

LDBIO TOXO II IgG CE0459



CONFIRMATION

In vitro diagnostický test Immunoblot
Poloautomatizovaná / manuálna technika

#TOXO II 24G: 24 testov

#TOXO II 12G: 12 testov

#TOXO II 96G: 96 testov

NÁVOD NA POUŽITIE

Viac informácií a návod na použitie vo vašom jazyku nájdete na našej webovej stránke
www.ldbiodiagnostics.com

DOPORUČENÉ POUŽITIE

LDBIO TOXO II IgG je jednorazový kvalitatívny test pro sérologickú diagnózu IgG pomocou imunoblotu. Jedná sa o analýzu toxoplazmózy určenú pre potvrdzovacie testovanie pozitívnych alebo hraničných výsledkov získaných pomocou klasických skriningových testov. Analýzu je možné vykonať zo séra alebo mozgovomiechového moku (CSF) alebo komorovej vody.

PRINCÍP TESTU

Technika Western Blot

Antigény *Toxoplasma gondii*, sa po elektroforetickej separácii naviažu pomocou elektroblotovania na povrch nitrocelulózovej membrány (čo sa nazýva transfer – presun), ktorá sa nastrihá na 24 prúžkov očíslovaných od 1 do 24.

Vykonanie testu

Každá testovaná vzorka sa oddelene inkubuje s prúžkom. Špecifické protilátky potenciálne prítomné vo vzorke sa selektívne viažu na antigény. Konjugát alkalická fosfatáza-anti-humánny IgG sa potom viaže na naviazané protilátky. Nakoniec imunokomplexy reagujú so substrátom. Antigény, rozpoznávané špecifickými protilátkami typu IgG prítomnými vo vzorkách, sú odhalené ako fialové priečne pruhy.

REAGENCIE DODÁVANÉ SO SÚPRAVOU

Predvolené: balenie 24 testov (#TOXO II-WB24G)

Italic : balenie 12 testov (#TOXO II-WB12G) – **Bold** : balenie 96 testov (#TOXO II-WB96G)

ID	ks	Popis	Zloženie
R1	1	Priečinok (γ) 24 (12, 4x24) STRIPS + prefarbené štandardy (každý priečinok a každý prenos je identifikovaný jedinečným sériovým číslom)	Senzitizovaná nitrocelulóza. Farebná molekulová hmotnosť (kDa): modrý: 250, modrý: 150, modrý: 100, ružový: 75, modrý: 50, zelený: 37, ružový: 25, modrý: 20, modrý: 15.
R2	1	Injekčná liekovka s 30 (30, 125) ml VZORIEK VZORKY (pripravený na použitie - ružový roztok).	Pufr + povrchovo aktívna látka.
R3	1	Injekčná liekovka (liekovky) 30 (30, 2x60) ml ANTI IgG CONJUGATE (roztok pripravený na použitie - modrý roztok).	Pufrovacie polyklonálne kozie sérum proti ľudskému IgG konjugované s alkalickou fosfatázou Na ₃ (<0.1%) + stabilizátory.
R5	1	Injekčná liekovka s 30 (30, 125) ml SUBSTRATE (pripravená na použitie - nepriehľadná hnedá liekovka).	Tlmivý roztok + NBT + BCIP + stabilizátory.
R6	1	Injekčná liekovka 60 (60, 250) ml WASH CONCENTRATE 10X BUFFER (zriedi sa 10-krát v destilovanej vode - bezfarebný roztok).	Pufr + povrchovo aktívna látka.
R10	1	Skúmavka 100 (100, 2x100) μl POZITÍVNEHO KONTROLNÉHO SERUMU (pripravený na použitie - červený uzáver).	Zásobný roztok ľudského séra pozitívneho v <i>Toxoplasma</i> serológia + Na ₃ (<0.1%) + stabilizátory.

R1: Písmeno pred každým číslom pásu je špecifické pre parameter.

