

MASTAFLUOR™ Toxoplasma

MASTAFLUOR™ Toxoplasma Screen	REF 631182 UDI-DI 4250729700095	10 x 10 Tests
MASTAFLUOR™ Toxoplasma IgG	REF 631184 UDI-DI 4250729700118	10 x 10 Tests

**Gebrauchsanweisung /
Instructions for Use /
Notice d'utilisation**

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



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

MASTAFLUOR™ Toxoplasma

Immunfluoreszenztest zum Nachweis von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* in humanem Serum.

Verwendungszweck

Semiquantitativer (titrierbarer) Immunfluoreszenz-Assay zum Nachweis von IgG-Antikörpern (und zusätzlich IgM-Antikörpern mit dem Screen-Assay) gegen *Toxoplasma gondii*-Tachyzoiten in humanem Serum als Hilfsmittel zur Diagnose der Immunität gegen Toxoplasmose (Vorhandensein von spezifischen Antikörpern).

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

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.

Testprinzip

Das verdünnte Probenmaterial sowie die negativen und positiven Kontrollen werden auf die Wells des Objektträgers pipettiert und inkubiert. Die Wells sind mit gereinigten Erregerantigenen beschichtet. Sofern spezifische Antikörper im Probenmaterial sind, binden diese an die Erregerantigene auf den Wells und bilden mit diesen einen stabilen Antigen-Antikörper-Komplex. Unspezifisch oder nicht gebundene Antikörper werden in einem Waschschrift entfernt. An die spezifischen Komplexe binden dann in einer Konjugatreaktion FITC-gekoppelte Anti-human-IgG-, -IgM- oder -IgA-Antikörper. Anschließend wird nicht gebundenes Konjugat durch einen Waschschrift entfernt. Im Fluoreszenzmikroskop werden die Wells ausgewertet. Liegen Antikörper im Probenmaterial vor, fluoreszieren die immunreaktiven Bereiche des Antigens.

Packungsinhalt

- | | | | |
|----|------------------------|---|---------------|
| 1. | SLIDE | Objektträger | 10 x 10 Wells |
| | | beschichtet mit <i>Toxoplasma gondii</i> | |
| 2. | CONTROL+ | Positivkontrolle | 0,5 mL |
| | | IgG-positives Serum, human, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN ₃ | |
| 3. | CONTROL- | Negativkontrolle | 0,5 mL |
| | | IgG- und IgM-negatives Serum, human, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN ₃ | |
| 4. | CONJG | FITC-Konjugat IgG | 3 mL |
| | | FITC-markiertes Anti-human-IgG (γ-Kette), gebrauchsfertig, enthält < 0,1% NaN ₃ | |
| | | oder | |
| | CONJ POLY | FITC-Konjugat Screen | 3 mL |
| | | FITC-markiertes Anti-human-IgG/-IgM/-IgA, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN ₃ | |
| 5. | DIL 5x | Diluent | 2 x 10 mL |
| | | 5-fach konzentriert; vor Gebrauch 1:5 verdünnen. | |
| 6. | EVANS BLUE | Evans Blue | 3 mL |
| | | gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN ₃ | |
| 7. | MOUNTING MEDIUM | Eindeckmedium | 3 mL |
| | | gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN ₃ | |
| 8. | BUFFER | PBS | 2 Päckchen |
| | | Je 1 Sachtet in 1 L destilliertem Wasser lösen, pH 7,2 ± 0,2 | |

Weitere verwendete Abkürzungen

- RTU** gebrauchsfertig

Zusätzlich benötigte Materialien

- Sterile Reaktionsgefäße.
- Mikropipetten und dazu passende Spitzen.
- Küvetten.
- Feuchte Kammer.
- Messkolben oder Messbecher.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
- Pinzette.
- Deckgläser.
- Spritzflasche (Wasch- bzw. Pufferflasche).
- Fluoreszenzmikroskop mit einer FITC-geeigneten Filterkombination (z.B 490 nm Anregungsfilter und 510 nm Sperrfilter).

