

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**

CE 2797

	Deutsch	Seiten	02–06
	English	Pages	07–10
	Français	Pages	11–15

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. Der Test ist als Hilfsmittel zur Bestimmung des Toxoplasmose-Immunstatus bei erwachsenen Patienten mit Verdacht auf eine *Toxoplasma gondii*-Infektion bestimmt.

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 Waschschriff 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 Waschschriff 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 *Toxoplasma gondii*
2. **CONTROL+** Positivkontrolle 0,5 mL
IgG-positives Serum, human, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (potentiell infektiös und hautreizend, siehe Warnhinweise)
3. **CONTROL-** Negativkontrolle 0,5 mL
IgG- und IgM-negatives Serum, human, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (potentiell infektiös und hautreizend, siehe Warnhinweise)
4. **CONJ G** FITC-Konjugat IgG 3 mL
FITC-markiertes Anti-human-IgG (γ-Kette), gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (Hautreizend, siehe Warnhinweise)
oder
CONJ POLY FITC-Konjugat Screen 3 mL
FITC-markiertes Anti-human-IgG/-IgM/-IgA, gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (Hautreizend, siehe Warnhinweise)
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 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (Hautreizend, siehe Warnhinweise)
7. **MOUNTING MEDIUM** Eindeckmedium 3 mL
gebrauchsfertig, enthält < 0,1 % NaN₃ und ≤ 0,005 % ProClin (Hautreizend, siehe Warnhinweise)
8. **BUFFER** PBS 2 Päckchen
Je 1 Sachet in 1 L destilliertem Wasser lösen, pH 7,2 ± 0,2

Weitere verwendete Abkürzungen

1. **RTU** gebrauchsfertig

Zusätzlich benötigte Materialien

1. Sterile Reaktionsgefäße.
2. Mikropipetten und dazu passende Spitzen.
3. Küvetten.
4. Feuchte Kammer.

5. Messkolben oder Messbecher.
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
7. Pinzette.
8. Deckgläser.
9. Spritzflasche (Wasch- bzw. Pufferflasche).
10. Fluoreszenzmikroskop mit einer FITC-geeigneten Filterkombination (z.B. 490 nm Anregungsfilter und 510 nm Sperrfilter).

Warnhinweise

1. 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.
2. Eine Kontamination der Reagenzien vermeiden; die Flaschen immer wieder mit den richtigen Deckeln verschließen. Kontaminierte Reagenzien sind nicht zu verwenden. Keine Reagenzien verwenden, deren Fläschchen oder Verpackung beschädigt ist.
3. Keine hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Proben verwenden.
4. 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.
5. Einzelne Kitreagenzien enthalten bovine Komponenten enthalten. Zum Schutz vor Infektionen mit Prionen oder zoonotischen Erregern müssen die gängigen Arbeitsschutzregeln (GLP) eingehalten werden.
6. Natriumazid und ProClin werden als Konservierungsmittel verwendet. ProClin kann zu Hautreizungen führen. Bei Kontakt mit der Haut sollten die betroffenen Stellen gründlich mit Wasser und Seife gewaschen werden. Natriumazid kann bei Aufnahme zu Vergiftung führen und mit Metallverbindungen (Kupfer, Blei) explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung von Azidreagenzien über den Laborabfluss, daher mit viel Wasser nachspülen.
7. Der MASTAFLUOR™ Toxoplasma Screen weist sowohl IgG- als auch IgM-Antikörper nach, die gegen *T.gondii* gerichtet sind. Es ist nicht möglich, zwischen IgG und IgM zu unterscheiden.
8. Wird bei einer schwangeren Frau ein positives Ergebnis erzielt, wird empfohlen, weitere Tests durchzuführen, um die Identität der Antikörper zu bestimmen.
Wird bei einer schwangeren Frau ein negatives Ergebnis erzielt, ist es ratsam, den Test während der Schwangerschaft zu wiederholen, um eine mögliche Serokonversion festzustellen. Im Zweifelsfall empfiehlt es sich, einen weiteren Test durchzuführen oder den Arzt zu konsultieren.

