

LDBIO TOXO II IgG

CE0459



POTRDITEV

In vitro diagnostični imunoblotski test
Polavtomatska / ročna tehnika

#TOXO II 24G: 24 testov

#TOXO II 12G: 12 testov

#TOXO II 96G: 96 testov

NAVODILA ZA UPORABO

Poiščite več informacij in navodila za uporabo v svojem jeziku na naši spletni strani
www.ldbiodiagnostics.com

PREDVIDENA UPORABA

LDBIO TOXO II IgG je kvalitativni test za enkratno uporabo serološke IgG diagnoze imunoblot testom toksoplazmoze, ki je namenjen potrditvenemu testiranju pozitivnega ali dvoumnega rezultata, pridobljenega s klasičnimi presejalnimi testi. Izvede se lahko na serumih, likvorju (CSF) ali prekatne vodice.

NAČELO TESTA

Western blot tehnika

Z elektroforezo ločeni antigeni parazita *Toxoplasma gondii* se preko električnega blotinga vežejo na površino nitrocelulozne membrane (t.i. prenos), ki je razrezana na 24 trakov, oštevilčenih od 1 do 24.

Izvedba testa

Vsak vzorec za individualno testiranje je ločeno inkubiran s trakom. Specifična protitelesa, ki so lahko prisotna v vzorcu, se selektivno vežejo na antigene. Konjugat alkalna fosfataza-proti človeški IgG se nato veže na vezana protitelesa. Končno imunokompleksi reagirajo s substrati. Antigeni, ki jih prepoznajo specifična protitelesa tipa IgG, prisotna v vzorcih, se pokažejo kot vijolične prečne črte.

REAGENTI SO VKLJUČENI V KOMPLET

Privzeto: paket 24 testov (#TOXO II 24G)

ležeče: paket 12 testov (#TOXO II 12G) – **krepko: Paket 96 testov (#TOXO II 96G).**

ID	Količina	Opis	Sestava
R1	1	Mapa/mape s 24 (12, 4 x 24) TRAKOVI: razrezani + obarvani, standardni. (Vsaka mapa in vsak prenos ima enkratno identifikacijsko serijsko številko)	Senzibilizirana nitroceluloza. Obarvana molekulska masa (kDa): Modra: 250, modra: 150, modra: 100, rožnata: 75, modra: 50, zelena: 37, rožnata: 25, modra: 20, modra: 15.
R2	1	Viala s 30 (30, 125) ml VZORČNEGA PUFRA (pripravljen za uporabo – rožnata raztopina).	Pufer + površinsko aktivna snov.
R3	1	Viala/viale s 30 (30, 2 x 60) ml KONJUGATA PROTI IgG (pripravljen za uporabo – modra raztopina).	Pufer + poliklonalni serumi kozjega izvora s proti človeškim IgG, konjugirani z alkalno fosfatazo + NaN3 (< 0,1 %) + stabilizatorji.
R5	1	Viala s 30 (30, 125) ml SUBSTRATA (pripravljen za uporabo – motno rjava viala).	Pufer + NBT + BCIP + stabilizatorji.
R6	1	Viala s 60 (60, 250) ml 10-KRATNI KONCENTRAT PUFRA ZA PRANJE (10-krat ga razredčite v destilirani vodi – brezbarvna raztopina).	Pufer + površinsko aktivna snov.
R10	1	Epruveta s 100 (100, 2 x 100) µl SERUMA ZA POZITIVNO KONTROLO (pripravljen za uporabo – rdeč zamašek).	Pufer + zbirni človeškega seruma s pozitivno serologijo na toksoplazmo + NaN3 (< 0,1 %) + stabilizatorji.

R1: Črka pred vsako številko traku je značilna za parameter.

R2, R3, R5 in R6 so skupni vsem kompletom in imajo enkratno serijsko številko, ki je odvisna od datuma njihove proizvodnje. **Priporočamo, da z namenom omejitve števila odprtih vial in zagotavljanja boljšega nadzora kakovosti izvedete večparametrsko testiranje (glejte LDBIO obseg imunoblot testa).**

R10 je umerjen v imunoblotu v skladu z referenčno serijo in je namenjen samo tej tehniki.

