

VIDAS[®] TOXO Compétition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Compétition est un test qualitatif automatisé sur les instruments VIDAS, permettant la détection immunoenzymatique des Ig totales *anti-Toxoplasma gondii* dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium ou EDTA) par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Toxoplasma gondii, protozoaire, parasite intracellulaire obligatoire, est un pathogène très répandu chez l'homme. Le parasite, dont l'hôte définitif est le chat, est disséminé dans la nature et infecte de nombreux autres mammifères.

La toxoplasmose est généralement très discrète chez le sujet immunocompétent, mais les atteintes fœtales, comme celles des immunodéprimés, peuvent être sévères (2). Les toxoplasmose congénitales liées à une contamination maternelle préconceptionnelles sont exceptionnelles et surviennent le plus souvent chez des femmes immunodéprimées (7). Celles qui sont séronégatives sont susceptibles d'être infectées durant leur grossesse (1).

Le diagnostic d'une infection par *T.gondii* repose essentiellement sur l'exploration biologique : recherche d'immunoglobulines spécifiques (IgM et IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Compétition est un test de screening destiné à évaluer le statut immunitaire des patients (3). En cas de positivité, le diagnostic doit être précisé (séroconversion ou immunité acquise) à l'aide de tests spécifiques pour la recherche des IgG et des IgM.

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par inhibition à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône (SPR[®]) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument.

Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Après dilution, l'échantillon est incubé avec le cône. Celui-ci, sensibilisé au préalable par des protéines d'un lysat de *Toxoplasma Gondii*, fixe alors les anticorps anti-Toxoplasmiques (IgM et IgG) présents dans l'échantillon. Les composants non liés de l'échantillon sont éliminés par lavages.

La phase solide est ensuite incubée avec le conjugué : anticorps monoclonal anti-P30 marqué à la phosphatase alcaline. Ce conjugué va entrer en compétition avec les anticorps du sérum fixés sur la phase solide par l'antigène de la Toxoplasmose. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliférone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

La valeur du signal de fluorescence est inversement proportionnelle à la quantité d'immunoglobulines présentes dans l'échantillon. Les résultats sont analysés automatiquement par l'instrument et exprimés en indice par rapport à un standard.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS) :

| | | |
|----------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 cartouches TXC | STR | Prêtes à l'emploi. |
| 60 cônes TXC 2 x 30 | SPR | Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'antigène toxoplasmique, souche RH Sabin cultivée sur souris (8). |
| Contrôle positif TXC 1 x 1,9 ml (liquide) | C 1 | Sérum humain* contenant des IgG anti- toxoplasmiques+ azoture de sodium 1 g/l et stabilisants protéiques. Prêt à l'emploi. Indice : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 (+) Test Value Range". |
| Contrôle négatif TXC 1 x 1,9 ml (liquide) | C 2 | Sérum humain* + azoture de sodium 1 g/l et stabilisants protéiques. Prêt à l'emploi. Indice : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Standard 1 x 1,2 ml (liquide) | S 1 | Sérum humain* contenant des IgG anti- Toxoplasmiques + azoture de sodium 1 g/l et stabilisants protéiques. Prêt à l'emploi. |
| 1 Carte MLE | | Fiche de spécifications contenant les données usine nécessaires à la calibration du test. |
| 1 Notice | | |

*L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et d'anticorps anti-VHC a été vérifiée. Cependant, aucun test ne pouvant apporter une garantie absolue, ce produit doit être manipulé avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux.

Le cône

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par des protéines d'un lysat de *Toxoplasma gondii*. Chaque cône est identifié par le code TXC. Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaires et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet. **Bien refermer le sachet après ouverture.**

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche TXC

| Puits | Réactifs |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Puits échantillon |
| 2 | Diluant de l'échantillon : Tampon TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (400 µl) |
| 3 | Tampon de prélavage : TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Tampon de lavage : TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + azoture de sodium 1 g/l (600 µl) |
| 6 | Conjugué : Anticorps monoclonal anti-P30 (souris) marqué à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 1 g/l (400 µl) |
| 9 | Puits vide |
| 10 | Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine (DEA*) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/l (300 µl). |

* Réactif IRRITANT :

- **R 36** : irritant pour les yeux.
 - **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNIS

- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 125 µl.
- Gants non talqués à usage unique.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.

- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immunoenzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" cités ci-dessus.
- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- Les éléments du module analytique VIDAS et mini VIDAS doivent être régulièrement nettoyés et décontaminés (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS TXC à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, bien refermer le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons :

Sérums ou plasmas humains (anticoagulants : héparinate de lithium, EDTA). Il est préconisé à chaque laboratoire de valider le type de tube de prélèvement utilisé. **Il n'a pas été validé l'utilisation d'échantillons visiblement hémolysés, lipémiques, ictériques.** Les sérums peuvent être inactivés avant d'être testés (30 minutes à 56°C).

Stabilité des échantillons

Les échantillons peuvent être fraîchement prélevés ou stockés 5 jours à 2-8°C au maximum ; au-delà, les congeler à -25 ± 6 °C.

Éviter les congélations et décongélations successives.

Une étude réalisée sur des échantillons congelés pendant deux mois, n'a montré aucune influence sur la qualité des résultats.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation du VIDAS ou du mini VIDAS.

Saisie des données de la carte MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être saisies dans l'instrument (VIDAS ou mini VIDAS) à l'aide de la carte MLE (fiche de spécifications) incluse dans chaque coffret. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

Il est possible de saisir les spécifications manuellement ou de façon automatique grâce à la carte MLE.

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après saisie des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1, sera analysé en **double** (voir Manuel d'Utilisation). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV (Relative Fluorescence Value) fixées. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à la température ambiante avant utilisation.
2. Sortir du coffret une cartouche TXC et un cône TXC pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester. **Vérifier que le sachet de cônes a bien été refermé après chaque utilisation.**
3. Taper ou sélectionner " TXC " sur l'instrument pour entrer le code du test. Le standard identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé en **double**. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par "C1". Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par C2.
4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et les échantillons.
5. Distribuer **125 µl** de standard, d'échantillon ou de contrôle dans le puits échantillon.
6. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches. Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) sur l'étiquette.
7. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument. Les résultats sont obtenus en 40 minutes environ.
8. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
9. Éliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

L'instrument calcule pour chaque échantillon une valeur de test qui est le rapport entre sa RFV (valeur de fluorescence relative) et celle du standard gardée en mémoire.

Seuil et interprétation des résultats

| Valeur du test | Interprétation |
|----------------|----------------|
| $i \geq 1,6$ | Négatif |
| $i < 1,6$ | Positif |

Lorsque le résultat est négatif, le patient n'est pas immunisé et il n'y a pas séroconversion.

Lorsque le résultat est positif, il faut déterminer sur ce prélèvement et/ou sur un prélèvement 21 jours plus tard, s'il s'agit d'une séroconversion ou d'une immunité établie, à l'aide de tests spécifiques (pour la recherche des IgG et des IgM).

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Le réactif VIDAS TOXO Compétition est calibré par rapport à des sérums de sérothèque.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont inclus dans chaque coffret VIDAS TXC.

Ces contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2.

Si la valeur des contrôles s'écarte des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

La valeur attendue pour le contrôle négatif doit être comprise dans l'intervalle de confiance indiqué sur la carte MLE.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

L'utilisation de VIDAS TOXO Compétition n'a été validée ni sur prélèvements néonataux (sang de cordon,...) ni sur des prélèvements autres que le sérum humain.

PERFORMANCES

Les études de VIDAS TXC ont donné les résultats suivants

Sensibilité et spécificité :

Une étude multicentrique portant sur 2021 sérums dont plus de 200 sérums de séroconversions, a été réalisée. Les sérums discordants par rapport aux techniques de référence de chaque site ont été testés en Dye-Test et ISAGA. 7 échantillons n'ont pu être classés par les techniques de référence, ces échantillons n'ont pas été pris en compte dans le calcul des performances.

Les résultats ont été les suivants :

| N = 2014 | | Techniques de référence | |
|--------------|---|-------------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Sensibilité : 99,37 % intervalle de confiance à 95% (98,68 - 99,70 %)

Spécificité : 99,34 % intervalle de confiance à 95% (98,54 - 99,70 %)

Le seul sérum de séroconversion non détecté par VIDAS Toxo Compétition présentait les caractéristiques suivantes :

Dye-Test : 2 IU/ml (seuil)

Agglutination Directe Sensibilisée : Négatif

ISAGA : 6 (équivoque).

