

IVD

Manual de instrucciones (Español)

1 Finalidad

La *recomLine Toxoplasma IgG [avidéz]*, IgM [IgA] es una prueba in vitro cualitativa para la detección de anticuerpos IgG, IgM o IgA, así como para la determinación de la avidéz de los anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en el suero o plasma humano.

2 Campo de aplicación

En la *recomLine Toxoplasma* se utilizan antígenos específicos de fase, obtenidos de forma recombinante, y, a diferencia del lisado ELISA, permite una identificación segura de anticuerpos que aparecen en diversas fases del desarrollo de la infección.

Con la *recomLine Toxoplasma IgG [avidéz]* se puede determinar también la avidéz de IgG. Mediante la combinación del modelo de barras de IgG con la determinación de la avidéz de anticuerpos específicos de fase puede asignarse el momento de la infección a 3 fases de infección diferentes: infección aguda, infección activa (infección reciente) e infección antigua. Mediante la combinación de la avidéz de IgG con la detección de IgM se puede esclarecer si se trata de anticuerpos IgM relevantes para el diagnóstico o persistentes. Como prueba de confirmación de un resultado de IgA ya obtenido (p. ej., ELISA), la determinación de IgA se puede realizar con la prueba *recomLine Toxoplasma IgM [IgA]*. No es posible una asignación específica de fase del modelo de barras de IgA.

3 Principio de la prueba

Unos antígenos de toxoplasma recombinantes altamente purificados (ROP1c, MIC3, GRA7, GRA8, p30, MAG1, GRA1, rSAG1) se fijan en tiras de ensayo con una membrana de nitrocelulosa.

1. Las tiras de ensayo se incuban con una muestra diluida del suero o plasma. Se añaden anticuerpos específicos en los antígenos del agente en la tira de ensayo.
2. Los anticuerpos no ligados se aclaran a continuación.
3. En un segundo paso, las tiras se incuban con anticuerpos de inmunoglobulina (IgG, IgM o IgA) anti-humana que se han conjugado con peroxidasa de rábano.
4. Los anticuerpos conjugados no ligados se aclaran a continuación.
5. Con una reacción de color catalizado por la peroxidasa se comprueban los anticuerpos específicos ligados. Si ocurre una reacción antígeno-anticuerpo, aparecerá una barra oscura en el lugar correspondiente en la tira.

En el extremo superior de la tira de ensayo se encuentran las barras de control:

- a) El control de reacción, bajo el número de la tira, tiene que mostrar una reacción en cada suero o muestra de plasma.
- b) Los controles de conjugado (IgG, IgM, IgA) permiten controlar el tipo de conjugado y de tira empleado (específico de clase Ig). Si se utiliza la tira de ensayo específica de IgG para la detección de anticuerpos IgG, la barra de control de conjugado IgG muestra claramente una reacción; en la prueba específica de IgM o de IgA, la barra de control de IgM o de IgA ha de mostrar una reactividad positiva.
- c) "Control de corte": La intensidad de esta barra permite evaluar de la reactividad de cada una de las barras de antígenos (véase 9.2 Evaluación).

4 Reactivos

4.1 Contenido del paquete

Los reactivos del paquete tienen una capacidad para 20 determinaciones.

Cada juego de reactivos contiene:

WASHBUF A 10 X	100 ml de buffer de lavado A (diez veces concentrado) Contiene buffer de fosfato, NaCl, KCl, detergente, conservantes: MIT (0,1%) y Oxypyron (0,2%)
SUBS TMB	40 ml de sustrato cromógeno tetrametilbencidina (TMB, listo para el uso)
MILKPOW	5 g de leche en polvo desnatada
INSTRU	1 manual de instrucciones
EVATFORM	1 formulario de evaluación

4.1.1 *recomLine Toxoplasma IgG [avidéz]*

Cada juego de reactivos contiene además de los componentes indicados en el punto 4.1:

TESTSTR	2 tubitos con 10 tiras de ensayo numeradas
CONJ IgG	500 µl conjugado IgG anti-humano (cien veces concentrado, tapón verde) de conejo, contiene NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) y cloroacetamida (<0,1%)

4.1.2 *Determinación de la avidéz*

Para determinar la avidéz de los anticuerpos IgG de toxoplasma se puede suministrar también, a petición, el reactivo de la avidéz con la información de uso correspondiente.

AVIDI	1 reactivo de la avidéz (sólido 25g) para 60 ml de solución lista para el uso
N.º de artículo 11010	

4.1.3 *recomLine Toxoplasma IgM [IgA]*

Cada juego de reactivos contiene además de los componentes indicados en el punto 4.1:

TESTSTR	2 tubitos con 10 tiras de ensayo numeradas
CONJ IgM	500 µl conjugado IgM anti-humano (cien veces concentrado, tapón lila) De conejo, contiene NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) y cloroacetamida (<0,1%)

4.1.4 *Determinación de IgA*

Para la determinación de anticuerpos IgA, además del juego *recomLine Toxoplasma IgM* se puede pedir conjugado IgA:

CONJ IgA	500 µl conjugado IgA anti-humano (cien veces concentrado, tapón transparente) De conejo, contiene NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) y cloroacetamida (<0,1%)
N.º de artículo 10016	

4.2 Reactivos, materiales y aparatos necesarios adicionales

- Bandejas de incubación (se pueden pedir a MIKROGEN si fuera necesario)
- Agua desionizada (calidad alta)
- Pinzas de plástico
- Mesa vibratoria
- Mezclador Vortex u otro tipo de rotador
- Bomba de vacío u otro aparato correspondiente
- Probeta graduada, 50 ml y 1000 ml
- Micro pipetas con puntas de uso único, 20 µl y 1000 µl
- Pipeta de 10 ml o dispensador
- Temporizador
- Papel absorbente
- Guantes de protección de uso único
- Recipiente para sustancias biológicas peligrosas