Vorsichtsmaßnahmen / Hinweise

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. Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen mischen, da diese in jeder Charge aufeinander abgestimmt sind.
5. 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.
6. Zum Pipettieren immer eine neue Pipettenspitze für jeden Arbeitsschritt verwenden.
7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Ein Austrocknen der Wells verhindern.
9. Die Objektträger nicht direktem Sonnenlicht oder anderen vergleichbar extremen Bedingungen aussetzen.
10. FITC-Konjugate sollen nicht dem Sonnen-, UV- oder Fluoreszenzlicht ausgesetzt werden. Sofern die Konjugate nicht benötigt werden, diese lichtgeschützt aufbewahren.

Entsorgung

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.

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 Objektträger sollte kurz nach dem Öffnen des Beutels verwendet 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 (Lit. 5, 6, 7).

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. **A) Qualitativ:** 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

B) Semi-quantitativ: Für den **IgG und Screen-Ansatz:** Zur Titerbestimmung können die Proben, ausgehend vom Suchtiter (1:64), weiter verdünnt werden. Dafür wird eine serielle Verdünnungsreihe mit Diluent oder PBS hergestellt, z.B.: 50 µL Diluent oder PBS vorlegen und mit 50 µL 1:64 verdünnte Probe titrieren (1:2).

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.
7. Die Objektträger in eine feuchte Kammer legen und bei Raumtemperatur inkubieren

IgG-Ansätze 30 min

Screen-Ansätze 30 min

8. 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.

9. Die Objektträger in einer Küvette mit PBS 15 min bei Raumtemperatur waschen. Ein Wechseln des Puffers nach 5 min erhöht die Waschstringenz.
10. 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 klopft. Nie mit einem Papiertuch o.ä. über die Wells wischen!
11. 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!
12. Die Objektträger in der feuchten Kammer 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
13. 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 abzuspielen.
14. 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.
15. Die Reaktionen können nun mit einem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet werden. Es empfiehlt sich dabei eine 400- bis 800-fache Vergrößerung.

Auswertung und Interpretation

IgG-/ Screen-positive Reaktion: Positive Seren zeigen eine homogene grüne Fluoreszenz der Cytoplasmamembran der *Toxoplasma gondii* Tachyzoiten. Eine Reaktion kann von sehr stark fluoreszierend (4+), stark fluoreszierend (3+), fluoreszierend (2+) bis leicht fluoreszierend (1+) bewertet werden.

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 Cytoplasmafluoreszenz gilt als negativ.

Kontrollen

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.

Interpretation der Patientenreaktionen

Qualitativ: Als positiv gilt eine Patientenprobe, die in der 1:64 Verdünnung eine positive Reaktion (1+ - 4+) zeigt.

Semi-quantitativ: Als positiv gilt eine Patientenprobe, wenn die Verdünnung 1:64 oder eine höhere Verdünnung eine Fluoreszenz der Toxoplasma membran aufweisen (1+ - 4+).

IgG-AK $\geq 1:64$

Screen $\geq 1:64$

Als Endtiter gilt die höchste Verdünnung mit einer Minimalreaktion von 1+.

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

Grenzen des Nachweisverfahrens / Kreuzreaktionen

1. Autoantikörper (ANA-Typ) können zu einer Cytoplasmareaktion von *Toxoplasma gondii* führen.
2. 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

Analytische Sensitivität, Spezifität, Cut-off

Zur Ermittlung der Leistungsdaten wurde ein Panel von 140/153 klinisch positiv und negativ bewerteten Proben ausgewählt (Cut-off $\geq 1:64$). Der TOXOREAGENT-Assay (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, Deutschland) und der Toxoreagent-Assay (EIKEN Chemicals Ltd, Tokio, Japan) wurden als Vergleichsprodukte verwendet. Der VIR-ELISA ANTI-TOXO-IgG/IgM (Viro-Immun Labor-Diagnostics GmbH, Oberursel, Deutschland) wurde zur Kontrolle der Probe verwendet.