PRECISION

Reproductibilité intra-essai :

3 échantillons sont dosés dans une même série.

| | n | RFV moyenne | CV (%) |
|----------------|----|-------------|--------|
| négatif | 30 | 2215 | 2,8 |
| positif faible | 26 | 1700 | 2,5 |
| positif fort | 27 | 118 | 6,2 |

Reproductibilité inter-essai

3 échantillons sont dosés en simple dans 17 séries différentes sur un même instrument VIDAS.

| | RFV moyenne | CV (%) |
|----------------|-------------|--------|
| négatif | 2117 | 4,4 |
| positif faible | 1706 | 3,7 |
| positif | 1044 | 4,6 |

REACTIONS CROISEES ET INTERFERENCES

| | | Statut immunologique vis à vis de la toxoplasmose selon les techniques de référence | |
|-----------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| | | Positif | Négatif |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Ac anti nucléaires | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Femmes enceintes multipares | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Facteurs Rhumatoïdes | 4 | 0 | 4 |
| Syphilis | 4 | 4 | 0 |

Aucune influence liée à la présence de ces interférents potentiels n'a été mise en évidence, à l'exception de 2 échantillons positifs pour EBV et d'un échantillon porteur de facteur rhumatoïde qui présentaient des réponses faussement positives avec VIDAS TOXO Compétition.

PREVALENCE

T. gondii est un pathogène strict dont la prévalence est très différente d'un pays à l'autre ou même d'une région à l'autre.

La contamination par *T.gondii* peut varier selon les habitudes culturelles et alimentaires conduisant à une prévalence qui peut aller de moins de 10 % dans certaines régions de l'Europe du nord à plus de 90 en Afrique.

ELIMINATION DES DECHETS









Éliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

TABLE DES SYMBOLES

| Symbole | Signification |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|  | Référence du catalogue |
|  | Dispositif médical de diagnostic in vitro |
|  | Fabricant |
|  | Limites de température |
|  | Utiliser jusque |
|  | Code du lot |
|  | Consulter les instructions d'utilisation |
|  | Contenu suffisant pour "n" tests |

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Competition is an automated qualitative test for use on the VIDAS instruments for the enzyme immunoassay detection of anti-Toxoplasma gondii total Ig in human serum or plasma (lithium heparinate or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Toxoplasma gondii, an obligate intracellular protozoan parasite, is a significant pathogen among humans. The parasite, whose primary host is the Felidae, is scattered in nature and invades all orders of mammals.

Toxoplasmosis is usually benign or asymptomatic, but can have severe consequences if it occurs in immunodeficient subjects or fetuses (2). Congenital toxoplasmosis connected with maternal contamination prior to conception is exceptional and most often occurs in immunocompromised women (7). Women who are seropositive before they become pregnant are essentially protected from transmitting the infection to their unborn child. Women who are seronegative are at risk of becoming infected during gestation (1).

The diagnosis of *Toxoplasma* infection is most commonly made by biological examination: specific immunoglobulin detection (IgM and IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition is a screening test designed to assess the immunity status of patients (3). If the test is positive, seroconversion or acquired immunity should be determined using specific tests for the detection of IgG and IgM.

PRINCIPLE

The assay principle combines an inhibition-competition enzyme immunoassay method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR), serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips. All of the assay steps are performed automatically by the instrument.

The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After dilution, the sample is incubated with the SPR. Anti-Toxoplasma antibodies (IgM and IgG) present in the specimen will bind to the *Toxoplasma gondii* lysate proteins coating the interior of the SPR. Unbound components are eliminated during the wash steps.

The solid phase is then incubated with the conjugate: alkaline phosphatase labeled monoclonal anti-P30 antibodies. This conjugate will compete with the antibodies coated on the interior of the SPR by the Toxoplasma antigen. Unbound conjugate is removed by washing.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm.

