

TOXOREAGENT

TOXOREAGENT

REF RST7001
Art.-Nr. 487001

60 Tests

**Gebrauchsanweisung /
Instructions for Use /
Notice Technique**

**Nur zur Verwendung durch Fachpersonal /
For professional use only /
Exclusivement à un usage professionnel**

CE 2797

	Deutsch	Seiten	02–05
	English	Pages	06–08
	Français	Pages	09–12

TOXOREAGENT

Agglutinationstest zum Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* im Serum

Einführung

Latexagglutinationstest zur semi-quantitativen Bestimmung von Anti-Toxoplasma gondii-Antikörpern in Human- und Tierserumproben.

NUR ZUR *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK

Bitte beachten Sie, dass sich die CE-Kennzeichnung dieses Produktes nur auf den Einsatz von Humanproben und nicht auf Tierproben bezieht.

Wichtiger Hinweis zur Gebrauchsanweisung

Bei etwaigen Assay-relevanten Änderungen der Gebrauchsanweisung wird das auf der letzten Seite stehende Versionsdatum aktualisiert. Für einen Zeitraum von 3 Monaten nach Vergabe der neuen Versionsnummer werden die Änderungen auf einem farbigen Beiblatt gekennzeichnet. Bitte stellen Sie sicher, dass Sie immer mit der aktuellen Gebrauchsanweisung arbeiten.

Packungsinhalt

1. **AG/BEADS** Latexreagenz bzw. Latexpartikel

1 x 12 mL gebrauchsfertig; enthält Polystyren-Latexpartikel, beladen mit inaktiviertem Toxoplasma gondii-Antigen; enthält 0,1 % Proclin als Konservierungsmittel.

2. **CONTROL+** Positivkontrolle

1 x 0,5 mL Humanserum mit Anti-Toxoplasma gondii-Antikörpern, gebrauchsfertig; enthält 0,1 % Proclin als Konservierungsmittel.

3. **DIL** Diluent

1 x 50 mL, enthält 0,1 % Proclin als Konservierungsmittel.

4. **Gebrauchsanweisung**

Weitere verwendete Abkürzungen

1. **RTU** gebrauchsfertig

Lagerung und Stabilität

- Alle Behälter sind ungeöffnet und aufrecht gelagert bei 2–8 °C bis zum auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum verwendbar. Einmal geöffnet, muss das Latexreagenz und das Diluent fest verschlossen bei 2–8 °C gelagert werden und kann bis zum Verfallsdatum verwendet werden.
- Die Positivkontrolle bei 2–8 °C aufbewahren, sie ist bis Ablauf des Verfallsdatums stabil.

- **Reagenzien nicht einfrieren!**
- Serumproben bis 48 h bei 2–8 °C lagern. Falls Nachtestungen erforderlich sein sollten, können Proben auch bei -20 °C bis zu 1 Jahr eingefroren werden. Nach dem Einfrieren sollten die Proben nicht zur erstmaligen Testung verwendet werden.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Die Schutzmaßnahmen für den Umgang mit potenziell infektiösem humanem Material beachten.
- Die Positivkontrolle enthält verdünntes Humanserum. Reaktives Kontrollmaterial wurde mit anerkannten Methoden auf HIV, HCV und HBsAg getestet und für negativ befunden. Da das Vorhandensein solcher Erreger trotzdem nicht völlig ausgeschlossen werden kann, sollte die Positivkontrolle wie potenziell infektiöses Material behandelt werden.
- Den Abfall des potenziell infektiösen Materials vor der Entsorgung autoklavieren oder andere gängige Entsorgungsvorschriften beachten.
- Die Agglutinationstests sind empfindlich gegen Hitze, direktes Sonnenlicht oder Vibration. Bei Testdurchführung derartige Bedingungen vermeiden.
- Reagenzien des Tests enthalten teils Rinderserumalbumin. Werden die Reagenzien geschluckt, inhaliert, für Einreibungen verwendet etc., können Infektionskrankheiten nicht ausgeschlossen werden.
- Der Test basiert auf Latexpartikeln. Diese können bei Kontakt mit der Haut allergische Reaktionen hervorrufen. Durch geeignete Laborschutzbekleidung (Einmal-Handschuhe, Schutzbrille, etc.) kann das Risiko minimiert werden.
- Das Latexreagenz vor Gebrauch sorgfältig schütteln, um es gut zu durchmischen. Bei inhomogener Durchmischung sind die Latexpartikelknöpfe schwer auszuwerten.
- Zum Pipettieren jeder Probe immer eine neue Pipettenspitze verwenden, zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen.
- Nach Gebrauch die Reagenzflaschen sofort wieder verschließen.
- Beschädigte oder kontaminierte Kit-Bestandteile nicht mehr verwenden.
- Die Reagenzien eines Kits sind aufeinander abgestimmt und sollten nicht mit Reagenzien eines Kits einer anderen Charge vermischt werden.
- Für weitere Informationen bitte das Sicherheitsdatenblatt beachten. Dieses ist auf Anfrage oder auf der Mast-Homepage erhältlich.

Zusätzlich benötigte Materialien

Mikropipetten, Eppendorf-Gefäße und U-förmige Mikrotiterplatten.

Probenmaterial

- a) Serum
- b) Die Proben können 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung Proben in Aliquots aufteilen und bei -20 °C einfrieren. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden! Aufgetaute Proben sollten vor der Verwendung im Test gemischt (Vortex) werden. Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben können falsche Ergebnisse ergeben.