Der MASTAFLUOR™ Toxoplasma erzielte in diesem Panel folgende Ergebnisse:

	Formeln	IgG	Screen
Sensitivität (Sens)	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	90,57 %	95,61 %
Spezifität (Spec)	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94,12 %	94,87 %

Positiver prädiktiver Wert (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	97,96 %	98,20 %
Negativer prädiktiver Wert (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	76,19 %	88,10 %
Effizienz (EFF)	$\frac{(TP + TN)}{total}$	91,43 %	95,42 %

(Abkürzung: TP: Echt positiv, TN: Echt negativ, FN: Falsch negativ, FP: Falsch positiv)

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

Rückverfolgbarkeit

Die NIBSC-Probe 01/600 oder TOXM kann bei der qualitativen Bewertung zur Überwachung der Positivkontrolle des Toxoplasma IgG / Screen Kits verwendet werden. Die NIBSC-Probe TOXM kann bei der semi-quantitativen Bewertung zur Überprüfung der Positivkontrolle dienen.

Kreuzreaktivität

47 Seren, die antinukleäre Antikörper enthalten, wurden auf Kreuzreaktivität getestet. Es wurden keine falsch positiven oder negativen Ergebnisse erzielt, aber die Proben wiesen einen hohen Hintergrund auf (siehe Grenzen des Nachweisverfahrens).

In einer Studie wurden 23 Seren von schwangeren Frauen verwendet, um mögliche Kreuzreaktionen festzustellen. Es wurden keine falsch positiven oder negativen Ergebnisse festgestellt. Dennoch wurde ein Warnhinweis aufgenommen (siehe Warnhinweise).

Klinische Leistung

Die klinische Leistungsfähigkeit wurde durch Ringversuche nachgewiesen.

Für den MASTAFLUOR™ Toxoplasma IgG/Screen Assay werden 1–2-mal pro Jahr Ringversuche (INSTAND e.V. Ringversuche, Abschnitt 452, Toxoplasmose) durchgeführt. Daten zu den Ringversuchen werden auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

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. It is intended for use as an aid in determining toxoplasmosis immune status in adult patients with suspected *Toxoplasma gondii* infection.

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 and ≤ 0.005% ProClin (potentially infectious and irritating to skin, see warnings)	
3. CONTROL-	Negative Control	0,5 mL
	IgG and IgM negative serum, human, ready-to-use, contains < 0.1% NaN ₃ and ≤ 0.005% ProClin (potentially infectious and irritating to skin, see warnings)	
4. CONJ G	FITC-conjugate IgG	3 mL
	FITC-labelled anti-human IgG (γ-chain) ready-to-use, contains < 0.1% NaN ₃ and ≤ 0.005% ProClin (Irritating to skin, see warnings)	
	or	
	CONJ POLY FITC-conjugate Screen	3 mL
	FITC-labelled anti-human IgG/IgM/IgA ready-to-use, contains < 0.1% NaN ₃ and ≤ 0.005% ProClin (Irritating to skin, see warnings)	
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 and ≤ 0.005% ProClin (Irritating to skin, see warnings)	
7. MOUNTING MEDIUM	Mounting Medium	3 mL
	ready-to-use, contains < 0.1% NaN ₃ and ≤ 0.005% ProClin (Irritating to skin, see warnings)	
8. BUFFER	PBS	2 Sachets
	Dissolve 1 sachet in 1 L distilled water, pH 7,2 ± 0,2	

Further Abbreviations

1. **RTU** ready to use

Materials Required but not Provided

1. Sterile test tubes.
2. Micropipettes and tips.
3. Staining dish or Coplin jar.
4. Moist chamber.
5. Volumetric flask for PBS.

6. Distilled or deionised water.
7. Forceps.
8. Cover slips.
9. Wash bottle.
10. Fluorescence microscope with a filter combination suitable for FITC (e.g. 490 nm excitation filter and a 510nm barrier filter).