5 Durabilidad y uso

- Almacene los reactivos antes y después de su uso a +2 °C - +8 °C, **no congelar**.
- Antes de comenzar con la prueba, deje templar todos los componentes a temperatura ambiente (+18 °C - +25 °C) durante 30 minutos como mínimo. La prueba debe llevarse a cabo a temperatura ambiente.
- Tampón de Lavado, Leche en Polvo, tampón de dilución, Conjugado y TMB se pueden intercambiar entre los diferentes sistemas de prueba *recomBlot* y *recomLine*, si estos componentes llevan los mismos símbolos. Considere la vida útil de estos componentes.
- Antes del uso, mezcle bien los reactivos concentrados y los sueros de los pacientes. Evite la generación de espuma.
- Abra los tubitos y las tiras de ensayo justo antes del uso para evitar la generación de agua condensada. Las tiras no necesarias se mantienen en el tubito y se siguen almacenando a +2 °C - +8 °C (cierre bien el tubito; las tiras de ensayo no se deben mojar antes del comienzo de la prueba).
- Las tiras se marcan con una numeración correlativa, así como con la abreviación de la prueba.
- Los paquetes llevan una fecha de expiración. Al llegar a dicha fecha no se puede garantizar la calidad de los productos.
- Proteja de la luz solar directa los componentes del kit durante todo el proceso de prueba. La solución de sustrato (TMB) es especialmente sensible a la luz.

- ☞ La prueba sólo debe llevarse a cabo por un personal especializado cualificado y autorizado.
- ☞ Al realizar cambios sustanciales en el producto o en la prescripción de su uso, puede que dicho uso no se corresponda con la finalidad determinada por MIKROGEN.
- ☞ Una contaminación cruzada de las muestras de los pacientes o de los conjugados puede llevar a resultados de prueba incorrectos. Añada las muestras de los pacientes, las tiras de ensayo y la solución del conjugado de forma cuidadosa. Cuide de que las soluciones de incubación no entren en otros pocillos. Elimine cuidadosamente los líquidos.
- ☞ Las tiras deben estar mojadas y sumergidas durante todo el proceso.
- ☞ Es posible automatizar el proceso; para obtener más información, consulte con MIKROGEN.

6 Advertencias y medidas de seguridad

- ☞ Utilizar sólo para el diagnóstico *in-vitro*.
- ☞ Todos los productos de sangre deben tratarse como potencialmente infecciosos.
- ☞ Las tiras de ensayo se fabricaron con lisados de células enteras inactivadas y / o recombinantes producidos por antígenos bacterianos, virales o parasitarios.
- ☞ Después de añadir el material de paciente o de control, la tira debe considerarse como potencialmente infecciosa y tratarla correspondientemente.
- ☞ Durante todo el proceso de prueba deben utilizarse guantes de uso único.
- ☞ Los reactivos contienen la sustancia antimicrobica y conservante azida sódica, MIT (metilisotiazolinona), Oxyprion, cloroacetamida y peróxido de hidrógeno. Debe evitarse el contacto con la piel o la mucosa. La azida sódica puede formar azidas explosivas al contacto con metal pesado como cobre y plomo.
- ☞ Todos los líquidos succionados deben recogerse. Todos los recipientes colectores deben contener desinfectantes adecuados para la inactivación de agentes patógenos humanos. Todos los reactivos y materiales que han tenido contacto con muestras potencialmente infecciosos deben tratarse con un desinfectante adecuado o eliminarse correspondiente a sus normas de higiene. Deben tenerse en cuenta las indicaciones de concentrado y los tiempos de incubación de los fabricantes.
- ☞ Las bandejas de incubación deben utilizarse una sola vez.
- ☞ Trate las tiras cuidadosamente con una pinza de plástico.
- ☞ No sustituya o mezcle los reactivos con los reactivos de otros fabricantes.
- ☞ Antes de llevar a cabo la prueba, lea atentamente y siga el manual de instrucciones. El no seguir el protocolo de prueba del manual de instrucciones puede llevar a resultados incorrectos.

7 Toma de muestras y preparación de reactivos

7.1 Material de muestra

El material de muestra puede ser suero o plasma (citrato, ácido etilendiaminotetraacético, heparina, CPD) que debe separarse rápidamente del coágulo sanguíneo después de la toma de muestras para evitar una hemólisis. Debe evitarse la contaminación microbiana de la muestra. Las sustancias no solubles deben eliminarse de la muestra antes de la incubación.

No se recomienda la utilización de muestras inactivadas por calor, ictericas, hemolíticas, lipémicas o empañadas.

¡Atención!

Si las determinaciones no se van a realizar inmediatamente, es posible guardar el material de muestra hasta dos semanas a +2 °C - +8 °C. Se puede almacenar la muestra durante más tiempo si se hace a una temperatura de -20 °C o menos. No se recomienda la congelación y descongelación repetida de la muestra debido al peligro de resultados incorrectos. Evitar más de 3 ciclos de congelación y descongelación.

7.2 Preparación de las soluciones

7.2.1 Preparación del buffer de lavado A listo para el uso

Este buffer se necesita para la dilución del suero y del conjugado, así como los pasos de lavado.

Antes de diluir, debe determinarse el volumen del buffer de lavado A para el número correspondiente de pruebas que se van a realizar.

La leche en polvo desnatada se disuelve previamente en el concentrado de buffer de lavado A. Esta mezcla se completa posteriormente con agua desionizada hasta el volumen final (dilución: 1 + 9). Las cantidades necesarias para un número definido de tiras de ensayo se calculan según la siguiente fórmula (no se tiene en cuenta el volumen muerto específico del aparato):

Reactivo	Fórmula	Ejemplo: 5 tiras
Leche en polvo desnatada [g]	= número de tiras x 0,1	0,5 g
Concentrado de buffer de lavado A [ml]	= número de tiras x 2	10 ml
Agua desionizada [ml]	= número de tiras x 18	90 ml
Buffer de lavado A listo para el uso [ml]	= número de tiras x 20	100 ml

El buffer de lavado A listo para el uso puede almacenarse durante **cuatro semanas a 2 °C - +8 °C**. El buffer de lavado A listo para el uso es inodoro y está ligeramente empañado.

7.2.2 Preparación de las soluciones de conjugado

La solución de conjugado debe prepararse **poco antes del uso**; la solución de conjugado lista para el uso no se puede almacenar. Una parte del concentrado de conjugado se diluye con 100 partes de buffer de lavado A listo para el uso (1 + 100).