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Das Kit dient nur zu *in-vitro*-Diagnostik.
2. Vor der Testdurchführung sorgfältig die Gebrauchsanweisung lesen. Die Testdurchführung nicht ohne Validierung modifizieren.
3. Keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum verwenden.
4. Die allgemeinen Arbeitsschutzrichtlinien für das Arbeiten mit potentiell infektiösen Materialien einhalten. Es wird empfohlen, entsprechende Schutzkleidung zu tragen. Den Test immer in geeigneten Laborräumen abarbeiten.
5. Nicht mit dem Mund pipettieren.
6. Wenn möglich, sollten Einmalspitzen und Einmalreaktionsgefäße verwendet werden. Es dürfen nur gereinigte Laborgläser verwendet werden, die nach dem Spülen mit demineralisiertem oder destilliertem Wasser frei von Detergenzien sind.
7. Die im Kit enthaltenen Kontrollen/Kalibratoren sind Humanproben. Sie wurden auf Antikörper gegen HIV, HCV und HBsAg getestet und für negativ befundet. Dennoch sollten alle menschlichen Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Infektionen durch infektiöses oder mikrobiell kontaminiertes Material können nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.
8. Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen mischen, da diese in jeder Charge aufeinander abgestimmt sind.
9. Eine Kontamination der Reagenzien vermeiden; die Flaschen immer wieder mit den richtigen Deckeln verschließen. Zum Pipettieren immer eine neue Pipettenspitze für jeden Arbeitsschritt verwenden.
10. Ein Austrocknen der Wells verhindern.
11. Die Objektträger nicht direktem Sonnenlicht oder anderen vergleichbar extremen Bedingungen aussetzen.
12. Probenmaterialien und Einmalartikel, die mit dem Probenmaterial in Kontakt gekommen sind, entsprechend gängiger Vorschriften zur Entsorgung potentiell infektiösen Materials vernichten. Arbeitsflächen mit einem geeigneten Flächendesinfektionsmittel gemäß der Anwendungsvorschrift dekontaminieren. Glasgefäße o. ä. können bei 121 °C autoklaviert werden.
13. FITC-Konjugate sollen nicht dem Sonnen-, UV- oder Fluoreszenzlicht ausgesetzt werden. Sofern die Konjugate nicht benötigt werden, diese lichtgeschützt aufbewahren.
14. Proben, die erkenntlich mikrobiologisch kontaminiert sind, nicht verwenden.
15. Keine hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Proben verwenden.
16. Natriumazid wird als Konservierungsmittel verwendet und kann bei Aufnahme zu Vergiftung führen. Natriumazid kann mit Metallverbindungen (Kupfer, Blei) explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung von Azidreagenzien über den Laborabfluss, daher mit viel Wasser nachspülen.

Lagerung und Stabilität

Der MASTAFLUOR™ Toxoplasma kann ab Herstellung bis zu dem auf der Packung genannten Haltbarkeitsdatum verwendet werden, wenn er bei 2–8 °C aufbewahrt wird. Vor Gebrauch sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu bringen.

Nach dem Öffnen sind die Reagenzien 3 Monate haltbar. Ein geöffneter Objektträger sollte innerhalb des Arbeitstages verbraucht werden.

Der PBS-Puffer ist nach dem Auflösen 30 Tage stabil, wenn er bei 2–8 °C aufbewahrt wird.

Zur Haltbarkeit von Proben (Serum) gelten die allgemeinen Fachempfehlungen zur Aufbewahrung. In der Regel können Proben bis zu 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung sollten sie bei -20 °C eingefroren werden. Allerdings sollten wiederholte Einfrier-/ Auftauzyklen vermieden werden.

Probenmaterial

- a) Serum
- b) Die Proben können 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung Proben sofort nach Entnahme 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

1. Vor dem Testansatz alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (mindestens 20 °C).
2. 1 Sachet des PBS-Puffers mit 1 L destilliertem oder deionisiertem Wasser lösen.
Es wird empfohlen, zur Verdünnung der Proben das im Kit mitgelieferte Diluent zu verwenden. Vor Gebrauch muss das Diluent 1:5 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnt werden (z.B. 10 mL Diluent + 40 mL Wasser).
3. Verdünnung der Patientenseren mit Diluent oder PBS
IgG-Ansatz: 1:64
z. B. 10 µL Serum + 630 µL Diluent oder PBS
Screen-Ansatz: 1:64
z. B. 10 µL Serum + 630 µL Diluent oder PBS
4. Die Kit-Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht wie das Probenmaterial weiter verdünnt werden.
5. Den eingeschweißten Objektträger aus dem Alubeutel herausnehmen. Darauf achten, nicht die Wells zu berühren.
6. Je 20–25 µL der gebrauchsfertigen Kontrollen und der verdünnten Patientenproben auf ein Well pipettieren. Die Probe soll das ganze Well bedecken. Mit der Pipettenspitze dabei nicht über das Well kratzen.