R2, R3, R5 and R6 sú spoločné pre všetky zostavy a majú jedinečné číslo šarže v závislosti od dátumu ich výroby. **Odporúča sa vykonať multiparametrové testovanie (pozri rozsah imunoblotov LDBIO), aby sa obmedzil počet otvorených injekčných liekoviek a aby sa zabezpečila lepšia kontrola kvality.**

R10 je kalibrovaný v imunoblote podľa referenčnej šarže a je určený iba pre túto techniku.

R3, R10 (NaN₃): EUH 032- Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.

EUH 210 Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov a na našom webe www.ldbiodiagnostics.com.

POTREBNÝ DODATOČNÝ MATERIÁL - NIE JE SÚČASŤOU BALENIA

- Viackanálové polypropylénové inkubačné podnosy pre mini-bloty (# WBPP- 08 or equivalent).
- Hojdacia plošina pre imunoblots, vákuový systém pre kvapaliny (the # WBPP- 08 skúmavky, ktoré dodávame, môžu byť vyprázdnené jednoduchým otočením).
- Skúmavky a materiál na ťahanie vzoriek odmerných valcov, prispôbených kontajnerov. Automatické pipety, mikropipety a jednorazové špičky (objem 10µL, 25 µl, 1.2 ml and 2 ml).
- Destilovaná alebo deionizovaná voda. Absorpčný papier (e.g., Whatman filter paper), transparentná lepiaca páska.
- Rukavice, pinzeta na manipuláciu s prúžkami, rezačkou alebo skalpelom, ploché priehľadné pravítko.

Poznámka : Naše reagenty môžu byť použité v automatizovanom imunoblotovom procesore. **Ak je procesor zdieľaný s činidlami od iného výrobcu** (známy príklad: kontaminácia TWEEN 20) **a bakteriálne kontaminácie**, je potrebné venovať pozornosť možným chemickým kontamináciám našich činidiel. Rezervovať skúmavky pre procesor. Po spracovaní nedávajte zostávajúce použité reagenty späť do pôvodných injekčných liekoviek.

SKLADOVANIE A STABILITA

Skladujte v rozmedzí 2 až 8°C. Reagenty zo súpravy sú stabilné až do dátumu expirácie uvedeného na vonkajšom obale a štítkoch injekčnej liekovky. Nepoužívajte kontaminované alebo zakalené činidlo. Premývací pufer zriedený na 1/10 je stabilný 2 mesiace pri 2 až 8°C alebo jeden týždeň pri izbovej teplote.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Bezpečnosť

- Len na použitie *in vitro*. Len na profesionálne použitie. Iba pre technicky vyškolený personál. Manipulujte v súlade so správnou laboratórnou praxou a akékoľvek činidlo a akúkoľvek vzorku považujte za potenciálne toxické a / alebo infekčné
- Používajte laboratórny plášť, rukavice a okuliare; v laboratóriu nepite, nejedzte ani nefajčite.
- Pozitívnu kontrolou je sérum ľudského pôvodu, ktoré bolo inaktivované na vírusy HIV 1 a 2, hepatitídu B a hepatitídu C. So substrátom sa však musí zaobchádzať ako s potenciálne infekčným produktom
- Substrát obsahuje zmes NBT a BCIP, jedovatý pri kontakte (pokožka a sliznice) a pri vdýchnutí
- Činidlá obsahujú azid sodný, ktorý môže tvoriť výbušné kovové soli s olovom a meďou. Rozliaty materiál opláchnite vodou.
- Zlikvidujte odpad (vzorky, špičky, skúmavky, premývaciu kvapalinu, použité činidlo ...) v súlade s osvedčenými postupmi používanými v priemysle a platnými predpismi v krajine.
- Akákoľvek vážna nehoda musí byť predmetom vyhlásenia pre výrobcu a príslušného orgánu.