Testdurchführung

A. Probenvorbereitung.

- Nur frische Serumproben nach Abzentrifugieren von Blutgerinnseln verwenden. Die Proben können bis 48 h bei 2–8 °C oder für längere Zeit bei -20 °C gelagert werden.
- Alle Serumproben 1:8 verdünnen; indem z.B. je 50 µL Serum in ein Röhrchen gefüllt werden und dann mit je 350 µL Diluent vermischt wird. Vor Gebrauch gut mischen. Eine Hitzeinaktivierung der Proben vor Testung ist nicht erforderlich.

B. Vorbereitung der Positivkontrolle

Die Positivkontrolle ist gebrauchsfertig. Bitte beachten, dass die Positivkontrolle einer 1:8 Verdünnung entspricht und entsprechend Gebrauchsanweisung wie die Proben austitriert werden muss.

C. Durchführung

- Die TOXOREAGENT-Komponenten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (15–25 °C) bringen.
- Das Latexreagenz sorgfältig aufschütteln, um die Partikel zu resuspendieren. Schaumbildung vermeiden.
Achtung: Bitte darauf achten, dass die Latexpartikel vollständig in Lösung sind.
- Je 25 µL Diluent in die Wells 1 bis 8 (Reihe 1) einer U-Boden-Mikrotiterplatte mit Hilfe einer Mikropipette pipettieren. Diesen Vorgang für jede zu testende Serumprobe wiederholen.
- 25 µL der Positivkontrolle in das erste Well der Reihe 1 geben und danach je 25 µL der 1:8 verdünnten Serumproben in das erste Well aller folgenden Reihen pipettieren.
Den Inhalt aller Wells der Spalte 1 durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren vermischen. Daraus dann je 25 µL in die entsprechenden Wells der Spalte 2 pipettieren.

a	1	2	3	4	5	6	7	8
b	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
c	25	25	25	25	25	25	25	25
d	25							
e	→	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 → ent-sor-gen
f	25 µL Latexreagenz zu allen Wells hinzugeben							
	Den Inhalt der Wells mischen.							
	Die Platte mindestens 12 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren.							
	Agglutination ablesen.							






Tabellenerklärung

- a – Well-Nummer
 b – Serumverdünnung
 c – µL Diluent
 d – µL Positivkontrolle oder 1:8 verdünnte Serumproben
 e – Verdünntes Serum + Diluent mischen und weiterpipettieren
 f – Latexreagenz zu allen Wells hinzugeben

- Wie unter Punkt 5 angegeben bis zur Spalte 8 fortfahren und je 25 µL aus dem Well ins nächste überführen. Schließlich 25 µL aus den Wells der Spalte 8 entsorgen. Daraus ergeben sich Verdünnungen von 1:16 in Spalte 1 bis 1:2048 in Spalte 8 wie im oben stehenden Diagramm beschrieben.
- 25 µL Latexreagenz zu allen Wells hinzugeben. Das Latexreagenz muss vor Gebrauch vollständig resuspendiert sein.
- Den Inhalt der Wells entweder durch leichte Stöße oder mit Hilfe eines Plattenschüttlers für 30 sec und eingestellt auf die höchste Geschwindigkeitsstufe gut vermischen.
- Die Platte zur Vermeidung von Verdampfung bedecken und mindestens 12 Stunden bei Raumtemperatur (15–25 °C) inkubieren.
Die Mikrotiterplatte auf eine plane Ebene ohne Störungen wie z.B. Vibration stellen und vor Hitze oder Einstrahlung direkten Sonnenlichtes schützen.
- Die Platte auf Agglutination kontrollieren.

Ablesen und Interpretation der Ergebnisse

Die Agglutination nach den folgenden Kriterien interpretieren:

Ergebnis	Muster	Interpretation
Starke Agglutination mit einem unregelmäßigen Außenrand und teilweise nicht ganz geschlossenen Ring		3+
Agglutination im ganzen Well		2+
Deutliche Agglutination, aber nicht über die ganze Oberfläche des Wells		1+
Schwache Agglutination		0,5+
Negative Reaktion. Eine kleine, aber deutliche Knopfbildung in der Mitte		-

Der Titer wird errechnet als die höchste Verdünnungsstufe des Testserums, die noch eine Agglutination (1+ oder höher) anzeigt.

Die Testung ist valide, wenn die mitgeführte Positivkontrolle den Kriterien des QC-Zertifikats erreicht.

