

TOXOREAGENT

TOXOREAGENT

REF

RST7001

60 Tests

Art.-Nr. 487001

UDI-DI: 4250729700002

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

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

CE 2797



Deutsch

Seiten

02-06



English

Pages

07-11



Français

Pages

12-16

TOXOREAGENT

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

Verwendungszweck

Semi-quantitativer (titrierbarer) Agglutinationstest zum Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* in Humanserum als Hilfsmittel zur Diagnose der Immunität gegen Toxoplasmose (Vorhandensein spezifischer Antikörper).

Der Test ist für den manuellen Gebrauch geeignet und nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik bestimmt. Alle Labortestergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen Daten interpretiert werden. Die klinische Beurteilung und weitere Tests müssen zusätzlich berücksichtigt werden.

Hinweis: Beachten Sie, dass das CE-Zeichen auf diesem Produkt nur für die Verwendung des Produkts mit menschlichen Proben gilt, nicht mit tierischen Proben.

Wichtiger Hinweis zur Gebrauchsanweisung

Jede für den Test relevante Änderung der Gebrauchsanweisung des Kits (IFU) führt zu einer Änderung der Versionsnummer am unteren Rand der letzten Seite der IFU. Alle vorgenommenen Änderungen werden auf einem separaten Blatt gekennzeichnet, das der Gebrauchsanweisung für einen Zeitraum von drei Monaten ab dem Datum der Versionsänderung beigelegt wird. Bitte stellen Sie sicher, dass die neueste Version der Gebrauchsanweisung für das Testverfahren verwendet wird.

Prinzip des Tests

Das Mast Toxoreagent Kit ist ein Agglutinationstest auf der Basis von Latexpartikeln. Diese sind mit ultraschallbehandeltem *Toxoplasma gondii*-Antigen (RH-Stamm) beschichtet und stabilisiert. Das Latexreagenz ist als flüssige Reagenzkomponente im Kit gebrauchsfertig erhältlich. Das Probenverdünnungsmittel wird für die Verdünnung der Proben oder der Positivkontrolle verwendet. Die Positivkontrolle zeigt die Reaktivität des Tests an. Der zu erzielende Endtiter sollte dem chargenspezifischen QC-Dokument entnommen werden. Der Test wird in Mikrotiterplatten mit U-Boden durchgeführt, die nicht Teil des Kits sind. Das Testergebnis ist ein Agglutinationsmuster, das visuell oder durch entsprechende Reader-gesteuerte Auswerteprogramme interpretiert wird. Die Anwesenheit von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii*-Antigene führt zur Agglutination der Latexpartikel. Diese positive Reaktion hängt von der Konzentration der Antikörper in der Serumprobe ab. Bei negativen Ergebnissen sedimentieren die Partikel zu einem Knopf am Boden der Mikrotitervertiefung. Die Stärke der Antikörperreaktion wird durch serielle Titration bestimmt. Ausgehend von

einer Serumverdünnung von 1:8 wird die Probe über weitere 7 Vertiefungen titriert. Die letzte

Agglutinationsreaktion dieser Probe ergibt den Titer. Der maximal zu erreichende Titrationsschritt bei dieser Titration ist ein Verdünnungsschritt von 1:2048.

Packungsinhalt

- AG/BEADS Latexreagenz bzw. Latexpartikel**
1 x 12 mL, gebrauchsfertig; enthält Polystyren-Latexpartikel, beladen mit inaktiviertem *Toxoplasma gondii*-Antigen und Proclin (0.1% v/v) als Konservierungsmittel.
- CONTROL+ Positivkontrolle**
1 x 0.5 mL, gebrauchsfertig; enthält Humanserum mit Anti-*Toxoplasma gondii*-Antikörpern und Proclin (0.1% v/v) als Konservierungsmittel. Siehe Titerkonzentration auf dem QC-Dokument, das dem Kit beiliegt. (potentiell infektiös, siehe Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen).
- DIL Diluent**
1 x 50 mL, enthält Proclin (0.1% v/v) als Konservierungsmittel.
- Gebrauchsanweisung**