Prevenencia

- Výsledky čítajte a interpretujte pod priamym bielym svetlom.
- Je vhodnejšie použiť všetky činidlá z tej istej šarže. Ak sa používajú rôzne šarže, zabezpečte sledovateľnosť.
- Prúžky používajte v číselnom poradí. Nemiešajte prúžky z rôznych sériových čísel; použiť prevody po sebe. Pred začatím testu vytvorte špecifický distribučný plán
- Nedotýkajte sa prúžkov prstami;
- Pred použitím sa musia reagenty dobre premiešať, najmä koncentrovaný premývací tlmivý roztok
- Uzatvoriť injekčné liekovky po použití; nepoužívajte, ak bola látka náhodne vložená do činidiel. Nepoužívajte reagentiu z injekčnej liekovky, ktorá vykazuje známky úniku. Nepoužívajte zakalený alebo vyzrážaný roztok
- Používajte iba jednorazové špičky pipiet. Vyhnite sa akejkoľvek medzikanálovej kontaminácii. Dávajte pozor na tvorbu peny alebo bublín v špičkách pipiet (bakteriálna kontaminácia reagenčných liekoviek)
- Inkubačné platničky čistite iba destilovanou vodou (nikdy nepoužívajte prací prostriedok alebo bielidlo)
- Vynechanie vzorky alebo distribúcia neprimeraného objemu - výsledok testu záporný alebo pozitívny, bez ohľadu na jeho aktuálny stav.

ODBER VZORIEK

Vzorky odoberajte asepticky do suchých skúmaviek. Je potrebných minimálne 10 µL séra komorovej vody alebo CSF. Použitie 25 µL v prípade komorovej vody a CSF zvýši senzitivitu testu.

Vzorky uchovávajúte pri 2-8°C až do spracovania. Ak sa musia skladovať dlhšie ako týždeň, vzorky zmrazte na -20 ± 5 ° C. Nepoužívajte kontaminovanú vzorku. Vzorky zamedzte opakovanému zmrazeniu a rozmrazeniu.*

Napriek tomu, že pri hemolyzovaných, ikterických alebo lipidových sérach nebola pozorovaná žiadna špecifická skrížená reakcia, odporúča sa starostlivo interpretovať výsledky z použitia takýchto vzoriek.

PRÍPRAVA ČINIDIEL

Prachový pufo : Pre 4 testy v čistej fľaši zriedte 10 ml premývacieho koncentrátu 10X (R6) v 90 ml destilovanej alebo deionizovanej vody. Buďte opatrní pri miešaní zriedeného tlmivého roztoku.

SKÚŠOBNÝ POSTUP

Nota Bene: Odporúča sa vykonať multiparametrické testovanie (pozri rozsah imunoblotov LDBIO), aby sa obmedzil počet otvorených injekčných liekoviek a aby sa zabezpečila lepšia kontrola kvality.

1. Pripravte distribučný plán pre vzorky a pozitívnu kontrolu C (R10).

Skúška môže byť technicky overená a identifikovaná len pre dané sériové číslo špecifických vyvinutých pásiem. AC pásik nie je možné použiť na interpretáciu výsledkov prúžkov z blotu iného sériového čísla.

2. Získajte požadovaný počet prúžkov (R1) skalpelom a čistým a suchým plochým priehľadným pravítkom, ohranjanje modre črte za pozicioniranje na trakovih : pásy držte pásy pevne na mieste s pravítkom a odrežte ich na strane kmeňa (čísla sú viditeľné cez pravítko).

3. Rozdeľte 1,2 ml vzorkového pufru (R2) v každom kanáli podľa stanoveného plánu.

4. Vkladajte očíslované prúžky v kanáloch v ich číselnom poradí: Nechajte prúžky rehydratovať na povrchu po dobu približne 1 minút, s číslom viditeľným na vrchu, POTOM jemne pretrepte zásobník, aby sa úplne ponorili do pufru.

5. Rozdeľte vzorky a pozitívnu kontrolu (-y): podľa distribučného plánu rýchlosťou 10 µl na kanál (preferenčne 25 µL pro komorovu vodu a CSF). Zásobník po každom vydaní jemne pretrepte. Podnos umiestnite na hojdačku. **Inkubujte** 90 min ± 5 min pri 20-26 °C.

6. Krok premývania: Vyprázdňte obsah kanálov Pasteurovou pipetou alebo otočením inkubačnej misky. Do každého kanála sa napipetujú 2 až 3 ml zriedeného premývacieho pufru. Inkubujte 3 minúty na húpavej plošine. Opakujte 2 krát a potom vyprázdňte obsah kanálov. Uistite sa, že sa prúžky počas týchto krokov neotáčajú.