- Die Objektträger in eine feuchte Kammer legen und bei Raumtemperatur inkubieren

IgG-Ansätze 30 min

Screen-Ansätze 30 min

- Nach der Inkubation die Objektträger sorgfältig mit PBS aus einer Waschflasche waschen, wobei darauf zu achten ist, dass der Strahl nicht auf die Testfelder gerichtet wird. Hierzu kann der Strahl des PBS entlang der Mitte des Objektträgers gerichtet sein, wobei der Objektträger zuerst in Richtung der Vertiefungen 1-5 und dann in Richtung 6-10 gekippt wird.
- Die Objektträger in einer Küvette mit PBS 15 min bei Raumtemperatur waschen. Ein Wechseln des Puffers nach 5 min erhöht die Waschstringenz.
- Die Objektträger aus dem Puffer nehmen und den Puffer kurz von der Maske abklopfen, indem man mit der Längsseite des Objektträgers auf eine saugfähige Unterlage klofft. Nie mit einem Papiertuch o.ä. über die Wells wischen!
- Die Objektträger sofort in die feuchte Kammer legen und einen Tropfen des entsprechenden FITC-Konjugats (20–25 µL) auf jedes Well tropfen. Das Konjugat soll das ganze Well bedecken. Die Wells dürfen nach dem Waschschrift zu keinem Zeitpunkt eintrocknen!
- Die Objektträger in der feuchten Kammer 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
- Nach der Konjugatinkubation die Objektträger wie unter den Pkt. 9 und 10 beschrieben waschen.
Es wird empfohlen, dem letzten Waschschrift 3–5 Tropfen Evans Blue zur Gegenfärbung zuzugeben. Die Gegenfärbung kann die Differenzierung zwischen positiven und negativen Proben erleichtern.
Nach der Evans Blue Färbung die Objektträger kurz in eine Küvette mit frischem PBS tauchen, um Reste des Evans Blue abzuspülen.
- Einen kleinen Tropfen Eindeckmedium auf jedes Well tropfen und mit einem Deckglas den Objektträger luftblasenfrei eindecken.
Hinweis: Wird zu viel Eindeckmedium auf die Wells getropft, so kann das Deckglas beim Mikroskopieren leicht verrutschen. Dieses mit einem saugfähigen Papiertuch entfernen. Zudem kann überschüssiges Eindeckmedium zu einer Lichtstreuung führen, was eine hohe Hintergrundfluoreszenz zur Folge hat.
- Die Reaktionen können nun mit einem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet werden. Es empfiehlt sich dabei eine 400- bis 800-fache Vergrößerung.

Auswertung und Interpretation

Die Kontrollen müssen den Reaktionen auf dem chargenspezifischen QC-Zertifikat entsprechen. Die Angaben in der Tabelle dienen der Orientierung und reflektieren nicht die jeweils aktuelle Charge.

Probe	Erwartetes Ergebnis
Positivkontrolle	3 + bis 4 +
Negativkontrolle	negativ

Zur korrekten Beurteilung der Patientenproben sollten immer die Positiv- und Negativkontrolle mit herangezogen werden.

Sollen die Proben oder die Kontrollen zur Titerbestimmung weiter verdünnt werden, so können, ausgehend vom Suchtiter, seriell weitere Verdünnungsstufen mit Diluent oder PBS hergestellt werden.

Interpretation der Patientenreaktionen

IgG-/ Screen-positive Reaktion: Positive Seren zeigen eine homogene grüne Fluoreszenz der Cytoplasmamembran der *Toxoplasma gondii* Tachyzoiten. Auch das Cytoplasma darf fluoreszieren, allerdings nur zusammen mit der Cytoplasmamembran. Eine cytoplasmatische Fluoreszenz allein gilt nicht als positiv.

Negative Reaktion: Die Toxoplasmamembranen zeigen keine Fluoreszenz. Eine ausschließliche Cytoplasmfluoreszenz gilt als negativ.

Als positive Reaktion gelten

IgG-AK $\geq 1:64$

Screen $\geq 1:64$

Für die Bewertung der Ergebnisse wird auf Empfehlungen zur Befundinterpretation der (inter-) nationalen Referenzinstitute verwiesen (z. B. www.rki.de).

Grenzen des Nachweisverfahren / Kreuzreaktionen

- Autoantikörper (ANA-Typ) können zu einer Cytoplasmareaktion von *Toxoplasma gondii* führen.
- Der MASTAFLUOR™ Toxoplasma ist hoch-sensitiv und hoch-spezifisch. Dennoch sollte dieser Test, wie auch jeder andere Labortest, nicht allein zur Festlegung der Diagnose verwendet werden, sondern immer in Verbindung mit anderen Testverfahren, der Anamnese und dem klinischen Bild des Patienten.