Las cantidades necesarias para un número definido de tiras de ensayo se calculan según la siguiente fórmula:

Reactivo	Fórmula	Ejemplo: 5 tiras
Concentrado de conjugado [µl]	= número de tiras x 20	100 µl
Buffer de lavado A listo para el uso [ml]	= número de tiras x 20	10 ml

Las cantidades del conjugado se han calculado sin volumen muerto. Dependiendo del procesamiento (manualmente o con un aparato) debe prepararse la solución de conjugado para entre 1 y 3 tiras.

8 Procedimiento de prueba

8.1 Incubación con suero durante una hora

N.º	Realización	Notas
1	Antes de comenzar con la prueba, deje templar todos los reactivos a 18 °C - 25 °C (temperatura ambiente) durante 30 minutos como mínimo.	La prueba debe llevarse a cabo a temperatura ambiente.
2	Preparación de las tiras de ensayo Moje las tiras en 2 ml de buffer de lavado A listo para el uso.	No toque las tiras con las manos: utilice unas pinzas. El número de la tira queda hacia arriba. Para cada tira se necesita un pocillo en una bandeja de incubación (véase 4.2). Las tiras deben sumergirse por completo.
3	Incubación de muestras a) Se pipetea 20 µl de una muestra no diluida (suero humano o plasma) por cada bloque de incubación en la tira de ensayo. (dilución 1 + 100) b) Incube durante 1 hora agitando ligeramente	Pipetee la muestra en un extremo de la tira sumergida en el buffer de lavado A y mezcle cuanto antes agitando cuidadosamente la charola de incubación. Cubra la bandeja de incubación con una tapa de plástico y póngala en el mezclador.
4	Lavar a) Retire cuidadosamente la tapa de plástico de la bandeja de incubación. b) Succione cuidadosamente la dilución de suero de los pocillos. c) Pipetee 2 ml de buffer de lavado A listo para el uso en cada pocillo, lave durante 5 minutos agitando ligeramente y a continuación succione el buffer de lavado A.	Realice los pasos de lavado 8.4a-8.4c tres veces. Evite la contaminación cruzada. En caso de procesamiento con un aparato, deben tenerse en cuenta los avisos del fabricante.
5	Incubación con conjugado Añada 2 ml de la solución de conjugado lista para el uso e incube durante 45 minutos agitando ligeramente.	Cubra la bandeja de incubación con la tapa de plástico y póngala en el mezclador.
6	Lavado véase el apartado 8.4	Realice los pasos de lavado tres veces (véase 8.4a-8.4c)
7	Reacción de sustrato Añada 1,5 ml de la solución de sustrato e incúbela durante 8 minutos agitándola ligeramente.	
8	Interrumpir la reacción Elimine la solución de sustrato Lave brevemente 3 veces como mínimo con agua desionizada .	
9	Secar las tiras Seque las tiras antes de la evaluación durante 2 horas entre dos capas de papel absorbente.	Retire las tiras cuidadosamente del agua con unas pinzas de plástico. Guarde las tiras protegiéndolas ante la luz.
¡Atención! Las soluciones de incubación no deben entrar en otros pocillos. Deben evitarse chispas especialmente al abrir y cerrar la tapa.		

9 Resultados

Atención:

No utilice la interpretación automática sin seguir las indicaciones descritas a continuación en cuanto a la interpretación.

9.1 Validación y control de calidad

Se puede proceder al análisis de una prueba siempre que se cumplan los siguientes criterios:

1. Barra de control de reacción claramente teñida en un color distinto (línea superior), barra oscura
2. Categoría de anticuerpos (segunda barra): la barra de control de la conjugación IgG, IgM o IgA debe mostrar una coloración evidente.
3. Control de corte (tercera barra): teñida en un color más débil pero visible

9.2 Evaluación

La evaluación de las tiras de ensayo se puede realizar de forma visual o informatizada con el software de supervisión y escaneo de tiras de ensayo *recom*. El software para escaneo *recom* está diseñado para el apoyo de la interpretación de las tiras de ensayo. Para obtener más información y unas instrucciones adecuadas acerca de la evaluación asistida por computador, consulte con MIKROGEN. Las instrucciones siguientes hacen referencia a la evaluación visual.

9.2.1 Valoración de la intensidad de la barra

1. Anote en el formulario de evaluación adjunto la fecha y el número de lote, así como las categorías de anticuerpos detectadas.
2. Escriba los números de identificación de las muestras en el formulario de evaluación.
3. Pegue con pegamento las tiras de ensayo pertenecientes en el campo correspondiente del formulario de evaluación. Para ello, ajuste las tiras de ensayo con las barras de control de reacción en las rayas marcadas. A continuación, fije con una cinta adhesiva transparente las tiras de ensayo a la izquierda de las rayas marcadas (no pegue barras de control de reacción encima de otras). Extienda el pegamento en una capa uniforme por toda la tira de ensayo o de lo contrario, la cinta adhesiva modificará la coloración.
4. Identifique las barras de las tiras de ensayo desprendidas mediante la cinta de control impresa del formulario de evaluación y anótelas en el formulario de evaluación. Para ello, efectúe mediante la Tabla 1 la evaluación de la intensidad de las barras presentadas separadas por la categoría de inmunoglobulina correspondiente.

Tabla 1: Valoración de la intensidad de la barra con respecto a la barra de corte

Intensidad de color de las barras	Valoración
Sin reacción	-
Intensidad muy débil (menor que la barra de corte)	+/-
Intensidad débil (correspondiente a la barra de corte)	+
Intensidad fuerte (más fuerte que la barra de corte)	++
Intensidad muy fuerte	+++

9.3 Interpretación de los resultados de la prueba

Para garantizar una evaluación segura y sencilla de la prueba se desarrolló, sobre la base de evaluaciones clínicas y un análisis matemático, una valoración de los antígenos de *Toxoplasma gondii* en la *recomLine Toxoplasma*. El resultado de la prueba se obtiene por la suma de los valores correspondientes de las distintas barras valoradas con +, ++ o +++ (Tabla 2). La suma resultante se añadirá en la columna con el símbolo de suma. La evaluación positiva, dudosa o negativa de la muestra podrá determinarse directamente (Tabla 3) e incluirse en la columna Evaluación.