7. Do každého kanála sa pridá 1,2 ml konjugátu anti IgG (R3). Umiestnite podnos na hojdačku. **Inkubujte** 60 min ± 5 min pri 20-26 °C.

8. Krok premývania: opakujte krok 6.

9. Rozdeľte 1,2 ml substrátu NBT / BCIP (R5) do každého z kanálov. Umiestnite na hojdačku a chráňte pred priamym svetlom. **Inkubujte** 60 min ± 5 min pri 20-26 °C.

Bez ohľadu na parameter sledujte vývoj farby. Vývoj môže byť zastavený, ak farba pozadia pásu stmavne do miesta, kde je čítanie obtiažne (kvalita krokov prania má zásadný vplyv na sfarbenie pozadia). Všimnite si, že prúžky sa zosvetlia, keď sú suché.

10. Zastavte reakciu odsatím substrátu pomocou Pasteurovej pipety alebo otočením inkubačnej vane a vydávaním 2 ml destilovanej vody do kanálov. Tento posledný premývací krok zopakujte ešte raz.

11. Odstránenie pásov: S kanálmi, ktoré sú ešte naplnené vodou, odoberte prúžky pomocou očíslovaného konca pomocou pinziet a uložte ich s viditeľným číslom na absorpčný papier Whatman. Nechajte vyschnúť na vzduchu. Farba pásov sa prirodzene zosvetlí pri sušení. Interpretácia sa musí vykonať len po ukončení sušenia.

12. Skladovanie: Prúžky preneste na list papiera, ktorý sa použije na ich archiváciu. Zarovnajzte polohovacie čiary. Uchovávajte ich na mieste s plochým pravítkom, prilepte vrchnú časť pásov transparentnou lepiacou páskou.

Pre dobrú interpretáciu musia byť prúžky usporiadané v rade v ich číselnom poradí, rozmiestnené maximálne od seba niekoľko milimetrov. Je nespoľahlivé porovnávať prúžky, ktoré sú od seba vzdialené (napr. č.2 s č.15). Je nebezpečné porovnávať prúžky z rôznych súprav (prúžky s rôznymi sériovými číslami) (falošné výsledky).