R3, R10 (NaN₃): EUH 032 - V stiku s kislinami se sprošča zelo strupen plin.

EUH 210 Varnosti list na voljo na zahtevo in na naši spletni strani www.ldbiodiagnostics.com.

ZAHTEVANI SO DODATNI MATERIALI, KI NISO PRILOŽENI

- Večkanalni inkubacijski pladnji iz polipropilena za mini blot teste (# WBPP- 08 ali enakovredno).
- Stresalna plošča za imunoblot teste, vakuumski sistem za tekočine (priložene kadi # WBPP- 08 lahko preprosto izpraznite tako, da jih preobrnete).
- Epruvete in materiali za odvzem vzorcev, jeklenke, prilagojeni vsebniki.
Samodejne pipete, mikropipete in konice za enkratno uporabo (prostornine 10 µl, 25 µl, 1,2 ml in 2 ml).
- Destilirana ali deionizirana voda. Vpojni papir (npr. Whatmanov filtrirni papir), prozoren lepilni trak.
- Rokavice, pinceta za ravnanje s trakovi, rezilo ali skalpel, prozorno ploščato ravnilo.

Opomba: Naše reagente je mogoče uporabljati v avtomatskem procesorju za izvedbo imunoblot testov. **Če v procesorju hkrati uporabljate reagente drugih proizvajalcev, pazite, da ne pride do kemične ali bakterijske kontaminacije naših reagentov** (znan primer: kontaminacija s TWEEN 20). Za procesor rezervirajte posebne vial. Po obdelavi uporabljenih reagentov ne shranjujte v izvirne vial.

HRAMBA IN STABILNOST

Hranite med 2 in 8 °C. Reagenti iz kompleta so stabilni do roka trajanja, ki je naveden na zunanjem delu škatle in na oznakah na vialah. Ne uporabljajte kontaminiranega ali motnega reagenta. Pufer za pranje, razredčen na 1/10, je stabilen 2 meseca pri temperaturi od +2 do +8 °C ter en teden pri sobni temperaturi.

PREVIDNOSTNI UKREPI PRI UPORABI

Varnost

- Samo za uporabo *in vitro*. Samo za profesionalno uporabo. Samo za tehnično usposobljeno osebje. S snovmi ravnajte v skladu z Dobrimi laboratorijskimi praksami ter upoštevajte, da je vsak reagent in vsak vzorec lahko strupen in/ali kužen.
- Nosite laboratorijsko haljo, rokavice in zaščitna očala: v laboratoriju ne pijte, jejte ali kadite. Tekočin iz pipet ne prelivajte z usti.
- Pozitivna kontrola je serum človeškega izvora, ki je bil inaktiviran za viruse HIV 1 in 2, hepatitis B in hepatitis C. Kljub temu z njim ravnajte kot s potencialno kužnim proizvodom.
- Substrat vsebuje mešanico NBT in BCIP ter je strupen ob stiku (s kožo in sluznicami) in ob vdihavanju.
- Reagenti vsebujejo natrijev azid, ki lahko s svincem in bakrom tvori eksplozivne kovinske soli. Če polijete katero koli izmed snovi, jo izperite z vodo.
- Odpadke (vzorci, konice, epruvete, tekočino za pranje, rabljene reagente idr.) zavrzite v skladu z dobrimi sektorskimi praksami in aktualnimi predpisi, ki veljajo v državi.
- Vsak resen incident mora biti predmet prijave proizvajalcu in pristojnemu organu.

Previdnostni ukrepi

- Rezultate preberite in interpretirajte pod direktno belo svetlobo.
- Zaželeno je, da uporabite vse reagente iz iste serije. Če uporabljate različne serije, zagotovite sledljivost.
- Trakove uporabljajte v številčnem zaporedju. Ne mešajte trakov z različnimi serijskimi številkami; prenose uporabite enega za drugim. Pred začetkom testiranja določite specifičen načrt distribucije.
- Trakov se ne dotikajte s prsti – uporabite pinceto.
- Reagente pred uporabo dobro premešajte, zlasti koncentrirani pufer za pranje.
- Viala po uporabi zamašite; ne uporabljajte jih, če je bila v reagente pomotoma vnešena snov. Ne uporabljajte reagenta iz viala, ki kaže znake puščanja. Ne uporabljajte motne ali oborjene raztopine.
- Uporabljajte zgolj konice pipet za enkratno uporabo. Preprečite vsakršno kontaminacijo med kanali. Prepričajte se, da se na konicah pipet ne delajo pena ali mehurčki (bakterijska kontaminacija vial z reagenti).
- Inkubacijske pladnje čistite samo z destilirano vodo (nikoli z detergentom ali belilom).
- Če spustite vzorec ali razdelite neprimerno količino, lahko rezultat negativnega ali pozitivnega testa, ne glede na njegovo dejansko stanje.