Warnings

1. Comply with the general health and safety guidelines for working with potentially infectious materials. Wear appropriate protective clothing and use appropriate lab facilities.
2. Do not cross-contaminate reagents or interchange caps on bottles. Do not use contaminated reagents. Do not use reagents with damaged bottles or packaging. Use a separate pipette or pipette tips for each sample and reagent.
3. Do not use haemolysed, lipaemic or icteric serum.
4. 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.
5. The kit reagents may contain bovine components. To protect against infections with prions or zoonotic pathogens, standard occupational safety regulations (GLP) must be observed.
6. Sodium azide and ProClin are used as preservatives. ProClin can cause skin irritation. In the event of contact with the skin, the affected areas should be washed thoroughly with soap and water. Sodium azide can lead to poisoning if ingested and can form explosive metal azides with metal compounds (copper, lead). When disposing of azide reagents down the laboratory drain, rinse with plenty of water.
7. The MASTAFLUOR™ Toxoplasma Screen detects both IgG and IgM antibodies directed against *T. gondii*. It is not possible to differentiate between IgG and IgM.
8. If a positive result is obtained from a pregnant woman it is recommended to carry out further tests to determine the identity of the antibodies.

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 perform another test or to consult the physician.

Precautions / Notes

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. Do not mix reagents between different lots, as reagents have been calibrated for each batch.
5. Use disposable plasticware wherever possible. Re-usable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
6. Always use a new pipette tip for each pipetting step.
7. Do not pipette with your mouth.
8. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
9. Do not expose slides to intense sunlight or similar adverse conditions while incubating.
10. Do not expose the FITC-conjugate at any stage to strong sunlight, UV or fluorescent light. Keep in a dark place whenever possible.

Disposal

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.

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. A slide shall be used shortly after opening the pouch.

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 (Ref. 5, 6, 7).

Test Procedure

1. Allow all materials to reach room temperature (at least 20 °C) prior to use.

- 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).

- A) Qualitative:** 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

B) Semi-quantitative: For the IgG and screen assay:

For the IgG and screen approach: To determine the titer, the samples can be further diluted starting from the addition titer (1:64). To do this, prepare a serial dilution series with Diluent or PBS, e.g.: prepare 50 µl Diluent or PBS and titrate with 50 µl 1:64 diluted sample (1:2).

- All **kit controls are ready-to-use** and **should not be diluted** like specimen.
- Carefully remove the slides from the pouch. Do not touch wells.
- 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.
- Add slides to a moist chamber and incubate at room temperature

IgG assays 30 min

Screen assays 30 min

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Incubate slides at room temperature in a covered moist chamber in the dark for 30 min.
- 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.
- 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.

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

Interpretation of Results

IgG and Screen positive reaction: Positive sera show a homogenous green fluorescence of the cytoplasmic membrane of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. A reaction can be rated from very strongly fluorescent (4+), strongly fluorescent (3+), fluorescent (2+) to slightly fluorescent (1+).

Cytoplasm may show green staining or even fluorescence together with the cytoplasmic membrane. Cytoplasmic reactions alone must be read as negative.

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

Controls

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.

Interpretation of Specimen Results

Qualitative: A patient sample is considered positive if it shows a positive reaction (1+ - 4+) in the 1:64 dilution.

Semi-quantitative: A patient sample is considered positive if the 1:64 dilution or a higher dilution shows fluorescence of the toxoplasma membranes (1+ - 4+).

IgG antibody: ≥ 1:64

Screen / polyvalent: ≥ 1:64

The final titer is the highest dilution with a minimum reaction of 1+.

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

Limitations / Interferences

- Autoantibodies (ANA type) may lead to cytoplasmic fluorescence of *Toxoplasma gondii*.
- 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

Analytical Sensitivity and Specificity, Cut-off

A panel of 140/153 clinically positive and negatively evaluated left over samples was selected to determine the performance data (cut-off $\geq 1:64$). The TOXOREAGENT assay (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, Germany), Toxoreagent assay (EIKEN Chemicals Ltd, Tokyo, Japan) were used as comparable products. The VIR-ELISA ANTI-TOXO-IgG/IgM (Viro-Immun Labor-Diagnostics GmbH, Oberursel, Germany) were used to control the sample.