Tabla 2: Valoración de los antígenos de *T. gondii* en la *recomLine Toxoplasma*

Antígenos	Puntos en IgG	Puntos en IgM	Puntos en IgA
ROP1c	1	6	4
MIC3	0	2	4
GRA7	4	4	4
GRA8	4	4	4
p30	6	0	4
MAG1	2	1	2
GRA1	4	0	4
rSAG1	4	0	4

Tabla 3: Valoración de los resultados de las pruebas en la *recomLine Toxoplasma*

Suma de los puntos	Evaluación
≤ 3	Negativo
4 - 5	Dudoso
≥ 6	Positivo

9.4 Ampliación del diagnóstico mediante determinación de la avidéz

Mediante la determinación de la avidéz en la *recomLine Toxoplasma IgG* se puede ampliar el establecimiento del diagnóstico en la serología de la toxoplasmosis; para establecer el momento de la infección es imprescindible la determinación de la avidéz.

Para la determinación de la avidéz se necesitan dos tiras de ensayo; la realización de la prueba debe tener lugar en la misma serie de pruebas:

- una tira de ensayo para la determinación de la reactividad de los anticuerpos IgG (sin reactivo de la avidéz)
- una tira de ensayo para la determinación de la reactividad de IgG (con reactivo de la avidéz)

9.4.1 Principio y realización de la prueba

La avidéz de los anticuerpos IgG de toxoplasma se puede determinar con el reactivo de la avidéz, artículo n° 11010. Para realizar la prueba utilice la información de uso del reactivo de la avidéz.

9.4.2 Avidéz en la *recomLine Toxoplasma IgG*

En la *recomLine Toxoplasma IgG* se determina únicamente la avidéz de los anticuerpos IgG contra los siguientes antígenos: p30, MAG1, GRA1 y rSAG1 (solo mediante la avidéz de los anticuerpos IgG contra estos antígenos se puede delimitar el momento de la infección). En el caso de los antígenos ROP1c, MIC3, GRA7 y GRA8 no se puede utilizar recurrir a la avidéz para determinar el momento de la infección.

9.4.3 Evaluación e interpretación de la avidéz en la *recomLine Toxoplasma IgG*

- Realizar la determinación de la avidéz únicamente en caso de hallazgo total de IgG positivo.
- Las barras de las tiras de IgG que en cuanto a su reactividad son inferiores a la de corte no se tienen en cuenta al determinar la avidéz.
- Determinación de la avidéz para anticuerpos IgG contra los antígenos p30, MAG1, GRA1, rSAG1.
- Compare las intensidades de las barras correspondientes en las dos tiras de ensayo (tira de IgG y tira de avidéz) que se han incubado con la misma muestra del paciente. Observe con atención si han variado las intensidades.
- También en el caso de infecciones antiguas se pueden encontrar avidéces bajas. Esto es posible debido a los títulos decrecientes, la falta de efecto Booster o a un retraso en la maduración. La avidéz se ha interpretar siempre en relación con los resultados totales del examen, porque la maduración de la avidéz puede variar considerablemente en cada caso.

Tabla 4: Evaluación de la avidéz

Avidéz "alta":	Con una avidéz alta no aumenta apenas o no aumenta en absoluto la intensidad de la barra (intensidad de la barra de aprox. el 75 al 100% de la tira de IgG).
Avidéz "intermedia":	Se otorga una avidéz intermedia cuando la avidéz no se puede calificar inequívocamente de alta o baja.
Avidéz "baja":	Se habla de avidéz baja cuando la intensidad disminuye como único un 50%.

9.5 Indicaciones para la interpretación

La respuesta inmune serológica del hombre a una infección con *Toxoplasma gondii* se caracteriza por una variabilidad elevada. Sobre todo el hecho de que en muchos casos los anticuerpos IgM todavía se mantienen detectables durante años tras la infección dificulta la interpretación de los hallazgos serológicos.

Evolución de anticuerpos en el transcurso del tiempo:

Los estadios serológicos de la infección por toxoplasma (según Friese, modificados)

Fase de la infección	Período de tiempo	Evolución habitual de la respuesta inmune (según Friese et al.)
Seroconversión o aumento significativo de títulos	0 – 3 meses p.i.	Al cabo de 10 – 14 días, aparición de anticuerpos específicos, generalmente en el orden IgM, IgG, IgA. Unas concentraciones altas de anticuerpos IgM específicos en ausencia o con bajo nivel de anticuerpos IgG permiten sospechar (pero no demostrar) la existencia de una infección aguda.
Fase I	Evolución habitual de la respuesta inmune IgG de los antígenos recombinantes de Mikrogen: En la fase de seroconversión temprana de la infección aparecen primero anticuerpos contra GRA7 y/o GRA8. Luego, anticuerpos contra p30. En la evolución ulterior siguen anticuerpos contra MAG1 y GRA1, que en la fase I son detectables predominantemente con avidéz baja, pero a veces también con avidéz intermedia. Si contra los antígenos p30, MAG1, GRA1 y rSAG1 solo son detectables anticuerpos IgG con avidéz baja o intermedia, o no son detectables anticuerpos IgG, existe la sospecha de una infección aguda; la infección se puede clasificar en la fase I. Es absolutamente recomendable realizar un control de seguimiento para documentar un posible aumento de títulos. Hacia el final de la fase I se encuentran ya anticuerpos altamente ávidos contra p30. Aviso: La detección de anticuerpos todavía ávidos contra p30 es indicio de una infección que se produjo hace más de 2 meses. En ocasiones, al final de la fase I se pueden encontrar anticuerpos contra rSAG1 con avidéz baja. Notas acerca de IgM: Las infecciones agudas muestran por lo general un hallazgo de IgM positivo. En casos poco frecuentes, una infección por toxoplasma puede ir acompañada también de títulos IgM muy bajos o incluso desarrollarse sin anticuerpos IgM detectables (IgM "low responder"). En caso de que se haya iniciado una terapia medicamentosa en las fases tempranas, los títulos de anticuerpos, sobre todo los títulos IgM, disminuyen por lo general más rápidamente.	
	Infección activa	3 – 6 meses p.i.
Fase II	Evolución habitual de la respuesta inmune IgG de los antígenos recombinantes de Mikrogen: En la fase II se encuentran por primera vez anticuerpos altamente ávidos contra MAG1 y/o GRA1. Nota importante: La detección de anticuerpos altamente ávidos contra MAG1 y/o GRA1 excluye una infección en la fase I. Esta valoración es independiente de la avidéz por p30. Sucesivamente aparecen anticuerpos contra rSAG1, con una avidéz de baja a intermedia. En raras ocasiones se pueden detectar anticuerpos altamente ávidos contra rSAG1. GRA7 y/o GRA8 son detectables en concentración elevada; la avidéz de estos anticuerpos no se valora. Notas acerca de IgM: Por lo general, el hallazgo de IgM es positivo.	
	Infección en disminución (subaguda)	6 – 12 (- 36) meses p.i.
Fase III	Evolución habitual de la respuesta inmune IgG de los antígenos recombinantes de Mikrogen: En la fase III se encuentran por primera vez anticuerpos altamente ávidos contra rSAG1. Nota importante: La detección de anticuerpos todavía ávidos contra rSAG1 es indicio de una infección que por lo general se produjo hace más de 6 meses. Esto es aplicable con independencia de la aparición o la avidéz de anticuerpos contra p30, MAG1 y/o GRA1. En casos poco frecuentes puede aparecer rSAG1 altamente ávido también hacia el final de la fase II. GRA7 y/o GRA8 son detectables en concentración elevada; la avidéz de estos anticuerpos no se valora. Notas acerca de IgM: Por lo general, el hallazgo de IgM es de dudoso a positivo.	
	Infección latente	> 12 meses p.i.
Fase IV	Evolución habitual de la respuesta inmune IgG de los antígenos recombinantes de Mikrogen: En la fase IV se encuentran anticuerpos altamente ávidos contra rSAG1. La detección de anticuerpos todavía ávidos contra rSAG1 es indicio de una infección que por lo general se produjo hace más de 6 meses. Esto es aplicable con independencia de la aparición o la avidéz de anticuerpos contra p30, MAG1 y/o GRA1. Solo es posible una delimitación de la fase IV con respecto a la fase III mediante el estado de IgM (ver notas relativas a IgM). En caso de infecciones muy antiguas, la concentración de anticuerpos contra GRA7 y/o GRA8 puede disminuir por debajo del límite de detección. La avidéz de estos anticuerpos no se valora. Notas acerca de IgM: Por lo general ya no son detectables anticuerpos IgM e IgA, pero, según las circunstancias, pueden persistir anticuerpos IgM durante largo tiempo (hasta varios años).	