Leistungsdaten

Für die Bestimmung der Leistungsdaten wurde ein Panel aus klinisch positiv und negativ bewerteten Proben ausgewählt.

Der MASTAFLUOR™ Toxoplasma erzielte in diesem Panel folgende Ergebnisse:

	IgG	Screen
Sensitivität	90,57 %	95,61 %
Spezifität	94,12 %	94,87 %
Positiver prädiktiver Wert	97,96 %	98,20 %
Negativer prädiktiver Wert	76,19 %	88,10 %
Effizienz	91,43 %	95,42 %

Die Inter- und Intra-Assay Varianz zeigt bei diesem Test keine Unterschiede in der Fluoreszenzintensität der Kontrollen.

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>) verfügbar sein.

Der SSP-Bericht wird auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

Meldung von schwerwiegenden Vorkommnissen

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.

MASTAFLUOR™ Toxoplasma

Immunofluorescence assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human serum.

Intended Purpose

Semi-quantitative (titratable) immunofluorescence assay for the detection of IgG antibodies (and additionally IgM antibodies using the Screen assay) directed against *Toxoplasma gondii* tachyzoites 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.

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. 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

Diluted specimens, the negative and positive controls are applied to the wells of microscope slides and incubated. All wells are coated with purified antigens of the very pathogen. If specific antibodies are present in the serum they will bind to the fixed pathogen antigens forming a stable antigen-antibody complex. Slides are then washed to remove any unbound material. Complexed antibodies are detected by the addition of a fluorescence labelled anti-human IgG, IgM, or IgA immunoglobulin conjugate. After a further washing step to remove any unbound conjugate, slides are viewed under a fluorescence microscope.

A green fluorescence is observed if pathogen specific antibodies are present in the sample material.

Kit Contents

1.	SLIDE Slides	10 x 10 Wells
	coated with <i>Toxoplasma gondii</i>	
2.	CONTROL+ Positive Control	0,5 mL
	IgG positive serum, human, ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
3.	CONTROL- Negative Control	0,5 mL
	IgG and IgM negative serum, human, ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
4.	CONJ G FITC-conjugate IgG	3 mL
	FITC-labelled anti-human IgG (γ-chain) ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
	or	
	CONJ POLY FITC-conjugate Screen	3 mL
	FITC-labelled anti-human IgG/IgM/IgA ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
5.	DIL 5x Diluent	2 x 10 mL
	5 x concentrated, to be diluted 1:5 before use	
6.	EVANS BLUE Evans Blue	3 mL
	ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
7.	MOUNTING MEDIUM Mounting Medium	3 mL
	ready-to-use, contains < 0,1 % NaN ₃	
8.	BUFFER PBS	2 Sachets
	Dissolve 1 sachet in 1 L distilled water, pH 7,2 ± 0,2	

Further Abbreviations

- RTU** ready to use

Materials Required but not Provided

- Sterile test tubes.
- Micropipettes and tips.
- Staining dish or Coplin jar.
- Moist chamber.
- Volumetric flask for PBS.
- Distilled or deionised water.
- Forceps.
- Cover slips.
- Wash bottle.
- Fluorescence microscope with a filter combination suitable for FITC (e.g. 490 nm excitation filter and a 510nm barrier filter).

Warning and Precautions

1. The reagents supplied in this kit are for *in vitro* diagnostic use only.
2. Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure without prior validation.
3. Do not use reagents beyond the expiry date.
4. Comply with the general health and safety guidelines for working with potentially infectious materials. Wear appropriate protective clothing and use appropriate lab facilities.
5. Do not mouth pipette.
6. Use disposable plasticware where ever possible. Re-usable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
7. The control/calibrator materials of human origin provided have been tested for antibodies to HIV, HCV and for HBsAg and found to be negative. However, they should be treated as potentially infectious materials and capable of transmitting diseases. No guarantee is given that the samples are free of infections or microbial contamination.
8. Do not mix reagents between different lots, as reagents have been calibrated for each batch.
9. Do not cross-contaminate reagents or interchange caps on bottles. Use a separate pipette or pipette tips for each sample and reagent.
10. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
11. Do not expose slides to intense sunlight or similar adverse conditions while incubating.
12. Samples and contaminated disposables should be disposed according to relevant disposal directives and regulations for infectious materials. For the decontamination of surfaces use suitable surface disinfectants. Contaminated glassware should be autoclaved at 121 °C.
13. Do not expose the FITC-conjugate at any stage to strong sunlight, UV or fluorescent light. Keep in a dark place whenever possible.
14. Microbial contaminated samples should not be used.
15. Do not use haemolysed, lipaemic or icteric serum.
16. Sodium azide is used as a preservative as marked. It may be toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive salts. Always dispose of by flushing to drain with plenty of water.