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

	Formula	IgG	Screen
Sensitivity (Sens)	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	90,57 %	95,61 %
Specificity (Spec)	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94,12 %	94,87 %
Positive predictive value (PPV)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	97,96 %	98,20 %
Negative predictive value (NPV)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	76,19 %	88,10 %
Efficiency (EFF)	$\frac{(TP + TN)}{total}$	91,43 %	95,42 %

(Abbreviations: TP: True positive, TN: True negative, FN: False negative, FP: False positive)

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

Cross-Reactivity

47 sera containing antinuclear antibodies were tested for cross-reactivity. No false positive or negative results were obtained but the samples showed a high background (see Limitations).

In one study, 23 sera from pregnant women were used to determine possible cross-reactions. No false positive or negative results were detected. Nevertheless, a warning was included (see warnings).

Traceability

The NIBSC sample 01/600 or TOXM can be used in the qualitative evaluation to monitor the positive control of the Toxoplasma IgG / Screen Kit. The NIBSC sample TOXM can be used in the semi-quantitative evaluation to monitor the positive control.

Clinical Performance

The clinical performance was demonstrated by proficiency testing.

For the MASTAFLUOR™ Toxoplasma IgG/Screen assay, proficiency tests (INSTAND e.V. Ringversuche, Section 452, Toxoplasmosis) are performed 1-2 times per year. Data on the interlaboratory comparisons will be provided on request.

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.

MASTAFLUOR™ 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.

Il est destiné à aider à déterminer le statut immunitaire vis-à-vis de la toxoplasmose chez les patients adultes soupçonnés d'être infectés par *Toxoplasma gondii*.

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. Veillez 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 10 x 10 Puits
recouvertes par *Toxoplasma gondii*
2. **CONTROL+** Contrôle positif 0,5 mL
Sérum positif IgG, humain,
prêt à l'emploi, contient < 0,1% de NaN₃ et
< 0,005% de ProClin
(potentiellement infectieux et irritant pour la
peau, voir les avertissements).
3. **CONTROL-** Contrôle négatif 0,5 mL
Sérum négatif IgG et IgM, humain,
prêt à l'emploi, contient < 0,1% de NaN₃ et
< 0,005% de ProClin
(potentiellement infectieux et irritant pour la
peau, voir les avertissements).
4. **CONJ G** Conjugué FITC IgG 3 mL
Anti-IgG humaine FITC (chaîne γ)
prêt à l'emploi, contient < 0,1% de
NaN₃ et < 0,005% de ProClin
(irritant pour la peau, voir les
avertissements)
ou
CONJ POLY Conjugué FITC Screen 3 mL
Anti-IgG, -A, -M humaine FITC
prêt à l'emploi, contient < 0,1% de
NaN₃ et < 0,005% de ProClin
(irritant pour la peau, voir les
avertissements)
5. **DIL 5x** Diluant 2 x 10 mL
concentré 5 x, à diluer au 1:5 avant
emploi
6. **EVANS BLUE** Bleu d'Evans 3 mL
Prêt à l'emploi, contient < 0,1% de
NaN₃ et < 0,005% de ProClin
(irritant pour la peau, voir les
avertissements)
7. **MOUNTING MEDIUM** 3 mL
Milieu de montage
Prêt à l'emploi, contient < 0,1% de
NaN₃ et < 0,005% de ProClin
(irritant pour la peau, voir les
avertissements)
8. **BUFFER** PBS 2 Sachets
Dissoudre le contenu d'un sachet
dans 1L d'eau distillée, pH 7,2 ± 0,2

Autres abréviations

1. **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).

