



HEMAVE TOXO

Prueba de Hemaglutinación Indirecta Rápida para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*

Uso "In Vitro"
96 determinaciones cualitativas

APLICACION


HEMAVE TOXO puede ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Toxoplasmosis o para ensayos epidemiológicos.

FUNDAMENTO DEL METODO

Los anticuerpos específicos contra *Toxoplasma gondii*, presumiblemente presentes en el suero humano o de animales en estudio, aglutinan al antígeno fijado sobre la superficie de los hematíes de ave estabilizados, los cuales sedimentan formando un manto en el fondo del pocillo de la policubeta.

La mayor velocidad de sedimentación de los hematíes de ave, por ser nucleados, permite ofrecer una alternativa más rápida que la hemaglutinación con hematíes de carnero, en la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*

REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS

- 1 Frasco N° 1: **ANTÍGENO.** 2,7 ml de suspensión estabilizada de hematíes de ave sensibilizado con antígeno de *Toxoplasma gondii*. Agitar intensamente antes de usar.
- 1 Frasco N° 2: **CONTROL NEGATIVO.** 0,5 ml de una dilución de suero no reactivo para anticuerpos contra *T. gondii*, inactivado, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar.
- 1 Frasco N° 3: **CONTROL POSITIVO.** 0,5 ml de una dilución de suero reactivo para anticuerpos contra *T.gondii*, inactivado, con conservadores. Material potencialmente infectivo. Listo para usar
- 

- 1 Policubeta descartable con 96 pocillos, fondo en "V".
- 1 ansa calibrada de 2 μ l.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS CON EL EQUIPO

- Microgoteros o micropipetas de 25 μ l
- Espejo para lectura de policubetas o fondo blanco
- Papel de filtro
- Agua destilada o agua desionizada

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos son estables hasta la fecha que figura en la caja y frascos. Guardar los componentes del equipo entre 2 y 8 °C. Mantener los frascos en posición vertical una vez abiertos. **No congelar.**

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico "In Vitro".
- Las muestras de sueros humanos y los controles deben ser considerados como potenciales portadores de agentes infecciosos, por lo que se recomienda respetar las condiciones de bioseguridad en su manipulación.
- Todo material utilizado en la reacción debe ser considerado contaminado, debiendo ser inactivado con hipoclorito de sodio al 5% durante 30 minutos, ó autoclavado durante por lo menos 1 hora a 121,5°C.
- No utilizar el equipo después de la fecha de vencimiento.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Verificar que el volumen de las micropipetas sea el correcto.
- **No congelar el equipo**, pues los hematíes se autoaglutinan (formación de partículas sólidas macroscópicas). Si ésto ocurre, debe descartarlo.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Antígeno (frasco N° 1): agitar enérgicamente el frasco antes de usar, hasta obtener una suspensión homogénea. Mantener el frasco en posición vertical.

Control Negativo y Positivo (frascos N° 2 y 3): listos para usar. Estos controles se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV y HIV, adecuadamente inactivado. Sin embargo, todos los derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Emplear suero fresco y límpido. La sangre se extraerá de un paciente preferentemente en ayunas siguiendo las normas generales, recogiénola en tubos de centrifuga. Para obtener el suero dejar coagular la sangre, centrifugar y separar el sobrenadante.

Los sueros pueden ser conservados entre 2 y 8 °C hasta 48 horas, o congelados a -20 °C para un almacenamiento prolongado.

Deben evitarse los congelamientos/descongelamientos repetidos.

PROCEDIMIENTO

1. Colocar 25 μ l de Antígeno (Frasco N° 1) (ver Preparación de los Reactivos) utilizando un microgotero o una micropipeta calibrada en cada uno de los pocillos a emplear. Utilizar la cantidad de pocillos necesarios por cada muestra y controles que desea investigar.
2. Sumergir el ansa provista en la muestra a analizar. Observar visualmente que se ha formado una película líquida en el interior del anillo del ansa.
3. Sumergir el ansa con la muestra en un pocillo que contiene el Antígeno y homogeneizar por rotación de la misma.
4. Retirar el ansa.
5. Secar el ansa con papel de filtro de buena calidad para evitar el arrastre de fibras.
6. Enjuagar el ansa con agua destilada.
7. Secar el ansa con papel de filtro.
8. Repetir los pasos 5, 6 y 7 usando un nuevo recipiente de agua destilada. El ansa está lista para tomar la muestra siguiente.
9. Repetir los pasos 2 a 8 con los Controles Positivo y Negativo provistos en el equipo.
10. Agitar la policubeta golpeando con los dedos sobre sus paredes laterales, durante no menos de 30 segundos.
11. Dejar la policubeta en reposo durante 45 minutos y leer.