Stability and Storage

MASTAFLUOR™ Toxoplasma can be used until the end of expiry date as indicated on kit label. All kits components and reagents should be stored at 2–8 °C and brought to room temperature before use.

After first opening reagents are stable for at least 3 months. An opened slide shall be used the same day.

Reconstituted PBS powder should be stored at 2–8 °C for up to 30 days.

Samples (serum) may be stored according to general recommendation in literature. In general samples can be kept at 2–8 °C for up to 3 days prior to use or for longer storage at -20 °C. Repeated freezing and thawing of specimens should be avoided.

Sample Material

- a) Serum
- b) Samples can be stored at 2–8 °C for up to 3 days. Serum should be aliquoted immediately after sampling 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.
Lipaemic, haemolytic, icteric or bacterially contaminated samples can cause false positive or false negative results.

Test Procedure

1. Allow all materials to reach room temperature (at least 20 °C) prior to use.
2. Reconstitute one sachet of PBS powder with 1 litre of distilled water or deionised water.
It is recommended to use the diluent to prepare the sample dilutions. Dilute the 5x concentrated diluent 1:5 with distilled or deionised water (e.g. 10 mL of diluent + 40 mL of water).
3. Dilute all serum specimens with diluent or PBS buffer as indicated below:
IgG assays: 1:64
e.g. 10 µL serum + 630 µL diluent or PBS
Screen assays: 1:64
e.g. 10 µL serum + 630 µL diluent or PBS
4. All kit controls are ready-to-use and should not be diluted like specimen.
5. Carefully remove the slides from the pouch. Do not touch wells.
6. Apply 20–25 µL of ready-to-use controls and diluted specimens to respective wells on the slides. Ensure that all the wells are covered. Do not scratch the surface of the wells.
7. Add slides to a moist chamber and incubate at room temperature
IgG assays 30 min
Screen assays 30 min
8. After incubation wash slides carefully with PBS from a wash bottle, taking care not to direct the jet onto the test wells. This may be done by directing the jet of PBS along the center of the slide, tilting the slide first towards wells 1–5 and then towards 6–10.
9. Immerse the slides in a staining dish or Coplin jar containing PBS and wash for 15 min at room temperature with a change of PBS after 5 min to increase washing strength.
10. Remove slides from the staining jar and drain off any excess buffer. Using a blotter, dry the area outside wells. Do not touch the well surface.

11. Immediately transfer the slide to a moist chamber and add 20–25 µL of the respective FITC-conjugate to each well. The conjugate shall cover the whole well. Do not allow the wells to dry.
12. Incubate slides at room temperature in a covered moist chamber in the dark for 30 min.
13. After incubation wash the slides with PBS as in steps 9 and 10.

Optionally: Add 3 to 5 drops of Evans Blue for counterstaining to the last wash step. Counterstaining may improve differentiation between negative and positive reactions.

After the Evans Blue counterstain dip the slide in fresh PBS to remove excess Evans Blue.

14. Apply one small drop of Mounting Medium to each well on a slide. Place a cover slip on the slide and read the results immediately. Take care not to trap air pockets under the cover slip.

Note: Remove excess Mounting Medium with a paper towel avoiding any direct movement of the cover slip.

Excess Mounting Medium on a slide may result in high background fluorescence due to light scattering.

15. Examine reactions under a fluorescence microscope at a total magnification of 400x or at 800x.

Interpretation of Results

Controls have to fit the lot specific reactions stated in the QC certificate. The figures in the table below are for orientation only and do not reflect the data of the current lot.

Specimen	Expected Results
Positive control	3 + bis 4 +
Negative Control	negative

For a correct interpretation the results should be compared with positive and negative controls.

If further dilution on the samples or controls are requested on the basis of the screening titer, this can be achieved by serial dilution with diluent or PBS on screening titer.

Interpretation of Specimen Results

IgG and Screen Positive Samples: Positive sera show a homogenous green fluorescence of the cytoplasmic membrane of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. Cytoplasm may show green staining or even fluorescence together with the cytoplasmic membrane. Cytoplasmic reactions alone must be read as negative.

Negative Samples: The *Toxoplasma* membrane does not show any fluorescence. Fluorescence of cytoplasm only is considered as negative.

Results are defined as positive:

IgG antibody: ≥ 1:64

Screen / polyvalent: ≥ 1:64

For result interpretation recommendations of (inter-) national reference centers should be followed (e.g. www.rki.de).

