



*AD TOXO  
COLOR*

## **Contenido**

- 1. Datos del producto**
- 2. Especificaciones del producto**
- 3. Material del envase**
- 4. Rótulos**
- 5. Inserto**
- 6. Estudios de estabilidad**
- 7. Validación de desempeño del producto**



## **1. Datos del Producto**

## **DATOS DEL PRODUCTO**

**Nombre comercial:** AD TOXO COLOR.

**País de fabricación:** Argentina

**Aplicación:** Prueba de Aglutinación Directa Coloreada para la detección en suero de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*, agente etiológico de la Toxoplasmosis.

**Presentación:** Equipo por 480 determinaciones de un título ó 96 determinaciones de 5 títulos.

**Componentes del producto:** 1 frasco N° 1 con 12 ml de Antígeno Coloreado, 1 frasco N° 2 con 30 ml de Diluyente de Muestras, 1 ampolla N° 3 con 1ml de 2-Mercaptoetanol, 1 frasco N° 4 con 0.3 ml de Solución Proteica, 1 frasco N° 5 con 0,5 ml de Control Positivo, 1 frasco N° 6 con 0,5 ml de Control Negativo, 1 Frasco vacío para acondicionar el 2-ME una vez abierta la ampolla, 5 policubetas descartables cada una con 96 pocillos con fondo en “U”, 1 Instructivo.

**Valor diagnóstico:** Es una Aglutinación Directa Coloreada que puede ser utilizada como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Toxoplasmosis o para ensayos epidemiológicos.

### **Principio del método.**

Los anticuerpos específicos, presumiblemente presentes en las muestras en estudio, aglutinan al Antígeno *Toxoplasma gondii* Coloreado estabilizado, los cuales sedimentan formando un manto en el fondo del pocillo de la microplaca.

En toda infección primaria, los anticuerpos que produce el organismo son macroglobulinas 19 S (IgM) y algunas globulinas 7 S (IgG). La presencia de IgM antitoxoplasma permite, en general, suponer una toxoplasmosis reciente. El título de estos anticuerpos disminuye en los meses siguientes mientras comienza a aumentar las IgG e IgA antitoxoplasma. Las moléculas IgG e IgM se comportan de modo diferente frente a la acción de agentes reductores como el 2-Mercaptoetanol (2-ME). El 2-ME fracciona las IgM en subunidades 5 S sin capacidad aglutinante, en tanto que no actúa sobre las IgG. Este hecho permite utilizar la AD para diferenciar serológicamente una infección reciente (**aguda**) de una infección antigua (**crónica**).

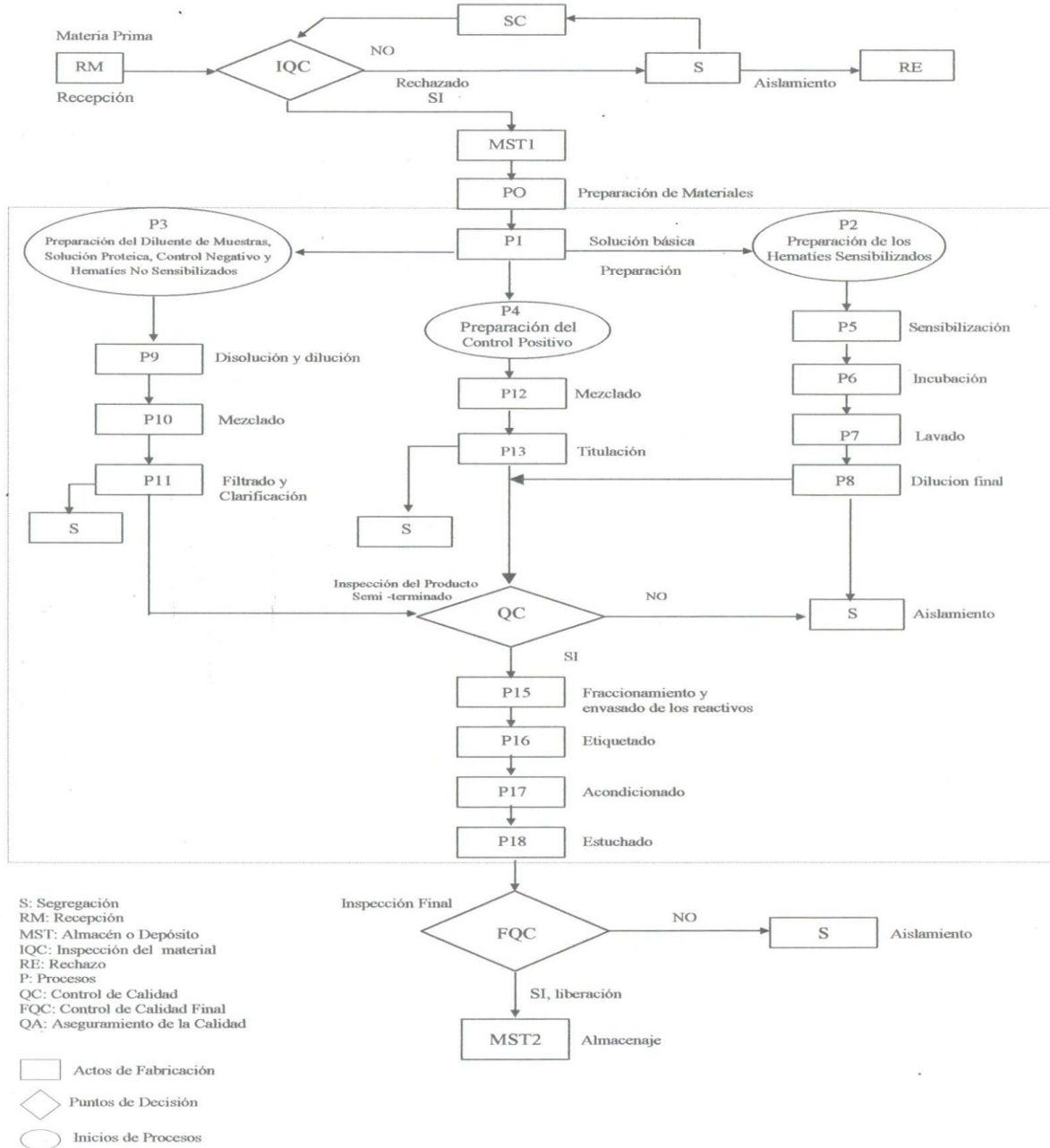
Por tanto, el método consiste en realizar titulaciones del suero tratado con 2-ME o sin tratar. En la lectura se observará aglutinación o sedimentación del *Toxoplasma gondii*.