Weitere Abkürzungen

- RTU** gebrauchsfertig

Zusätzlich benötigte Materialien

Mikrobiologisches Standardmaterial und -ausrüstung wie Mikropipetten, kleine Verdünnungsröhrchen und Mikrotiterplatten mit starrem U-Boden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet.
- Vor der Testdurchführung sorgfältig die Gebrauchsanweisung lesen. Die Testdurchführung nicht ohne Validierung modifizieren.
- Beim Umgang mit Proben menschlichen Ursprungs sind die anerkannten Vorsichtsmaßnahmen für biologische Gefahren und aseptische Techniken zu beachten.
- Die Positivkontrolle enthält verdünntes Humanserum. Alle Seren, Plasmen und Puffer, die biologisches Humanmaterial enthalten, waren negativ für Anti-HIV 1 & 2, HIV Ag, Anti-HCV und HBsAg. Dennoch müssen Vorsichtsmaßnahmen wie die Verwendung von Handschuhen getroffen werden. Da das Vorhandensein dieser Viren nicht völlig ausgeschlossen werden kann, sollten Vorsichtsmaßnahmen wie die Verwendung von persönlicher Schutzausrüstung getroffen 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 Infektionskrankungen nicht ausgeschlossen werden. Bei der Handhabung der Reagenzien ist Vorsicht geboten.
- 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.
- Das Vorhandensein von Anti-Latex-Antikörpern in der Patientenprobe kann zu falsch positiven Ergebnissen führen. Patienten mit einer bekannten Latexallergie sollten mit verschiedenen Methoden getestet werden, und alle Ergebnisse sollten zusammen mit den klinischen Beobachtungen interpretiert werden.
- 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.
- Der Test enthält keine gefährlichen Stoffe im Sinne der Verordnung (EG) 1907/2006. Weitere Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, das auf Anfrage oder auf der Mast-Website erhältlich ist.

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 72 h bei 2–8 °C lagern. Falls Nachtestungen erforderlich sein sollten, können Proben auch bei -20 °C eingefroren werden. Aufgetaute Proben müssen vor der Untersuchung gut gemischt werden.

Probenmaterial

- a) Serum

- b) Die Serumproben können bei 2-8 °C bis zu 3 Tage aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sollten sie aliquotiert und bei -20 °C aufbewahrt werden.
Die Proben sollten nicht eingefroren und wiederholt aufgetaut werden.
Nach dem Auftauen sollten die Proben vor der Verwendung im Assay kurz und vorsichtig vortexen.
Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben können zu falschen Ergebnissen führen.

Testdurchführung

Alle **TOXOREAGENT Komponenten** vor der Verwendung auf **Raumtemperatur** (15-25 °C) bringen.

A. Probenvorbereitung

1. Nur frische Serumproben nach Abzentrifugieren von Blutgerinnseln verwenden. Die Proben können bis 72 h bei 2–8 °C oder für längere Zeit bei -20 °C gelagert werden.
2. Alle Serumproben 1:8 verdünnen (außer pos. Kontrolle, siehe unten); 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. Positive Control

Die Positivkontrolle ist gebrauchsfertig.

C. Durchführung

1. Das Latexreagenz sorgfältig aufschütteln, um die Partikel zu resuspendieren. Schaumbildung vermeiden.
Achtung: Bitte darauf achten, dass die Latexpartikel vollständig in Lösung sind.
2. 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. Alle Vertiefungen der Spalte 9 sind als Kontrolle zu verwenden.
3. 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.
4. 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.
5. Wie unter Punkt 4 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 untenstehenden Diagramm beschrieben.

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.							


Key to Table

- 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

- 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

- 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.
- 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.
- 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).
- 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

- Ein Antikörper-Titer (Serumverdünnungsfaktor) von 1:64 oder höher zeigt Toxoplasma-Antikörper an.
- 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 Nachweisverfahrens

- Der TOXOREAGENT weist IgG- und IgM-Antikörper nach. Der Assay kann nicht zwischen den beiden Immunglobulinklassen unterscheiden.
- 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 Reaktionen wurden bei Patientenproben festgestellt, die positiv auf antinukleäre Antikörper, Zytomegalievirus-IgM-Antikörper oder HBe-Antigene reagierten. Die Ergebnisse eines serologischen Tests sollten immer zusammen mit den klinischen Symptomen und der Krankengeschichte des Patienten betrachtet werden (Lit. 8, 9).
- 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: 1500 mg/dL
- Gelegentlich wird ein Prozon-Effekt bei stark positiven Seren beobachtet. Bitte darauf achten, dass alle Proben vollständig austitriert werden und nicht nur ein Screeningansatz durchgeführt wird.

