

SeraQuest® TOXOPLASMA IgM

REF

215961

96 Determinaciones

IVD

Indicaciones: Determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos humanos IgM frente a *Toxoplasma* en suero humano mediante inmunoensayo enzimático. El equipo sirve de ayuda en la determinación de la infección por *Toxoplasma*. Un resultado positivo puede ser indicativo de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* y, por tanto, susceptible de ser diagnosticada una infección aguda, reciente o reactivada por *Toxoplasma gondii*. Una muestra de paciente positiva a *Toxoplasma gondii* IgM debe ir siempre acompañada de un análisis de *Toxoplasma gondii* IgG. Las características del equipo no han sido establecidas en el diagnóstico de toxoplasmosis en neonatos. Este equipo no ha recibido la aprobación de la FDA para ser utilizado en el análisis de sangre o plasma de donantes.

Este producto es exclusivo para diagnóstico *in vitro*.

Resumen del procedimiento de trabajo

1. Preparar una dilución 1:26 del Calibrador o Calibradores, Controles y Muestras utilizando el diluyente SQ-IgM Diluent incluido en el equipo. Mezclar correctamente.
2. Pipetear 100 µl de las diluciones a los correspondientes pocillos del SQ-Toxoplasma IgM Wells; reservar un pocillo para el blanco.
3. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
4. Aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 4 veces con SQ-Wash diluido y aspirar.
5. Añadir 100 µl de SQ-Toxoplasma IgM Conjugate en cada pocillo.
6. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
7. Aspirar el contenido de los pocillos cuidadosamente. Lavar los pocillos 4 veces con SQ-Wash diluido y aspirar.
8. Añadir 100 µl de sustrato en cada pocillo.
9. Incubar durante 30 ± 5 minutos a temperatura ambiente.
10. Detener la reacción enzimática con 100 µl SQ-Stop Reagent.
11. Leer la absorbancia a 405 nm frente al blanco de reactivos.

Introducción y Principio del método

Estudios serológicos indican que la infección por *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular y agente causante de la toxoplasmosis, está ampliamente presente entre la población. Por ejemplo, se estima que un 30% de la población de los Estados Unidos muestra evidencias serológicas de exposición a *Toxoplasma gondii* (1). El patógeno puede transmitirse durante el trasplante de órganos (2), en una transfusión sanguínea o de leucocitos (3), en contacto con heces de gato contaminadas (4), o por ingestión de carne cruda o poco hecha procedente de animales infectados (5).

En adultos, la infección suele cursar de forma asintomática, a pesar de los casos descritos sintomáticos o de evolución fatal. El rango de sintomatología va desde hinchazón de los nodos linfáticos a otros más propios de la mononucleosis infecciosa (1). En niños, la enfermedad puede afectar al sistema nervioso central y las vísceras. También puede ocurrir una infección congénita causando malformaciones que pueden terminar con la muerte (6-10).

El diagnóstico de la toxoplasmosis es frecuentemente asistida por métodos serológicos. La existencia demostrada de anticuerpos anti-*Toxoplasma* IgM es una evidencia de una infección reciente, activa o reactivada; en casos de neonatos, indica una infección congénita. Dado que menos de 1% de los recién nacidos nacen con IgM transferidos de la madre, la presencia de anticuerpos IgM específicos anti-*Toxoplasma* indica toxoplasmosis (11).

El equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM está indicado para la detección de anticuerpos del tipo IgM anti-*Toxoplasma gondii*. Los resultados se obtienen después de una hora y media de incubación. Los resultados son objetivos y se expresan en valor de Índice o Unidades Internacionales (IU/ml), referenciadas a la Preparación del Tercer Estándar Internacional de la OMS de 1994.

Principio del método

Las muestras diluidas se incuban en pocillos recubiertos de antígeno. *El diluyente SQ-IgM Diluent incluye absorbente para neutralizar los efectos del factor reumatoide y los anticuerpos IgG anti-Toxoplasma*. Los anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma*, si están presentes, se fijan a los pocillos. Los componentes de la muestra que no han reaccionado se eliminan mediante un lavado y aspiración. A continuación, se añade e incuba el conjugado (anticuerpos anti-IgM humana marcados con enzima). Si la muestra contiene anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma*, el conjugado se fijará en los pocillos. El conjugado residual se elimina mediante lavado y aspiración, añadiendo e incubando, a continuación, el sustrato. En presencia del enzima, el sustrato se transforma en producto final de color amarillo el cual se lee fotométricamente.