Limitations / Interferences

1. Autoantibodies (ANA type) may lead to cytoplasmic fluorescence of *Toxoplasma gondii*.
2. The MASTAFLUOR™ *Toxoplasma* test has been demonstrated to be highly sensitive and specific. Like for other lab based assays final diagnosis shall not be made on this assay alone, always interpret the data in connection with the patient's medical history and the clinical picture.

Performance characteristics

A panel of clinically positive and negatively evaluated samples was selected to determine the performance data.

The MASTAFLUOR™ *Toxoplasma* obtained the following results in this panel:

	IgG	Screen
Sensitivity	90,57 %	95,61 %
Specificity	94,12 %	94,87 %
Positive predictive value	97,96 %	98,20 %
Negative predictive value	76,19 %	88,10 %
Efficiency	91,43 %	95,42 %

No differences in intra-assay and inter-assay variance was found.

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.

MASTAFUOR™ Toxoplasma

Test d'immunofluorescence pour la détection des anticorps *Toxoplasma gondii* dans le sérum humain.

Objectif

Test d'immunofluorescence semi-quantitatif (titrable) pour la détection des anticorps IgG (et en plus des anticorps IgM en utilisant le test Screen) dirigés contre les tachyzoïtes de *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 d'autres données cliniques. Le jugement clinique et les tests complémentaires doivent être pris en compte en plus.

Note importante sur la notice d'utilisation

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. Veuillez à ce que la dernière version de la NU soit utilisée avant d'effectuer le test.

Principe du test

Les échantillons dilués et les contrôles négatifs et positifs sont déposés à la pipette sur les puits de la lame et incubés. Tous les puits sont recouverts d'antigènes purifiés du pathogène. Si les anticorps spécifiques sont présents dans le sérum, ils se lieront aux antigènes pathogènes fixés formant un complexe antigène-anticorps stable. Le rinçage des lames permet d'éliminer tout matériel non spécifique ou non lié. Après rinçage des lames, les complexes sont mis en évidence par l'ajout du conjugué fluorescent IgG, IgM, ou IgA anti-humain. Un autre rinçage permet d'éliminer le conjugué en excès. Après lavage les lames sont observées sous un microscope à fluorescence. Une fluorescence verte est observée si les anticorps spécifiques contre le pathogène sont présents dans l'échantillon.

Contenu du kit

- | | | | |
|----|------------------------|---|---------------|
| 1. | SLIDE | Lames recouvertes par <i>Toxoplasma gondii</i> | 10 x 10 Puits |
| 2. | CONTROL+ | Contrôle positif
Sérum positif IgG, humain, prêt à l'emploi, moins de 0,1 % de NaN ₃ | 0,5 mL |
| 3. | CONTROL- | Contrôle négatif
Sérum négatif IgG et IgM, humain, prêt à l'emploi, moins de 0,1 % de NaN ₃ | 0,5 mL |
| 4. | CONJ G | Conjugué FITC IgG
Anti-IgG humaine FITC (chaîne γ) prêt à l'emploi, moins de 0,1% de NaN ₃

ou
CONJ POLY Conjugué FITC Screen
Anti-IgG,-A,-M humaine FITC prêt à l'emploi, moins de 0,1% de NaN ₃ | 3 mL |
| 5. | DIL 5x | Diluant concentré 5 x, à diluer au 1:5 avant emploi | 2 x 10 mL |
| 6. | EVANS BLUE | Bleu d'Evans
Prêt à l'emploi, moins de 0,1% de NaN ₃ | 3 mL |
| 7. | MOUNTING MEDIUM | Milieu de montage
Prêt à l'emploi, moins de 0,1% de NaN ₃ | 3 mL |
| 8. | BUFFER | PBS
Dissoudre le contenu d'un sachet dans 1L d'eau distillée, pH 7,2 ± 0,2 | 2 Sachets |

Autres abréviations

- RTU** Prêt à l'emploi

Matériels nécessaires non fournis

1. Tubes stériles.
2. Micropipettes et embouts.
3. Bac à coloration.
4. Chambre humide.
5. Flacon gradué.
6. Eau distillée ou déionisée.
7. Pincettes.
8. Lamelles.
9. Flacon de lavage.
10. Microscope à transmission ou à épifluorescence avec combinaison de filtres adaptée à FITC (ex. filtre d'excitation de 490 nm et filtre barrière de 510 nm).