Leistungsdaten

Sensitivität und Spezifität

In einer Studie mit 147 Humanseren, die semiquantitativ getestet wurden, wurde die Sensitivität von TOXOREAGENT mit 93,8 % und die Spezifität mit 97,1 % angegeben. Positive Ergebnisse werden als $\geq 1:32$ für TOXOREAGENT angenommen.

Die analytische Leistung wurde wie folgt berechnet:

	Formeln	Wert
Sensitivität (Sens)	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	93.81%
Spezifität (Spec)	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	97.06%
Positiv prädiktiver Wert (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	99.07%
Negativ prädiktiver Wert (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	82.50%
Effizienz (Eff)	$\frac{(TP + TN)}{total}$	94.56%
Positive Likelihood Ratio (LR+)	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	31.98
Negative Likelihood Ratio (LR-)	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.06

Assay-Vergleich

In einer Studie mit 141-147 Seren entspricht die Sensitivität und Spezifität von TOXOREAGENT den Leistungsdaten vergleichbarer Assays:

	TOXO-REAGENT	Toxoreagent (EIKEN / Mast Group Ltd.)	MASTA-FLUOR™ Toxoplasma Screen (Mast Diagnostica GmbH)
Art.Nr.		RST 701	631181
Sens	93.81%	95.58%	99.09%
Spec	97.06%	64.71%	83.87%
PPV	99.07%	90.00%	95.61%
NPV	82.50%	81.48%	96.30%
Eff	94.56%	88.44%	95.74%
LR+	31.98	2.71	6.14
LR-	0.06	0.07	0.01

Die Positivität bzw. Negativität der für den oben genannten Vergleich verwendeten Proben wurde durch Enzymimmunoassay-Technologie bestätigt (Lit. 10, 11).

Rückverfolgbarkeit (Traceability) - Qualitätskontrolle und Referenzmaterial

Es wird empfohlen, eine Qualitätskontrolle mit der mitgelieferten Positivkontrolle durchzuführen, um zu überprüfen, ob das Latexreagenz korrekt funktioniert. Die Kontrolle sollte in regelmäßigen Abständen wiederholt werden. Der Antikörpertiter der Positivkontrolle ist in dem dem Kit beigelegten QC-Dokument angegeben. Wenn das Ergebnis der Positivkontrolle außerhalb dieses Bereichs liegt, sollte der Testlauf als ungültig betrachtet werden.

Überprüfen Sie außerdem regelmäßig, ob die Latexreagenzien mit bekannten Referenzserumproben korrekte Ergebnisse liefern. Prüfen Sie auf Anzeichen einer Verschlechterung. Reagenzien nicht verwenden, wenn sie kontaminiert oder trübe sind.

Die im Kit verwendeten Kontrollmaterialien wurden anhand internationaler Standards getestet:

NIBSC 01/600: 1:2048

TOXM: 1:2048

NIBSC 09/B588: 1:1024

Assay-Präzision

Bei der Titration der Positivkontrolle (serielle Verdünnung 1:16 bis 1:2048) wurden 10 Mal verschiedene Chargen gemäß dem Testverfahren getestet, wobei alle Ergebnisse innerhalb von ± 1 Titerstufe lagen.

Prozon-Effekt (High dose hook effect)

Gelegentlich kann bei stark positiven Seren ein Prozoneneffekt beobachtet werden. Um den Prozoneneffekt zu vermeiden, sollten alle Proben gemäß den Anweisungen des Kits titriert werden. Ein Screening wird nicht empfohlen (siehe auch Anwendungsbeschränkungen).

Messbereich

Die positive Kontrolle und die Proben wurden titriert (1:16-1:32768), um das Agglutinationsmuster (negativ bis 3+) zu bestimmen. Anschauliche Bilder finden Sie im Abschnitt "Ablesen und Interpretation der Ergebnisse".

Cut-off

Der Cut-off-Wert ($\geq 1:32$) wurde anhand eines Panels aus 147 positiven und negativen Serumproben festgelegt, die der genannten Sensitivität und Spezifität entsprechen.

Verfügbarkeit des Kurzberichts über Sicherheit und Leistung (Art. 29, IVDR)

Der Bericht wird in der EUDAMED-Datenbank vorliegen (sobald das Modul verfügbar ist). (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>).