The intensity of the fluorescence is inversely proportional to the concentration of immunoglobulins present in the sample. Results are automatically calculated by the instrument and expressed as an index in relation to the calibration curve stored in memory.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

| | | |
|---------------------------------------------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 TXC strips | STR | Ready-to-use. |
| 60 TXC SPRs 2 x 30 | SPR | Ready-to-use. SPRs coated with <i>Toxoplasma gondii</i> lysate proteins, RH Sabin strain grown in mice (8). |
| TXC positive control 1 x 1.9 ml (liquid) | C 1 | Human serum* containing anti-toxoplasma IgG + 1 g/l sodium azide and protein stabilizers. Ready-to-use. Index: range indicated on the MLE card after the following mention : "Control C1 (+) Test Value Range". |
| TXC negative control 1 x 1.9 ml (liquid) | C 2 | Human serum* + 1 g/l sodium azide and protein stabilizers. Ready-to-use. Index: range indicated on the MLE card after the following mention : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Standard 1 x 1.2 ml (liquid) | S 1 | Human serum* containing anti-Toxoplasma IgG + 1 g/l sodium azide and protein stabilizers. Ready-to-use. |
| 1 MLE card | | Specifications sheet containing the factory master calibration data required to calibrate the test. |
| 1 Package insert | | |

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with *Toxoplasma gondii* lysate proteins. Each SPR is identified by the TXC code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **reseal the pouch correctly after opening**.

The Reagent Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the TXC strip

| Wells | Reagents |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Sample well |
| 2 | Sample diluent: TRIS buffer (50 mmol/l) pH 7.3 - Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (400 µl) |
| 3 | Pre-wash solution: TRIS (50 mmol/l) pH 7.3 - Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (600 µl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Wash solution: TRIS (10 mmol/l) pH 7.3 - Tween + 1 g/l sodium azide (600 µl) |
| 6 | Conjugate: Alkaline phosphatase labeled monoclonal anti-P30 antibodies (mouse) + 1 g/l sodium azide (400 µl) |
| 9 | Empty well |
| 10 | Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 µl). |

* IRRITANT reagent:

- **R 36:** Irritating to eyes.
- **S 26:** In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

For further information, refer to the Safety Data Sheet available on request.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip calibrated to dispense 125 µl.
- Powderless, disposable latex gloves.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The optical cuvette with substrate (well 10) contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the risk phrase "R" and the precautions "S" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the Operator's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The VIDAS and mini VIDAS instruments should be regularly cleaned and decontaminated (see the Operator's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS TXC kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

Human serum or plasma (anticoagulants: lithium heparinate, EDTA). It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used. **The use of clearly hemolyzed, lipemic or icteric samples has not been validated.** Sera can be inactivated before testing (30 minutes at 56°C).

Specimen stability

Samples may be freshly collected or stored for 5 days at 2-8°C after which time they must be frozen at -25 ± 6 °C. Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on frozen samples over a period of 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the VIDAS or mini VIDAS Operator's Manual.

Master lot data entry

Before each new lot of reagents is used, specifications (or factory master calibration curve data) must be entered into the instrument (VIDAS or mini VIDAS) using the master lot entry (MLE) card (specifications sheet) included in each kit. If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter data automatically using the MLE card or manually.

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data has been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see Operator's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.
2. Remove one TXC strip and one TXC SPR from the kit for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been resealed after the required SPRs have been removed.**
3. Type or select " TXC " on the instrument to enter the test code. The standard must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by C2.
4. Mix the standard, controls and samples using a Vortex-type mixer.
5. Pipette **125 µl** of standard, sample or control into the sample well.
6. Insert the VIDAS SPRs and strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the three letter assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the VIDAS Operator's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument. The assay will be completed within approximately 40 minutes.
8. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
9. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The instrument calculates a test value for each sample. This value is the ratio between the test's RFV (Relative Fluorescence Value) and the standard stored in memory.

Threshold and interpretation of results

| Test value | Interpretation |
|--------------|----------------|
| $i \geq 1.6$ | Negative |
| $i < 1.6$ | Positive |

If the result is negative, the patient is not immunized and there is no seroconversion.

If the result is positive, it is recommended that the same sample, or another sample taken 21 days later be tested using specific tests (for IgG and IgM detection) to determine whether the result is a seroconversion or an established immunity.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and any other tests performed.

The VIDAS TOXO Competition reagent is calibrated against collection sera.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS TXC kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

The expected negative control value must be included in the range indicated on the MLE card.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient history, and any other tests performed.