Précautions d'utilisation

1. Les réactifs du coffret sont uniquement utilisés pour le diagnostic *in vitro*.
2. Lire soigneusement la notice d'utilisation avant de commencer le test. Ne pas modifier la procédure.
3. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur le coffret.
4. Respecter les réglementations de santé et de sécurité relatives aux matières potentiellement infectieuses. Porter des vêtements adaptés à ce type de manipulation, utiliser un équipement de protection approprié, et opérer dans un laboratoire approprié.
5. Ne pas pipeter avec la bouche.
6. Utiliser du matériel en plastique jetable dans la mesure du possible. La verrerie doit être lavée soigneusement et rincée sans détergent avant utilisation.
7. Les matériaux de contrôle/calibration d'origine humaine ont été testés et se sont avérés négatifs pour la présence d'anticorps anti-VHI, -VHC et d'antigène HBs. Cependant, ils doivent être considérés comme potentiellement dangereux et infectieux. Aucune garantie n'est donnée que les échantillons soient exempts de maladie infectieuse ou de contamination microbiologique.
8. Ne pas échanger les réactifs de différents lots car les réactifs sont calibrés pour chaque lot.
9. Eviter toute contamination croisée entre les réactifs et ne pas intervertir les bouchons des flacons. Changer de pipettes ou d'embouts entre chaque échantillon et chaque réactif.
10. Ne pas laisser sécher les puits entre les différentes étapes.
11. Protéger les lames des rayons du soleil ou de la lumière directe pendant l'incubation.
12. Eliminer les échantillons et les produits jetables contaminés conformément aux règlements établis pour l'élimination des matières potentiellement infectieuses. Décontaminer les surfaces de travail avec un désinfectant de surface approprié conformément aux instructions d'utilisation. Les récipients en verre ou similaires peuvent être autoclavés à 121 °C.
13. Protéger le conjugué FITC des UV, de la fluorescence et des rayons du soleil. Conserver le conjugué à l'obscurité.
14. Ne pas utiliser les échantillons contaminés par des micro-organismes.
15. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques.
16. L'azoture de sodium utilisé comme conservateur est un produit toxique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut réagir avec les conduites en plomb ou en cuivre et former des sels hautement explosifs. Rincer toujours abondamment à l'eau lors d'une élimination dans les canalisations.

Conservation et stabilité

MASTFLUOR™ Toxoplasma se conserve jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Tous les composants et réactifs du kit doivent être conservés à 2–8 °C et ramenés à température ambiante avant utilisation.

Après la première ouverture, les réactifs sont stables pendant 3 mois. Une lame ouverte doit être utilisée le jour même.

Le PBS reconstitué se conserve 30 jours à 2–8 °C.

Les échantillons (sérum) sont à stockés selon les recommandations générales publiées. En général, les échantillons peuvent se conserver 3 jours à 2–8 °C ou à -20 °C pour des délais supérieurs. Eviter la congélation et décongélation répétée des échantillons.

Échantillons

- a) Sérum
- b) Les échantillons 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 lipémiques, ictériques, hémolysés ou contaminés peuvent donner des résultats faussement négatifs ou positifs.

Procédure

1. Amener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation (minimum 20 °C)
2. Dissoudre le contenu d'un sachet de PBS dans un litre d'eau distillée ou déionisée.

Il est recommandé d'utiliser le diluant pour préparer les dilutions de sérums. Diluer le diluant concentré au 1:5 avec de l'eau distillée ou déionisée (ex: 10 mL de diluant + 40 mL d'eau).

3. Diluer les sérums à tester dans le diluant ou le PBS reconstitué comme ci-dessous

Recherche des IgG: Dilution au 1:64

Ex: 10 µL de sérum + 630 µL de diluant ou PBS

Dépistage: Dilution au 1:64

Ex: 10 µL de sérum + 630 µL de diluant ou PBS

4. Tous les contrôles du coffret sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués comme les sérums à tester.
5. Sortir délicatement la lame du sachet sans toucher les puits.
6. Déposer 20 à 25 µL d'échantillons dilués et de contrôles prêts à l'emploi dans les différents puits respectifs selon le plan de distribution préparé.

Recouvrir toute la surface des puits tout en évitant le débordement des puits.

Ne pas érafler la surface des puits.