ODVZEM VZORCEV

Vzorci aseptično odvzemite v suhe epruvete. Potrebovali boste najmanj 10 µl seruma, prekatne vodice ali CSF. Če uporabite 25 µl prekatne vodice ali CSF, bo občutljivost testa večja.

Vzorci do obdelave hranite pri temperaturi 2–8 °C. Če je treba vzorce hraniti več kot en teden, zamrznite pri -20 ± 5 °C. Ne uporabljajte kontaminiranih vzorcev. Izogibajte se večkratnemu zamrzovanju in odmrzovanju vzorcev.

Čeprav pri hemoliziranem, zlateničnem ali lipidnem serumu ni bila opažena nikakršna navzkrižna reakcija, pri rezultatih uporabe tovrstnih vzorcev svetujemo skrbno interpretacijo.

PRIPRAVA REAGENTOV

Pufer za pranje: Za 4 teste v čisti posodi 10-krat razredčite 10 ml koncentrata za pranje (**R6**) v 90 ml destilirane ali deionizirane vode. Pazite, da razredčeni pufer dobro premešate

POSTOPEK IZVEDBE TESTA

Zapomnite si: Priporočamo, da z namenom omejitve števila odprtih vial in zagotavljanja boljšega nadzora kakovosti izvedete večparametrsko testiranje (glejte LDBIO obseg imunoblot testa).

1. Za vzorce in pozitivno kontrolo C+ (**R10**) pripravite načrt distribucije.

Test je lahko za določeno serijsko številko glede na specifične razvite trakove tehnično ovrednoten in identificiran le, če uporabite to kontrolo. Traku C+ ni mogoče uporabiti za interpretacijo rezultatov blot testa na traku z drugo serijsko številko.

2. Zahtevano število trakov (R1) izrežite s skalpelom ter čistim in suhim ploskim, prozornim ravnilom, pri čemer modro pozicijsko črto držite na trakovih: s pomočjo ravnila trakove trdno pridržite na mestu in jih odrežite na strani upogiba (številke lahko vidite skozi ravnilo).
3. V vsak kanal vnesite 1,2 ml vzorčnega pufra (R2) v skladu z načrtom.
4. Oštevilčene trakove po številčnem redu položite v kanale: Dovolite, da se trakovi rehidrirajo na površini pufra približno 2 minuti, pri čemer naj bodo njihove številke vidne na vrhu, NATO nežno stresite pladenj in zagotovite, da se trakovi popolnoma potopijo v pufer.
5. Razdelite vzorce in pozitivno kontrolo/kontrole: po načrtu distribucije in v odmerku 10 µl na kanal (v primeru prekatne vodice ali CSF raje 25 µl). Po vsakem vnosu nežno stresite pladenj. Pladenj položite na stresalno ploščo. **Inkubirajte 90 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.
6. Pranje: Vsebino kanalov odstranite s Pasteurjevo pipeto ali tako, da preobrnete inkubacijski pladenj. V vsak kanal vnesite 2 do 3 ml razredčenega pufra za pranje. Na stresalni plošči inkubirajte 3 minute. Ponovite 2-krat in izpraznite kanale. Pazite, da se pri izvajanju teh korakov trakovi ne obračajo.
7. V vsak kanal vnesite 1,2 ml konjugata proti anti IgG (R3). Pladenj položite na stresalno ploščo. **Inkubirajte 60 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.
8. Pranje: ponovite 6. korak.
9. V vsak kanal vnesite 1,2 ml substrata NBT/BCIP (R5). Pladenj položite na stresalno ploščo in ga zaščitite pred neposredno svetlobo. **Inkubirajte 60 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.