Der SSP-Bericht wird auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Referenzen und Änderungshistorie

Die Referenzen und die Änderungshistorie finden Sie am Ende der Gebrauchsanweisung.

TOXOREAGENT

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

Intended Purpose

Semi-quantitative (titratable) agglutination assay for the detection of antibodies directed against *Toxoplasma gondii* in human serum as an aid to diagnosis of immunity against toxoplasmosis (presence of specific antibodies).

The assay is suitable for manual use and is intended for professional *in-vitro* diagnostic use only. All laboratory test results should be interpreted in conjunction with other clinical data. The clinical judgement and further tests have to be taken into account additionally.

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.

Principle of the Test

The Mast Toxoreagent Kit is an agglutination test based on latex particles. These are coated and stabilized with ultrasonically treated *Toxoplasma gondii* antigen (RH strain). The latex reagent is available as a liquid reagent component in the kit ready for use. The sample diluent is used for the dilution of the samples or the positive control. The positive control shows the reactivity of the test. The final titre to be obtained should be taken from the batch specific QC document. The test is performed in microtiter plates with U-bottom, which are not part of the kit. The test result is an agglutination pattern which is interpreted visually or by corresponding reader-controlled evaluation programs. The presence of antibodies directed against *Toxoplasma gondii* antigens leads to agglutination of the latex particles. This positive reaction depends on the concentration of antibodies in the serum sample. With negative results, the particles sediment to a button at the bottom of the microtiter well. The strength of the antibody reaction is determined by serial titration. Starting from the serum dilution of 1:8, the sample is titrated over a further 7 wells. The final agglutination reaction of this sample yields the titre. The maximum titration step to be achieved in this titration is a dilution step of 1:2048.

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 proclin (0.1% v/v) as preservative.
3. **CONTROL+** Positive Control
1 x 0.5 mL, ready to use; contains human serum with anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and proclin (0.1% v/v) as preservative. See titre concentration on QC document supplied in the kit. (potentially infectious, see Warning and Precautions)
4. **DIL** Diluent
1 x 50 mL. Contains proclin (0.1% v/v) as preservative.
5. **Instructions for use**

Further abbreviations

6. **RTU** ready to use

Materials required but not provided

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

Warnings and precautions

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure without prior validation.
- Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques when dealing with specimens of human origin.
- The positive control contains diluted human serum. All sera, plasma and buffers—containing human biological material were found to be negative for Anti-HIV 1 & 2, HIV Ag, Anti-HCV and HBsAg. However, precautions such as the use of gloves must be taken. As the presence of these viruses cannot be completely ruled out, precautions such as the use of personal protective equipment should be undertaken.
- 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. As an infection risk after ingestion, inhalation or embrocation of reagents cannot be excluded entirely, care when handling the reagents is advised.
- The assay is based on latex particles. Latex may cause allergic reactions with skin. Wear gloves, coats, protection glasses etc. to reduce the risk of contact.
- 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.

- The presence of anti-latex antibodies in the patient sample can lead to false positive results. Patients with a known latex allergy should be tested with different methods and all results should be interpreted together with clinical observations.
- Use a separate disposable tip for each sample to prevent cross contamination.
- Reseal 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.
- The assay contains no hazardous substances according to Regulation (EC) 1907/2006. For further safety information see Material Safety Data Sheet, available on request or from the Mast website.

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 72 hours prior to testing. If longer storage is required, store at -20°C. Thawed samples must be mixed well prior to testing.

Sample Material

- c) Serum
- d) The serum samples can be stored at 2-8 °C for up to 3 days. They should be aliquoted and kept at -20 °C for 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

Allow the **TOXOREAGENT** components to equilibrate to **room temperature** (15-25 °C) before use.

A. Sample preparation

1. Use fresh serum samples obtained after blood clot removal by centrifugation. Serum samples may be stored at 2-8 °C for up to 72 hours or frozen for long-term storage.
2. Dilute all samples (except pos. control, see below) 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

The positive control is supplied ready to use

C. Procedure

1. Gently shake the latex reagent to suspend the particles. Avoid frothing.

Note: Make sure that all latex particles are thoroughly resuspended before use (see warnings and precautions).

2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Continue mixing and transferring 25 µL amounts as in step 4 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 → dis- card
f	Add 25 µL latex reagent to all wells.							
	Mix contents of wells.							
	Leave tray at room temperature for at least 12 hours.							
	Read agglutination patterns.							