La utilización del producto no está relacionada con algún equipo en particular.

### **Flujograma de Manufactura**

La elaboración y control del Producto se realiza bajo normas GMP en nuestra planta habilitada para tal fin.

**Diagrama de Flujo : Tecnología general de fabricación de HAI y/o AD**





## **2. Especificaciones del Producto**

## ESPECIFICACIONES

### ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO.

*Nombre:* AD TOXO COLOR

*Uso al que está destinado:* Es una Prueba de Aglutinación Directa Coloreada para la detección en suero de anticuerpos específicos contra el *Toxoplasma gondii*, para ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Toxoplasmosis o para ensayos epidemiológicos.

*Características funcionales:*

*Individuos no parasitados*

Título suero no tratado (AD): pueden tener títulos de 8 a 128. Menos frecuentemente 256 y 512.

Título suero tratado (AD 2-ME): título inferior a 8.

En la reacción de AD las inmunoglobulinas “inespecíficas” podrían provocar aglutinaciones que habitualmente son de título bajo. Estas aglutininas presentes en individuos no parasitados, son polímeros que, al igual que las IgM específicas, se fraccionan por la acción del 2-ME y pierden su capacidad aglutinante. Si un título en la AD (1/16 a 1/128 o menos frecuentemente 1/256 1/512) desaparece o cae a cifras no significativas (1/2; 1/4) después de incubado con 2-ME, el suero pertenecería a una persona no infectada. Como estos resultados podrían darse en una parasitosis muy recientemente adquirida, debería realizarse un nuevo examen 4 semanas después, en embarazadas y en pacientes en los que se sospecha la existencia de una infección. En el caso de un no infectado, los títulos se mantendrían semejantes a los del primer estudio; en el caso de un infectado reciente se comprobará un ascenso franco de la AD, mientras persistirá la caída significativa de la AD 2-ME.

*Individuo parasitado crónico*

Título suero no tratado (AD): 8 o mayor

Título suero tratado (AD 2-ME): 8 o mayor

Si el título del suero no tratado (AD) no se modifica al ser tratado con 2-ME (AD 2-ME) o la variación es de 1 a 3 títulos, el suero pertenecería a un paciente con infección crónica (o antigua) y el poder aglutinante estaría relacionado con anticuerpos del tipo IgG que no modifican su capacidad aglutinante después del tratamiento con 2-ME.

*Individuo parasitado agudo*

Título suero no tratado (AD): superior a 512

Título suero tratado (AD 2-ME): menor que 8 o inferior en 4 o más diluciones respecto al título obtenido en AD.

Si el suero no tratado (AD) posee títulos superiores a 512 y disminuye en 4 o más diluciones en el suero tratado (AD 2-ME), el poder aglutinante estaría relacionado con anticuerpos tipo IgM específicos y por tanto estaríamos en presencia de un individuo con infección reciente.

En estas infecciones una determinación aislada es poco significativa, por eso es importante estudiar una nueva muestra cada 4 semanas que permita evidenciar variaciones en el título, 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 Positiva con título tan alto como 2048 que puede evidenciar presumiblemente una infección activa o pertenecer a pacientes crónicos asintomáticos.

- Reacción Negativa o Positiva en pacientes inmunosuprimidos para evidenciar una posible primoinfección o una reactivación de la infección.

En estos casos deberá conservar alícuotas congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  tomadas cada 4 semanas y procesarlas simultáneamente utilizando los mismos reactivos y el mismo operador.

Una variación de título en 3 o más diluciones entre las muestras tomadas cada 4 semanas indicarían presumiblemente una primoinfección o una reactivación.

Por el contrario, si no se observan variaciones en el título indicaría infección crónica asintomática o ausencia de infección.

## **SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD**

En estudios poblacionales con AD TOXO COLOR su sensibilidad resultó del 99% y su especificidad superior al 98%, considerando 8 como título diferencial entre un suero reactivo y uno no reactivo en la detección de IgG específica.

En una población serológicamente reactiva para anticuerpos anti-Toxoplasma gondii, por técnicas de IFI, HAI, EIA, el 97% de los sueros presentó títulos iguales o mayores a 32 y solo un bajo porcentaje, 3%, títulos de 8 o 16, cuando se estudiaron con AD 2-ME.

En una población serológicamente no reactiva para anticuerpos anti-Toxoplasma gondii, por técnicas de HAI, IFI, EIA, el 94% de los sueros presentó títulos inferiores a 4 y solo un 6% título igual a 4, cuando se estudiaron con AD 2-ME.

Por lo expuesto el título 8 para una muestra tratada con 2-ME sería el de máxima resolución entre sueros de individuos parasitados y no parasitados.

### *Condiciones de almacenamiento y Período de validez.*

Los reactivos son estables hasta la fecha que figura en la caja y frascos. Guardar los componentes del equipo entre 2 y 8  $^{\circ}\text{C}$ , siempre en posición vertical. **No congelar.** En estas condiciones su período de validez es de 18 meses desde su elaboración.

### *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  $121,5^{\circ}\text{C}$ .
- Defectos en el volumen de dispensado del Control Positivo ocasionados por su viscosidad, puede dar títulos diferentes al declarado. Por eso es necesario extremar las precauciones en su manipulación.
- No utilizar el equipo después de la fecha de vencimiento.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Verificar que el volumen de las micropipetas o microdiluidores sea el correcto.
- **No congelar el equipo**, pues los cristales formados en la congelación aglutinan el antígeno. Si esto ocurre, debe descartarlo.
- Si el suero fue tratado con 2-ME verificar que el mismo no se encuentre gelificado, finalizada la incubación post tratamiento. Si gelifica, tratarlo nuevamente realizando una dilución previa  $\frac{1}{2}$  con



- solución fisiológica. Sueros hiperlipémicos gelifican con más facilidad en el tratamiento con 2-ME.
- La Azida de Sodio utilizada como conservador es tóxica en caso de ingestión. En contacto con ácidos emite vapores tóxicos. Ocasionalmente, puede producir explosiones en contacto con iones metálicos. Por lo tanto, en caso de descarte por un sistema de desagüe, debe hacer fluir abundante agua.
  - El Formol utilizado como conservador es tóxico por inhalación y es irritante en contacto con la piel y los ojos.
  - El 2-Mercaptoetanol es tóxico en contacto con la piel, provoca quemaduras. Tiene olor característico desagradable por lo que es necesario manipularlo con protección respiratoria o bajo sistema de extracción de aire.
  - Evitar cualquier contacto de la piel y mucosa con todos los reactivos. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediata y abundantemente con agua. Tras contacto con la piel, lavar con abundante agua. Siempre use para su protección guantes, lentes, guardapolvos, etc.