7. Incuber les lames à température ambiante dans une chambre humide.

Recherche des IgG **30 min**

Dépistage **30 min**

8. Après incubation, rincer soigneusement les lames à l'aide d'une pissette contenant une solution de PBS, en prenant soin de ne pas diriger le jet directement sur les puits. Pour cela, diriger le jet de PBS en direction du centre de la lame en allant des puits 1 à 5 puis des puits 6 à 10.
9. Immerger les lames dans un bac à coloration contenant du PBS et tremper pendant 15 min à température ambiante avec un changement de PBS après 5 min. pour accroître l'intensité du lavage.
10. Sortir les lames du flacon et éliminer le PBS en excès des lames. Sécher les lames à l'extérieur des puits à l'aide d'un papier absorbant. Sécher l'excès de PBS sur le dos de la lame. Ne pas toucher la surface des puits.
11. Transférer immédiatement la lame dans une chambre humide. Déposer 20 à 25 µL de conjugué FITC dans chaque puits, le conjugué doit recouvrir la totalité du puits. Ne pas laisser sécher les puits.
12. Incuber les lames à température ambiante dans une chambre humide couverte pendant 30 min à l'obscurité.
13. Après incubation, laver les lames en répétant les étapes 9 et 10.
Option: Ajouter 3 à 5 gouttes de Bleu d'Evans comme contre colorant lors de la dernière étape de lavage. Le contre colorant peut améliorer la différenciation entre les réactions positives et négatives.
Après contre-coloration au Bleu d'Evans immerger la lame dans du PBS frais pour éliminer le Bleu d'Evans en excès.
14. Déposer une petite goutte de milieu de montage dans chaque puits. Recouvrir d'une lamelle et lire les résultats immédiatement. Eviter de piéger des bulles d'air entre la lame et la lamelle.
Éliminer l'excès de milieu de montage avec du papier absorbant en évitant de déplacer la lamelle.
Un excès de milieu de montage sur la lame peut engendrer une fluorescence de fond élevée due à la diffusion de la lumière.
15. Examiner les réactions sous un microscope à fluorescence au grossissement 400X ou 800X.

Interprétation des résultats

Validation du test

Les contrôles doivent donner des résultats conformes aux valeurs du certificat d'analyse. Les données du tableau ci-dessous servent uniquement d'orientation mais ne correspondent pas aux données d'un lot en cours.

Echantillon	Résultats attendus
Contrôle positif	3+ à 4+
Contrôle négatif	négatif

Comparer les résultats aux contrôles positifs et négatifs pour une bonne interprétation.

Si les échantillons ou les contrôles doivent être davantage dilués pour la détermination du titre, il est possible, en partant du titre de recherche, de préparer en série d'autres niveaux de dilution avec du diluant ou du PBS.

Interprétation des résultats d'échantillons

Echantillons positifs en IgG ou au dépistage :

Les échantillons positifs présentent une fluorescence verte homogène de la membrane cytoplasmique de *Toxoplasma gondii* au stade tachyzoïte. La coloration concerne en général toute la membrane cytoplasmique. Le cytoplasme peut être coloré en vert ou même fluorescent en même temps que la membrane cytoplasmique. Une coloration uniquement du cytoplasme sans la membrane cytoplasmique est considérée comme négative.

Echantillons négatifs :

La membrane du Toxoplasme ne présente pas de fluorescence. La fluorescence cytoplasmique seule est considérée comme négative.

Résultats définis comme positifs

IgG positif : **≥ 1:64**

Dépistage Ig G,A,M positif : **≥ 1:64**

Pour l'interprétation des résultats, consulter les informations fournies par les centres de référence (ex. www.rki.de).

Limites / Interférences

1. Les auto-anticorps (type ANA) peuvent donner une fluorescence cytoplasmique de *Toxoplasma gondii*.
2. Bien que le test pour la recherche du toxoplasme soit connu pour être très sensible et très spécifique, les résultats doivent être interprétés en fonction des données diagnostiques significatives ; sérologiques, cliniques, et d'autres aspects spécifiques au patient.

Performances

Un panel d'échantillons cliniquement positifs et négatifs a été sélectionné pour déterminer les données de performance.

Le MASTAFLUOR™ *Toxoplasma* a obtenu dans ce panel les résultats suivants :

	IgG	Screen
Sensibilité	90,57 %	95,61 %
Spécificité	94,12 %	94,87 %
Valeur prédictive positive	97,96 %	98,20 %
Valeur prédictive négative	76,19 %	88,10 %
Efficience	91,43 %	95,42 %

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.

Referenzen / References / Références:

1. www.rki.de
2. www.who.org
3. www.fda.gov
4. Thomas L.: Labor und Diagnose, 8. Auflage (2012)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt.

Änderungshistorie / Change History / Historique des changements

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

Chapter	Description of change
Intended Purpose (English Version)	Change the wording "intended use" to "intended purpose".
Assay Data (English Version)	Change the wording "Assay Data" to "Performance Characteristics"
Availability of the summary of safety and performance	A new section Availability of the summary of safety and performance (Art. 29) was added.
Change History	Adding a reference to the Change History at the end of the IFU.

**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