Composición

SQ-Toxoplasma IgM Wells	Pocillos divisibles recubiertos con antígeno <i>Toxoplasma gondii</i> sonificado (cadena RH). 12 tiras de 8 pocillos.
SQ-Well Support	Un soporte de microplaca
SQ-IgM Diluent*	25 ml (color rosa). Diluyente para muestras. Contiene un estabilizante de proteínas y un absorbente para el factor reumatoide e IgG humanas.
SQ-Toxoplasma IgM Calibrator 1*	0.2 ml. Suero humano. Fuertemente reactivo para anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma</i> . El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Toxoplasma IgM Calibrator 2*	0.2 ml. Suero humano. Moderadamente reactivo para anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma</i> . El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Toxoplasma IgM Positive Control*	0.2 ml. Suero humano. Reactivo para anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma</i> . El valor del Índice e IU/ml viene impreso en la etiqueta del vial.
SQ-Toxoplasma IgM Negative Control*	0.2 ml. Suero humano. No reactivo para anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma</i> .
SQ-Toxoplasma IgM Conjugate*	12 ml (color verde). Anticuerpo de cabra frente a anti-IgM humana marcada con fosfatasa alcalina (ternera)
SQ-Substrate	12 ml. Solución de sustrato. <i>p</i> -nitrofenil fosfato.

Nota: El sustrato puede desarrollar una ligera coloración amarilla durante su conservación. 100 µl de sustrato deberían dar una absorbancia inferior a 0.35 cuando se leen en un pocillo frente a aire o agua.

SQ-Wash Concentrate*	30 ml. Solución de lavado concentrada (30x). Preparar la solución de lavado añadiendo el contenido de la solución de SQ-Wash Concentrate a un litro de agua destilada o desionizada.
SQ-Stop Reagent	12 ml. Solución de parada. Fosfato de Trisodio 0.5 M.

* Contiene azida sódica.

Almacenar estos reactivos de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. Evitar el contacto con la piel u ojos. Si ello sucede, lavar con abundante agua.

Material necesario no suministrado

1. Botella de lavado.
2. Pipetas para dispensar 8, 100 y 200 µl.
3. Cronómetro.
4. Recipiente para solución de lavado diluida (1 ó 2 litros).
5. Agua destilada o desionizada.
6. Tubos de dilución o micropocillos.
7. Lector de microplacas capaz de leer absorbancias a 405 nm.

Precauciones

1. Sólo para diagnóstico *in vitro*.
2. Muestras, calibradores, controles y resto de materiales en contacto con ellos, deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los calibradores y controles han resultado ser negativos para anticuerpos anti-VIH, anti-VHC y HBsAg mediante pruebas adecuadas. No obstante, ya que ningún método puede asegurar la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos, estos materiales deben ser manipulados como potencialmente infecciosos de nivel 2 (como cualquier suero potencialmente infeccioso o muestra de sangre) según se recomienda en *Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories"*, 1993, o última edición.
3. Evitar el contacto con heridas.
4. Nunca pipetear con la boca.
5. Algunos de estos reactivos contienen azida sódica. Las azidas pueden reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar compuestos explosivos. Cuando se desechen reactivos que contengan este producto, hacerlo con gran volumen de agua para minimizar la formación de estos compuestos.
R 20/21/22: Dañinas por inhalación, en contacto con la piel y su ingestión.
S36/37: utilizar ropa de laboratorio y guantes de protección adecuados.
6. No intercambiar reactivos de diferente número de lote, excepto para la, SQ-Wash Concentrate, SQ-Substrate y SQ-Stop Reagent.
7. No utilizar reactivos después de la fecha de caducidad.
8. Respetar los tiempos de incubación indicados en el apartado *Procedimiento*.
9. Los pocillos SQ-Toxoplasma IgM Wells no utilizados, introducirlos en la bolsa de plástico incorporada en el equipo con el agente desecante, cerrarla herméticamente y conservarlos refrigerados.
Este producto debe ser utilizado únicamente por personal cualificado.

Muestras

El suero debe separarse de la sangre coagulada. Si las muestras no son analizadas en un periodo inferior a 8 horas, éstas deben ser conservadas a 2-8 °C durante un máximo de 48 horas. Para periodos de tiempo superiores, congelarlas a -20°C o inferior. Deben evitarse múltiples ciclos de congelación-descongelación. Las muestras que contengan partículas visibles en suspensión deben centrifugarse. Muestras fuertemente contaminadas no deben ser utilizadas. Las muestras no deben ser inactivadas térmicamente antes de ser analizadas.

El equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM ha sido examinado experimentalmente frente a interferencias tales como muestras de suero ictericas, hemolizadas, hiperglicémicas, hiperlipémicas y hiperproteicas. No se ha observado interferencia alguna en muestras que contenían concentraciones ocho veces superiores a la concentración normal fisiológica de cada uno de los interferentes analizados: la concentración máxima de cada uno de los interferentes analizados fueron: bilirrubina: 0.21 milimoles/litro (12 mg/dl); hemoglobina 2.69 milimoles/litro (18 mg/dl); glucosa: 44.4 milimoles/litro (800 mg/dl); colesterol: 70.3 milimoles/litro (2.72 mg/dl) y gammaglobulina: 1.38 milimoles/litro (28 mg/dl).