Spremljajte spreminjanje barve ne glede na parametre. Spreminjanje barve lahko ustavite, če barva ozadja na traku potemni do točke, ki oteži odčitavanje (kakovost pranja ključno vpliva na obarvanje ozadja). Upoštevajte, da bodo med sušenjem trakovi postali svetlejši.

10. Reakcijo ustavite z aspiracijo substrata s Pasteurjevo pipeto ali tako, da preobrnete inkubacijsko kad, ter v kanale vlijete 2 ml destilirane vode. Zadnji korak pranja ponovite še enkrat.
11. Sušenje trakov: Ko je v kanalih še voda, s pinceto zgrabite trakove na oštevilčenem koncu in jih položite na Whatmanov filtrirni papir tako, da številka ostane vidna. Pustite, naj se posušijo na zraku. Med sušenjem bodo trakovi naravno postali svetlejši. Trakove lahko interpretirate šele, ko se popolnoma posušijo.
12. Hramba: Trakove prenesite na list papirja, ki bo uporabljen za arhiviranje. Poravnajte pozicijske črte. Vrhni del trakov pridržite na mestu s ploskim ravnilom in jih pritrdite s prozornim lepilnim trakom.

Za uspešno interpretacijo trakov jih uredite glede na prenos in po številčnem redu ter največ nekaj milimetrov narazen. Primerjava trakov, ki so nameščeni daleč stran drug od drugega (npr. trak št. 2 in trak št. 15), ni zanesljiva. Primerjava trakov iz različnih kompletov (z različnimi serijskimi številkami) **ni varna** (prikažejo se lahko lažni rezultati).

NADZOR KAKOVOSTI IN INTERPRETACIJA

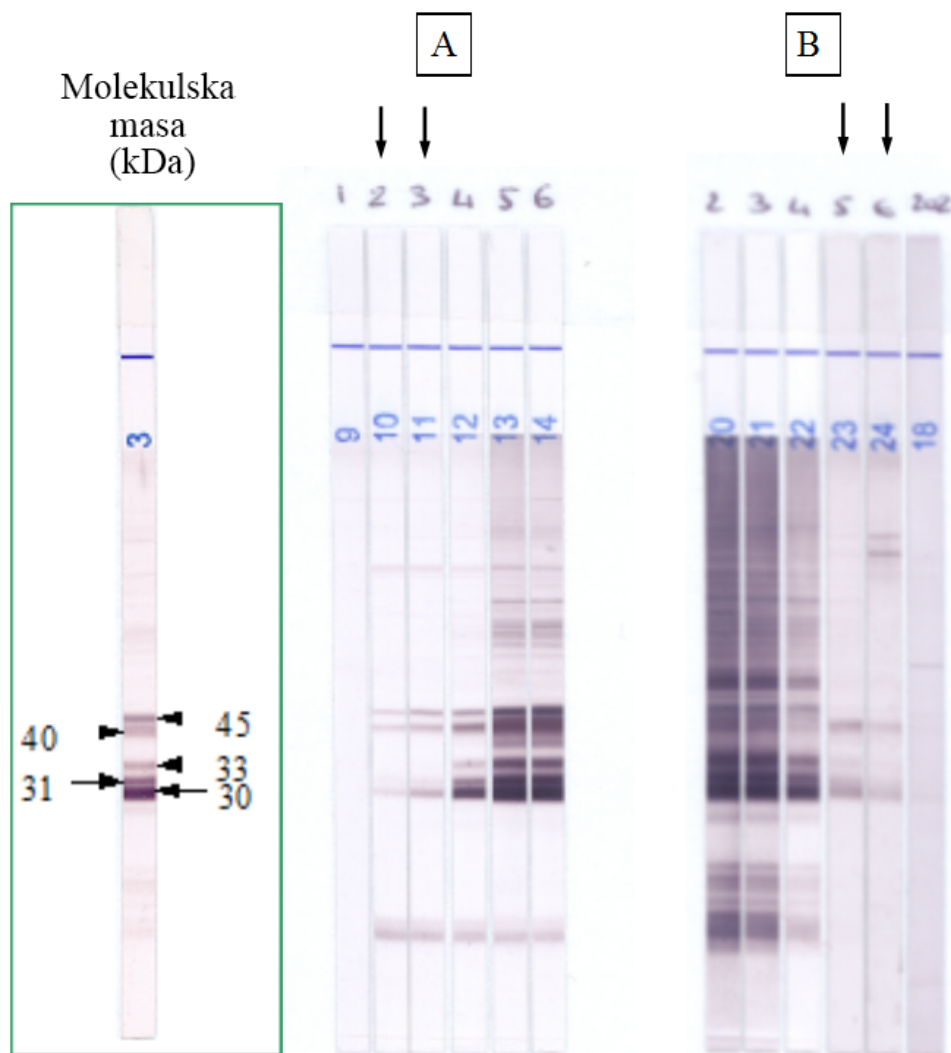
Serumsko kontrolo (R10) v kompletu morate sistematično vključiti v vsako serijo imunoblot testov. Kontrola prikazuje tipični profil in omogoča tehnično vrednotenje ustrezne izvedbe testa (črte, ki se pojavijo na trakovih, morajo biti zelo jasno vidne) ter točno kalibracijo položaja in videza določenih črt, kar predstavlja temelj za interpretacijo rezultatov s trakov v istem prenosu (z isto serijsko številko).

