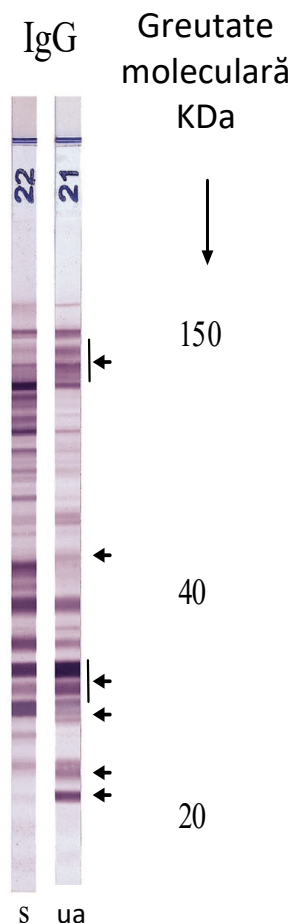


Fig. 2: Toxoplasmoza oculară – Exemple de rezultate pozitive – (s= ser; ah= umoarea apoasă)

Profilurile sunt prezentate ca exemple. Benzile sunt marcate cu litera "A" specifică parametrului din lotul "00011".

Puncte foarte importante

1. Rezultatele CPI-WB IgG/IgM trebuie interpretate în corelație cu alte informații imagistice clinice, serologice, parazitologice, epidemiologice și medicale pentru a stabili diagnosticul de toxoplasmoză congenitală sau oculară.
2. Un rezultat negativ CPI-WB IgG/IgM nu exclude diagnosticul de toxoplasmoză congenitală sau oculară. Acești pacienți trebuie să fie monitorizați mereu în timp până când diagnosticul de toxoplasmoză poate fi confirmat sau exclus definitiv.
3. Aspectele benzilor pot varia mult: îngust, gros, mai mult sau mai puțin colorat, intens etc. Când cineva aplică această tehnică, se recomandă să se efectueze mai multe comparații ale profilurilor cu perechile de probe știute pentru familiarizarea cu citirea acestora. La început, este recomandat, de asemenea, ca citirea CPI-WB să fie făcută independent de doi indivizi în laborator. În cazul interpretărilor discordante, trebuie executat un control CPI-WB.
4. Frațiunile antigene de greutate moleculară foarte mare (MW) sunt foarte alăturate în partea de sus a strip-ului în favoarea unei rezoluții mai bune a fracțiunilor MW medii și mici. Benzile cu MW > 120 kDa, prin urmare, nu pot fi utilizate pentru a interpreta testul: probele care prezintă doar aceste mici diferențe de profil nu pot fi returnate ca pozitive.
5. În contrast (toxoplasmoza congenitală), un "triplet" (trei benzi foarte ușor de recunoscut) situat între 75 și 100 kDa este identificat foarte des în CPI-WB IgM pozitiv (vedeți "T" Fig. 1, strip-ul Nr. 17 la dreapta).
6. La naștere (toxoplasmoza congenitală), trebuie acordată o atenție deosebită oricărei accentuări generale a intensității benzilor (hemoconcentrație) care poate sugera că există benzi adiționale în sângele din cordon. Serurile care prezintă doar aceste mici diferențe de profil sunt returnate ca negative.
7. În contrast (toxoplasmoza congenitală, toxoplasmoza oculară), întărirea semnificativă (adesea în lățime și intensitate) a uneia sau a două benzi izolate, în timp ce toate celelalte benzi sunt identice sau cu o intensitate mai slabă, este considerată a fi un criteriu pentru pozitivitate.
8. Anticorpi naturali (toxoplasmoza congenitală):
Tehnica imunoblot este extrem de sensibilă și antigenul folosit pentru testul CPI-WB a fost selectat pentru multiplicitatea benzii antigene prezente pe strip.
Numeroase publicații menționează benzi dezvoltate de imunoblot la indivizi care aparent nu au contractat niciodată toxoplasmoza. Acești anticorpi (IgG și IgM) sunt detectați rar doar cu alte tehnici, dar sunt detectați foarte frecvent de imunoblot. Aceștia pot fi cauzați de reacții încrucișate cu anticorpi direcționați împotriva imunogenelor unei naturi ce urmează a se determina.
De aceea indicația pentru testul **TOXOPLASMA WB IgG-IgM** este rezervat comparării profilurilor. (Pentru a confirma serologiile IgG, utilizați testul specific **LDBIO TOXO II IgG** care este destinat acestei utilizări)
Nou-născuții nu prezintă anticorpi naturali (alții decât anticorpii materni transmiși), dar probabilitatea apariției anticorpilor naturali crește cu vârsta copilului după 3 luni; ei sunt identificați doar rar între 3 și 6 luni.
De aceea, indicația pentru CPI-WB IgG/IgM în monitorizarea post-natală este limitată intenționat la 3 luni pentru IgG și 1 lună pentru IgM: benzile ce nu sunt specifice apar de fapt mai devreme pentru IgM.
9. "Heat Shock Protein" (toxoplasmoza congenitală):
O bandă ce nu este specifică, îngustă, cu intensitate slabă, dar variabilă poate fi prezentă pentru IgM până la 37 kDa. Este un artefact legat de prepararea antigenului și numit "Heat Shock Protein". Prezentă pe ambele benzi ale perechii mamă-copil, cu toate acestea poate părea câteodată a fi mai pronunțată cu un anumit ser pe durata monitorizării copilului. Nu luați această bandă în considerare.
10. CIP-WB (toxoplasmoza oculară): CPI-WB IgM nu este de niciun folos în diagnosticarea toxoplasmozei oculare. Cu toate acestea, CIP-IgA prezintă un interes diagnostic în această situație. Pentru mai multe informații despre CIP-IgA, vă rugăm să ne contactați.