Procedimiento

Atemperar todos los reactivos y muestras antes de ser utilizados. Devolverlas rápidamente al frigorífico después de usar. Proceder como se indica a continuación:

1. Preparar la dilución 1:26 de las muestras, calibradores y controles utilizando el diluyente (SQ-IgM Diluent) incluido en el equipo. Por ejemplo: añadir 8 µl de muestra a 200 µl de SQ-IgM Diluent en un pocillo o tubo y mezclar bien.
Nota: para ensayos cualitativos, utilizar únicamente un calibrador (SQ-Toxoplasma IgM Calibrator 2); para ensayos cuantitativos utilizar los dos calibradores, SQ-Toxoplasma IgM Calibrator 1 y el SQ-Toxoplasma IgM Calibrator 2.
2. Colocar el número apropiado de pocillos procedentes del SQ-Toxoplasma IgM Wells en el soporte de la microplaca.
3. Transferir 100 µl de cada uno de los calibradores, controles y muestra diluidos a los pocillos correspondientes.
Nota: Incluir un pocillo que contenga únicamente 100 µl de SQ-IgM Diluent. Éste servirá como blanco de reactivos y se utilizará para ajustar el cero del fotómetro antes de leer los resultados.
4. Incubar los pocillos a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
5. Lavar los pocillos 4 veces con SQ-Wash diluido, vaciándolos a continuación.
6. Añadir 100 µl de SQ-Toxoplasma IgM Conjugate en cada pocillo.
7. Incubar a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
8. Lavar los pocillos 4 veces con SQ-Wash diluido, vaciándolos a continuación.
9. Añadir 100 µl de SQ-Substrate en cada pocillo.
10. Incubar a temperatura ambiente (20 – 25°C) durante 30 ± 5 minutos.
11. Añadir 100 µl de SQ-Stop Reagent en cada pocillo.
12. Leer y anotar la absorbancia del contenido de cada pocillo a 405 nm frente al blanco.
Nota: Ajustar el fotómetro al cero de absorbancia a 405 nm frente al blanco. Las lecturas deberían realizarse durante las 2 horas posteriores a la detención de la reacción.

Cálculo de los resultados

Los resultados cualitativos pueden ser calculados utilizando un único calibrador (SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 2). Para resultados cuantitativos, utilizar una curva de calibración mediante dos o más calibradores.

Un único Calibrador (SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 2)

Determinar el valor del Índice o IU/ml de cada muestra (o Control) usando la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{Índice del SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 2}}{\text{Absorbancia del SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 2}} \times \text{Absorbancia de la muestra} = \text{Índice de la muestra}$$

Si se analiza el calibrador por duplicado, utilizar la media de los valores obtenidos para realizar el cálculo.

Curva de calibración

Alternativamente, los resultados pueden calcularse a partir de una curva de calibración a tres puntos: SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 1 (punto alto), SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 2 (punto medio) y blanco de reactivos (cero / origen), usando un gráfico punto a punto.

El rango más alto de la curva puede incrementarse añadiendo más puntos. Por ejemplo, la concentración del calibrador 1 puede incrementarse 1.5 y 2 veces añadiendo 12 µl y 16 µl de SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 1 a 200 µl de SQ-IgM Diluent y transferir 100 µl de cada dilución a cada pocillo. Los valores de Índice o IU/ml asignados a estos puntos, deberían ser 1.5 y 2 veces respectivamente el valor mostrado en la etiqueta del vial del SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 1. El máximo rango alcanzable por la curva de calibración estará limitado por el calibrador utilizado.