Nota Bene: Profil pozitivne kontrole (R10) se lahko razlikuje glede na število partij uporabljenih reagentov. Ustrezne slike so na primer na našem spletnem mestu www.ldbiodiagnostics.com.

Opis trakov:

V primeru pozitivnega vzorca se lahko med 15 in 200 kilodaltoni (kDa) prikažejo številne črte. Pri vsakem testiranem vzorcu s pomočjo zgoraj opisanih orodij za kalibracijo poiščite črto pri 30–45 kDa.

Te črte, ki se pojavijo v skupini ali osamljeno, so tipične in jih je navadno zelo preprosto najti.



Slika 1: Primeri pozitivnih in negativnih rezultatov

Profili so navedeni kot primeri. Trakovi so označeni s črko "K", ki je značilna za parameter iz serije "50016".

Interpretacija

Ker se na traku pojavijo najmanj 3 izmed specifičnih črt 30, 31, 33, 40 in 45, hkrati pa je vključena tudi črta 30 kDa, lahko test interpretiramo kot pozitiven in sklenemo, da so v testiranem vzorcu prisotna IgG protitelesa proti *T. gondii*.

A: primer serokonverzije. Vzorca seruma 2 in 3, ki ju je test LDBIO-TOXO II IgG izkazal kot pozitivna, sta bila po tehniki presejanja negativna (ta je v spodnji študiji učinkovitosti navedena kot *ELISA 2 IgG*).

B: primer spremljanja novorojencev. Vzorca seruma 5 in 6, ki ju je test LDBIO-TOXO II IgG izkazal kot pozitivna, sta bila po tehniki *ELISA 2 IgG* negativna.

NB: opazne so tudi druge črte. Te črte niso upoštevane pri odčitavanju rezultatov testa.

Za ovrednotenje rezultatov vselej primerjajte profil imunoblot testa vsakega vzorca s profilom imunoblot testa pozitivne kontrole R10. Pri interpretaciji testov je pomemben videz trakov.

OMEJITVE UPORABE

- Diagnoze kužne bolezni ni mogoče postaviti na podlagi rezultatov enega samega testa.
- Serološki rezultati morajo biti za postavitev diagnoze interpretirani v skladu z razpoložljivimi podatki (npr. z epidemiološkega, kliničnega, biološkega področja, področja zajema slik itd.). Nemali by sa uporabljati na stanovanje diagnozy iba na základe ich pozitivity.

IZVEDBE (glej reference literature)

Ovrednotenje je bilo izvedeno v referenčnem laboratoriju, specializiranem v diagnosticiranju toksoplazmoze.

Načelo vrednotenja je vključevalo primerjavo rezultatov 529 vzorcev seruma, pridobljenih s tehniko LDBIO-TOXO II IgG, rezultatov, pridobljenih s Sabin-Feldmanovim Dye Test, rezultatov dveh trženih tehnik presejanja – »ELISA 1 IgG« in »ELISA 2 IgG« ter kliničnih in bioloških podatkov bolnikov.