9.5.1 Respuesta del anticuerpo IgG

La respuesta de IgG está marcada sobre todo por GRA7, GRA8, p30, MAG1, GRA1 y rSAG1. Mientras que los anticuerpos IgG contra GRA7 o GRA8 ya están presentes normalmente al principio de la fase I, seguidos por los de p30, los anticuerpos IgG contra MAG1 y GRA1 no aparecen hasta más tarde. Los anticuerpos contra rSAG1 no se desarrollan por lo general hasta la fase II. En caso de infecciones muy antiguas es posible que el título de anticuerpos disminuya por debajo del límite de detección. El marcador más fiable para infecciones antiguas es el antígeno p30. Una reactividad de p30 aislada en el IgG con IgM negativo al mismo tiempo es indicio de una infección antigua. Los hallazgos de IgG dudosos no constituyen un criterio suficiente de inmunidad frente a infecciones por toxoplasma.

9.5.2 Avidéz de IgG:

Para la valoración de la avidéz se recurre a los siguientes antígenos: p30, MAG1, GRA1 y rSAG1. La determinación de la avidéz con antígenos individuales permite, en la mayoría de los casos, una determinación más precisa del estado de la infección. Esto es especialmente importante para diferenciar una infección por toxoplasma aguda de otra en disminución con anticuerpos IgM persistentes (ver 9.4). El hecho de que las reacciones de anticuerpos IgG contra antígenos individuales específicos empiecen de forma típica en diversas fases de la infección y de que estos anticuerpos IgG maduren consecutivamente de poco ávidos a altamente ávidos, permite, por lo general mediante el análisis de los modelos de barras y de avidéz, un discernimiento diferenciado del estado de la infección. A continuación se describe el desarrollo habitual de la respuesta de IgG a una infección de toxoplasmosis; en algún caso puntual pueden producirse desviaciones respecto a esta evolución habitual.
Importante: Si en una muestra de paciente existen anticuerpos altamente ávidos frente a varios de los antígenos de la avidéz, la asignación temporal tiene lugar siempre por medio del antígeno que indica el momento de infección más antiguo:

Tabla 5: Valoración de la avidéz

Sin avidéz elevada para p30, MAG1, GRA1, rSAG1	avidéz elevada contra p30#	avidéz elevada contra MAG1 y/o GRA1	avidéz elevada contra SAG1*
S.d. < 3 meses p.i.	S.d. > 2 meses p.i.	S.d. > 3 meses p.i.	S.d. > 6 meses p.i.*
Fase I		Fase II	Fase III

* En casos poco frecuentes puede aparecer rSAG1 altamente ávido incluso al cabo de 4 meses (fase II).
 # La detección de una reactividad de IgG contra p30 con avidéz elevada sin detección de otras barras de IgG, con IgM negativo al mismo tiempo, indica una infección por toxoplasma antigua.

Preste atención:

Para determinar el momento de la infección con ayuda de los antígenos de la avidéz es muy importante que solo se recurra para la valoración a reacciones de avidéz inequívocamente elevada. Las avidéces intermedias se pueden asignar al modelo de interpretación "poco ávido". La maduración de la avidéz de los diferentes antígenos y el desarrollo de la respuesta inmune pueden estar retardados o incluso no tener lugar en absoluto, sobre todo en caso de aplicación de una terapia antiparasitaria. En el caso de infecciones muy antiguas pueden aparecer falsas avidéces bajas debido al descenso de títulos de anticuerpo IgG y a la ausencia de efecto Booster. Se pueden producir desviaciones en la evolución del desarrollo de la avidéz con respecto a estas situaciones habituales, y requieren, sobre todo en el caso de infecciones relevantes para el embarazo, una interpretación especialmente crítica.