Control de calidad

1. Los calibradores y controles, SQ-Toxoplasma IgM Positive Control y SQ-Toxoplasma IgM Negative Control deben incluirse en cada prueba.
2. El valor de absorbancia del SQ-Toxoplasma IgM Calibrador 1 debe ser al menos 0.5 cuando se lee frente al blanco.
3. El valor de absorbancia del blanco de reactivo debe ser menor de 0.35.
4. El SQ-Toxoplasma IgM Negative Control debe presentar un valor inferior de 370 IU/ml y un Índice menor a 0.9.
5. El SQ-Toxoplasma IgM Positive Control debe presentar un valor de Índice o IU/ml dentro del rango indicado en el vial.
6. Para validar el rango superior cuando se realiza un análisis cuantitativo, el Control Positivo debe ser procesado a concentraciones superiores. Por ejemplo: el control positivo debe analizarse a 1.5 y 2 veces la concentración, añadiendo 12 µl y 16 µl del SQ-Toxoplasma IgM Positive Control a 200 µl de SQ-IgM Diluent, y transferir 100 µl de cada una de estas diluciones a cada pocillo. El rango de valor esperado para estos controles concentrados debe ser 1.5 y 2 veces respectivamente, el valor esperado impreso en la etiqueta del vial del SQ-Toxoplasma IgM Positive Control. Si los valores del control no están comprendidos en el rango indicado, el análisis debe ser declarado inválido y se deberá repetir la prueba.
7. Los controles SQ-Toxoplasma IgM Positive Control y SQ-Toxoplasma IgM Negative Control se utilizan para monitorizar fallos substanciales en los reactivos. El SQ-Toxoplasma IgM Positive Control no asegura precisión en el análisis del *cut off*. Se pueden analizar controles adicionales de acuerdo con la directiva y requerimientos de las regulaciones locales, estatales o/y federales u organizaciones acreditadas. Si desea más información sobre las Buenas Prácticas en Control de Calidad, consulte el siguiente documento: *Internal Quality Control Testing: Principles and Definitions*, NCCLS documents C24-A.
Si no se cumple alguno de estos criterios, se deberá repetir la prueba.

Interpretación de los Resultados

Valor de Índice	IU/ml	Interpretación
<0.9	< 370	Negativo
≥ 0.9 < 1.1	≥ 370 < 455	Equívoco
≥ 1.1	≥ 455	Positivo

El valor de *cut-off* del equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM está basado en análisis estadísticos, y se obtiene a partir de la Media + 2 desviaciones estándar (12) de 111 muestras de suero normales, que incluyen 45 mujeres en edad fértil (18 - 45 años; media de edad: 32). Éstos han sido validados en muestras negativas y positivas conocidas. (véase *Características de funcionamiento*).

Muestras que tengan valores de absorbancia por encima del rango de calibradores, pueden ser prediluidos utilizando el SQ-IgM Diluent incluido en el equipo y reanalizados. El valor del Índice resultante debe ser multiplicado por el factor de dilución. *Por ejemplo: si la muestra ha sido prediluida 1:5 antes del análisis, el valor del Índice obtenido debe ser multiplicado por 5.*

Valores de concentración de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma obtenidos mediante métodos de otros fabricantes pueden no coincidir debido a diferencias en el método o en la especificidad de los reactivos. El nivel de IgM obtenido puede no correlacionar con la valoración a punto final. Cuando se utiliza el equipo para el análisis cualitativo, la magnitud de los resultados obtenidos en aquellos casos en que la concentración es superior al *cut-off* no es indicativo de la concentración total de anticuerpos presentes.

Muestras obtenidas demasiado temprano respecto el curso de la infección pueden no contener anticuerpos anti-Toxoplasma IgM. Además, algunos individuos pueden producir niveles de IgM no detectables frente a la infección.

Muestras de paciente reactivos a anticuerpos IgM anti-Toxoplasma deben ser analizadas para anticuerpos IgG anti-Toxoplasma. La siguiente tabla ha sido extraída de las recomendaciones de la NCCLS contenidas en el siguiente documento: *Specifications for Immunological testing for infectious diseases; Approved Guideline (ILA 18-A)*.

Resultados para Anti- <i>T. gondii</i> IgM	Resultados para Anti- <i>T. gondii</i> IgG	Resultado / Interpretación
Negativo	Negativo	Se asume que el paciente no ha sido infectado y no padece una infección por <i>Toxoplasma gondii</i> aguda. Si los síntomas persisten es necesario analizar una nueva muestra pasadas 3 semanas.
Negativo	Positivo	De este resultado no se puede determinar si el paciente sufre o no una infección reactivada por <i>Toxoplasma gondii</i> . Parece que el paciente ha sido previamente infectado por <i>Toxoplasma gondii</i> . La infección ha tenido lugar hace más de un año.
Negativo	Equívoco	Recoger una nueva muestra para que pueda ser analizada. El paciente puede no padecer una infección por <i>Toxoplasma gondii</i> aguda. En estos casos no es posible