LIMITĂRI DE UTILIZARE

- Diagnosticul unei boli infecțioase nu poate fi stabilit pe baza unui singur rezultat al testului.
- Rezultatele serologice trebuie interpretate în funcție de informațiile disponibile (de exemplu, epidemiologie, clinică, imagistică, biologie etc.) pentru a stabili un diagnostic. Acestea nu ar trebui să fie folosite ca bază de diagnostic doar pe baza pozitivității lor.

PERFORMANȚE (VEZI REFERINȚELE LITERATURII P.11)

Aceste studii au fost efectuate de laboratoare de referință independente.

CPI-WB G+M: TOXOPLASMOZA CONGENITALĂ la naștere (mamă/copil)

		TOXOPLASMA WB IgG-IgM	
		POS	NEG
DATE CLINICE	POS TC n = 54	41	13
	NEG TC n = 60	0	60

Tabel. 1: Performanța CPI-WB IgG/IgM la naștere (n = 114)

Specificitate = 100%

Valoarea predictivă pozitivă = 100%

Sensibilitate = 76%

Valoarea predictivă negativă = 83%

CPI-WB G+M: TOXOPLASMOZA CONGENITALĂ în monitorizarea post natală (copil D0/D20)

Din 54 de copii testați înainte la D0 (**Tabel 1**), 10 copii neinfecțati și 12 copii infecțati (n = 22) au fost monitorizați până la D20 și analizați în retrospectivă cu testul TOXOPLASMA WB IgG-IgM.

La D0: 4 din 12 copii infecțati nu au prezentat un profil diferit față de naștere (negative false).

La D20: 1 singur copil rămâne negativ

		TOXOPLASMA WB IgG-IgM	
		POS	NEG
DATE CLINICE	POS TC n = 12	11	1
	NEG TC n = 10	0	10

Tabel 2: Performanța CPI-WB IgG/IgM la D20 (n = 22):

Specificitate = 100%

Valoarea predictivă pozitivă = 100%

Sensibilitate = 92%

Valoarea predictivă negativă = 91%

CPI-WB IgG: TOXOPLASMOZA OCULARĂ (ser/umoare apoasă)

Performanțele prezentate mai jos provin din meta-analiza a patru studii publicate de centre de referință.