9.5.3 Respuesta del anticuerpo IgM:

Las infecciones agudas muestran por lo general un hallazgo de IgM positivo. En casos poco frecuentes, una infección por toxoplasma puede ir acompañada también de títulos IgM muy bajos o incluso desarrollarse sin anticuerpos IgM detectables (IgM "low responder"). En caso de que se haya iniciado una terapia medicamentosa en las fases tempranas, los títulos de anticuerpos, sobre todo los títulos IgM, disminuyen por lo general más rápidamente. El marcador principal de la respuesta IgM en la *recomLine* Toxoplasma es el antígeno ROP1c. Otros antígenos de IgM son MIC3, GRA7 y GRA8.

En la fase aguda de la infección se pueden detectar con frecuencia anticuerpos contra varios antígenos de IgM. Los anticuerpos IgM contra ROP1c están casi siempre presentes en la fase temprana de la infección, y pueden ser responsables de una persistencia prolongada del título de IgM.

El MIC3 es asimismo un marcador específico de IgM, pero no tiene la inmunodominancia del ROP1c, y por este motivo es raramente detectable. Sin embargo, una reactividad de anticuerpo positiva contra el antígeno MIC3 puede respaldar el hallazgo de IgM, sobre todo en ausencia de reactividad con ROP1c.

En la fase aguda de la infección también se pueden detectar con frecuencia anticuerpos IgM contra GRA7 y/o GRA8, pero que suelen persistir más allá de la fase de la infección aguda. Los hallazgos de IgM aislados sin detección de anticuerpos IgG se han de valorar con especial cuidado; en este caso pueden ser seroconversiones. Sin embargo, no se pueden excluir reacciones no específicas eventuales (p. ej., por estimulación policlonal). Por este motivo es imprescindible en tales casos un control de seguimiento a intervalos de 2 a 3 semanas.

9.5.4 Respuesta del anticuerpo IgA:

La respuesta inmune de IgA es en conjunto muy variable. Por una parte, puede no tener lugar en absoluto pero, por otro lado, la presencia de anticuerpos IgA puede dificultar hallazgos de infecciones de toxoplasmosis actuales [4]. Sin embargo, a partir del análisis del modelo de barras de IgA no se puede obtener información sobre el estado de la infección.

10 Límites y restricciones del método

- Los resultados de las pruebas de serología se han de contemplar siempre en relación con otras evaluaciones médicas de pacientes. Las consecuencias terapéuticas de los hallazgos en serología están relacionadas con los datos clínicos que se van a observar.
- Las muestras con resultados poco claros o dudosos deberían someterse a un control tras aprox. 2 - 3 semanas, dependiendo de la situación clínica.
- Un resultado negativo no excluye en principio la posibilidad de una infección por toxoplasma. Si las muestras se han tomado previamente al inicio de la reacción del sistema inmunológico, es posible que el resultado sea un falso negativo.
- Durante el embarazo es conveniente repetir la toma de muestras y el ensayo al cabo de 8-12 semanas en caso de resultado del suero negativo.
- En situaciones de barras poco claras es recomendable realizar un control de seguimiento.
- Además se ha de tener en cuenta que bajo la influencia de la terapia puede producirse un retardo de la formación de anticuerpos IgG y/o IgM, y por lo tanto también resulta afectada la avidéz de IgG.
- La evolución del desarrollo de la respuesta inmune puede ser diferente a estas situaciones habituales, y se requerirá por ello una interpretación especialmente cuidadosa.
- Para todas las interpretaciones de la prueba, pero sobre todo con resultados positivos débiles, es imprescindible la inclusión de toda la información clínica de la que se pudiera disponer. También se recomienda en este caso una cooperación estrecha entre el laboratorio y el médico a cargo del tratamiento.
- Tira de ensayo oscura:** Algunas muestras de pacientes pueden provocar un color oscuro, general o irregular, en todas las cintas de nitrocelulosa. Son varios los factores responsables de los sueros de los pacientes correspondientes. La evaluación de estas cintas sólo es posible, por regla general, con ciertas restricciones. Por ejemplo, las barras "inversas" (barras blancas en un fondo oscuro) se consideran negativas. El suero correspondiente debe comprobarse en todo caso mediante otro método de serología.

11 Características de potencia

11.1 Sensibilidad del diagnóstico

La sensibilidad del diagnóstico se ha calculado por medio de un total de 60 muestras clínicas de embarazadas, en las que el momento de la infección se dio entre 0-3 meses p.i. (panel 1) y 3-6 meses p.i. (panel 2).

Tabla 6: Sensibilidad del diagnóstico

	recomLine Toxoplasma IgG	recomLine Toxoplasma IgM
Sensibilidad del diagnóstico %(n)	100% (60/60) ¹	90% (54/60) ²

¹ Dos muestras que eran dudosas con la recomLineToxoplasma, se incluyeron entre los resultados positivos.

² Nueve muestras que eran dudosas con la recomLineToxoplasma, se incluyeron entre los resultados positivos.

11.2 Especificidad del diagnóstico

La especificidad del diagnóstico (ausencia de síntomas, prueba de comprobación negativa) se calcula por medio de 20 muestras:

Tabla 7: Colectivo de sueros: Sin síntomas, seronegativo en el ensayo de Screening

	recomLine Toxoplasma IgG	recomLine Toxoplasma IgM
Especificidad del diagnóstico %(n)	100% (20/20)	90% (18/20) ¹

¹ Dos muestras fueron dudosas en la recomLine Toxoplasma

11.3 Sensibilidad del diagnóstico de la avidéz específica de fases y de barras

11.3.1 Infección dentro de los últimos tres meses, colectivo de pacientes: Embarazadas

Tabla 8: 44 muestras de seroconversiones y evoluciones con aumento significativo de títulos (demostrativo de una infección aguda). Ver muestras del 11.1, panel 1.

Muestras IgG positivas	Valoración total	Número
Fase I	S.d. < 3 meses p.i.	41
Fase I	S.d. > 2 meses p.i.	0
Fase II	S.d. > 3 meses p.i.	0
Fase III	S.d. > 6 meses p.i.	0
Suma total de las muestras		41 ¹

¹ Tres muestras fueron dudosas en la recomLine Toxoplasma IgG (imposible determinar la avidéz)

Todas las muestras IgG positivas pudieron asignarse claramente a la fase aguda (< 3 meses p.i.).

11.3.2 Infección producida entre 3 y 6 meses antes, colectivo de pacientes: Embarazadas

Tabla 9: Las 16 muestras del colectivo de sueros de 11.1. (panel 2) son controles de seguimiento del panel 1.