#### *Requisitos de calidad:*

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 título del Control Positivo se indica en su correspondiente etiqueta y no debe variar más de un orden de dilución ( $\pm 1$  título) durante todo el período de vigencia del equipo.** (Ver precauciones).

El Control Negativo debe dar reacción negativa durante todo el período de vigencia del equipo.

#### *Métodos de ensayo y límites de aceptación*

Sobre los equipos muestreados se realizan los Controles siguiendo estrictamente las indicaciones del manual de instrucciones asignándole un N° de análisis, a saber:

##### Sensibilidad:

Debe existir total concordancia entre los resultados del ensayo y la referencia utilizando sueros reactivos para anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* tomados en forma azarosa del Panel Interno (Seroteca) con las siguientes características: de título bajo (8-16), de título medio (32-64) y de título alto ( $\geq 128$ ).

##### Especificidad:

Debe existir total la concordancia entre los resultados del ensayo y la referencia utilizando sueros no reactivos para anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* tomados en forma azarosa del Panel Interno.

##### Reproducibilidad de Títulos:

Se acepta como apto una concordancia total cuando compara los Títulos obtenidos en el ensayo con los títulos referenciales utilizando sueros reactivos para anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* tomados en forma azarosa del Panel Interno.

##### Funcionalidad:

El título del Control Positivo estudiado en las diluciones desde  $\frac{1}{2}$  hasta  $\frac{1}{512}$  por duplicado deberá ser el que figura en el rótulo con un límite permitido de  $\pm 1$  dilución.

El Control Negativo estudiado en las diluciones 1/8 y 1/16 por duplicado deberá ser un botón nítido de parásitos no aglutinados en el fondo del pocillo que corresponde a una imagen no reactiva en ambas diluciones.

### **ESPECIFICACIONES DE LOS COMPONENTES:**

*Características Físicas (aspecto, color, transparencia, humedad residual)*

**Antígeno Coloreado:** Suspensión homogénea de *Toxoplasma gondii* coloreados de azul/celestes por agitación intensa antes de usar.

**Diluyente de Muestras:** Solución salina isotónica incolora, transparente.

**Solución Proteica:** Solución amarillenta, transparente.

**2-Mercaptoetanol:** Solución homogénea transparente olor intenso característico.

**Control Positivo:** Solución viscosa amarillenta aspecto sérico.

**Control Negativo.** Solución viscosa amarillenta aspecto sérico.

Policubetas descartables de polietileno cristal cada una con 96 pocillos con fondo en “U”

*Características Químicas*

Frasco N° 1: **Antígeno Coloreado.** 12 ml de suspensión estabilizada de *Toxoplasma gondii* coloreados. Agitar intensamente antes de usar.

Frasco N° 2: **Diluyente de Muestras.** 30 ml de solución salina isotónica con adsorbentes y conservadores.

Ampolla N°3: **2-Mercaptoetanol.** 1 ml en ampolla color caramelo

Frasco N° 4: **Solución Proteica.** 0,3 ml de solución proteica estabilizada, con conservadores.

Frasco N° 5: **Control Positivo.** 0.5 ml de una dilución de suero reactivo para anticuerpos contra *T.gondii*, titulado, inactivado, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Frasco N° 6: **Control Negativo.** 0.5 ml de una dilución de suero no reactivo para anticuerpos contra *T.gondii*, inactivado, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

5 Policubetas descartables, cada una con 96 pocillos con fondo en “U”.

### **3. Material del envase**

## **MATERIAL DEL ENVASE**

Por desarrollo se ha determinado la compatibilidad física y química con los materiales utilizados para su envasado. En todos los casos deben ser inertes con el producto a envasar, garantizar su estabilidad e integridad, sin fugas, hasta su fecha de vencimiento en las condiciones de conservación indicadas.

Como conclusión de estos estudios se han determinado las especificaciones para cada caso:

### ***Envases Primarios (Elemento del sistema de envase que está en contacto con el contenido):***

Antígeno y Diluyente de Muestras están envasados en frascos con boca a rosca de poliestireno de alta densidad de color natural con tapas con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor.

El 2-mercaptoetanol esta envasado en una ampolla color caramelo sellada para asegurar su hermeticidad. Una vez abierta hay que acondicionar su contenido en el Frasco Vacío provisto.

Los Controles Positivo y Negativo están envasados en frascos con boca a rosca de poliestireno de mediana densidad de color natural con tapas de polipropileno con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor de color verde para el Control Negativo y de color roja para el Control Positivo.

La Solución Proteica está envasada en frascos con boca a rosca de poliestireno de alta densidad de color natural con tapas de polipropileno con guarnición de espuma de polietileno con recubrimiento de polietileno de 1 mm de espesor de color blanco.

### ***Envases secundarios (Elemento del sistema de envase que contiene el envase primario):***

Los componentes del equipo están acondicionados sobre una placa poliestireno expandido con orificios de diámetro acorde al frasco, material que le confiere resistencia al impacto.

Los rótulos internos están constituidos por etiquetas autoadhesivas de tamaño adecuado según el envase, de un material brillante resistente a los cambios de temperatura y humedad en lo que respecta a su integridad y adhesividad.

Los estuches son de cartulina forrada de 350 g barnizados material que le confieren al producto integridad, resistencia a los cambios de temperatura y humedad y resistencia al impacto e impresa a dos colores.

El instructivo es de formato 8,5 por 13 cm doblado, impreso en dos colores frente y dorso sobre papel Chambril de 57 g.