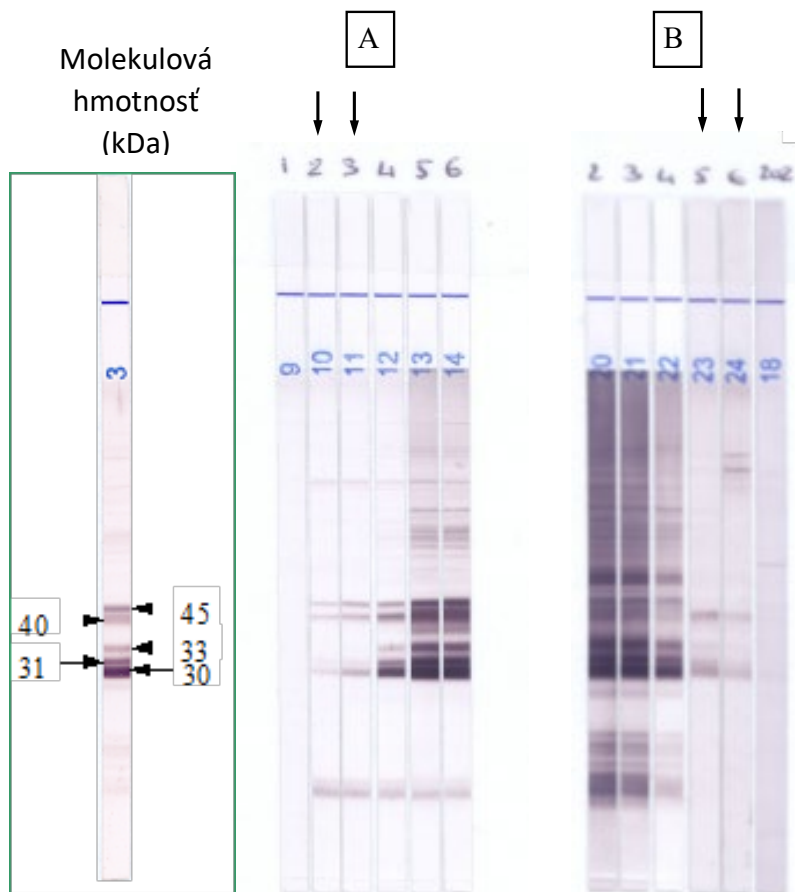
KONTROLA KVALITY A INTERPRETÁCIA

Sérová kontrola (R10) dodaná so súpravou musí byť systematicky zahrnutá v každej sérii imunoblotov. Ukazuje typický profil a umožňuje technické overenie dobrého priebehu skúšky (pásky sa musia na prúžku objaviť veľmi jasne) a presne kalibrovať polohu a aspekt špecifických pásov, aby sa umožnila interpretácia výsledkov pásov z rovnakých testov (rovnaké sériové číslo).

Poznámka: Poznámka: Profil pozitívnej kontroly (R10) sa môže líšiť podľa druhu šarží použitých reagensí. Zodpovedajúce obrázky sú dostupné napríklad na našej webovej stránke www.ldbiodiagnostics.com.

Popis pásiem

Pozitívna vzorka môže vykazovať mnoho bandov (proteínových pásov) nachádzajúcich sa v rozmedzí medzi 15 a 200 kilodaltonov (kDa). Pre každú testovanú vzorku hľadajte prítomnosť špecifických bandov v oblasti 30-45 kDa pomocou kalibračných nástrojov popísaných vyššie. Tieto typické bandy, ktoré sú zoskupené a dobre oddelené, bývajú vo všeobecnosti ľahko spozorovateľné.



Obr. 1: Príklady pozitívnych a negatívnych výsledkov

Profily sú uvedené ako príklad. prúžky sú označené písmenom "K" špecifickým pre parameter šarže "50016".

Interpretácia

Prítomnosť aspoň 3 bandov na prúžku spomedzi špecifických bandov 30, 31, 33, 40 a 45, a prítomnosť bandu na 30 kDa, umožňuje interpretáciu pozitívneho výsledku a konštatovať prítomnosť IgG protilátok proti *T. gondii* v testovanej vzorke.

- A: Príklad sérokonverzie. Séra 2 a 3, pozitívne s LDBIO TOXO II IgG, boli negatívne so skrínogovou technikou (menovite *ELISA 2 IgG* uvedené nižšie v štúdiu charakteristík činnosti).
- B: príklad neonatálneho monitoringu. Séra 5 a 6, pozitívne s LDBIO TOXO II IgG, boli negatívne s *ELISA 2 IgG* skrínogovou technikou.

Note Bene: Môžu byť pozorované aj iné bandy, ale tie sa pri vyhodnocovaní testu neberú do úvahy.

Na potvrdenie výsledkov vždy porovnajte profil imunoblotu každej vzorky s profilom R10 pozitívnej kontroly. Pri interpretácii testu je dôležitý aspekt pásov.

OBMEDZENIA POUŽÍVANIA

- Diagnózu infekčného ochorenia nemožno stanoviť na základe jediného výsledku testu.
- Sérologické výsledky sa musia interpretovať podľa dostupných informácií (napr. Epidemiológia, klinický obraz, zobrazovanie, biológia atď.) S cieľom stanoviť diagnózu. Nemali by sa používať na stanovenie diagnózy iba na základe ich pozitivity.

CHARAKTERISTIKA (POZRI ODKAZY NA LITERATÚRU)

Vyhodnotenie bolo vykonané v referenčnom laboratóriu špecializovanom na diagnostiku toxoplazmózy.