Bei Humanserum

1. Ein Antikörper-Titer (Serumverdünnungsfaktor) von 1:32 oder höher zeigt das Vorhandensein von Toxoplasma-Antikörpern an. Bei positiven Ergebnissen sollte der Patient am besten alle zwei Wochen getestet werden, um den Antikörpertiter festzustellen. Wenn der Titer ansteigt oder hoch bleibt, ist der Patient an Toxoplasmose erkrankt. Bei der Diagnose von Augentoxoplasmose ist auch ein niedriger Titer bedeutsam; dennoch sollte hier eine sorgfältige augenärztliche Untersuchung zur Sicherheit durchgeführt werden.
2. Ein Antikörper-Titer von 1:16 sollte ebenfalls als positiv angegeben werden. Er zeigt aber nur das Vorhandensein eines Borderline-Niveaus an. Die Wahrscheinlichkeit, an Toxoplasmose erkrankt zu sein, ist gering. Weitere Blutproben sind notwendig, um eine mögliche Titer-Steigerung festzustellen. Wenn keine Steigerung der Titerstufe festzustellen ist, kann der Patient als Toxoplasmose-negativ eingestuft werden.
3. Bei einem Antikörper-Titer kleiner als 1:16 ist das Vorhandensein von Toxoplasma-Antikörpern unwahrscheinlich; eine Infektion kann jedoch nicht definitiv ausgeschlossen werden, daher sollte bei Verdacht oder Zweifel die Untersuchung mit einer anderen Methode wiederholt werden (Lit. 5).
4. Wenn ein negatives Ergebnis bei Serumproben einer Schwangeren angezeigt wird, sollte der Test während der Schwangerschaft dennoch wiederholt werden, um eine mögliche Serokonversion zu detektieren, da es sich auch um ein falsch negatives Ergebnis handeln kann.
Im Zweifelsfall wird empfohlen, eine weitere Serumprobe anzufordern und mit dem behandelnden Arzt oder Ärztin Rücksprache zu halten.

Bei Schweinen und Katzen

1. Ein Antikörper-Titer (Serumverdünnungsfaktor) von 1:64 oder höher zeigt Toxoplasma-Antikörper an.
2. Bei positiven Ergebnissen sollte das Tier am besten alle zwei Wochen getestet werden, um den Antikörpertiter festzustellen.
3. Ein Antikörper-Titer von 1:32 zeigt einen Borderline-Level der Toxoplasma-Antikörper an. Die Wahrscheinlichkeit einer Toxoplasmose ist gering. Weitere Blutproben sind notwendig, um eine mögliche Titer-Steigerung festzustellen. Wenn keine Steigerung festzustellen ist, kann das Tier als Toxoplasmose-negativ eingestuft werden.
4. Bei einem Antikörper-Titer von 1:16 ist das Risiko einer Toxoplasmose gering. Dies kann allerdings nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Grenzen des Nachweisverfahren

- Der TOXOREAGENT ist ein Screeningassay, welches theoretisch auf Grund des Testprinzips spezifische Antikörper aller Immunglobulinklassen nachweisen kann. In der Testung zur Erstellung der Leistungsdaten wurden allerdings nur spezifische Antikörper der Immunglobulinklassen IgG und IgM verwendet. Der Test wurde nicht auf spezifische Anti-Toxoplasma IgA-Antikörper validiert!
- TOXOREAGENT ermöglicht die serologische Diagnose von Anti-Toxoplasma-Antikörpern. Humane Serumproben mit einem Titer von 1:16 gelten als schwach-positiv oder borderline und sollten nach etwa 2 Wochen erneut getestet werden.
- Bei der Testung der Proben von immunkomprimierten Patienten, Patienten mit erblich bedingten Schäden oder Dialyse-Patienten sollten die serologischen Testergebnisse zusammen mit dem Krankheitsbild und anderen diagnostisch bedeutsamen Ergebnissen analysiert werden. Am besten sollte der Anti-Toxoplasma-Status des Patienten durch einen alternativen Test bestätigt werden.
- Falsch-positive oder kreuzreagierende Ergebnisse kommen manchmal bei Patientenproben vor, die Antikörper anderer Erreger wie Treponema, Rubella, Hepatitis B, Hepatitis C, HIV, HTLV-1 Chagas, Herpes- und / oder Cytomegaloviren aufweisen (Lit.1). Die Ergebnisse von allen serologischen Tests sollten zusammen mit dem Krankheitsbild des Patienten und den Symptomen analysiert werden.
- Jeder *In-vitro*-diagnostische Test kann falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse liefern. Bestehen Zweifel am Testergebnis muss mit einer alternativen Testmethode das Probenmaterial erneut untersucht werden.
- Es sollten nur Serumproben für diesen Test verwendet werden. Plasmaproben sollten nicht eingesetzt werden, da sie falsch-positive Ergebnisse liefern können.
- Keine erkennbar visuell verfärbten oder auffälligen Proben verwenden, was auf eine etwaige Kontamination zurückführbar oder lipämischen, hämolytischen bzw. ikterischen Ursprungs hinweisen könnte.

- Bis zu nachstehenden Konzentrationen wurden Proben getestet und zeigten keine auffälligen Ergebnisse, dennoch sollten sie nicht verwendet werden:
 - Hämoglobin: 560 mg/dL
 - Bilirubin: 24 mg/dL
 - Triglyceride: 1000 mg/dL
- Gelegentlich wird ein Prozone-Effekt bei stark positiven Seren beobachtet. Bitte darauf achten, dass alle Proben vollständig austitriert werden und nicht nur ein Screeningansatz durchgeführt wird.

Qualitätskontrolle und Rückführbarkeit der Positivkontrolle

Die Qualitätskontrolle sollte regelmäßig mit der beige-fügten Positivkontrolle durchgeführt werden, um zu bestätigen, dass die Latexreagenzien in Ordnung sind. Die Qualitätskontrolle sollte in bestimmten Abständen wiederholt werden. Der Antikörper-Titer der Positivkontrolle wird für die jeweilige Charge im Kit-QC-Protokoll angegeben. Wenn die Positivkontrolle nicht in diesem Bereich positiv reagiert, sollte der Testlauf als ungültig gewertet werden. Es sollte auch regelmäßig überprüft werden, ob das Latexreagenz bei bekannten Serumproben die erwarteten Resultate liefert. Alle Reagenzien auf Anzeichen von Verfall überprüfen. Wenn die Reagenzien kontaminiert oder trüb sind, das Produkt nicht einsetzen.