- **Mejne vrednosti uporabljenih tehnik:**

	NEGATIVNI	DVOUMNO	POZITIVNI
DYE TEST (IU/ml)	< 2	-	≥ 2
ELISA 1 (IU/ml)	< 4	4–8	≥ 8
ELISA 2 (IU/ml)	< 6	-	≥ 6
LDBIO TOXO II IgG	0	-	≥ 1

- **Statistična analiza rezultatov:**

Kjer je bilo mogoče, smo določili vrednosti občutljivosti in specifičnosti. Intervali zaupanja se izračunajo po Wilsonovi metodi s korekcijo kontinuitete.

Korelacijo med rezultati, pridobljenimi z različnimi tehnikami, smo na ujemajočih se serijah ovrednotili z McNemarjevim testom CHI-2.

- **Bolniki:**

Vse analize so bile izvedene na vzorcih seruma, ki so bili zamrznjeni shranjeni pri -20 °C. Vzorci so bili odvzeti bolnikom iz 5 različnih skupin.

1 skupina – Dye Test

Študija na 200 vzorcih seruma, odvzetih nosečnicam med presejalnim pregledom za odkrivanje toksoplazmoze in testiranih z Dye Test. »Pozitivna« skupina ustreza 98 vzorcem seruma, ki so bili pri ženskah, cepljenih proti *T. gondii*, po Dye Test pozitivni. Ta podskupina je vključevala vzorce seruma z zmernimi titri IgG z Dye Test (od 2 do 32 IU/ml) z namenom testiranja občutljivosti LDBIO-TOXO II IgG v primerjavi z drugimi tehnikami. »Negativna« podskupina je ustrezala 102 vzorcema seruma, ki sta bila po Dye Test pri ženskah, ki niso bile cepljene proti toksoplazmozi, negativna. Teh 200 vzorcev seruma je bilo vzporedno testiranih s tehnikami LDBIO-TOXO II IgG, ELISA 1 IgG in ELISA 2 IgG.

2 skupina – Serokonverzije

To je retrospektivna analiza 17 serumskih zaporedij (101 vzorec seruma) bolnic, pri katerih je med nosečnostjo prišlo do serokonverzije toksoplazmoze.

Vsaka zaporedna serija vsebuje zadnji negativni vzorec seruma in 3–5 sledečih vzorcev seruma, ki kažejo pojav specifičnih protiteles IgM in sintezo specifičnih protiteles IgG (ELISA 2 IgG).

3 skupina – Spremljanje neokuženih otrok

To je retrospektivna analiza 74 vzorcev, ki ustrezajo 20 zaporedjem poporodnega spremljanja otrok, rojenih materam, pri katerih je med nosečnostjo prišlo do serokonverzije toksoplazmoze. Vsako zaporedje 2–6 vzorcev seruma kaže na zmanjšanje količine titra prenešenih materinih protiteles IgG, dokler tehnika ELISA 2 IgG ni pokazala negativne serologije (med 5 in 13 meseci).

4 skupina – Spremljanje okuženih otrok

To je retrospektivna analiza 85 vzorcev s poporodnega spremljanja 30 otrok s prirojeno okužbo. Serološko spremljanje je bilo izvedeno s tehniko ELISA 2 IgG.

5 skupina – Občutljivost/specifičnost (malaria in virusne okužbe)

Študija 69 vzorcev seruma bolnikov z malarijo ali virusnimi okužbami (Tabela 1). Ti vzorci so bili testirani s tehniko ELISA 2 IgG. (Po presejanju za protitelesa IgM so bili vsi negativni). Vsi negativni in neskladni rezultati so bili testirani z Dye Test.

Infekcijski agens (n = 69)	POZITIVNI ELISA 2 IgG (n = 44)	NEGATIVNI 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
MALARIJA (n = 25)	18	7

Tabela 1: Različne okužbe, testirane v študiji

- Rezultati:**

1 Skupina: Dye Test

	DYE TEST	LDBIO TOXO II IgG	ELISA 1 IgG	ELISA 2 IgG
POZITIVNI	98	97	61	93
NEGATIVNI	102	103	114	107
DVOUMNO	-	-	25	-
SPECIFIČNOST	-	100 %	100 %	100 %
OBČUTLJIVOST	-	99 %	85 %	95 %

Tabela 2: Korelacija med Dye Test s 3 tehnikami. (Tehnika ELISA 1 IgG predstavlja dvoumno področje).