Princíp vyhodnotenia pozostával z porovnania výsledkov 529 vzoriek sér získaných s použitím LDBIO-TOXO II IgG techniky, výsledkov testu so Sabin a Feldmanovým farbivom, výsledkov dvoch predávaných skrínogových techník, "ELISA 1 IgG" a "ELISA 2 IgG", ako aj klinických a biologických údajov pacientov.

od pacientov

- **Prahová hodnota použitých techník**

	NEGATÍVNY	HRANIČNÝ	POZITÍVNY
TEST S FARBIVOM (IU/mL)	< 2	-	≥ 2
ELISA 1 (IU/mL)	< 4	4 - 8	≥ 8
ELISA 2 (IU/mL)	< 6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- **Štatistická analýza výsledkov**

Stanovili sme hodnoty senzitivity a špecificity, pokiaľ to bolo možné. Intervaly spoľahlivosti sú vypočítané podľa Wilsonovej metódy s korekciou na kontinuitu. Korelácia medzi výsledkami získanými rôznymi technikami bola vyhodnotená pomocou McNemarovho CHI-2 testu na odpovedajúcich si sériách.

- **Pacienti**

Všetky analýzy boli robené so sérami skladovanými v zamrazenom stave pri -20 °C. Vzorky pochádzajú z 5 rôznych skupín pacientov.

Skupina I –Test s farbivom

Štúdia na 200 vzorkách séra získaná v priebehu skríningu toxoplazmózy u tehotných žien použitím testu s farbivom. „Pozitívna“ podskupina predstavuje 98 vzoriek séra pozitívnych pri teste s farbivom od žien imunizovaných proti *T. gondii*. Táto podskupina obsahovala séra s prostrednými titrami IgG pri teste s farbivom

(od 2 do 32 IU/mL) kvôli otestovaniu senzitivity LDBIO TOXO II IgG v porovnaní s inými technikami. „Negatívna“ podskupina predstavuje 102 vzoriek séra negatívnych pri teste s farbivom od tehotných žien neimunizovaných proti T. gondii. Týchto 200 vzoriek bolo testovaných paralelne pomocou LDBIO-TOXO II IgG, ELISA 1 IgG a ELISA 2 IgG technik.

Skupina II - Sérokonverzia

Jedná sa o retrospektívnu analýzu 17 sekvencií séra (101 vzoriek) získaných od pacientov u ktorých sa prejavila sérokonverzia toxoplazmózy v priebehu tehotenstva.

Každá sekvenčná séria obsahuje posledné negatívne sérum a potom sériu od 3 do 5 sér ukazujúcich prítomnosť špecifických IgM a syntézu špecifických IgG (ELISA 2 IgG).

Skupina III – Monitoring neinfikovaných detí

Jedná sa o retrospektívnu analýzu 74 vzoriek odpovedajúcich 20 sekvenciám post-natálneho monitoringu detí narodených matkám, u ktorých došlo k sérokonverzii toxoplazmózy v priebehu tehotenstva. Každá sekvencia 2 až 6 sér vykazuje pokles v hodnotách titrov IgG prenesených od matky až dokiaľ nebola sérologia negatívna s ELISA 2 IgG technikou (medzi 5 a 13 mesiacmi).

Skupina IV – Monitoring infikovaných detí

Jedná sa o retrospektívnu analýzu 85 vzoriek z post-natálneho monitoringu detí narodených skongenitálnou infekciou. Sérologický monitoring prebiehal pomocou ELISA 2 IgG

Skupina V – Senzitivita - Špecificita (malária a vírusové infekcie)

Štúdia 69 vzoriek séra od pacientov trpiacich maláriou alebo vírusovými infekciami (**Tabuľka 1**). Tieto vzorky boli testované pomocou ELISA 2 IgG (všetky boli negatívne pri skríningu IgM). Všetky negatívne ako aj nesúladne výsledky boli testované pomocou testu s farbivom.

Infekčný agens (n = 69)	POSITIVE ELISA 2 IgG (n = 44)	NEGATIVE 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

Tabuľka 1: Rôzne infekcie testované v štúdii.