## **4. Rótulos**

**ROTULOS:**

*ENVASE PRIMARIO:*

AD TOXO COLOR

**1. Antígeno Coloreado**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote: Vto.:

Agitar intensamente antes de usar

12 ml

Conservar entre 2 y 8 °C

No Congelar

Uso "in vitro"

AD TOXO COLOR

**2. Diluyente de Muestras**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote: Vto.:

30 ml

Preparar Antes de Usar

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "in vitro"

AD TOXO COLOR

**3. 2-mercaptoetanol**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote: Vto.:

1 ml

Preparar antes de usar

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "In Vitro"

AD TOXO COLOR

**4. Solución Proteica**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote: Vto.:

Agitar intensamente antes de usar

0,3 ml

Conservar entre 2 y 8 °C

No Congelar

Uso "in vitro"

AD TOXO COLOR

**5. Control Positivo**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote:                      Vto.:

Título: 32±1 Listo para usar

0,5 ml. Material potencialmente infeccionado

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "in Vitro"

AD TOXO COLOR

**6. Control Negativo**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote:                      Vto.:

Listo para usar

0,5 ml. Material potencialmente infeccionado

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "in vitro"

AD TOXO COLOR

**Frasco Vacío**

Laboratorio Lemos S.R.L.

Industria Argentina

Lote:                      Vto.:

Listo para usar

0,5 ml. Material potencialmente infeccionado

Conservar entre 2 y 8 °C

Uso "in vitro"

*ENVASE SECUNDARIO:*

**AD TOXO COLOR**

Prueba de Aglutinación Directa Coloreada para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*  
Uso "In Vitro"  
480 determinaciones de 1 título ó 96 determinaciones de cinco títulos

Conservar entre 2 y 8 °C. **No congelar.**

**Ver instrucciones de uso leyendo cuidadosamente el instructivo adjunto**

**Lote:**

**Vto.:**

*Contenido del equipo:*

1. Antígeno	12 ml
2. Diluyente de Muestras	30 ml
3. 2-Mercaptoetanol	1 ml
4. Solución Proteica	0,3 ml
5. Control Positivo	0,5 ml
6. Control Negativo	0,5 ml
Policubetas descartables, con fondo en "U"	5
Instructivo	1

**Laboratorio Lemos S.R.L.**

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

Santiago del Estero 1162

C1075AAX C.A.B.A. Argentina.

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: lemos@biotica.com.ar

Producto para diagnóstico uso profesional exclusivo autorizado por la ANMAT PM-1545-1

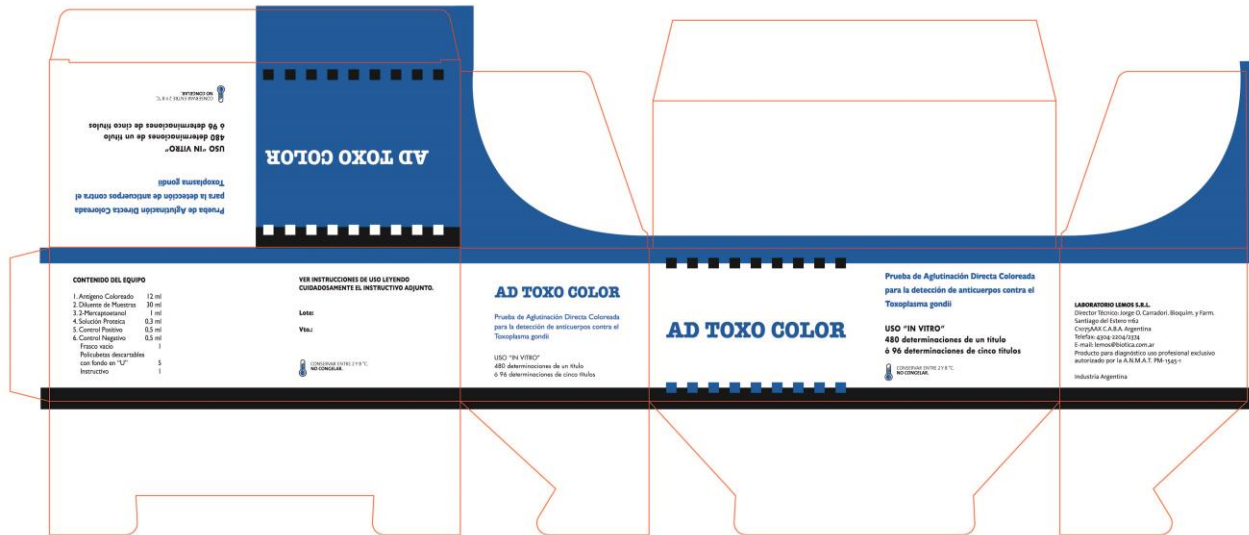
Industria Argentina



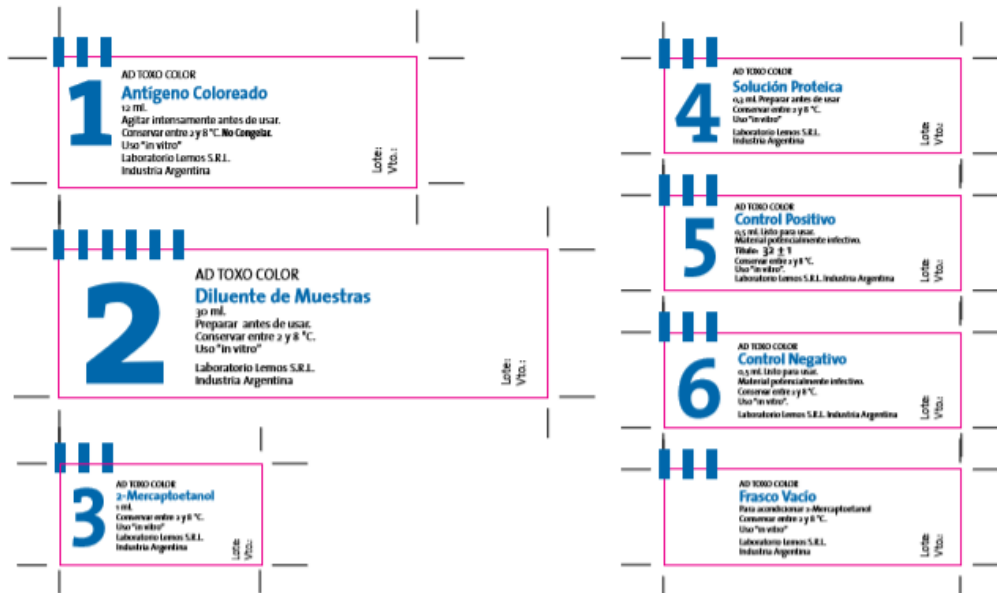
## IMÁGENES

Rotulo externo;