VIDAS TOXO Competition has not been validated for use with neonatal specimens (cord blood, etc.) nor with specimens other than human serum.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS TXC gave the following results:

Sensitivity and specificity:

A multicenter study on 2021 sera including 200 sera from seroconversion, was conducted. Sera which gave a discrepant result in comparison with reference techniques were tested in Dye-Test and ISAGA. 7 sera could not be classified by reference techniques and were excluded from the performance calculation.

Results were the following:

| | | N = 2014 | |
|-----------|---|----------------------|-----|
| | | Reference techniques | |
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Sensitivity: 99.37 %. Range at 95% (98.68 – 99.70 %)

Specificity: 99.34%. Range at 95% (98.54 – 99.70 %)

The only serum from seroconversion which was not detected with VIDAS Toxo Competition had the following characteristics:

Dye-Test: 2 IU/ml (threshold value)

Sensitized Direct Agglutination: Negative

ISAGA: 6 (equivocal).

PRECISION

Within-run reproducibility:

3 samples were tested in a same run

| | n | RFV moyenne | CV (%) |
|-------------------|----|-------------|--------|
| negative | 30 | 2215 | 2.8 |
| weakly positive | 26 | 1700 | 2.5 |
| strongly positive | 27 | 118 | 6.2 |

Between-run reproducibility

3 samples were tested singly in 17 different runs on the same VIDAS instrument.

| | mean RFV | CV (%) |
|-----------------|----------|--------|
| negative | 2117 | 4.4 |
| weakly positive | 1706 | 3.7 |
| positive | 1044 | 4.6 |

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

| | | Immunologic status in relation to Toxoplasmosis according to reference techniques | |
|----------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Positive | Negative |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Anti-nuclear antibodies | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Multiparous pregnant women | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Rheumatoid factors | 4 | 0 | 4 |
| Syphilis | 4 | 4 | 0 |

No interference linked to the presence of these potential interferents was revealed, except for 2 EBV-positive samples and one sample with rheumatoid factor which gave false positive results with VIDAS TOXO Competition.

PREVALENCE

T. gondii is a strict pathogen whose prevalence differs from one country to another or even one region to another.

Contamination by *T.gondii* can vary according to cultural customs and eating habits, resulting in a prevalence ranging from less than 10% in certain regions of Northern Europe to more than 90% in Africa.

WASTE DISPOSAL









Dispose of used or unused reagents as well as any other disposable contaminated materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

INDEX OF SYMBOLS

| Symbol | Meaning |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | GB : Catalogue number US : Catalog number |
|  | In Vitro Diagnostic Medical Device |
|  | Manufacturer |
|  | Temperature limitation |
|  | Use by |
|  | Batch code |
|  | Consult Instructions for Use |
|  | Contains sufficient for <n> tests |

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.



 **bioMérieux® SA**
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>



bioMérieux, the blue logo, VIDAS and SPR are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Competition ist ein automatisierter, qualitativer Test für die VIDAS-Linie für den immunenzymatischen Nachweis von Anti-Toxoplasma gondii Gesamt-Ig in Humanserum oder -plasma (Lithiumheparinat oder EDTA) mit der ELFA-Technik (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

Toxoplasma gondii, ein obligat intrazelluläres Protozoon, ist ein beim Menschen häufig vorkommender Krankheitserreger. Der Parasit, zu dessen Hauptwirt die Katze gehört, ist ubiquitär verbreitet und infiziert zahlreiche Säugetieren.

Die Toxoplasmose verläuft im Allgemeinen unauffällig, bei Immunsupprimierten oder Föten kann diese Infektion jedoch schwere Folgen haben (2). Kongenitale Toxoplasmosen in Verbindung mit einer mütterlichen Infektion vor der Schwangerschaft kommen nur ein Ausnahmefällen und meist bei immunsupprimierten Frauen vor (7). Bei Frauen, die vor der Schwangerschaft bereits seropositiv sind, besteht im Grunde kein Risiko für eine fötale Infektion. Seronegative Frauen sind während ihrer Schwangerschaft der Gefahr einer frischen Toxoplasma-Infektion ausgesetzt (1).

Die Diagnostik einer Toxoplasma-Infektion erfolgt vor allem serologisch durch den spezifischen Nachweis von Immunglobulinen (IgM und IgG) (4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition ist ein Screening-Test, mit dem der Immunstatus eines Patienten bestimmt wird (3). Bei einem positiven Testergebnis sollte der Infektionsstatus (Serokonversion oder erworbene Immunität) mit Hilfe spezifischer IgG- und IgM-Bestimmungen abgeklärt werden.