		establecer si el paciente ha sido previamente infectado por <i>Toxoplasma gondii</i> .
Equívoco	Negativo	Recoger una nueva muestra para la determinación de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> . No se puede determinar si el paciente padece una infección por <i>Toxoplasma gondii</i> aguda. Parece que el paciente no ha sido infectado previamente por este patógeno. Si una nueva muestra resulta positiva o equívoca frente a anticuerpos IgM, la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.
Equívoco	Positivo	Recoger una nueva muestra para la determinación de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> . No se puede determinar si el paciente padece o no una infección por <i>Toxoplasma gondii</i> aguda. Parece que el paciente ha sido previamente infectado por este patógeno. Si la nueva muestra resulta equívoca o positiva para a los anticuerpos IgM, la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.
Equívoco	Equívoco	Recoger una nueva muestra para que pueda ser analizada. No se puede determinar si el paciente sufre una infección aguda o si ha sido previamente infectado por <i>Toxoplasma gondii</i> . Si la nueva muestra da un resultado equívoco o positivo para anticuerpos IgM, la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.
Positivo	Negativo	Recoger una nueva muestra para que pueda ser analizada. El paciente puede o no estar infectado por <i>Toxoplasma gondii</i> . Ya que la presencia de anticuerpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> es negativa, la muestra puede haber sido obtenida en un estadio muy reciente de la enfermedad para una determinación fiable. Reanalizar la muestra con un equipo anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM distinto. Si el nuevo análisis resulta aún positivo frente a anticuerpos IgM, la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.
Positivo	Positivo	El paciente puede sufrir o no una infección por <i>Toxoplasma gondii</i> aguda. Recoger una nueva muestra para que pueda ser analizada. Ya que la presencia de anticuerpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> es positiva, parece indicar que el paciente ha sido infectado agudamente por <i>Toxoplasma gondii</i> . Si la nueva muestra sigue mostrando un resultado positivo para IgM e IgG frente a anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> , la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.
Positivo	Equívoco	No se puede determinar si el paciente está infectado agudamente por <i>Toxoplasma gondii</i> . Recoger una nueva muestra para que pueda ser analizada. No es posible determinar si el paciente había sido previamente infectado por <i>Toxoplasma gondii</i> . La muestra puede haber sido obtenida en una etapa demasiado temprana de la enfermedad para una determinación fiable. Reanalizar la muestra con un equipo anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM distinto. Si el nuevo análisis resulta aún positivo para anticuerpos IgM y para IgG positivo/negativo/equívoco para <i>Toxoplasma gondii</i> , la muestra debe ser enviada a un centro de referencia especializado en el diagnóstico de la toxoplasmosis con la finalidad de llevar a cabo análisis complementarios.

Limitaciones

Los resultados obtenidos con el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM sirven únicamente como ayuda al diagnóstico y no deberían ser interpretados como diagnóstico por sí mismos.

La ausencia de anticuerpos IgM no excluye la posibilidad de una infección activa o reciente. Muestras obtenidas demasiado pronto o demasiado tarde durante el curso de la infección pueden no contener niveles detectables de anticuerpos IgM. Resultados negativos que son sospechosos de cursar una toxoplasmosis deben ser realizadas pasadas 4-6 semanas.

El equipo no debe ser utilizado como procedimiento de *screening* para la población normal. El valor predictivo de un resultado serológico positivo o negativo depende de la probabilidad de que la toxoplasmosis esté presente. El análisis debe llevarse a cabo únicamente en aquellos casos en que la sintomatología clínica sugiera el diagnóstico de la toxoplasmosis.

El dominio de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma afecta al valor predictivo del análisis.

Las características de funcionamiento del equipo no han sido establecidas en muestras de sangre de neonatos o sangre de cordón umbilical.

Las características de funcionamiento del equipo no han sido establecidas en pacientes pre-transplantados, transplantados o inmunodeprimidos.

Las características de funcionamiento del equipo no han sido establecidas para la interpretación visual de los resultados.

Experimentos de calibración muestran que el rango de linealidad del equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM es de 1.1 a 5.5 en valores de Índice y de 455 a 2500 en valor de IU/ml.

Las sustancias absorbentes del diluyente que contiene el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM permiten bloquear o neutralizar hasta 1900 IU/ml anticuerpos IgG anti-Toxoplasma en combinación con un máximo de 448 IU/ml de factor reumatoide IgM (RF).

No obstante, la posibilidad de reacciones positivas debida a la presencia de anti-*Toxoplasma* IgG y RF IgM no debe ser descartada.

Valores esperados

La incidencia de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma varía con la edad y la localización geográfica de la población.

La incidencia de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma en donantes normales y asintomáticos recogida es de entre 0.9 % y 6 % (13, 14). En un estudio clínico en toxoplasmosis diagnosticada, 100 % de los pacientes han mostrado la presencia de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma durante los primeros meses de la enfermedad. La seropositividad disminuye a 86 % en el segundo mes, a 62 % durante el tercer mes y a 54 % en el cuarto mes. Algunos individuos mantienen la seropositividad hasta 2 años (15).

Estudios llevados a cabo con muestras procedentes de Estados Unidos, Reino Unido y América del Sur, analizadas mediante el equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM, revela que la incidencia de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma en donantes normales y asintomáticos en Miami, FL fue de 4 de 111 muestras (2.7 %) (Tabla 1). En pacientes diagnosticados con infección por Toxoplasma, la incidencia de anti-Toxoplasma IgM era de 42.2 % en Memphis, TN, y 77.8 % en el Reino Unido. La incidencia de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma en muestras de pacientes con VIH en el área de Memphis fue del 5.6 %.