Das im Kit verwendete Kontrollmaterial wurde anhand von WHO International Standards (NIBSC 01/600 und NIBSC TOXM) sowie dem CE Marked Material (NIBSC 09/B588) kalibriert.

Für die Referenzproben wurden mit dem TOXOREAGENT folgende Titerwerte bei visueller Ablesung erzielt:

NIBSC 01/600:	1:2048
TOXM:	1:2048
NIBSC 09/B588:	1:1024

Leistungsdaten

In einer Studie mit 146 humanen Serumproben, die semi-quantitativ getestet wurden, lag die Sensitivität des TOXOREAGENTs im Vergleich zu einem kommerziellen Toxoplasma IgG EIA bei 93,8 % und die Spezifität bei 94,1 %. Als positiv wurden Ergebnisse ab einem Titer von $\geq 1:16$ gewertet.

Alle im Vergleich eingesetzten 28 IgM-positive Proben wurden im TOXOREAGENT verlässlich positiv getestet.

Referenzen

Die Referenzen finden Sie am Ende der Gebrauchsanweisung.

TOXOREAGENT

Agglutination assay for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in serum

Introduction

A latex reagent agglutination test for the semi-quantitative determination of anti-Toxoplasma gondii antibodies in human and animal serum samples.

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

Note that the CE-mark affixed to this product applies only to the use of the product with human samples, not with animal samples.

Important note for use of these kit instructions

Any assay relevant changes to the kit instructions for use (IFU) will lead to a change of the version number at the bottom on the last page of the IFU. All changes made will be identified on a separate sheet added to the IFU for a period of three months from the date of a change of the version. Please ensure that the latest version of the IFU is used for the assay procedure.

Contents

2. **AG/BEADS** Latex reagent or latex particles

1 x 12 mL, ready to use. Contains polystyrene latex particles coated with inactivated Toxoplasma gondii antigen and 0.1% proclin as preservative.

3. **CONTROL+** Positive Control

1 x 0.5 mL, ready to use; contains human serum with anti-Toxoplasma gondii antibodies and 0.1 % proclin as preservative. See titre concentration on QC document supplied in the kit.

4. **DIL** Diluent

1 x 50 mL. Contains 0.1% proclin as preservative.

5. Instructions for use

Further abbreviations

1. **RTU** ready to use

Stability and storage

- Store unopened at 2-8 °C in an upright position until the expiry date shown on the pack label. Once opened, the latex reagent and diluent should be stored at 2-8 °C with the lids tightly closed and may be used until the expiry date given on the label.
- The positive control should be stored at 2-8 °C with the lid tightly closed and may be used until the expiry date indicated on the label.
- **Do not freeze any of the reagents.**
- Serum samples may be stored at 2-8°C for up to 48 hours prior to testing. If longer storage is required,

Warnings and precautions

- For *in vitro* diagnostic use only. Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques when dealing with specimens of human origin.
- The positive control contains human serum. All sera, plasma and buffers containing human biological material were found to be negative for HIV, HCV and HBsAg. However, precautions such as the use of latex gloves must be taken.
- Sterilise all biohazard waste before disposal.
- Agglutination tests are sensitive to the effects of heat, direct sunlight and vibration. Keep away from such sources during test incubation periods.
- Some kit components contain bovine serum albumin. An infection risk is dominant after ingestion, inhalation or embrocation with reagents.
- The assay is based on latex particles. Latex may cause allergic reactions with skin. Wear gloves, coats, protection glasses etc. to reduce the risk.
- Latex particles must be resuspended thoroughly before use. In case of insufficiently resuspended Latex reagent, reactions may be hard to read due to latex button size.
- Use a separate disposable tip for each sample to prevent cross contamination.
- Replace caps on all reagents immediately after use.
- Do not use damaged or contaminated kit components.
- Kit components are matched and should not be interchanged between batches.
- For further safety information see Material Safety Data Sheet, available on request or from the Mast website.

Materials required but not provided

Standard microbiological supplies and equipment such as micropipettes, small dilution tubes and rigid U-shaped bottom microwell plates.

Sample Material

- a) Serum
- b) The serum or plasma samples can be stored at 2–8 °C for up to 3 days. They should be aliquoted and kept at -20°C for a longer storage.

The samples should not be frozen and thawed repeatedly.

After thawing samples should be briefly vortexed carefully before being used in the assay.

Lipemic, icteric, hemolytic or bacterially contaminated samples can cause false results.

Test Procedure

A. Sample preparation

1. Use fresh serum samples obtained by centrifugation of clotted blood. Serum samples may be stored at 2-8 °C for up to 48 hours or frozen for longer term storage.
2. Dilute all serum samples 1:8 by adding 50 µL of serum sample to a small tube and then add 350 µL of diluent. Mix well before use. Heat inactivation of specimens is not required prior to testing.

B. Positive Control

Note that the positive control is equivalent to a 1:8 dilution and requires no further dilution prior to use.