Muestras IgG positivas	Valoración total	Número
Fase I	S.d. < 3 meses p.i.	7
Fase I	S.d. > 2 meses p.i.	5
Fase II	S.d. > 3 meses p.i.	4
Fase III	S.d. > 6 meses p.i.	0
Suma total de las muestras		16

Ninguno de los controles de seguimiento presentó un modelo de barras de la fase III (>6 meses p.i.).

11.3.3 Infección en disminución, colectivo de pacientes: Embarazadas

Tabla 10: 94 muestras individuales con título de IgG de bajo a medianamente alto, con hallazgo de IgM positivo, dudoso o negativo.

Muestras IgG positivas	Valoración total	Número
Fase I	S.d. < 3 meses p.i.	16
Fase I	S.d. > 2 meses p.i.	14
Fase II	S.d. > 3 meses p.i.	42
Fase III	S.d. > 6 meses p.i.	22
Suma total de las muestras		94

11.3.4 Infección antigua, colectivo de pacientes: Donantes de sangre

Tabla 11: 126⁵ muestras de donantes de sangre

Muestras IgG positivas	Valoración total	Número
Fase I	S.d. < 3 meses p.i.	13
Fase I	S.d. > 2 meses p.i.	22
Fase II	S.d. > 3 meses p.i.	12
Fase III	S.d. > 6 meses p.i.	20
Suma total de las muestras		67

⁵ 53 de las 126 muestras sometidas a ensayo presentaron un hallazgo IgG negativo, 6 muestras presentaron un hallazgo de IgG dudoso.

En las muestras de donantes de sangre se produce el efecto de que con infecciones antiguas pueden aparecer avidéces falsamente bajas debido a la disminución de títulos de anticuerpos y a la ausencia de efecto Booster.

11.3.5 Sueros de rutina con hallazgo previo de IgG positivo para toxoplasma, colectivo de pacientes: Muestras de embarazadas procedentes del laboratorio de rutina

Tabla 12: 89 muestras hallazgo previo de IgG positivo para toxoplasma

Muestras IgG positivas	Valoración total	Número
Fase I	S.d. < 3 meses p.i.	3
Fase I	S.d. > 2 meses p.i.	21
Fase II	S.d. > 3 meses p.i.	23
Fase III	S.d. > 6 meses p.i.	42
Suma total de las muestras		89

En este colectivo de sueros se muestra que, al contrario de lo que ocurre con los donantes de sangre sometidos a ensayo, el porcentaje de muestras a las que debido a la avidéz elevada se les puede asignar un

momento de la infección antiguo (> 6 meses) es claramente elevado. El hecho de que en este colectivo de pacientes se puedan medir avidéces considerablemente más elevadas (sobre todo con rSAG1) que en los donantes de sangre, se puede atribuir presumiblemente a la estructura de edades (embarazadas de 20 a 40 años, donantes de sangre de 18 a 65 años).

11.4 Seroprevalencia

	recomLine Toxoplasma IgG		recomLine Toxoplasma IgM	
	Seropositivo %(n)	Seronegativo %(n)	Seropositivo %(n)	Seronegativo %(n)
Donantes de sangre	58% (73/126) ¹	42% (53/126)	8% (10/128) ²	92% (118/128)

¹ Seis muestras que eran dudosas en la rLTG V03, se incluyeron entre los resultados positivos.

² Cinco muestras que eran dudosas en la rLTG V03, se incluyeron entre los resultados positivos.

11.5 Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad de la prueba para determinar la exactitud del análisis ante la existencia de factores de interferencia potenciales en la matriz de la muestra o ante las reacciones cruzadas con anticuerpos potencialmente interferentes.

a) **Interferencias:** Estudios de control de los factores de interferencia potencial muestran que el rendimiento de la prueba no se ve influido por anticoagulantes (citrato de sodio, ácido etilendiaminetetraacético, heparina), hemólisis, triglicéridos, bilirrubinemia de la muestra. Sueros lipémicos pueden causar interferencias en *recomLine Toxoplasma IgG*.

b) **Reacciones cruzadas:** En los estudios de control se analizan las interferencias potenciales de anticuerpos contra otros organismos (por ejemplo EBV*). Además se han comprobado otras condiciones que se deben a la actividad atípica del sistema inmunológico (anticuerpos antinucleares**, factor reumatoide**).

* En las infecciones agudas con el virus de EBV puede ser una IgM reactividad inespecífica en *recomLine Toxoplasma IgM* (por ejemplo: estimulación policlonal).

** Las muestras, que tienen anticuerpos antinucleares, o son positivos en factor reumatoide, pueden causar interferencias en *recomLine Toxoplasma IgG*.