### FRENTE DE IMPRESION



Rotulo interno;



## **5. Inserto**

## INSERTO

### AD TOXO COLOR

#### PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DIRECTA COLOREADA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL TOXOPLASMA GONDII

Uso "In Vitro"

480 determinaciones de un título o 96 determinaciones de cinco títulos

### APLICACION

AD TOXO COLOR puede ser utilizado como auxiliar en el diagnóstico de casos presuntivos de Toxoplasmosis o para ensayos epidemiológicos, a través de la detección de anticuerpos IgM o IgG específicos contra antígenos de la membrana del Toxoplasma gondii.

### FUNDAMENTO DEL METODO

En toda infección primaria, los anticuerpos que produce el organismo son macroglobulinas 19 S (IgM) y algunas globulinas 7 S (IgG). La presencia de IgM antitoxoplasma permite, en general, suponer una toxoplasmosis reciente. El título de estos anticuerpos disminuye en los meses siguientes mientras comienza a aumentar las IgG e IgA antitoxoplasma. Las moléculas IgG e IgM se comportan de modo diferente frente a la acción de agentes reductores como el 2-Mercaptoetanol (2-ME). El 2-ME fracciona las IgM en subunidades 5 S sin capacidad aglutinante, en tanto que no actúa sobre las IgG. Este hecho permite utilizar la AD para diferenciar serológicamente una infección reciente (**aguda**) de una infección antigua (**crónica**).

Por tanto, el método consiste en realizar titulaciones del suero tratado con 2-ME o sin tratar. En la lectura se observará aglutinación o sedimentación del Toxoplasma gondii.

### REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS

Frasco N° 1: **Antígeno coloreado.** 12 ml de suspensión estabilizada de Toxoplasma gondii coloreados. Agitar intensamente antes de usar. Contiene Formol 0,18% P/V como conservador.

Frasco N° 2: **Diluyente de Muestras.** 30 ml de solución salina con conservadores. Contiene Formol 0,18% P/V como conservador.

Ampolla N° 3: 1 ml de 2-ME.

Frasco N° 4: **Solución Proteica.** 0,3 ml de solución proteica estabilizada, con Azida de Sodio 0,2% P/V como conservador.

Frasco N° 5: **Control Positivo.** 0,5 ml de una dilución de suero reactivo para anticuerpos contra T.gondii, titulado, inactivado, con Azida de Sodio 0,2% P/V como conservador. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Frasco N° 6: **Control Negativo.** 0,5 ml de una dilución de suero no reactivo para anticuerpos contra T. gondii, inactivado, con Azida de Sodio 0,2% P/V como conservador. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Frasco vacío para acondicionar el 2-ME una vez abierta la ampolla.

5 Policubetas descartables, cada una con 96 pocillos con fondo en "U".

## **REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS CON EL EQUIPO**

- \* Microgoteros de 25  $\mu$ l
- \* Microdiluidores o micropipetas de 25  $\mu$ l
- \* Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- \* Papel de filtro
- \* Agua destilada o agua desionizada
- \* Solución fisiológica
- \* Baño de agua termostatzado a 37 °C o estufa a 37 °C
- \* Recipientes adecuados para el tratamiento con 2-ME.
- \* Fondo oscuro y lámpara para lectura de las policubetas

## **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, siempre en posición vertical. **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.
- Defectos en el volumen de dispensado del Control Positivo ocasionados por su viscosidad, puede dar títulos diferentes al declarado. Por eso es necesario extremar las precauciones en su manipulación.
- No utilizar el equipo después de la fecha de vencimiento.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- Verificar que el volumen de las micropipetas o microdiluidores sea el correcto.
- **No congelar el equipo**, pues los cristales formados en la congelación aglutinan el antígeno. Si esto ocurre, debe descartarlo.
- Si el suero fue tratado con 2-ME verificar que el mismo no se encuentre gelificado, finalizada la incubación post tratamiento. Si gelifica, tratarlo nuevamente realizando una dilución previa ½ con solución fisiológica. Sueros hiperlipémicos gelifican con más facilidad en el tratamiento con 2-ME.
- La Azida de Sodio utilizada como conservador es toxica en caso de ingestión. En contacto con ácidos emite vapores tóxicos. Ocasionalmente, puede producir explosiones en contacto con iones metálicos. Por lo tanto, en caso de descarte por un sistema de desagüe, debe hacer fluir abundante agua.
- El Formol utilizado como conservador es tóxico por inhalación y es irritante en contacto con la piel y los ojos.
- El 2-Mercaptoetanol es tóxico en contacto con la piel, provoca quemaduras. Tiene olor característico desagradable por lo que es necesario manipularlo con protección respiratoria o bajo sistema de extracción de aire.
- Evitar cualquier contacto de la piel y mucosa con todos los reactivos. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediata y abundantemente con agua. Tras contacto con la piel, lavar con abundante agua. Siempre use para su protección guantes, lentes, guardapolvos, etc.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

**Antígeno coloreado** (frasco N° 1): antes de usar, asegurar una buena homogeneización, agitando intensamente el frasco y luego pasando su contenido 3 ó 4 veces a través de una jeringa con aguja fina (58/8). Repetir el procedimiento cada vez que lo use. Mantener el frasco en posición vertical.

**Diluyente de Muestras** (frasco N° 2): antes de utilizar el Diluyente, agregar 100 microlitros de Solución Proteica (frasco N° 4), cada 10 ml de Diluyente. Preparar la cantidad necesaria para el uso inmediato, ya que solo es estable durante dos días si se mantiene entre 2 y 8 °C.

**2-Mercaptoetanol** (Ampolla N° 3): preparar una solución de 2-ME 1/100 en Solución fisiológica (CINa 0,85% P/V). (Ver Advertencias y Precauciones). Utilizar esta solución solamente el día de su preparación.