C. Procedure

1. Allow the TOXOREAGENT components to equilibrate to room temperature before use.
2. Gently shake the latex reagent to suspend the particles. Avoid frothing.
Note: Make sure that all latex particles are thoroughly resuspended before use.
3. Place 25 µL of diluent into wells 1-8 of row 1 of a rigid U-shaped bottom microwell plate using a micropipette. Repeat this operation for as many serum samples that are to be tested. All wells of column 9 are to be used as a control.
4. Dispense 25 µL of the reconstituted positive control to well 1 of the first row then add 25 µL of 1:8 diluted serum samples to well 1 of subsequent rows according to a pre-planned template.
5. Mix the contents of all wells in column 1 by pipetting up and down a few times and transfer 25 µL to the corresponding wells of column 2.
6. Continue mixing and transferring 25 µL amounts as in step 5 until you reach column 8. Finally mix and discard 25 µL from all wells of column 8. This will make a series of doubling dilutions from 1:16 in column 1 to 1:2048 in column 8. See diagram below.

a	1	2	3	4	5	6	7	8
b	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
c	25	25	25	25	25	25	25	25
d	25							
e	→	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 → discard
f	Add 25µL latex reagent to all wells.							
	Mix contents of wells.							
	Leave tray at room temperature for at least 12 hours.							
	Read agglutination patterns.							

- a – Well number.
- b – Serum dilution.
- c – µL diluent.
- d – µL of positive control or 1:8 diluted serum samples.
- e – Mix diluted serum + diluent and transfer.
- f – Add latex reagent to all wells.

7. Add 25 µL of latex reagent to all wells. **Ensure that the latex reagent is fully resuspended before use.**
8. Mix the contents of the wells by gently tapping all four sides of the plate or by using a plate shaker set on high speed for at least 30 seconds.
9. Cover the plate to avoid evaporation and incubate at room temperature (15-25 °C) for at least 12 hours, **on a horizontal surface, in an undisturbed position that is free from vibration and away from heat and direct sunlight.**
10. Read the wells for agglutination patterns.

Reading and interpretation of results

Read the agglutination patterns according to the following criteria:

Result	Pattern	Interpretation
Intense agglutination with outer edge irregular and showing occasional tearing.		3+
Agglutination spread throughout the well.		2+
Agglutination is clearly present but does not cover the complete surface of the well.		1+
Weak agglutination pattern		0,5+
Negative reaction. A small and distinct circular sedimentation at the centre.		-

The titre is counted as the highest dilution of the test serum showing significant agglutination of 1+ or above.

The assay results can be considered as valid if the positive control matches the criteria given in the QC document.

For human serum

1. An antibody titre (serum dilution factor) of 1:32 or above indicates the presence of toxoplasma antibodies. It is suggested that for all positive samples the patient should be monitored every 2 weeks to assess for antibody levels. A rising titre level or maintenance of a high level indicates toxoplasmosis. For the diagnosis of ophthalmic toxoplasmosis even a low titre level is significant.

Key to Table

2. An antibody titre of 1:16 should be reported as positive but indicates the presence of a borderline level of toxoplasma antibodies. The probability of toxoplasmosis is low. Re-examination of the patient may be required by taking further blood samples to assess for a possible rise in titre value. If no rise in antibody titre is observed in subsequent samples the patient may be considered to be negative to toxoplasmosis.
3. Antibody titres of less than 1:16 may indicate the absence of clinically significant levels toxoplasma antibodies. In case of any doubt the test shall be repeated using another method.
4. If a negative result is obtained from a pregnant woman it is advisable to repeat the test during the period of pregnancy to detect a possible seroconversion.
In case of doubt it is recommended to request another serum sample and to consult the physician.

For pigs and cats

1. An antibody titre (serum dilution factor) of 1:64 or above indicates the presence of toxoplasma antibodies.
2. It is suggested that for all positive samples further samples should be taken and monitored every 2 weeks to assess for antibody levels.
3. An antibody titre of 1:32 indicates the presence of a borderline level of toxoplasma antibodies. The probability of toxoplasmosis is low. Re-examination of the animal by taking further blood samples may be required to assess for a possible rise in titre value. If no rise in antibody titre is observed in subsequent samples the animal may be considered to be negative to toxoplasmosis.
4. An antibody titre of 1:16 or less indicates the absence of clinically significant levels toxoplasma antibodies.

Limitations of use

- TOXOREAGENT detects IgG and IgM antibodies. The assay cannot differentiate between the two immunoglobulin classes.
- TOXOREAGENT is useful for the serological diagnosis of toxoplasmosis. Human serum samples with titres of 1:16 are counted as weak positive or borderline and should be retested after approximately 2 weeks.
- When testing samples from immunocompromised, congenitally infected or renal dialysis patients serological test results should be considered along with clinical history and other aspects of patient management to be considered diagnostically significant. It is advisable to confirm the patient's anti-toxoplasma status with an alternative test.
- False positive reactions have been noted in patient samples positive for antinuclear antibodies, cytomegalovirus IgM antibodies, or both HBs and HBe antigens. Results from any serological test should always be considered along with the patient's clinical symptoms and history.

- Each diagnostic assay may give false-positive or false-negative results. In case of any doubt it is advisable to confirm the patient's anti-toxoplasma status with an alternative test.
- Serum samples only should be used in this test. Plasma samples should not be used as they may give rise to false positive results.
- Samples showing visibly lipaemic, haematic, icteric or other contaminations should be avoided.
- Samples up to the following concentrations were tested not showing any strange results, but nevertheless they should not be used:
Hemoglobin: 560 mg/dL
Bilirubin: 24 mg/dL
Triglycerides: 1000 mg/dL
- Occasionally a prozone effect may be observed with strongly positive sera. Please note that all samples should be fully titrated out. Screening is not recommended.