12 Bibliografía

- Sander J, Niehaus C, Häufigkeit der Toxoplasma-Ersteinfektion bei Schwangeren. Deutsche med. Wochenschrift 1983, 108, pp 455-457
- Burg JL et al., Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of Toxoplasma gondii. J. Immunol. 1988, 141 p. 3584-3591
- Groß U et al., Improved Serological Diagnosis of Toxoplasma gondii Infection by Detection of Immunoglobulin A (IgA) and IgM Antibodies against P30 Using the Immunoblot Technique. J. Clin. Microbiol. 1992, p. 1436-1441
- Haring D et al., Recombinant Toxoplasma gondii surface antigen 1 (P30) expressed in Escherichia coli is recognized by human Toxoplasma specific immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1996, 3 p. 355-357
- Janitschke K and Hlobil H: Aktuelle Empfehlungen zur Vorgehensweise bei der Untersuchung auf Toxoplasma-Antikörper bei Schwangeren, Neugeborenen und Kleinkindern. J. Lab. Med. 1998, 22 (9), 495-498
- Saathoff M., Reiter-Owona I. und Seitz H.M.: Fünfzig Jahre Sabin-Feldman-Test: Anmerkungen zur Spezifität und zur Sensitivität des „Gold Standard“. 1999, J. Lab. Med. 1999, 23 (9), 494-497
- Tenter AM, Heckeroth AR und Weiss LM, Toxoplasma gondii: from animals to humans. Int. J. Parasitol. 2000, 30, 1217-1
- Aubert D et al, Recombinant Antigens To Detect Toxoplasma gondii-Specific Immunoglobulin G and Immunoglobulin M in Human Sera by Enzyme Immunoassay. J. Clin. Microbiol. 2000, p. 1144-1150
- Marcolino PT et al., Molecular markers in acute and chronic phases of human toxoplasmosis: determination of immunoglobulin G avidity by Western blotting. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2000, 7 p. 384-389
- Liesenfeld O et al., Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of Toxoplasma gondii infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. J. Infect. Dis. 2001, 183 p. 1248-1253
- Groß U, Roos T und Friese K, Toxoplasmose in der Schwangerschaft. Deutsches Ärzteblatt 2001, 98 (49), A 3293-3300
- Diskussion zu dem Beitrag Toxoplasmose in der Schwangerschaft. Deutsches Ärzteblatt 2002, 99 (16): A1107 - 11089
- Janitschke K, Laboratoriumsdiagnostik der Toxoplasma-Infektion in der Sterilitätsbehandlung, der Schwangerschaft, bei Neugeborenen und Säuglingen sowie Kleinkindern. J. Lab. Med. 2002, 26 (7/8) p. 372-378
- Beghetto E et al., Use of an immunoglobulin G avidity assay based on recombinant antigens for diagnosis of primary Toxoplasma gondii infection during pregnancy. J. Clin. Microbiol. 2003, 41 p. 5414-5418
- Rilling V et al., Evaluation of a commercial IgG/IgM Western Blot Assay for Early Postnatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2003, 22 p.174-180
- Peterson E et al., European Multicenter Study of the LIAISON Automated Diagnostic System for Determination of Toxoplasma gondii-Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM and IgG Avidity Index. J. Clin. Microbiol. 2005, 43 p. 1570-1574
- Pfreppe KI et al., Seroreactivity to and Avidity for Recombinant Antigens in Toxoplasmosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 2005 p. 977-982
- Sensini A, Toxoplasma gondii infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin. Microbiol. Infect. 2006, 12 p. 504-512
- Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin, RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte: Toxoplasmose; 2007, Nr. 40
- Franck J et al., LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot Confirmatory Test for Anti-Toxoplasma Antibody Detection. J. Clin. Microbiol. 2008, 46 p. 2334-2338
- Carvalho FR et al., Reverse Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Monoclonal Antibodies against SAG1-Related Sequence, SAG2A, and p97 Antigens from Toxoplasma Gondii To Detect Specific Immunoglobulin G (IgG), IgM and IgA Antibodies in Human Sera. Clin. Vac. Immunol. 2008, p. 1265-1271

- Curd I et al., Development of Fully Automated Determination of Marker-Specific Immunoglobulin G (IgG) Avidity Based on the Avidity Competition Assay Format: Application for Abbott Architect Cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity Assays. J. Clin. Microbiol. 2009, p. 603-613
- Maudry A et al., Bicentric Evaluation of Six Anti-Toxoplasma Immunoglobulin G (IgG) Automated Immunoassays and Comparison to the TOXO II IgG Western Blot. Clin. Vac. Immunol. 2009, 16 p.1322-1326
- Enders G. Infektionen und Impfungen in der Schwangerschaft; Urban & Schwarzenberg, 2. Auflage 2009
- Konnatale Toxoplasmose. Brett U, MTA Dialog 10 2010 Jahrgang 11
- Hotop A, Hlobil H, Groß U, Efficacy of Rapid Treatment Initiation Following Primary Toxoplasma gondii Infection During Pregnancy. Clin. Infect. Dis. 2012, 54 p.1545-1552
- Sullivan WJ Jr and Jeffers, Mechanisms of Toxoplasma gondii persistence and latency. FEMS Microbiol Rev. 2012, 36(3) p.717-733
- Zylka-Menhorn V., Medizinreport Toxoplasmose-Test 2013, Deutsches Ärzteblatt Jg. 110, Heft 10, A 446
- Villard et al., Comparison of Four Commercially Available Avidity Tests for Toxoplasma gondii-Specific IgG Antibodies. Clin. Vac. Immunol. 2013, 20 p.197-204
- Holec-Gasior L, Toxoplasma gondii Recombinant Antigens as Tool for Serodiagnosis of Human Toxoplasmosis: Current Status of Studies. Clin. and Vac. Immunol. 2013, 20 p.1343-135
- Khammari I et al., A New IgG Immunoblot Kit for Diagnosis of Toxoplasmosis in Pregnant Women. Korean J. Parasitol. 2014, 52 p. 493-499
- Mc Auley JB, Congenital Toxoplasmosis. J. Pediatric. Infect. Dis. Soc. 2014, 3(Suppl 1) S30-S35
- Allahyari M et al., Production of in-vitro refolded and highly antigenic SAG1 for development if a sensitive and specific Toxoplasma IgG ELISA. J. Immunol. Methods 2015, 416 p.157-166

Le enviamos más información a petición suya sobre el diagnóstico del toxoplasmosis.

13 Explicación de los símbolos

	Contenido suficiente para <n> pruebas Número de pruebas
WASHBUF A 10 X	Buffer de lavado A (diez veces concentrado)
SUBS TMB	Substrato cromógeno tetrametilbencidina
MILKPOW	Leche en polvo desnatada
TESTSTR	Tiras de ensayo
CONJ IgG	Conjugado IgG anti-humano
AVIDI	Reactivo de la avidéz
ADD	Reactivo adicional disponible bajo petición
CONJ IgA	Conjugado IgA anti-humano
CONJ IgM	Conjugado IgM anti-humano
EVALFORM	Formulario de evaluación
INSTRU	Manual de instrucciones
	Ver manual de instrucciones
CONT	Contenido, contiene
IVD	Prueba in vitro
LOT	Número de lote
	No congelar
REF	Número de pedido
	Utilizado por Fecha de caducidad
	Almacenamiento de °C a y °C
	Fabricante

14 Datos del fabricante y versión

recomLine Toxoplasma IgG [avidéz]	Artículo n° 5972
recomLine Toxoplasma IgM [IgA]	Artículo n° 5973
Manual de instrucciones	GARLTG010ES
válido desde	2015-06
	MIKROGEN GmbH Floriansbogen 2-4 82061 Neuried Alemania Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 Correo elect. mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de
0483	



GARLTG010ES