Key to Table

- 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.

- Add 25 µL of latex reagent to all wells. **Ensure that the latex reagent is fully resuspended before use.**
- 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.
- 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.**
- 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 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

- 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.
- 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.
- 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.

- 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

- An antibody titre (serum dilution factor) of 1:64 or above indicates the presence of toxoplasma antibodies.
- It is suggested that for all positive samples further samples should be taken and monitored every 2 weeks to assess for antibody levels.
- 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.
- 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 immuno globulin classes.
- TOXOREAGENT is useful for the serological diagnosis of toxoplasmosis. Human serum samples with titres of 1:16 are counted as weak positive (borderline level of toxoplasma antibodies) 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 HBe antigens. Results from any serological test should always be considered along with the patient's clinical symptoms and history (Lit. 8, 9).
- 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.
- 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:

Haemoglobin: 560 mg/dL
 Bilirubin: 24 mg/dL
 Triglycerides: 1500 mg/dL

- Occasionally a prozone effect may be observed with strongly positive sera. Please note that to prevent the prozone effect all samples should be fully titrated out. Screening is not recommended.

Performance characteristics

Sensitivity and Specificity

In a study of 147 human sera samples which were tested semi-quantitatively, the sensitivity of TOXOREAGENT was found to be 93.8 % and the specificity was found to be 97.1 %. Positive results taken as $\geq 1:32$ for TOXOREAGENT.

The analytical performance was calculated as follows:

	Formula	Value
Sensitivity (Sens)	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	93.81%
Specificity (Spec)	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	97.06%
Positive predictive value (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	99.07%
Negative predictive value (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	82.50%
Efficiency (Eff)	$\frac{(TP + TN)}{total}$	94.56%
Positive likelihood ratio (LR+)	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	31.98
Negative likelihood ratio (LR-)	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.06

Assay comparison

In a study with 141-147 sera, sensitivity and specificity of TOXOREAGENT is in line with performance data of comparable assays:

	TOXO-REAGENT	Toxoreagent (EIKEN / Mast Group Ltd.)	MASTA-FLUOR™ Toxoplasma Screen (Mast Diagnostica GmbH)
Art.No.		RST 701	631181
Sens	93.81%	95.58%	99.09%
Spec	97.06%	64.71%	83.87%
PPV	99.07%	90.00%	95.61%
NPV	82.50%	81.48%	96.30%
Eff	94.56%	88.44%	95.74%
LR+	31.98	2.71	6.14
LR-	0.06	0.07	0.01

Positivity or negativity of samples used in the above mentioned comparison were confirmed by enzyme immunoassay technology (Lit. 10, 11).

Traceability - Quality control and reference 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

Assay Precision

When positive control titration (serial dilution 1:16 to 1:2048) was tested 10 times from different lots according to the test procedure, all results were found to be within ± 1 titer level.

High dose hook effect (= prozone effect)

Occasionally a prozone effect may be observed with strongly positive sera. To prevent the prozone effect, all samples should be titrated according to kit instruction. Screening is not recommended (see also Limitations of use).

Measuring range

The positive control and samples were titrated (1:16-1:32768) to evaluate agglutination pattern (negative to 3+). Illustrative pictures can be found in section Reading and interpretation of results.

Cut-off

The cut-off ($\geq 1:32$) was defined on a panel consisting of 147 positive and negative sera samples corresponding to the mentioned sensitivity and specificity.

Availability of the summary of safety and performance (Art. 29, IVDR)

The report will be available in the EUDAMED database (as soon as the module is available).

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>.

The SSP report will be provided on request.

Reporting serious incidents

All serious incidents that have occurred in connection with the device must be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and / or patient is established.

References and Change History

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

TOXOREAGENT

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

Objectif visé

Test d'agglutination semi-quantitatif (titrable) pour la détection d'anticorps dirigés contre *Toxoplasma gondii* dans le sérum humain comme aide au diagnostic de l'immunité contre la toxoplasmose (présence d'anticorps spécifiques).

Le test est adapté à une utilisation manuelle et est destiné à un usage professionnel de diagnostic in vitro uniquement. Tous les résultats des tests de laboratoire doivent être interprétés en conjonction avec les autres données cliniques. Le jugement clinique et d'autres tests doivent également être pris en compte.

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.