Tabla 1. Resultados obtenidos de análisis de 111 muestras archivo (100 % congeladas) procedentes de donantes normales de Florida del Sur, las cuales incluyen 55 muestras de mujeres en edad fértil. Las muestras han sido analizadas en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) utilizando el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM.

Rango de valores en IU/ml	Rango de Valores en Índice	Muestras	
< 455	< 1.1	107{52}	96.3%
≥ 455 a < 1000	≥ 1.1 a < 2.4	3{3}	2.7%
≥ 1000 a < 2000	≥ 2.4 a < 4.8	1	0.9%
≥ 2000	≥ 4.8	0	0%

{ } Número de mujeres donantes en edad fértil.

103 muestras, procedentes de mujeres embarazadas sometidas a pruebas para la detección de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma fueron identificadas en los estudios clínicos. De éstas, 28 (27.2 %) resultaron positivas, 10 (9.7%) resultaron equívocas y 65 (63.1%) fueron negativas, cuando dichas muestras fueron analizadas por el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM. Los rangos de valores obtenidos para estas mujeres se muestran en la Tabla 2A y 2B:

Tabla 2A. Resultados del equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM en el análisis de 75 muestras procedentes de mujeres embarazadas sometidas al análisis de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma en Bogotá, Colombia (Laboratorio A)

Rango de valores en IU/ml	Rango de Valores en Índice	Muestras	
< 455	< 1.1	49	65.3 %
≥ 455 a < 1000	≥ 1.1 a < 2.4	23	30.7%
≥ 1000 a < 2000	≥ 2.4 a < 4.8	3	4.0 %
≥ 2000	≥ 4.8	0	0 %

Tabla 2B. Resultados del equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM en el análisis de 28 muestras procedentes de mujeres embarazadas sometidas al análisis de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma en Memphis, TN (Laboratorio B)

Rango de valores en IU/ml	Rango de Valores en Índice	Muestras	
< 455	< 1.1	26	92.9 %
≥ 455 a < 1000	≥ 1.1 a < 2.4	2	7.1%
≥ 1000 a < 2000	≥ 2.4 a < 4.8	0	0 %
≥ 2000	≥ 4.8	0	0 %

Características de funcionamiento

Prueba comparativa

Los resultados de SeraQuest® Toxoplasma IgM correlacionan perfectamente con otros equipos serológicos disponibles en el mercado. Se analizaron muestras de sueros de donantes normales asintomáticos, pacientes con toxoplasmosis aguda, mujeres embarazadas, pacientes de VIH y pacientes con otras condiciones no relacionables con la infección por Toxoplasma para la presencia de anticuerpos anti-Toxoplasma usando el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM y otros dos equipos disponibles comercialmente. Los análisis fueron llevados a cabo en dos laboratorios independientes (Lab A, Bogotá, Colombia y Lab B, Memphis, TN), y en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3, 4 y 5, respectivamente.

Tabla 3. Resultados de la prueba comparativa de 75 muestras archivo (100 % congeladas) obtenidas de mujeres embarazadas en Bogotá, Colombia. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio A (Bogotá, Colombia) utilizando el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM y otro equipo comercial:

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM					
Test 1	Positivo	Equívoco	Negativo		95%CI**
Positivo	24 {24}	1 {1}	6 {6}	Sensibilidad relativa*	65.7 a 94.3
Equívoco	1 {1}	6 {6}	3 {3}		
Negativo	0	2{2}	32 {32}	Especificidad relativa*	90.8 a 100
				Concordancia total*	83.0 a 97.7

*Excluyendo los resultados equívocos.

**Calculado mediante el Método normal (16).

{ } Número de muestras obtenidas de mujeres embarazadas.

Tabla 4. Resultados de la prueba comparativa de 150 muestras (73% congeladas y 27% frescas) procedentes de pacientes con toxoplasmosis aguda, mujeres embarazadas, recién nacidos, pacientes de VIH y otros pacientes en condiciones no relacionables con la infección por Toxoplasma en Memphis, TN. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio B (Memphis, TN) mediante el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM y otro equipo comercial.

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM					
Test 2	Positivo	Equívoco	Negativo		95%CI**
Positivo	10 {1}	2	9 {1}	Sensibilidad relativa*	30.2 a 75.1
Equívoco	0	0	0		
Negativo	2 {1}	4 {1}	123 {24}	Especificidad relativa*	96.2 a 100
				Concordancia total*	88.0 a 96.7

*Excluyendo los resultados equívocos.

**Calculado mediante el Método normal (16).

{ } Número de muestras obtenidas de mujeres embarazadas.