Esquema del procedimiento

Antígeno	25 μ l por pocillo
Suero, Control Positivo y Control Negativo.	1 ansada en los pocillos con el Antígeno
Agitar manualmente la policubeta durante 30 segundos	
Dejar la policubeta en reposo durante 45 minutos y leer	

LECTURA

Luego de transcurridos 45 minutos, proceder a la lectura en espejo para policubetas o sobre un fondo blanco. Las imágenes son estables durante 24 horas a temperatura ambiente.

REACCIÓN POSITIVA: formación de un manto en el fondo del pocillo, cuyos bordes pueden ser irregulares.

REACCIÓN DEBILMENTE POSITIVA: formación de un manto poco nítido alrededor de un botón poco compacto en el fondo del pocillo.

REACCIÓN NEGATIVA: formación de un botón nítido y compacto en el fondo del pocillo.

CRITERIO DE ACEPTABILIDAD DEL ENSAYO

La inclusión de un Control Positivo y Negativo permite verificar la reproductibilidad del ensayo, la estabilidad de los reactivos y llamar la atención sobre posibles errores de técnica.

El Control Positivo debe dar reacción positiva y el Control Negativo debe dar reacción negativa durante todo el período de vigencia del Kit.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Toda muestra que evidencie reacción positiva correspondería presumiblemente a un portador de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* y debe ser ensayada nuevamente para su confirmación.

Aproximadamente el 40-50% de la población adulta normal presenta anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.

Toda muestra que de reacción negativa sería presumiblemente no reactiva para anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.

Una determinación aislada de anticuerpos contra *T.gondii* es poco significativa, por eso es importante estudiar una nueva muestra cada 4 semanas que permita evidenciar una seroconversión, especialmente en los siguientes casos:

- Reacción Negativa en mujeres durante el período de gestación para evidenciar una posible primoinfección, que podría inducir malformaciones congénitas en el feto.
- Reacción Negativa en pacientes inmunosuprimidos para evidenciar una posible primoinfección.

En estos casos deberá conservar alícuotas congeladas a -20°C tomadas cada 4 semanas y procesarlas simultáneamente utilizando los mismos reactivos y el mismo operador.

Un resultado reactivo en la nueva muestra tomada cada 4 semanas indicaría una seroconversión y debería confirmarse con otras metodologías. Por el contrario, un resultado no reactivo indicaría ausencia de seroconversión en ese intervalo.

PERFORMANCE

Estudios poblacionales sobre muestras reactivas y no reactivas para anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* por otras metodologías como IFI, HAI y ELISA, dieron una concordancia total de aproximadamente 99% entre los métodos de referencia ensayados y el HEMAVE TOXO.

LIMITACIONES EL METODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. HEMAVE TOXO, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

En infecciones muy recientes (menos de 10/20 días de evolución) la hemaglutinación puede presentar resultados negativos o reactividades muy bajas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wynne de Martini, G.J. y Martín, A.M.: Prueba de hemoaglutinación para Toxoplasmosis en distintos sueros animales. *Rev.Med.Vet.* (Buenos Aires) 58(5-6):437-439 (1977).
2. Thorburn, H.; Williams, H.: A stable haemagglutinating antigen for detecting toxoplasma antibodies. *J. Clin. Path.* 25:762-767 (1972).
3. Lunde, M.N.; Jacobs, L.: Differences in Toxoplasma dye test and hemagglutination antibodies shown by antigen fractionation: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 16(1):26-30 (1967).
4. Jennis, F.: A simplified haemagglutination test for toxoplasmosis using pyruvic aldehyde treated cells. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 44:317-322 (1966).
5. Jacobs, L.; Lunde, M.N.: A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasitol.* 43:308-314 (1957).
6. Stavitsky, A.B.: *Micromethods for the Study of Proteins and Antibodies.* *J. Immun.* 72: 360-367 (1954).
7. Boyden, S.V.: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. Exp. Med.* 93: 107-120 (1951).
8. Middlebrook, G.; Dubos, R.: Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli. *J. Exp. Med.* 88: 521-528 (1948).



LABORATORIO LEMOS S.R.L.

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162

C1075AAX C.A.B.A. Argentina

Telefax: 4304-2204/2374

E-mail: lemos@biotica.com.ar

Producto para diagnóstico autorizado por el M.S. y A.S. Certificado N°
000141/93 y Disp. N° 3121/03

Industria Argentina