Quality control and ceference material

It is recommended that quality control should be performed with the positive control provided to verify that the latex reagent is working correctly, and should be repeated at regular intervals. The antibody titre of the positive control is shown in the QC document supplied with the kit. If the positive control result falls outside of this range the test run should be considered invalid.

Also periodically check that latex reagents give correct results with known reference serum samples. Check for signs of deterioration. Do not use reagents if they are contaminated or cloudy.

Control materials used in the kit were tested against International Standards:

NIBSC 01/600:	1:2048
TOXM:	1:2048
NIBSC 09/B588:	1:1024

Performance characteristics

In a study of 146 human sera samples which were tested semi-quantitatively, the sensitivity of TOXOREAGENT compared to a Toxoplasma IgG EIA was found to be 93.8 % and the specificity was found to be 94.1 %. Positive results taken as $\geq 1:16$ for TOXOREAGENT.

All IgM positive samples in the tested panel gave positive reactions in TOXOREAGENT, too.

References

You can find the references at the end of the instruction for use.

TOXOREAGENT

Test d'agglutination pour la détection des anticorps anti-Toxoplasma gondii dans le sérum

Introduction

Test au latex pour la détermination semi quantitative des anticorps anti-Toxoplasma gondii dans des échantillons de sérum humain et animal.

DIAGNOSTIC *IN VITRO* UNIQUEMENT

Noter que le marquage CE de ce produit concerne les échantillons humains et non pas les échantillons animaux.

Remarque importante pour l'usage du kit

Tout changement pertinent de la notice d'utilisation (NU) du kit implique un changement de numéro de version indiqué en bas sur la dernière page de la NU. Toutes les modifications apportées sont indiquées dans une feuille supplémentaire accompagnant la NU pour une période de trois mois à compter de la date de changement de version. Veillez à ce que la dernière version de la NU soit utilisée avant d'effectuer le test.

Composition

1. AG/BEADS Particules de latex

Prêt à l'emploi, en flacon de 12 mL de particules de latex en polystyrène sensibilisées avec l'antigène de *Toxoplasma gondii* inactivé et 0,1 % de Proclin comme conservateur.

2. CONTROL+ Contrôle positif

Prêt à l'emploi; 0,5 mL de sérum humain contenant des anticorps anti-Toxoplasma gondii et additionnée de 0,1 % de Proclin comme conservateur.

3. DIL Diluant

1 x 50 mL et 0,1 % de Proclin comme conservateur.

4. Notice d'utilisation

Autres abréviations

1. RTU Prêt à l'emploi

Conservation

- A conserver à 2-8 °C dans la position verticale appropriée jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte. Une fois ouverts, les particules de latex et le diluant doivent être stockés bien fermés à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Le flacon du contrôle positif doit être hermétiquement fermé et conservé à 2-8 °C. Il peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- **Ne pas congeler les réactifs!**

- Les échantillons de sérum doivent être stockés à 2-8 °C 48 heures au maximum avant le test. Pour un stockage prolongé, stocker à 20 °C pendant un an au plus. Les échantillons décongelés doivent être mélangés avant d'être testés.

Précautions d'emploi

- Usage *in vitro* diagnostic uniquement. Observer les précautions usuelles de risques et les techniques d'asepsie lors de la manipulation des échantillons d'origine humaine.
- Le contrôle positif contient du sérum humain. Tous les sérums, plasma et tampons contenant du matériel biologique humain sont négatifs à VIH, VHC et d'antigène HBs. Cependant, des précautions telles que l'utilisation de gants en latex doivent être prises.
- Stériliser les déchets dangereux avant l'élimination.
- Les tests d'agglutination sont sensibles à la chaleur, la lumière directe et les vibrations. Éloigner le test de telles sources.
- Certains composants du kit contiennent de l'albumine de sérum bovin. Un risque dominant d'infection est présent après ingestion, inhalation ou embrocation des réactifs.
- Ce test est fait à base de particules de latex. Le latex peut provoquer des réactions allergiques avec la peau. Réduisez le risque en portant des gants, des manteaux, des lunettes protection etc.
- Les particules de latex doivent être remises en suspension avant utilisation. En cas de particules de latex insuffisamment remis en suspension, les réactions peuvent être difficiles à lire en raison de la taille des boutons de latex.
- Utiliser des embouts jetables pour chaque échantillon pour éviter les contaminations croisées.
- Replacer les bouchons sur tous les réactifs immédiatement après utilisation.
- Ne pas utiliser de composants du coffret contaminés ou endommagés.
- Les composants du coffret ont été contrôlés et ne doivent pas être échangés d'un lot à l'autre.
- Pour plus d'information sur les risques potentiels voir la fiche de sécurité, disponible sur demande ou à partir de notre site Internet Mast.

Matériels nécessaires mais non fournis

Equipements et consommables standards de microbiologie tels que des micropipettes, des petits tubes de dilution et des microplaques rigides à fond en U.

Échantillons de matériaux

- a) Serum
- b) Les échantillons de sérum ou de plasma peuvent être conservés pendant 3 jours à 2–8 °C. Ils doivent être conservés à -20 °C pour des durées plus longues.

Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés de façon répétée.

Après décongélation, les échantillons doivent être agités au vortex rapidement et avec soin avant d'effectuer le test.

Les échantillons hyperlipidiques, ictériques, hémolysés ou contaminés peuvent donner des résultats faussement négatifs ou positifs.