Avertissements

1. Respectez les consignes générales de santé et de sécurité pour travailler avec du matériel potentiellement infectieux. Portez des vêtements de protection appropriés et utilisez les installations de laboratoire adéquates.
2. Ne pas contaminer les réactifs et ne pas intervertir les bouchons des flacons. Ne pas utiliser de réactifs contaminés. Ne pas utiliser de réactifs dont le flacon ou l'emballage est endommagé. Utiliser une pipette ou des embouts de pipette distincts pour chaque échantillon et chaque réactif.
3. Ne pas utiliser de sérum hémolysé, lipémique ou icterique.
4. Les matériaux de contrôle/calibrage d'origine humaine fournis ont été testés pour les anticorps du VIH, du VHC et de l'HBsAg et se sont révélés négatifs. Toutefois, ils doivent être traités comme des matériaux potentiellement infectieux et susceptibles de transmettre des maladies. Aucune garantie n'est donnée que les échantillons sont exempts d'infections ou de contamination microbienne.
5. Les réactifs du kit peuvent contenir des composants bovins. Pour se protéger contre les infections par des prions ou des agents pathogènes zoonotiques, il convient d'observer les règles standard de sécurité au travail (BPL).
6. L'azide de sodium et le ProClin sont utilisés comme conservateurs. Le ProClin peut provoquer une irritation de la peau. En cas de contact avec la peau, les zones concernées doivent être soigneusement lavées à l'eau et au savon. L'azide de sodium peut provoquer une intoxication en cas d'absorption et former des azides métalliques explosifs avec des composés métalliques (cuivre, plomb). En cas d'élimination de réactifs azotés dans les égouts du laboratoire, rincer donc abondamment à l'eau.
7. Le MASTAFLUOR™ Toxoplasma Screen détecte les anticorps IgG et IgM dirigés contre *T.gondii*. Il n'est pas possible de faire la différence entre les IgG et les IgM.
8. Si un résultat positif est obtenu chez une femme enceinte, il est recommandé d'effectuer d'autres tests pour déterminer l'identité des anticorps.
Si un résultat négatif est obtenu chez une femme enceinte, il est conseillé de répéter le test pendant la période de grossesse afin de détecter une éventuelle séroconversion. En cas de doute, il est recommandé d'effectuer un autre test ou de consulter un médecin.

Précautions / Notes

1. Les réactifs fournis dans ce kit sont uniquement destinés au diagnostic in vitro.
2. Lire attentivement les instructions avant d'effectuer le test. Ne pas modifier la procédure sans validation préalable.
3. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
4. Ne pas mélanger les réactifs entre différents lots, car les réactifs ont été calibrés pour chaque lot.
5. Utiliser, dans la mesure du possible, de la vaisselle en plastique jetable. La verrerie réutilisable doit être lavée soigneusement et rincée sans détergent avant d'être utilisée.
6. Utilisez toujours une nouvelle pointe de pipette pour chaque étape de pipetage.
7. Ne pas pipeter à la bouche.
8. Ne pas laisser les puits se dessécher pendant les procédures de dosage.
9. Ne pas exposer les lames à la lumière intense du soleil ou à des conditions défavorables similaires pendant l'incubation.
10. Ne pas exposer le conjugué FITC, à quelque stade que ce soit, à la lumière solaire intense, aux UV ou à la lumière fluorescente. Dans la mesure du possible, conserver à l'abri de la lumière.

Élimination

Les échantillons et les produits jetables contaminés doivent être éliminés conformément aux directives et réglementations applicables en matière d'élimination des matières infectieuses.

Pour la décontamination des surfaces, utiliser des désinfectants de surface appropriés. La verrerie contaminée doit être stérilisée à 121 °C.

Conservation et stabilité

MASTAFLUOR™ 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 glissière doit être utilisée peu après l'ouverture de la poche.

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. Éviter 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 (Réf. 5, 6, 7).

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. **A) Qualitatif:** 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

B) Semi-quantitatif: Pour l'approche IgG et screen : pour la détermination du titre, les échantillons peuvent être davantage dilués, en partant du titre de recherche (1:64). Pour cela, préparer une série de dilutions en série avec du diluant ou du PBS, par exemple : présenter 50 µl de diluant ou de PBS et titrer avec 50 µl d'échantillon dilué au 1:64 (1:2).