Tabla 5. Resultados del estudio comparativo de 128 muestras (100% congeladas) procedentes de Estados Unidos, Reino Unido y Colombia, las muestras corresponden a donantes normales asintomáticos, pacientes con toxoplasmosis aguda y mujeres embarazada. Las muestras fueron analizadas en SeraQuest® (Lab C, Miami, FL) mediante el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM y otro equipo comercial.

Estudio comparativo del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM					
Test 1	Positivo	Equívoco	Negativo		95%CI**
Positivo	51 {26}	4	10	Sensibilidad relativa*	74.3 a 92.9
Equívoco	1 {1}	0	2		
Negativo	4 {2}	1 {1}	55 {8}	Especificidad relativa*	86.8 a 99.6
				Concordancia total*	82.6 a 94.1

*Excluyendo los resultados equívocos

*Calculado mediante el Método normal (16)

{ } Número de muestras obtenidas de mujeres embarazadas.

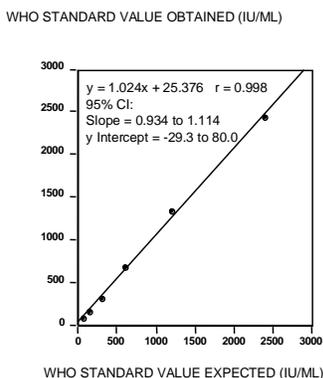
Las muestras estudiadas no representan a la población normal de Estados Unidos, ya que éstas han sido seleccionadas para cubrir todos los rangos establecidos y que contuvieran un número representativo de muestras normales asintomáticas, con toxoplasmosis aguda y de donantes embarazadas. Los pacientes con toxoplasmosis aguda presentes en las Tablas 4 y 5, fueron provisionalmente diagnosticadas como toxoplasmosis y, posteriormente, confirmadas mediante un ensayo serológico a un único punto en el lugar de estudio. La sensibilidad y especificidad relativa se obtiene de la comparación del equipo de SeraQuest® con otro equipo similar. De estos datos no deben extraerse conclusiones de fiabilidad ante la predicción de la enfermedad.

Estándar de la OMS

El equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM ha sido estandarizado utilizando el suero anti-Toxoplasma proporcionado por la OMS, Preparación del Tercer Estándar Internacional de la OMS de 1994.

La Figura 1 muestra el factor de recuperación de un suero anti-Toxoplasma de la OMS analizado utilizando el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM con un estándar secundario propio de SeraQuest® y el equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM.

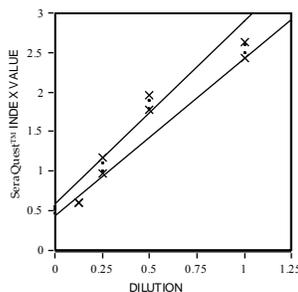
Figura 1. Gráfica de recuperación de un suero Anti-Toxoplasma, Preparación del Tercer Estándar Internacional de la OMS, utilizando un estándar secundario propio de SeraQuest® y el equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgM.



Curva de titulación

Varias muestras de suero fuertemente positivas fueron diluidas de forma seriada (2 veces) por triplicado y analizadas utilizando el equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM. Los resultados se muestran en la Figura 2.

Figura 2. Curva de titulación de muestras fuertemente positivas.



Los datos de los tres replicados para cada dilución se representan mediante puntos, mientras que el valor medio de los replicados para un intervalo de confianza del 95 % se representa por (x). El valor de las pendientes y ordenadas para un intervalo de confianza del 95 % se representan mediante una línea recta. El ajuste obtenido de la regresión lineal de los tres replicados se muestra en la Figura 2.

Especificidad

De 58 muestras no reactivas al equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM, 5 presentaban niveles de moderados a elevados de anticuerpos IgM específicos a Citomegalovirus, 6 contra el virus de la varicela zoster, 7 reactivas al virus de Epstein-Barr (VCA), 5 reactivas al virus Herpes simplex, 5 al virus de la rubéola, 10 contra el virus de la Influenza A, 10 contra el sarampión y 10 a parvovirus.

Precisión

Las características de precisión total y entre series de análisis del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM fueron evaluadas siguiendo las directrices de la NCCLS Guideline EP5-A, *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*. Tres muestras de suero, que cubren todo el rango de trabajo del equipo, y los controles SQ-Toxoplasma IgM Positive Control y SQ-Toxoplasma IgM Negative Control, fueron analizados por duplicado, en dos series distintas por día, durante un periodo de veinte días. Para el estudio se utilizó cinco lotes distintos del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM. La precisión total y la entre-serie fue estimada utilizando la fórmula proporcionada por la NCCLS Guideline. Los resultados de la evaluación de la precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la evaluación de la precisión total y entre-series del equipo SeraQuest® Toxoplasma IgM.