Test Procédure

A. Préparation des échantillons.

- Utiliser des sérums frais obtenus par centrifugation de sang coagulé. Les sérums doivent être stockés à 2-8 °C pendant 48 heures au maximum ou congeler à -20 °C pour un stockage prolongé.
- Diluer tous les échantillons de sérum au 1:8 en ajoutant 50 µL de sérum dans un petit tube puis ajouter 350 µL de diluant. Bien mélanger avant utilisation. L'inactivation par la chaleur de l'échantillon n'est pas nécessaire avant d'effectuer le test.

B. Préparation du contrôle positif

Remarque: le contrôle positif est équivalent à une dilution au 1:8 et ne nécessite pas de dilution supplémentaire avant utilisation.

C. Procédure

- Ramener les réactifs TOXOREAGENT à température ambiante avant utilisation.
- Homogénéiser les particules de latex en les agitant tout en évitant la formation de bulles.

Remarque: Assurez-vous que toutes les particules de latex sont complètement remises en suspension avant utilisation.

- Déposer 25 µL de diluant dans les puits n°1 à 8 de la rangée n°1 d'une microplaque à fond en U.

Répéter cette opération pour chaque sérum à tester.

Tous les puits de la colonne n°9 doivent être utilisés comme contrôle

- Distribuer 25 µL de contrôle positif reconstitué dans le puits n°1 de la première rangée puis ajouter 25 µL de sérum dilué au 1:8 dans le puits n°1 des rangées suivantes selon un plan de distribution bien défini.

Mélanger le contenu des puits de la colonne n°1 par piquetages successifs puis transférer 25 µL dans les puits correspondants de la colonne n°2.






a	1	2	3	4	5	6	7	8
b	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
c	25	25	25	25	25	25	25	25
d	25							
e	→	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 →	25 → éliminer
f	Ajouter 25 µL de particules de latex dans tous les puits.							
	Bien mélanger.							
	Incuber à température ambiante au moins 12 heures.							
	Lire les profils d'agglutination.							

Légende du tableau

- a – numéro du puits.
 b – dilution du sérum.
 c – µL diluant.
 d – µL de contrôle positif ou de sérum dilué au 1:8
 e – Mélanger le sérum dilué dans le diluant puis transférer.
 f – Ajouter le réactif latex dans tous les puits
- Continuer à mélanger et transférer 25 µL comme dans l'étape 5 jusqu'à la colonne n°8. En dernière étape, mélanger et éliminer 25 µL dans tous les puits de la colonne n°8 afin d'obtenir des dilutions au demi depuis la dilution au 1:16 dans la colonne n°1 jusqu'au 1:2048 dans la colonne n°8. Voir le diagramme cidessous.
 - Ajouter 25 µL particules de latex dans tous les puits. Vérifiez que le latex est bien homogène avant utilisation.
 - Mélanger le contenu du puits en agitant la microplaque en tapotant les quatre côtés ou à l'aide d'un agitateur pour microplaques réglé sur vitesse rapide pendant au moins 30 secondes.
 - Recouvrir la plaque afin d'éviter toute évaporation et incuber à température ambiante (15-25°C) pendant au moins 12 heures, sur une surface horizontale, à l'abri des vibrations, de source de chaleur et de la lumière directe.
 - Lire les puits pour les profils d'agglutination.

Lecture et interprétation des résultats

Lire les profils d'agglutination selon les critères suivants:

Résultat	Profil	Interprétation
Agglutination intense avec bords irréguliers montrant des ruptures occasionnelles.		3+
Agglutination uniforme dans tous les puits.		2+
Agglutination nette mais recouvrant partiellement le puits.		1+
Faible agglutination		0,5+
Réaction négative. Petit point de sédimentation au centre du puits.		-

Le titre correspond à la plus haute dilution montrant une agglutination significative de 1+ au plus.

Les résultats du test sont considéré comme valide si le contrôle positif est dans les limites fournies dans le certificat de Contrôle de Qualité.

Sérologie humaine

1. Le titre d'anticorps (facteur de dilution du sérum) de 1:32 ou plus indique la présence en anticorps anti-toxoplasme. Il est conseillé de contrôler les échantillons positifs au bout de deux semaines afin de vérifier les titres d'anticorps. Une notation significative du titre ou un maintien de titre élevé indique la présence d'une toxoplasmose. Pour le diagnostic de la toxoplasmose ophtalmique un titre même faible est significatif.
2. Un titre de 1:16 doit être rapporté comme positif mais indique la présence d'anticorps anti-toxoplasme à un niveau douteux. La probabilité de toxoplasmose est faible. Réexaminer le patient peut s'avérer nécessaire pour un nouveau prélèvement sanguin pour vérifier l'augmentation possible du titre. Si aucune augmentation de titre n'est observée, les échantillons du patient peuvent être considérés comme négatifs pour la toxoplasmose.
3. Un titre inférieur à 1:16 indique l'absence de titre significatif pour la toxoplasmose.
4. En cas de résultat négatif chez la femme enceinte, il est préférable de répéter le test durant la période de grossesse pour détecter une éventuelle séroconversion.
En cas de doute, il est recommandé de demander un autre échantillon de sérum et de consulter le médecin traitant

Sérologie chez les cochons et les chats

1. Un titre en anticorps (facteur de dilution du sérum) de 1:64 ou plus indique la présence d'anticorps anti-toxoplasme.

2. Les échantillons positifs doivent être contrôlés toutes les deux semaines pour leur titre d'anticorps.
3. Un titre de 1:32 indique la présence de titre douteux en anticorps anti-toxoplasme. La probabilité d'une toxoplasmose est faible. Un nouvel examen de l'animal avec une prise de sang supplémentaire peut être effectué pour vérifier l'augmentation possible du titre en anticorps.
Si aucune augmentation de titre n'est observée, les échantillons animaux doivent être considérés comme négatifs pour la toxoplasmose.
4. Un titre d'anticorps inférieur ou égal à 1:16 indique l'absence d'un titre cliniquement significatif.