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

Réaction positive aux IgG ou au screening:

Les échantillons positifs présentent une fluorescence verte homogène de la membrane cytoplasmique de *Toxoplasma gondii* au stade tachyzoïte. Une réaction peut être évaluée de très fortement fluorescente (4+), fortement fluorescente (3+), fluorescente (2+) à légèrement fluorescente (1+).

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.

Réaction négative:

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

Contrôles

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

Qualitatif: un échantillon de patient est considéré comme positif s'il présente une réaction positive (1+ - 4+) à la dilution 1:64.

Semi-quantitatif: un échantillon de patient est considéré comme positif si la dilution 1:64 ou une dilution supérieure présente une fluorescence des membranes toxoplasmiques (1+ - 4+).

IgG positif : $\geq 1:64$

Dépistage Ig G,A,M positif : $\geq 1:64$

Le titre final est la dilution la plus élevée avec une réaction minimale de 1+.

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

Sensibilité et spécificité analytiques, seuil d'exclusion

Un panel de 140/153 échantillons cliniquement positifs et négatifs a été sélectionné pour déterminer les données de performance (cut-off $\geq 1:64$). Le test TOXOREAGENT (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, Allemagne), le test Toxoreagent (EIKEN Chemicals Ltd, Tokyo, Japon) ont été utilisés comme produits comparables. Le test VIR-ELISA ANTI-TOXO-IgG/IgM (Viro-Immun Labor-Diagnostics GmbH, Oberursel, Allemagne) a été utilisé pour contrôler l'échantillon.

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

	Formule	IgG	Screen
Sensibilité	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	90,57 %	95,61 %
Spécificité	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94,12 %	94,87 %
Valeur prédictive positive	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	97,96 %	98,20 %
Valeur prédictive négative	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	76,19 %	88,10 %
Efficience	$\frac{(TP + TN)}{total}$	91,43 %	95,42 %

(Abréviations : TP : Vrai positif, TN : Vrai négatif, FN : Faux négatif, FP : Faux positif)

Aucune différence de variance intra-essai et inter-essai n'a été constatée.

Réactivité croisée

47 sérums contenant des anticorps antinucléaires ont été testés pour la réactivité croisée. Aucun résultat faussement positif ou négatif n'a été obtenu, mais les échantillons ont montré un fond élevé (voir Limites).

Dans une étude, 23 sérums de femmes enceintes ont été utilisés pour déterminer d'éventuelles réactions croisées. Aucun résultat faussement positif ou négatif n'a été détecté. Néanmoins, un avertissement a été inclus (voir avertissements).

Traçabilité

L'échantillon NIBSC 01/600 ou TOXM peut être utilisé dans l'évaluation qualitative pour contrôler le contrôle positif du Toxoplasma IgG / Screen Kit. L'échantillon NIBSC TOXM peut être utilisé dans l'évaluation semi-quantitative pour contrôler le contrôle positif.

Performance clinique

La performance clinique a été démontrée par des essais d'aptitude.

Pour le test MASTAFLUOR™ Toxoplasma IgG/Screen, des essais d'aptitude (INSTAND e.V. Ringversuche, Section 452, Toxoplasmosis) sont réalisés 1 à 2 fois par an. Les données sur les comparaisons interlaboratoires seront fournies sur demande.

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.
5. Thomas, L.: Haemolysis as influence & interference factor (2002) eJIFCC 13(4) 95-8.
6. Nikolac, N.: Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management (2014) Biochem 24(1): 57-67
7. Mainali, S. et al: Frequency of icteric interference in clinical chemistry laboratory tests and causes of severe icterus (2021) Pract. Lab. Med. e00259

Änderungshistorie / Change History / Historique des changements

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

Chapter	Description of change
Intended Purpose	Update. Addition of the patient population
Kit Contents	Addition of ProClin and connection to warnings
Warnings	Addition of ProClin (point 6)

**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