**Control Positivo y Negativo** (frascos N° 5 y 6): están listos para usar por lo tanto no requieren tratamiento con 2-ME. Los controles se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV, HIV y Anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi 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 en ayunas siguiendo las normas generales, recogiéndola en tubos de centrífuga. 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

### a) Tratamiento del suero con 2-ME

Los Controles Positivo y Negativo provistos en el equipo están listos para usar, por lo tanto no deben ser sometidos al tratamiento con 2-ME.

#### 1. En dos recipientes adecuados colocar:

	Suero tratado (AD 2-ME)	Suero no tratado (AD)
Suero	0,1 ml	0,1 ml
Solución 2-ME 1/100 (ver Preparación de los Reactivos)	0,1 ml	
Solución fisiológica		0,1 ml

#### 2. Incubar 30 minutos a 37 °C.

#### 3. Luego de la incubación, proceder a la titulación. Observar que ninguno se encuentre gelificado. (Ver Advertencias y Precauciones).

#### 4. Los sueros estarán diluidos 1/2.

*b) Titulación*

Si desea investigar IgG específica, titular solamente el suero tratado con 2-ME.

Si desea diferenciar una infección reciente de una crónica titular el suero tratado y no tratado en paralelo.

1. Colocar 25  $\mu$ l de Diluyente de Muestras (ver preparación de reactivos) utilizando un microgotero o una micropipeta calibrada, a partir del primer pocillo de una policubeta descartable. Utilizar la cantidad de pocillos necesarios hasta la dilución (título) de las muestras y controles que desea investigar. Dejar un pocillo solo con Diluyente de Muestras para utilizarlo como Control de Reactivo.
2. Sumergir un microdiluidor de 25  $\mu$ l en un recipiente con agua destilada, secarlo con papel de filtro por rotación y seguidamente tomar el suero diluido en el tratamiento anterior. Al retirarlo controlar que cubra la totalidad de los espacios libres.
3. Sumergir el microdiluidor cargado en el 1° pocillo y girar el mismo entre ambas manos no menos de 10 veces. Esta operación asegurará una perfecta homogeneización de la muestra.
4. Transferir los microdiluidores a la fila siguiente y repetir la misma operación hasta la dilución deseada.
5. Retirar los microdiluidores y secarlos con papel de filtro. Sumergirlos sucesivamente en dos recipientes con agua destilada y secarlos con papel de filtro para usarlos nuevamente.
6. Repetir los pasos 2 a 5 con cada muestra a investigar, con el Control Positivo (ver Precauciones y Advertencias) y el Control Negativo provistos en el equipo.  
Si utiliza una micropipeta automática de 25  $\mu$ l para la toma y dilución de la muestra y los controles, homogeneizar por carga y descarga, transfiriendo 25  $\mu$ l de pocillo en pocillo hasta la dilución deseada, descartando los últimos 25  $\mu$ l.
7. Depositar con una micropipeta o microgotero 25  $\mu$ l de Antígeno previamente homogeneizado (ver Preparación de los Reactivos) en los pocillos utilizados.
8. Agitar la policubeta golpeando con los dedos sobre sus paredes laterales, durante no menos de 30 segundos.
9. Dejar la policubeta en reposo a resguardo de vibraciones durante un mínimo de cuatro horas y leer.

## **LECTURA**

Luego de transcurridas cuatro horas de incubación, realizar una primera lectura y controlarla al día siguiente. La lectura debe realizarse sobre un “**fondo blanco**” o en espejo para policubetas.

El primer pocillo corresponde a la dilución  $\frac{1}{4}$  para el suero y  $\frac{1}{2}$  para los Controles Positivo y Negativo.

**REACCIÓN POSITIVA:** formación de un manto coloreado en el fondo del pocillo por aglutinación del antígeno, que debe ocupar más del 50% del mismo.

**REACCIÓN NEGATIVA:** formación de un botón nítido coloreado o botón con centro de luz, de bordes regulares, por sedimentación del antígeno.

**CONTROL DE REACTIVO:** debe formar un botón nítido coloreado por sedimentación del antígeno, como la Reacción Negativa. Si el Antígeno está autoaglutinado, la imagen del Control de Reactivo sería como la Reacción Positiva. Si esto ocurre, verifique la homogeneización del antígeno, su estado de conservación (debido a un posible congelamiento), y la fecha de vencimiento del Kit.

## **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 título del Control Positivo se indica en su correspondiente etiqueta y no debe variar más de un orden de dilución ( $\pm 1$  título) durante todo el período de vigencia del equipo.** (Ver Advertencias y Precauciones).

El Control Negativo debe dar reacción negativa durante todo el período de vigencia del equipo.

## **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

El **título del suero** será la inversa de la dilución que da lugar a un manto que ocupe 50% o más del pocillo.

### *Individuos no parasitados*

Título suero no tratado (AD): pueden tener títulos de 8 a 128. Menos frecuentemente 256 y 512.

Título suero tratado (AD 2-ME): título inferior a 8.

En la reacción de AD las inmunoglobulinas “inespecíficas” podrían provocar aglutinaciones que habitualmente son de título bajo. Estas aglutininas presentes en individuos no parasitados, son polímeros que, al igual que las IgM específicas, se fraccionan por la acción del 2-ME y pierden su capacidad aglutinante. Si un título en la AD (1/16 a 1/128 o menos frecuentemente 1/256 1/512) desaparece o cae a cifras no significativas (1/2; 1/4) después de incubado con 2-ME, el suero pertenecería a una persona no infectada. Como estos resultados podrían darse en una parasitosis muy recientemente adquirida, debería realizarse un nuevo examen 4 semanas después, en embarazadas y en pacientes en los que se sospecha la existencia de una infección. En el caso de un no infectado, los títulos se mantendrían semejantes a los del primer estudio; en el caso de un infectado reciente se comprobará un ascenso franco de la AD, mientras persistirá la caída significativa de la AD 2-ME.

### *Individuo parasitado crónico*

Título suero no tratado (AD): 8 o mayor

Título suero tratado (AD 2-ME): 8 o mayor

Si el título del suero no tratado (AD) no se modifica al ser tratado con 2-ME (AD 2-ME) o la variación es de 1 a 3 títulos, el suero pertenecería a un paciente con infección crónica (o antigua) y el poder aglutinante estaría relacionado con anticuerpos del tipo IgG que no modifican su capacidad aglutinante después del tratamiento con 2-ME.