Limites d'utilisation

- TOXOREAGENT détecte les anticorps IgG et IgM. Le test ne peut différencier les 2 classes d'anticorps.
- TOXOREAGENT est un test utile pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Les échantillons de sérum humain de titre 1:16 sont considérés comme faiblement positifs ou douteux, et doivent être à nouveau testés après deux semaines environ.
- La sérologie d'échantillons de patients immunodéprimés, infectés congénitalement ou en dialyse rénale, doit être pris en compte avec les antécédents cliniques et autres aspects pour être considéré comme significative. Il est conseillé de confirmer le statut anti-toxoplasme du patient avec un autre test.
- Des réactions faussement positives ont été observées dans les échantillons de patients positifs en anticorps antinucléaires, en IgM cytomégalovirus ou en antigènes HBs et HBe. Les résultats de la sérologie doivent toujours être observés en fonction des symptômes et antécédents cliniques du patient.
- Chaque test de diagnostic peut donner des résultats faussement positifs ou faussement négatifs. En cas de doutes sur le résultat du test, il est conseillé de confirmer le statut anti-toxoplasme du patient avec un autre test.
- Seuls les sérums peuvent être utilisés avec ce test. Les échantillons de plasma peuvent donner des résultats faussement positifs.
- Les échantillons fortement lipidiques, hémolytiques ou contaminés doivent être éliminés.
- Les échantillons jusqu'aux concentrations suivantes ont été testés et ne montrent aucun résultat étrange. Ils ne doivent néanmoins pas être utilisés:
Hémoglobine: 560 mg/dL
Bilirubine: 24 mg/dL
Triglycérides: 1000 mg/dL
- Un effet de zone peut être observé occasionnellement avec des sérums fortement positifs. Tous les échantillons doivent être titrés. Le dépistage n'est pas recommandé.

Contrôle de qualité et matériel de référence

Il est recommandé d'effectuer, à des intervalles réguliers, le contrôle de qualité avec le contrôle positif fourni afin de vérifier que les réactifs latex fonctionnent correctement. Le titre de l'anticorps du contrôle positif est indiqué dans le document QC fourni avec le kit. Si les résultats de contrôle positif sortent de la gamme d'acceptabilité, le test doit être considéré comme invalide.

Vérifier également périodiquement que le latex donne des résultats corrects avec le sérum de référence connu. Vérifier l'absence de signe de détérioration. Ne pas utiliser les réactifs contaminés ou troubles.

Les matériels de contrôle utilisés dans le kit ont été testés contre les normes internationales:

NIBSC 01/600:	1:2048
TOXM:	1:2048
NIBSC 09/B588:	1:1024

Performances

Une étude du TOXOREAGENT par rapport à une Toxoplasma IgG EIA de 146 échantillons de sérums humains testés semi-quantitativement a montré une sensibilité de 93,8 % et une spécificité de 94,1 %. Le seuil de positivité du TOXOREAGENT était $\geq 1:16$.

Tous les échantillons positifs IgM ont aussi montré des réactions positives au TOXOREAGENT.

Références

Vous trouverez les références à la fin de ce mode d'emploi.

1. Rodrigues IMX, Castro AM, Gomes MBF, Amaral WN, Avelino MM; Congenital toxoplasmosis: evaluation of serological methods for the detection of anti-Toxoplasma gondii IgM and IgA antibodies, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009, Vol. 104 (3), 434-440
1. Kobahashi A, Hirai N, Suzuki Y, Nishikawa H, Watanabe N. Evaluation of a commercial Toxoplasma latex agglutination test. Jap J Parasitol. 1977; 26: 175-180.
2. Balfour AH, Fleck DG, Hughes PA, Sharp D. Comparative study of three tests (dye test, indirect haemagglutination, latex agglutination test) for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera. J Clin Pathol. 1982; 35: 228-232.
3. Hollimann, RE. Investigation of HIV-positive patients for Toxoplasmosis using the latex agglutination test. Serodiagn Immunother Inf Dis 1990; 4: 249-253.
4. <http://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/index.html>
5. <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/toxoplasmosis/pages/index.aspx>
6. <http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/T/Toxoplasrose/Toxoplasrose.html>
7. <http://www.bfr.bund.de/en/toxoplasms-54399.html>
BgVV-Hefte Herausgegeben von M. Hartung, Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 2001, 249 – 251

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0
Fax: +49 (0)4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

Mast Group Ltd.

Mast House, Derby Road
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

Tel: +44 (0)151 472 1444
Fax: +44 (0)151 944 1332
email: sales@mastgrp.com
Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France

Tél: +33 (3) 22 80 80 67
Fax: +33 (3) 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com

Verwendete Symbole gemäß DIN EN ISO 15223-1

Icons are used according to DIN EN ISO 15223-1

Icônes utilisées selon DIN EN ISO 15223-1

V. 2019-07-12