Aceste studii compară performanțele CPI-WB **IgG** cu cele ale Coeficientului Goldmann Witmer (GWC) și cele ale PCR. Acestea arată, de asemenea, performanțele diagnosticului obținute de asocierea combinată a două sau trei din aceste tehnici.

Toate aceste patru studii au folosit testul LDBIO în acord cu recomandările din instrucțiunile de utilizare ale kitului.

Sensibilitatea a fost determinată pe 113 pacienți prezentând toxoplasmoză oculară dovedită clinic. Specificitatea a fost calculată pe o populație de control prezentând o boală oculară alta decât infecția toxoplasmică: toxocarioza oculară (n=5), infecție virală (n=10), alte infecții (n=4), boli oculare ce nu sunt infecțioase (n=126) din care cataractă (n=42).

Sensibilitate (Se)

Sensibilitatea generală a CPI-WB IgG este **62.8%** (n=113), performanță care este comparabilă cu GWC (Se=61.0%, n=113) și mai mare decât PCR (Se=43.5%, n=92, p=0.0028).

Combinăția de CPI-WB cu GWC și PCR îmbunătățește sensibilitatea diagnosticului:

CPI-WB + GWC: Se=78.1% (n=96, p=0.0082)

CPI-WB + GWC + PCR: 86.3% (n=95, p=0.0001)

Specificitate (Sp)

Specificitatea generală a CPI-WB IgG este **92.8%** (n=111), performanță care este comparabilă cu GWC (Sp=94.2%, n=139) și mai mică decât PCR (Sp=100%, n=131, p=0.0009).

Combi-nația celor două tehnici, CIP-WB IgG + GWC, reduce ușor specificitatea diagnosticului (Sp=91.1%, n=101, p=0.32). Combi-nația cu PCR nu influențează specificitatea.

Concluzie

Imunotestul **Toxoplasma WB IgG IgM** are o performanță excelentă în diagnosticul toxoplasmozei congenitale sau oculare.

În toxoplasmoza congenitală, CIP-WB G + M are o sensibilitate de **76%** [95CI 62-86%] și o specificitate de **100%** [95CI 92-100%] la naștere. Re-testarea în prima lună de viață crește și mai mult sensibilitatea CIP-WB G + M.

În toxoplasmoza oculară, CIP-WB IgG are o sensibilitate de **62,8%** [95CI 53,2-71,6%] și o specificitate de **92,8%** [95CI 85,9-96,6%]. Combi-nația cu alte tehnici (GWC și / sau PCR) crește performanța diagnosticului.

Reproductibilitate

S-a testat reproductibilitatea între serii și între loturi. În ambele cazuri, corelația ser cu ser în raport cu benzile specifice este excelentă.

Interferențe

Chiar dacă nu s-a observat o reacție încrucișată specială cu serurile hemolizate, icterice sau lipidice, se recomandă interpretarea cu grijă a rezultatelor obținute din utilizarea acestor probe.

DEPISTAREA DEFECTELOR

"Benzile sunt șterse, cu un contrast redus": Anumite seruri cu concentrații scăzute de anticorpi pot da astfel de rezultate.

"Pot fi văzute zone umbrite, mai mult sau mai puțin colorate, ușor difuze": Strip-ul nu a fost complet scufundat într-unul dintre reactivi și nu s-a incubat corect pe toată lungimea sa. Petele pot fi, de asemenea, prezente acolo unde proba a fost depusă, dacă tava nu a fost scuturată după distribuire.

"Zgomotul de fond este semnificativ, ceea ce face ca citirea să fie foarte dificilă": Spălările au fost insuficiente sau ultima incubare a fost prea lungă. Aplicați tehnici bune de testare a performanțelor, respectați timpii de spălare și asigurați calitatea apei. Reduceți timpul ultimei incubări.

În mod excepțional, anumite seruri pot reacționa într-o manieră nespecifică. Apoi, rezultatul testului imunoblot nu poate fi folosit.

Acest zgomot de fond nespecific poate implica doar o parte din bandă, făcând rezultatele neinterpretabile doar pentru acea parte.