Principe du test

Le kit Toxoréactif Mast est un test d'agglutination basé sur des particules de latex. Celles-ci sont enrobées et stabilisées avec un antigène *Toxoplasma gondii* (souche RH) traité par ultrasons. Le réactif en latex est disponible sous forme de composant réactif liquide dans le kit prêt à l'emploi. Le diluant de l'échantillon est utilisé pour la dilution des échantillons ou du contrôle positif. Le contrôle positif montre la réactivité du test. Le titre final à obtenir doit être tiré du document CQ spécifique au lot. Le test est réalisé dans des plaques de microtitration à fond en U, qui ne font pas partie du kit. Le résultat du test est un motif d'agglutination qui est interprété visuellement ou par des programmes d'évaluation correspondants contrôlés par le lecteur. La présence d'anticorps dirigés contre les antigènes de *Toxoplasma gondii* entraîne l'agglutination des particules de latex. Cette réaction positive dépend de la concentration d'anticorps dans l'échantillon de sérum. En cas de réaction négative, les particules sédimentent en bouton au fond du puits de microtitration. La force de la réaction des anticorps est déterminée par un titrage en série. En partant d'une dilution de sérum de 1:8, l'échantillon est titré sur 7 autres puits. La réaction d'agglutination finale de cet échantillon donne le titre. Le pas de titrage maximal à atteindre dans ce titrage est un pas de dilution de 1:2048.

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% v/v 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% v/v de Proclin comme conservateur. (potentiellement infectieux, voir Avertissement et précautions)

3. **DIL** Diluant

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

4. Notice d'utilisation

Autres abréviations

1. **RTU** Prêt à l'emploi

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.

Précautions d'emploi

- Pour un usage de diagnostic in vitro uniquement.
- Lire soigneusement la notice d'utilisation avant de commencer le test. Ne pas modifier la procédure sans validation préalable.
- Respecter les précautions approuvées en matière de risques biologiques et les techniques aseptiques lors de la manipulation de spécimens d'origine humaine.
- Le contrôle positif contient du sérum humain dilué. Tous les sérums, plasma et tampons contenant du matériel biologique humain se sont révélés négatifs pour les anti-VIH 1 et 2, l'Ag VIH, l'Anti-VHC et l'Ag HBs. Cependant, des précautions telles que l'utilisation de gants doivent être prises. Comme la présence de ces virus ne peut être totalement exclue, des précautions telles que l'utilisation d'un équipement de protection individuelle doivent être prises.
- Stérilisez tous les déchets à risque biologique avant de les éliminer.
- Les tests d'agglutination sont sensibles aux effets de la chaleur, de la lumière directe du soleil et des vibrations. Tenir à l'écart de ces sources pendant les périodes d'incubation des tests.
- Certains composants du kit contiennent de l'albumine de sérum bovin. Comme un risque d'infection après ingestion, inhalation ou embrocation des réactifs ne peut être totalement exclu, il est conseillé de faire attention lors de la manipulation des réactifs.
- Le test est basé sur des particules de latex. Le latex peut provoquer des réactions allergiques avec la

peau. Portez des gants, un manteau, des lunettes de protection, etc. pour réduire le risque de contact.

- Les particules de latex doivent être soigneusement remises en suspension avant utilisation. En cas de réactif Latex insuffisamment resuspendu, les réactions peuvent être difficiles à lire en raison de la taille des boutons de latex.
- La présence d'anticorps anti-latex dans l'échantillon du patient peut entraîner des résultats faussement positifs. Les patients présentant une allergie connue au latex doivent être testés avec des méthodes différentes et tous les résultats doivent être interprétés conjointement avec les observations cliniques.
- Utilisez un embout jetable distinct pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée.
- Refermez les bouchons de tous les réactifs immédiatement après utilisation.
- N'utilisez pas de composants du kit endommagés ou contaminés.
- Les composants du kit sont appariés et ne doivent pas être interchangés entre les lots.
- Le test ne contient aucune substance dangereuse selon le Règlement (CE) 1907/2006. Pour plus d'informations sur la sécurité, voir la fiche de données de sécurité, disponible sur demande ou sur le site Internet de Mast.

Stabilité et stockage

- Conserver le produit non ouvert à 2-8 °C en position verticale jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de l'emballage.
- Une fois ouverts, le réactif latex et le diluant doivent être conservés à 2-8 °C avec les couvercles bien fermés et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Le contrôle positif doit être conservé à 2-8 °C avec le couvercle bien fermé et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- Les échantillons de sérum peuvent être conservés à 2-8 °C jusqu'à 72 heures avant le test. Si une conservation plus longue est nécessaire, conservez-les à -20°C. Les échantillons décongelés doivent être bien mélangés avant le test.