Muestra	Media IU/ml	Precisión estimada entre-serie		Precisión total estimada	
		S.D.	CV%	S.D.	CV%
Muestra 1	1.5	0.1	0.10	0.3	0.18
Muestra 2	2.1	0.1	0.05	0.3	0.12
Muestra 3	3.0	0.2	0.07	0.6	0.17
Control Positivo	2.2	0.2	0.08	0.3	0.12
Control Negativo	0.2	0.04	---	0.1	---

Sensibilidad y especificidad clínica

El diagnóstico serológico de la toxoplasmosis se debe basar en los resultados del análisis de IgG e IgM. Para demostrar esto, 18 muestras de suero de paciente diagnosticadas supuestamente con toxoplasmosis y confirmadas mediante un equipo comercial de anti-Toxoplasma a un solo punto y 32 muestras de pacientes diagnosticadas supuestamente con una infección por Citomegalovirus fueron analizadas con el equipo de SeraQuest® Toxoplasma IgG e IgM. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados obtenidos del análisis mediante SeraQuest® Toxoplasma IgG y SeraQuest® Toxoplasma IgM de 18 muestras de sueros obtenidos de pacientes supuestamente diagnosticados con una infección por Toxoplasma y 32 muestras de paciente diagnosticados supuestamente con una infección por Citomegalovirus.

Resultados para Anti- <i>T. gondii</i> IgM	Resultados para Anti- <i>T. gondii</i> IgG	Tipo de Infección	
		Toxoplasma (18 muestras)	Otras (32 muestras)
Negativo	Negativo	0	28
Negativo	Positivo	3	2
Negativo	Equívoco	0	0
Equívoco	Negativo	0	1
Equívoco	Positivo	1	0
Equívoco	Equívoco	0	0
Positivo	Negativo	3	1
Positivo	Positivo	11	0
Positivo	Equívoco	0	0

Referencias

1. Atltman, K.A., Toxoplasmosis, N.Y.State J. Med., 68(16):2151-2157, 1968.
2. Remington, J.S., Toxoplasmosis in the Adult, Bull. N.Y. Acad. Med., 50 (2): 211-227, 1974.
3. McLeod, R. and Remington, J.S., in Harrison's Principles of Internal Medicine (Isselbacher et al eds), McGraw-Hill Book Co., 879-885, 1980.
4. Frenkel, J.K., Toxoplasma in and Around Us, Bioscience, 23: 343-352, 1973.
5. Feldman, H.A., Epidemiology of Toxoplasma Infections, Epid. Rev., 4:204-213, 1982.
6. Walls, K.W. Serodiagnosis of Toxoplasmosis. Lab. Management 16: 26-31, 1973.
7. Remington, J.S. Toxoplasmosis, in *Obstetric and Prenatal Infections* Charles, D. and Finland, M., eds). Lea Febiger, Philadelphia, pages 27-74, 1973.
8. A Procedural Guide to the Performance of the Serology of Toxoplasmosis. Centers for Disease Control, Atlanta, 1976.
9. Lin, T.M., Halbert, S.P., and O'Connor, G.R. Standardized Quantitative Enzyme-Linked Immunoassay for Antibodies to *Toxoplasma gondii*, J. Clin. Microbiol. 11: 675-681, 1980.
10. Walls, K.W., Serodiagnosis of Toxoplasmosis, Laboratory Management 26-31, January, 1978.
11. Duncan, R.J.S., The Use of ELISA for Rapid Viral Diagnosis: Antibody Detection. In *ELISA and Other Solid Phase Immunoassays*, D.M. Kemeny and S.J. Challacombe, eds. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.
12. Schaffer, J.G. and McQuay, R.M., Medical Protozoology, in *Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* (Davidson, I. and Henry, J.B. eds.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1969.
13. Lin, T.M. et al, J. Clin. Microbiol. 23: 77-82, 1982. Franco, L. et al., Reverse enzyme-immunoassay for detection of specific anti-toxoplasma immunoglobulin M antibodies. J. Clin. Microbiol. 13: 859-864, 1981.
14. Welch, P.C., J. Infect. Dis., 142: 256-264, 1980.
15. Gardner, M.J. and Altman, D.G., Confidence Intervals Rather Than Hypothesis Testing. Brit. Med. J., 292: 746-750, 1986.



Fabricante:
Quest International, Inc.
8127 NW 29th Street
Miami, FL 33122
USA



Distribuidor autorizado:
Diagnostic Grifols, S.A.
Passeig Fluvial, 24
08150 Parets del Vallés
España (Spain)



Nº Lote



Fecha de caducidad



96 Determinaciones



Referencia de catálogo



Producto para diagnóstico *in vitro*



Temperatura de conservación

L-01-130-7
26/07/04

Este documento está disponible en diversos idiomas. Las traducciones se han realizado a partir del documento maestro en inglés. En caso de dudas o discordancias prevalecerá lo expresado en el documento maestro en inglés.