• Výsledky

Skupina I: Test s farbivom

	TEST S FARBIVOM	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POZITÍVNY	98	97	61	93
NEGATÍVNY	102	103	114	107
HRANIČNÝ	-	-	25	-
ŠPECIFICITA	-	100%	100%	100%
SENZITIVITA	-	99%	85%	95%

Tabuľka 2: Korelácia testu s farbivom s 3 technikami. Technika ELISA 1 IgG predstavuje nejednoznačnú oblasť.

- 4 negatívne ELISA 2 IgG séra sú pozitívne s LDBIO TOXO II IgG a s testom s farbivom
- 11 negatívnych ELISA 1 IgG sér je pozitívnych s LDBIO TOXO II IgG a s testom s farbivom
- 25 ELISA 1 IgG sér je nejednoznačných: 24 je pozitívnych s LDBIO TOXO II IgG a s testom s farbivom a 1 sérum je negatívne s LDBIO TOXO II IgG a s testom s farbivom.

Skupina II: Sérokonverzia

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍVNY	NEGATÍVNY
LDBIO TOXO II IgG	POZITÍVNY	70	10
	NEGATÍVNY	0	21

Tabuľka 3: LDBIO-TOXO II IgG/ELISA 2 IgG korelácia na 101 sérokonverzných sérach. $p = 0.0016$

Pre 8/17 sérokonverzií (47%), boli IgG skrínované skôr pomocou LDBIO-TOXO II IgG.

Skupina III a IV: Monitoring novorodencov

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍVNY	NEGATÍVNY
LDBIO TOXO II IgG	POZITÍVNY	130	18
	NEGATÍVNY	0	11

Tabuľka 4: LDBIO-TOXO II IgG/TEST 2 IgG korelácia na 159 sérach z post-natálneho monitoringu. $p < 0.0001$

Neinfikované deti: 13 sér odpovedajúcich 10/20 prípadom z post-natálneho monitoringu (50%) bolo negatívnych s ELISA 2 IgG a zvyšok bolo pozitívnych s LDBIO TOXO II IgG, čo odhaľuje prenesené maternálne protilátky, zatiaľ čo technika ELISA 2 IgG ich už nie je schopná detegovať.

Infikované deti: 5 sér odpovedajúcich 3 deťom bolo nesúladných. Jedno z nich vykazuje, že výsledky jeho/jej sérológie sú dočasne negatívne s ELISA 2 IgG. LDBIO TOXO II IgG test zostáva pozitívny, čo potvrdzuje jeho/jej infekciu. Pre zvyšné 2 deti ukazuje LDBIO TOXO II IgG test skorší pozitívny výsledok ako ELISA 2 IgG.

Je ale nemožné potvrdiť neosyntézu IgG, pretože tento test nerozlišuje protilátky prenesené maternálne od novo syntetizovaných protilátok.

Skupina V: Senzitivita a Špecificita (malária a vírusové infekcie)

		ELISA 2 IgG	
		POZITÍVNY	NEGATÍVNY
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POZITÍVNY	42	2
	NEGATÍVNY	2	23

Tabuľka 5: LDBIO-TOXO II IgG/TEST S FARBIVOM/ELISA 2 IgG korelácia na 69 sérach s maláriou alebo vírusovými infekciami.

V tejto populácii došlo k 100% zhode medzi LDBIO-TOXO II IgG a testom s farbivom: tieto výsledky potvrdzujú špecificitu a senzitivitu LDBIO-TOXO II IgG testu.

Štúdia odhaľuje 4 výsledky nesúhlasné s ELISA 2 IgG technikou, 2 falošne negatívne (1 HIV a 1 *P. falciparum*) a 2 falošne pozitívne (2 *P. falciparum*), čo zvyrazňuje schopnosť potvrdzovacej techniky pre všetky výsledky ktoré sú blízko prahovej hodnoty.

- Záver

Skupina I (Test s farbivom)

Korelácia LDBIO-TOXO II IgG/Test s farbivom je excelentná.

Senzitivita = 99% [95CI 94 - 100%]

Špecificita = 100% [95CI 95 - 100%]

LDBIO-TOXO II IgG môže potvrdiť stav pacienta vykazujúceho pri skríningu nejednoznačné výsledky alebo nízky titer protilátok.