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

Laissez les composants du TOXOREAGENT s'équilibrer à température ambiante (15-25 °C) avant de les utiliser.

A. Préparation des échantillons.

1. Utiliser des sérums frais obtenus par centrifugation de sang coagulé. Les sérums doivent être stockés à 2-8 °C pendant 72 heures au maximum ou congeler à -20 °C pour un stockage prolongé.
2. Diluer tous les échantillons (sauf le contrôle postérieur, voir ci-dessous) 1:8 en ajoutant 50 µL d'échantillon de sérum dans un petit tube, puis 350 µL de diluant. Bien mélanger avant l'utilisation. L'inactivation thermique des échantillons n'est pas nécessaire avant le test.

B. Préparation du contrôle positif

Le contrôle positif est fourni prêt à l'emploi.

C. Procédure

1. 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.

2. 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
3. Pipetter 25 µL de diluant dans chacun des puits 1 à 8 (rangée 1) d'une plaque de microtitration à fond en U à l'aide d'une micropipette. Répéter cette procédure pour chaque échantillon de sérum à tester. Tous les puits de la colonne 9 doivent être utilisés comme contrôle.
4. Mélanger le contenu de tous les puits de la colonne 1 en les pipetant de haut en bas à plusieurs reprises. Pipetter ensuite 25 µL de ce mélange dans les puits correspondants de la colonne 2.
5. Continuer jusqu'à la colonne 8 comme indiqué au point 4 et transférer 25 µL de chaque puits dans le puits suivant. Enfin, éliminer 25 µL des puits de la colonne 8. Il en résulte des dilutions de 1:16 dans la colonne 1 à 1:2048 dans la colonne 8, comme décrit dans le diagramme ci-dessous.
6. Ajouter 25 µL particules de latex dans tous les puits. Vérifiez que le latex est bien homogène avant utilisation.
7. 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.






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 → élimi- ner
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
8. 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.
9. 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

- 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.
- 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.
- Un titre inférieur à 1:16 indique l'absence de titre significatif pour la toxoplasmose.
- 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

- Un titre en anticorps (facteur de dilution du sérum) de 1:64 ou plus indique la présence d'anticorps anti-toxoplasme.
- Les échantillons positifs doivent être contrôlés toutes les deux semaines pour leur titre d'anticorps.
- 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.
- 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 (Lit. 8, 9).
- 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: 1500 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.

Caractéristiques de performance

Sensibilité et spécificité

Dans une étude portant sur 147 échantillons de sérum humain qui ont été testés de manière semi-quantitative, la sensibilité de TOXOREAGENT s'est avérée être de 93,8 % et la spécificité de 97,1 %. Les résultats positifs ont été considérés comme $\geq 1:32$ pour TOXOREAGENT.

La performance analytique a été calculée comme suit :

	Formules	Valeur
Sensitivité (Sens)	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	93.81%
Spécificité (Spec)	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	97.06%
Valeur prédictive positive (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	99.07%
Valeur prédictive négative (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	82.50%
Efficacité (Eff)	$\frac{(TP + TN)}{total}$	94.56%

Rapport de vraisemblance positif (LR+)	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	31.98
Rapport de vraisemblance négatif (LR-)	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.06

Comparaison des tests

Dans une étude portant sur 141-147 sérums, la sensibilité et la spécificité de TOXOREAGENT sont conformes aux données de performance de tests comparables:

	TOXO-REAGENT	Toxoreagent (EIKEN / Mast Group Ltd.)	MASTA-FLUOR™ Toxoplasma Screen (Mast Diagnostica GmbH)
Art.No.		RST 701	631181
Sens	93.81%	95.58%	99.09%
Spec	97.06%	64.71%	83.87%
PPV	99.07%	90.00%	95.61%
NPV	82.50%	81.48%	96.30%
Eff	94.56%	88.44%	95.74%
LR+	31.98	2.71	6.14
LR-	0.06	0.07	0.01

La positivité ou la négativité des échantillons utilisés dans la comparaison mentionnée ci-dessus ont été confirmées par la technologie des tests immunoenzymatiques (Lit. 10, 11).