- 4 vzorci seruma, ki so po testu ELISA 2 IgG negativni, so po testu LDBIO-TOXO II IgG in barvnem testu pozitivni
- 11 vzorcev seruma, ki so po testu ELISA 1 IgG negativni, je po testu LDBIO-TOXO II IgG in barvnem testu pozitivnih
- 25 vzorcev seruma je po testu ELISA 1 IgG dvoumnih: 24 jih je pozitivnih po testu LDBIO-TOXO II IgG in barvnem testu, 1 vzorec seruma pa je negativen po testu LDBIO-TOXO II IgG in barvnem testu

2 Skupina: Serokonverzije

		ELISA 2 IgG	
		POZITIVNI	NEGATIVNI
LDBIO TOXO II	POZITIVNI	70	10
	NEGATIVNI	0	21

Tabela 3: Korelacija LDBIO-TOXO II IgG/ELISA 2 IgG pri 101 vzorcu seruma s serokonverzijo. $p = 0,0016$

Za 8/17 serokonverzij (47 %) je bilo presejanje za protitelesa IgG izvedeno predhodno s testom **LDBIO-TOXO II IgG**.

3 in 4 Skupina: Spremljanje novorojencev

		ELISA 2 IgG	
		POZITIVNI	NEGATIVNI
LDBIO TOXO II	POZITIVNI	130	18
	NEGATIVNI	0	11

Tabela 4: Korelacija LDBIO-TOXO II IgG/TEST 2 IgG pri 159 vzorcih seruma s poporodnega spremljanja. $p < 0,0001$

Neokuženi otroci: 13 vzorcev seruma, ki ustrezajo 10/20 primerov poporodnega spremljanja (50 %) in ki so bili po testu ELISA 2 IgG negativni, je po testu LDBIO-TOXO II IgG ostalo pozitivnih, kar kaže na prenos materinih protiteles, čeprav jih s testom ELISA 2 IgG ni več mogoče zaznati.

Okuženi otroci: 5 vzorcev seruma, ki ustrezajo 3 otrokom, je neskladnih. Eden izmed njih prikazuje rezultate otrokove serologije, ki so po testu ELISA 2 IgG začasno negativni. Test LDBIO-TOXO II IgG ostaja pozitiven in potrjuje otrokovo okuženost. Pri drugih dveh otrocih je test LDBIO TOXO II IgG pozitiven rezultat pokazal prej kot test ELISA 2 IgG.

Kljub temu s tem testom ni mogoče potrditi neosinteze protiteles IgG, saj ne razlikuje med prenešenimi materinimi protitelesi in novo sintetiziranimi protitelesi.

5 Skupina: Občutljivost in specifičnost (malaria in virusne okužbe)

		ELISA 2 IgG	
		POZITIVNI	NEGATIVNI
LDBIO TOXO II + DYE TEST	POZITIVNI	42	2
	NEGATIVNI	2	23

Tabela 5: Korelacija LDBIO-TOXO II IgG/Dye Test/ELISA 2 IgG pri 69 vzorcih seruma z malarijo ali virusno okužbo.

V tej populaciji sta test LDBIO-TOXO II IgG in Dye Test 100-odstotno skladna: ti rezultati potrjujejo specifičnost in občutljivost testa LDBIO-TOXO II IgG.

Študija prikazuje 4 rezultate, neskladne s tehniko ELISA 2 IgG, 2 lažno negativna rezultata (1-krat HIV in 1-krat *P. falciparum*) ter 2 lažno pozitivna rezultata (2-krat *P. falciparum*), pri čemer je poudarjena uporabnost potrditvene tehnike za vse rezultate blizu mejnih vrednosti.

- **Sklep:**

1 skupina (Dye Test):

Korelacija LDBIO-TOXO II IgG/Dye Test je odlična

- **občutljivost = 99% [95CI 94 - 100%]**
- **specifičnost = 100% [95CI 95 - 100%]**

Test LDBIO-TOXO II IgG lahko potrdi imunsko stanje bolnikov, ki pri presejanju kažejo dvoumne rezultate ali nizke titre protiteles.