Skupina II (sérokonzverzia)

Senzitivita LDBIO TOXO II IgG je vyššia v porovnaní s ELISA 2 IgG. ($p = 0.0016$). LDBIO TOXO II IgG môže potvrdiť sérokonzverziu skôr ako ELISA 2 IgG.

Skupina III a IV (monitoring novorodencob)

Senzitivita LDBIO TOXO IgG je omnoho vyššia v porovnaní s ELISA 2 IgG ($p < 0.0001$). pri monitoringu detí sa môže LDBIO TOXO II IgG použiť pre potvrdenie alebo vylúčenie negatívnych sérologických výsledkov.

Avšak LDBIO TOXO II IgG nerozlišuje maternálne prenesené protilátky od protilátok, ktoré boli novo syntetizované dieťaťom.

Skupina V (malária a vírusové infekcie)

Korelácia LDBIO TOXO II IgG/Test s farbivom je excelentná (100% senzitivita [95CI 90-100%] a 100% špecificita [95CI 95-100%]).

Tieto výsledky ukazujú potrebu potvrdzovacej metódy pri testovaní vzoriek vykazujúcich pri skríningu výsledok, ktorý je blízko hraničnej hodnoty.

Excelentná činnosť kitu LDBIO TOXO II IgG oprávňuje jeho použitie pri potvrdzovaní výsledkov získaných IgG skríningovými technikami (výsledky, ktoré sú nejednoznačné, mierne pozitívne alebo predstavujú problémy pri interpretácii).

Presnosť

Bola testovaná reprodukovateľnosť medzi sérami a medzisložkami. V oboch prípadoch je korelácia séra na sérum vzhľadom na špecifické pásy vynikajúca.

Interferencia

Napriek tomu, že pri hemolyzovaných, ikterických alebo lipidových sérach nebola pozorovaná žiadna špecifická skrížená reakcia, odporúča sa starostlivo interpretovať výsledky z použitia takýchto vzoriek.

RIEŠENIE PROBLÉMOV

"Pásy sú bledé s malým kontrastom" : Niektoré séra s nízkymi koncentráciami protilátok môžu poskytnúť takéto výsledky.

"Tieňované oblasti môžu byť viditeľné, viac či menej farebné, mierne difúzne" : Pás nebol úplne ponorený v jednom z činidiel a neinkuboval sa správne po celej jeho dĺžke. Môžu byť prítomné aj škvrny tam, kde bola vzorka uložená, ak sa tácka po dávkovaní neotrela.

"Šum v pozadí je značný, čo robí čítanie veľmi ťažké" : Umývanie bolo nedostatočné alebo posledná inkubácia bola príliš dlhá. Zabezpečte dobré techniky testovania, rešpektujte časy prania a zabezpečte kvalitu vody. Znížte čas poslednej inkubácie.

Výnimočne môžu určité séra reagovať nešpecifickým spôsobom. Potom nie je možné použiť výsledok imunoblotu.

Tento nešpecifický šum pozadia môže zahŕňať iba časť pásu, čo robí výsledky neinterpretovateľnými len pre túto časť.

"V poslednom kroku vývoja sa v roztoku objaví zrazenina" : substrát sa môže na konci vývoja čiastočne vyzrážať (čierne vločky) v pufrí. Tento jav nemení kvalitu vývoja, ktorý musí normálne pokračovať. Posledné premytie destilovanou vodou eliminuje možné prítomné pevné častice.

BIBLIOGRAFIJA

- 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, Bellete 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, Bellete 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.

Upozornenie na aktualizáciu - Prečítajte si pozorne

DATUM VYDANIA	VERZIA	ZHRNUTIE UPRAV
09/08/2021	Vs 12	Odstránenie bezpečnostného varovania R5 -kontaktná emailová adresa– EUH 032 (NaN3) – oprava referencie kitu (WB)
30/11/2022	Vs13	Nová adresa
22/12/2022	Vs14	R6 bez NaN3. Pásik označený písmenom D. Možné použitie činidiel z rôznych šarží.



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@ldbiodiagnostics.com