### *Individuo parasitado agudo*

Título suero no tratado (AD): superior a 512

Título suero tratado (AD 2-ME): menor que 8 o inferior en 4 o más diluciones respecto al título obtenido en AD.

Si el suero no tratado (AD) posee títulos superiores a 512 y disminuye en 4 o más diluciones en el suero tratado (AD 2-ME), el poder aglutinante estaría relacionado con anticuerpos tipo IgM específicos y por tanto estaríamos en presencia de un individuo con infección reciente.

### Esquema de la interpretación de los resultados

	Individuo no Parasitado	Individuo parasitado crónico	Individuo parasitado agudo
Título del suero no tratado (sin 2-ME)	8 a 128 (menos frecuentemente 256 ó 512)	$\geq 8$	$> 512$
Título del suero tratado (con 2-ME)	$< 8$	$\geq 8$ sin variación de título, o con una variación de uno a tres títulos inferiores con respecto al suero no tratado (sin 2-ME)	$< 8$ o títulos inferiores en 4 o más diluciones con respecto al suero no tratado

En estas infecciones una determinación aislada es poco significativa, por eso es importante estudiar una nueva muestra cada 4 semanas que permita evidenciar variaciones en el título, 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 Positiva con título tan alto como 2048 que puede evidenciar presumiblemente una infección activa o pertenecer a pacientes crónicos asintomáticos.
- Reacción Negativa o Positiva en pacientes inmunosuprimidos para evidenciar una posible primoinfección o una reactivación de la infección.

En estos casos deberá conservar alícuotas congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  tomadas cada 4 semanas y procesarlas simultáneamente utilizando los mismos reactivos y el mismo operador.

Una variación de título en 3 o más diluciones entre las muestras tomadas cada 4 semanas indicarán presumiblemente una primoinfección o una reactivación.

Por el contrario, si no se observan variaciones en el título indicaría infección crónica asintomática o ausencia de infección.

### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

En estudios poblacionales con AD TOXO COLOR su sensibilidad resultó del 99% y su especificidad superior al 98%, considerando 8 como título diferencial entre un suero reactivo y uno no reactivo en la detección de IgG específica.

En una población serológicamente reactiva para anticuerpos anti-Toxoplasma gondii, por técnicas de IFI, HAI, EIA, el 97% de los sueros presentó títulos iguales o mayores a 32 y solo un bajo porcentaje, 3%, títulos de 8 o 16, cuando se estudiaron con AD 2-ME.

En una población serológicamente no reactiva para anticuerpos anti-Toxoplasma gondii, por técnicas de HAI, IFI, EIA, el 94% de los sueros presentó títulos inferiores a 4 y solo un 6% título igual a 4, cuando se estudiaron con AD 2-ME.

Por lo expuesto el título 8 para una muestra tratada con 2-ME sería el de máxima resolución entre sueros de individuos parasitados y no parasitados.



## LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. AD TOXO COLOR, 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 título debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Naot, Y.; Guptill, D. R.; and Remington, J. S.: Duration of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* after acute acquired toxoplasmosis. *The Journal of Infectious Diseases*. Vol. 142, Nº 5. May 1982.
2. Desmonts, G.; Remington, J.S.: Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. *J. of Clin. Microbiol.* 2(6): 562-568 (1980).
3. Averbach, S.; Averbach, B.; Yanovsky, J.F.; Schmuñis, G.A.: Determinación de aglutininas en la fracción IgM como método simple en el inmunodiagnóstico de la Toxoplasmosis aguda. *Medicina* 35(5): 469-476 (1975).
4. Averbach, S.; Averbach, B.; Vilches, A.M.: Prevalencia de la infección por toxoplasma en personas aparentemente normales de Buenos Aires y alrededores. *Pren. Méd. Argent.* 61: 460-467 (1974).
5. Fulton, J.D.: Micro-agglutination test for *Toxoplasma* antibodies. *Immunology* 9: 491-495 (1965).
6. Fulton, J.D. and Voller, A.: Evaluation of immunofluorescent and direct agglutination methods for detection to specific *Toxoplasma* antibodies. *Brit. Med. J.* 2: 1173-1175 (1964).

## LABORATORIO LEMOS S.R.L.

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

Santiago del Estero 1162.

C1075AAX. C.A.B.A. Argentina

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: [info@lab-lemos.com.ar](mailto:info@lab-lemos.com.ar)

[www.lab-lemos.com.ar](http://www.lab-lemos.com.ar)

Producto para diagnóstico uso profesional exclusivo autorizado por la A.N.M.A.T. PM-1545-1.

Industria Argentina



## **6. Estudios de estabilidad**

## **ESTUDIOS DE ESTABILIDAD**

### **Estudio de Estabilidad acelerada.**

Dos lotes pilotos consecutivos han sido sometidos a estudios de estabilidad acelerada en estufa a 37 °C durante un mes. Se estudió a la semana y al mes. Para ello se comparó la reactividad del producto almacenado a 37 °C frente al producto almacenado entre 2 y 8 °C utilizando muestras de referencia. Se expresó los resultados como porcentaje de actividad conservada respecto a la inicial.

El estudio demuestra que el producto conserva un 70% de la reactividad inicial luego de una semana conservado a 37 °C y un 50% de la reactividad inicial conservado a 37 °C luego de un mes.

Como conclusión de estos estudios el período de estabilidad del producto se fijó en 18 meses conservado entre 2 y 8 °C.

Por cada lote elaborado se realizarán estudios de estabilidad acelerada a 37 °C para decidir su comercialización y estudios de estabilidad real entre 2 y 8 °C hasta su vencimiento según un plan especificado, utilizando equipos o reactivos que serán muestreados de cada lote.

### **Estudio de Estabilidad a tiempo Real**

**Introducción:** El Estudio de la Estabilidad a tiempo Real del Producto AD Toxo Color es un Control de Calidad diseñado para monitorear el correcto funcionamiento del equipo, la integridad de sus rótulos y de todos sus materiales de embalaje, componentes y contenido durante el período de vida útil en las condiciones de conservación declaradas, esto es entre 2 y 8 °C hasta su vencimiento.