"În timpul ultimei etape de dezvoltare apare un precipitat în soluție": substratul poate, de fapt, să precipite parțial (fulgi negri) în soluție-tampon la sfârșitul dezvoltării. Acest fenomen nu modifică calitatea dezvoltării, care trebuie continuată în mod normal. Ultima spălare cu apă distilată elimină posibilele particule solide prezente.

Bibliografie

- Fekkar, A. *et al.* Comparison of immunoblotting, calculation of the Goldmann-Witmer coefficient, and real-time PCR using aqueous humor samples for diagnosis of ocular toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 1965–1967 (2008).
- Garweg, J. G. Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. *Parasite Immunol.* **27**, 61–68 (2005).

- Garweg, J. G., de Groot-Mijnes, J. D. F. & Montoya, J. G. Diagnostic Approach to Ocular Toxoplasmosis. *Ocular Immunology and Inflammation* **19**, 255–261 (2011).
- Garweg, J. G., Garweg, S.-D. L., Flueckiger, F., Jacquier, P. & Boehnke, M. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin types G, A, M, and E in cases of human ocular toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 4593–4598 (2004).
- Goldmann, H. & Witmer, R. [Antibodies in the aqueous humor]. *Ophthalmologica* **127**, 323–330 (1954).
- L'ollivier, C. *et al.* Comparison of Mother and Child Antibodies That Target High-Molecular-Mass *Toxoplasma gondii* Antigens by Immunoblotting Improves Neonatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *Clin. Vaccine Immunol.* **19**, 1326–1328 (2012).
- Maenz, M. *et al.* Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. *Prog Retin Eye Res* **39**, 77–106 (2014).
- Magi, B. & Migliorini, L. Western blotting for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *New Microbiol.* **34**, 93–95 (2011).
- Pinon, J. M. *et al.* Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 2267–2271 (2001).
- Potasman, I., Araujo, F. G. & Remington, J. S. *Toxoplasma* antigens recognized by naturally occurring human antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **24**, 1050–1054 (1986).
- Remington, J. S., Thulliez, P. & Montoya, J. G. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 941–945 (2004).
- Rilling, V., Dietz, K., Krczal, D., Knotek, F. & Enders, G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **22**, 174–180 (2003).
- Robert-Gangneux, F. *et al.* Usefulness of immunoblotting and Goldmann-Witmer coefficient for biological diagnosis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **23**, 34–38 (2004).
- Robert-Gangneux, F. & Darde, M.-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews* **25**, 264–296 (2012).
- Ronday, M. J., Ongkosuwito, J. V., Rothova, A. & Kijlstra, A. Intraocular anti-*Toxoplasma gondii* IgA antibody production in patients with ocular toxoplasmosis. *Am. J. Ophthalmol.* **127**, 294–300 (1999).
- Talabani, H. *et al.* Contributions of Immunoblotting, Real-Time PCR, and the Goldmann-Witmer Coefficient to Diagnosis of Atypical Toxoplasmic Retinochoroiditis. *Journal of Clinical Microbiology* **47**, 2131–2135 (2009).
- Tridapalli, E. *et al.* Congenital toxoplasmosis: the importance of the western blot method to avoid unnecessary therapy in potentially infected newborns. *Acta Paediatr.* **97**, 1298–1300 (2008).
- Turunen, H. J., Leinikki, P. O. & Saari, K. M. Demonstration of intraocular synthesis of immunoglobulin G *Toxoplasma* antibodies for specific diagnosis of toxoplasmic chorioretinitis by enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* **17**, 988–992 (1983).
- Villard, O. *et al.* Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Immunoblotting, and PCR for Diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 3537–3541 (2003).
- Villard, O. *et al.* Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2015).

NOTIFICARE DE ACTUALIZARE - Vă rugăm să citiți cu atenție

DATA ELIBERĂRII	VERSIUNE	REZUMATUL MODIFICĂRILOR
26/07/2021	Vs 18	Eliminarea avertismentului de securitate R5 - Adresa de e-mail de contact – NaN3 EUH 032.
29/07/2022	Vs 19	R6 fără NaN3. Bandă identificată cu litera A. Posibilă utilizare de reactivi din loturi diferite.
30/11/2022	Vs20	Adresă nouă



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