2 skupina (serokonverzije):

Občutljivost testa LDBIO-TOXO II IgG je večja kot občutljivost testa ELISA 2 IgG ($p = 0,0016$). Test LDBIO-TOXO II IgG lahko serokonverzijo potrdi prej kot test ELISA 2 IgG.

3. in 4 skupina (spremljanje novorojencev):

Občutljivost testa LDBIO-TOXO IgG je veliko večja kot občutljivost testa ELISA 2 IgG ($p < 0,0001$).

Pri spremljanju otrok lahko test LDBIO-TOXO II IgG uporabimo za potrditev ali razveljavitev negativnih seroloških rezultatov.

Kljub temu pa test LDBIO-TOXO II IgG ne razlikuje med prenešenimi materinimi protitelesi in novo sintetiziranimi otrokovimi protitelesi.

5 skupina (malaria in virusne okužbe):

Korelacija LDBIO-TOXO II IgG/Dye Test je odlična (100% [95CI 90-100% občutljivost, 100% [95CI 95-100% specifičnost). Ti rezultati dokazujejo potrebo po uporabi potrditvenega testa za testiranje vzorcev, ki pri presejanju kažejo rezultate blizu mejnih vrednosti.

Izjemna učinkovitost kompleta LDBIO-TOXO II IgG upravičuje njegovo uporabo pri potrjevanju rezultatov, dobljenih s presejalnimi tehnikami za protitelesa IgG (rezultatov, ki so dvoumni, nekoliko pozitivni ali težavni za interpretacijo).

Ponovljivost:

Testirana je bila ponovljivost znotraj serij in lotov. V obeh primerih je korelacija serum-serum glede specifičnih črt odlična.

Motnje:

Čeprav pri hemoliziranem, zlateničnem ali lipidnem serumu ni bila opažena nikakršna navzkrižna reakcija, pri rezultatih uporabe tovrstnih vzorcev svetujemo skrbno interpretacijo.

ODPRAVLJANJE TEŽAV

»**Trakovi so blede in ne kažejo jasnih kontrastov**«: Tovrstni rezultati so možni pri nekaterih serumih z nizko koncentracijo protiteles.

»**Opaziti je zatemnjena področja, ki so bolj ali manj obarvana in nekoliko razpršena**«: Trak ni bil popolnoma potopljen v enega izmed reagentov, zaradi česar ni bil ustrezno inkubiran po celotni dolžini. Če pladnja po vnosu snovi niste pretresli, se lahko na mestu, kamor je bil vzorec položen, pojavijo tudi madeži.

»**Šum v ozadju je moteč, zaradi česar je odčitavanje izredno zahtevno**«: Pranje ni bilo dovolj izčrpno ali pa je bila zadnja inkubacija predolga. Prepričajte se, da uporabljate ustrezne tehnike izvajanja testa, ter upoštevajte čas pranja in zagotovite vodo visoke kakovosti. Skrajšajte čas inkubacije.

Izjemoma lahko določene vrste seruma reagirajo na nespecifičen način. V tovrstnih primerih rezultati imunoblot testa niso uporabni.

Ta nespecifični šum v ozadju se lahko pojavi samo na enem delu traku, pri čemer rezultatov ni mogoče odčitati le na tistem delu.

»**Med zadnjim delom spreminjanja se v raztopini pojavi oborina**«: ob koncu spreminjanja se lahko substrat v pufu dejansko delno obori (nastanejo črne luske). Ta pojav ne vpliva na kakovost spreminjanja, s katerim lahko nadaljujete normalno. Zadnje pranje z destilirano vodo odstrani morebitno prisotne trdne delce.

BIBLIOGRAFIJA

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 Lakhel, 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 Gaiied 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. Bellele, 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 Bellele, 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.

Obvestilo o posodobitvi - Pozorno preberite

DATUM IZDAJE	RAZLIČICA	POVZETEK SPREMEMB
09/08/2021	Vs 12	Odstranitev varnostnega opozorila R5 - Kontaktni e-poštni naslov – EUH 032 (NaN3)
30/11/2022	Vs13	Novi naslov
22/12/2022	Vs14	R6 brez NaN3. Trakovi označeni s črko. Možnost uporabe reagentov iz različnih serij.



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