#### **Método Analítico:**

Los exámenes que realiza son los siguientes:

- Examen del Fraccionamiento y Acondicionado:  
Realiza un examen visual del estado físico de los estuches, rótulos internos y externos, impresión de lotes y vencimiento, y del material de envase primario del equipo con verificación de sus componentes y su contenido.
- Control de Verificación de Funcionalidad:  
Estudia por titulación seis miembros reactivos del Panel Interno Reactivo para Toxoplasmosis y seis muestras no reactivas del Panel Interno No Reactivo para Toxoplasmosis. Titula por duplicado el Control Negativo y Positivo del Producto Terminado.

#### **Especificaciones:**

- De Fraccionamiento y Acondicionado:  
Los estuches que contienen todos los reactivos deben estar en perfecto estado y permanecer íntegros, sin deteriorarse o despegarse. La gráfica de los rótulos externos debe permanecer íntegra, sin borronarse, durante todo el período de vida útil del equipo en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante.  
Los rótulos internos deben estar perfectamente adheridos y su gráfica debe permanecer íntegra, sin borronarse, durante todo el período de vida útil del equipo en las condiciones de conservación declaradas

por el fabricante.

Los lotes y vencimientos colocados en los equipos deben permanecer claros, inviolables y no manifestar signos de deterioro por la permanencia del equipo en sus condiciones de conservación.

El equipo debe contener todos sus componentes en perfecto estado, el envase primario no debe manifestar signos de deterioro y garantizar la hermeticidad y su contenido durante todo el período de vida útil del equipo en las condiciones de conservación declaradas por el fabricante.

- **De Funcionalidad:**

La prueba se considerará válida si el título del Control Positivo que se indica en su correspondiente etiqueta no debe variar más de un orden de dilución ( $\pm 1$  título) durante todo el período de vigencia del equipo.

El Control Negativo debe dar reacción negativa durante todo el período de vigencia del equipo

Debe existir una concordancia total entre los resultados de los seis miembros reactivos del Panel Interno Reactivo para Toxoplasmosis y los seis miembros no reactivos del Panel Interno No Reactivo para Toxoplasmosis obtenidos con el lote en estudio y el lote recientemente elaborado tomado como referencia. Estas especificaciones deben mantenerse durante el período de vida útil del equipo en las condiciones de conservación declaradas.

**Frecuencia de ejecución:**

Cada vez que Control de Calidad libera un Producto Terminado de AD Toxo Color se inicia el Estudio de la Estabilidad a tiempo Real en las condiciones de conservación declaradas, esto es entre 2 y 8 °C, durante todo el período de vida útil con la siguiente frecuencia: Estudio cuando el lote es liberado y a los 18 meses (fecha de vencimiento) de la fecha de elaboración en función de la experiencia a lo largo de los años.

:



## **7. Validación de desempeño del producto**

## **DESEMPEÑO DEL KIT AD TOXO COLOR**

### *SENSIBILIDAD:*

- Existe un 100 % de concordancia con el Panel Interno de Toxoplasmosis perteneciente al Laboratorio Lemos S.R.L. de muestras con serología confirmadamente reactiva para anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* por otras técnicas de Elisa, HAI e IFI aprobadas por las Autoridades Sanitarias de Argentina.
- Sobre 431 muestras de sueros provenientes de un Centro de Estudio de Toxoplasmosis, de una Clínica y de un consultorio privado, el Laboratorio Polychaco S.A.I.C. realizó una evaluación de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* utilizando las técnicas de Aglutinación Directa (AD Toxo Polychaco), IFI y Hemaglutinación Indirecta, la cual tuvo una concordancia del 100 % respecto a los resultados obtenidos por test de IFI. (Averbach.S.; Averbach B. ; Yanovsky J.F. “Reacción de Aglutinación Directa para Toxoplasmosis. Estudio de la correlación entre esta técnica, la Inmunofluorescencia Indirecta y la Hemaglutinación Indirecta”. Reporte Interno.(1979). Hoy el producto AD Toxo Polychaco ha sido reemplazado por AD TOXO COLOR.
- En un estudio comparativo utilizando seis técnicas serológicas disponibles comercialmente con muestras de sueros de pacientes del laboratorio de serología del hospital San Juan de Dios de La Plata, Pcia. de Buenos Aires. Son 28 muestras de pacientes del Laboratorio Central (Edificio Viejo), San Juan de Dios, La Plata, Calle 27 esq. 70, Responsable: Dr. Juan Carlos Corallini. Las muestras tienen predominio de Títulos bajos para la serología de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii* por otras técnicas Inmunoserológicas disponibles comercialmente. Se concluye AD TOXO COLOR muestra ser una técnica de alta capacidad discriminatoria para el diagnóstico de la Toxoplasmosis, al comprobar su alta sensibilidad y especificidad, confiable como herramienta de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*. (20 de diciembre de 2007)

### *ESPECIFICIDAD:*

Desde el año 2008 hasta la actualidad se estudiaron aproximadamente 4100 muestras de sueros de hemodadores comprobadamente no reactivos para anticuerpos contra *Toxoplasma Gondii* por equipos de ELISA, y HAI aprobados por las autoridades Sanitarias Argentinas disponibles en el mercado. En todos los casos el ensayo mostró una especificidad, mayor o igual al 98 % en la dilución 1:8.

### **REPRODUCIBILIDAD:**

La habilidad de una prueba para detectar la misma cantidad de analito en producciones seriadas, se ha calculado en el Test de Aglutinación Directa, (AD Toxo Color) determinando el porcentaje de muestras estudiadas con títulos iguales, inferiores o superiores en cada lote de Antígeno elaborado, con respecto a un título de referencia.

Los valores requeridos para considerar que un lote en estudio reproduce producciones anteriores es el siguiente:

- Porcentaje de muestras requerido con título igual o mayor hasta tres diluciones con respecto a títulos de referencia: Superior al 65%.
- Porcentaje de muestras requerido con título menor hasta dos diluciones con respecto a títulos de referencia: Inferior al 35%.



En todos los lotes elaborados aprobados desde el año 2008 hasta la actualidad se obtuvieron valores que respondieron siempre a lo especificado.

Revisión, Buenos Aires, 09 de abril de 2019  
Dr. Jorge O. Carradori  
Director Técnico  
Laboratorio Lemos S.R.L.