Traçabilité - Contrôle de qualité et matériau de référence

Il est recommandé d'effectuer un contrôle de qualité avec le contrôle positif fourni pour vérifier que le réactif latex fonctionne correctement, et de le répéter à intervalles réguliers. Le titre d'anticorps du contrôle positif est indiqué dans le document de contrôle de qualité fourni avec le kit. Si le résultat du contrôle positif se situe en dehors de cette plage, le test doit être considéré comme invalide.

Vérifiez également périodiquement que les réactifs en latex donnent des résultats corrects avec des échantillons de sérum de référence connus. Vérifiez l'absence de signes de détérioration. Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont contaminés ou troubles.

Les matériaux de contrôle utilisés dans le kit ont été testés par rapport aux normes internationales :

NIBSC 01/600 : 1:2048

TOXM : 1:2048

NIBSC 09/B588 : 1:1024

Précision du test

Lorsque le titrage du contrôle positif (dilution en série de 1:16 à 1:2048) a été testé 10 fois à partir de différents lots selon la procédure de test, tous les résultats se sont révélés être à ± 1 niveau de titre.

Effet prozone (High dose hook effect)

Occasionnellement, un effet prozone peut être observé avec des sérums fortement positifs. Pour éviter l'effet prozone, tous les échantillons doivent être titrés conformément aux instructions du kit. Le dépistage n'est pas recommandé (voir aussi Limites d'utilisation).

Plage de mesure

Le contrôle positif et les échantillons ont été titrés (1:16-1:32768) pour évaluer le schéma d'agglutination (négatif à 3+). Des illustrations sont disponibles dans la section Lecture et interprétation des résultats.

Cut-off

Le seuil ($\geq 1:32$) a été défini sur un panel composé de 147 échantillons de sérums positifs et négatifs correspondant à la sensibilité et à la spécificité mentionnées.

Disponibilité du résumé de la sécurité et des performances (Art. 29, IVDR)

Le rapport sera disponible dans la base de données EUDAMED (dès que le module sera disponible). (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>).

Le rapport SSP sera fourni sur demande.

Déclaration des incidents graves

Tous les incidents graves survenus en rapport avec le dispositif doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Références et historique des modifications

Vous trouverez les références et l'historique des modifications à la fin du 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/Toxoplasmosis/Toxoplasmosis.html>
7. <http://www.bfr.bund.de/en/toxoplasms-54399.html> BgVV-Hefte^{SEP} Herausgegeben von M. Hartung, Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 2001, 249 – 251
8. Balfour AH, Prestage ES, Noel I. False positive results in the Toxoreagent test for *Toxoplasma gondii* in immunocompetent patients, J. Clin. Pathol. 1988; 35 (1): 1135-1136.
9. Holliman RE, Johnson J, Duffy K, New L; Discrepant toxoplasma latex agglutination test results, J. Clin. Pathol. 1989; 42: 200-203.
10. Liu Q, Wang Z-D, Huang S-Y, Zhu X-Q; Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*, Parasites & Vectors 2015; 8 (292): 13071-015.
11. Ybañez D, Ybañez A P and Nishikawa Y; Review on the Current Trends of Toxoplasmosis Serodiagnosis in Humans, Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020; 10 :204.

Change history includes changes to significant aspects of the assay / IFU.

Chapter	Description of change
Cover page	Addition of the UDI-DI.
Principle of the Test	Description included.
Materials required but not provided	Included.
Warnings and precautions	Addition of a warning that anti-latex antibodies could lead to false positive results. A note inserted that the instructions for use must be read carefully.
Test procedure	Changing the order of the sections in the IFU. The information that the reagents must be brought to RT before use has been moved directly under the test procedure. Multiple mention that the positive control is ready to use, for better understanding.
Limitations of use	Literature reference have been added. Triglyceride concentration updated.
Performance Characteristics	Addition of the sections Assay comparison, Precision, Measuring range, High hose hook effect, Clinical performance. Update of the sections Analytical sensitivity and specificity / cut-off (number of samples, abbreviations, formula, values, cut-off level). Update of the section Interference / Cross-reactions (concentration of triglycerides). A new section Availability of the summary of safety and performance (Art. 29) was added. A new section Reporting serious incidents was added.
References	Addition of four references.

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0

Fax: +49 (0)4533 2007 68

email: mast@mast-diagnostics.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

MD V.2.0

2022-11-16