PRINZIP

Das Testprinzip kombiniert eine immunenzymatische Methode, die auf dem Inhibitionsprinzip basiert, mit einer abschließenden Fluoreszenzmessung (ELFA).

Der Festphasenrezeptor (SPR[®]) dient gleichzeitig als Festphase und Pipettiersystem für den Test. Die Testreagenzien befinden sich gebrauchsfertig im Reagenzienriegel. Alle Reaktionsschritte werden automatisch vom Gerät durchgeführt. Das Reaktionsmedium wird dabei mehrfach vom SPR aspiriert und wieder abgegeben.

Die Probe wird verdünnt und im SPR inkubiert. Die in der Probe vorhandenen Anti-Toxoplasma Antikörper (IgM und IgG) binden an die am SPR fixierten *Toxoplasma gondii*-Lysatproteine. Ungebundene Bestandteile werden durch Waschen entfernt.

Die Festphase wird anschließend mit dem Konjugat, einem mit alkalischer Phosphatase markierten, monoklonalen Anti-P30 Antikörper inkubiert. Dabei kommt es zu einer Kompetition des Konjugates mit den Antikörpern des Serums, die durch das Toxoplasma-Antigen an die Festphase gebunden sind. Nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt.

Während des letzten Nachweisschrittes wird das Substrat (4-Methyl-umbelliferyl-phosphat) im SPR aspiriert und wieder abgegeben. Das Enzymkonjugat katalysiert dessen Hydrolyse in ein fluoreszierendes Produkt (4-Methyl-umbelliferon), dessen Fluoreszenz bei 450 nm gemessen wird.

Die Intensität der Fluoreszenz ist der in der Probe vorhandenen Konzentration an Immunglobulinen umgekehrt proportional. Die Ergebnisse werden automatisch durch das Gerät berechnet und als Indexwert in Bezug auf eine gespeicherte Eichkurve angegeben.

PACKUNGSIHALT (60 TESTS)

| | | |
|----------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 TXC Reagenzienriegel | STR | Gebrauchsfertig. |
| 60 TXC Festphasenrezeptoren 2 x 30 | SPR | Gebrauchsfertig. Die SPR sind beschichtet mit <i>Toxoplasma gondii</i> , RH Sabin Stamm, durch Anzucht aus Mäusen gewonnen (8). |
| TXC Positivkontrolle 1 x 1,9 ml (flüssig) | C 1 | Humanserum*, das Anti-Toxoplasma gondii IgG enthält + 1 g/l Natriumazid und Proteinstabilisatoren. Gebrauchsfertig. Index: Der Vertrauensbereich ist auf der MLE Karte nach dem Vermerk: "Control C1 (+) Test Value Range" angegeben. |
| TXC Negativkontrolle 1 x 1,9 ml (flüssig) | C 2 | Humanserum* + 1 g/l Natriumazid und Proteinstabilisatoren. Gebrauchsfertig. Index: der Vertrauensbereich ist auf der MLE Karte nach dem Vermerk: "Control C2 (-) Test Value Range" angegeben. |
| Standard 1 x 1,2 ml (flüssig) | S 1 | Humanserum*, das Anti-Toxoplasma IgG enthält + 1 g/l Natriumazid und Proteinstabilisatoren. Gebrauchsfertig. |
| 1 MLE Karte | | Karte mit den für die Testkalibration erforderlichen Master Lot Daten. |
| 1 Packungsbeilage | | |

* Die Abwesenheit von HBs-Antigen, HIV-1, HIV-2 und HCV-Antikörpern wurde überprüft. Da keine Testmethode die Abwesenheit dieser Agenzien völlig gewährleisten kann, muss dieses Produkt als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden.

Der Festphasenrezeptor

Der SPR wird bei der Herstellung mit *Toxoplasma gondii* Lysatproteinen beschichtet. Jeder SPR ist mit dem Code TXC gekennzeichnet. Nehmen Sie nur die benötigte Anzahl SPR aus dem Beutel. Nicht benötigte SPR im Beutel lassen und diesen **nach jedem Gebrauch gut verschließen**.

Der Reagenzienriegel

Der etikettierte Reagenzienriegel besteht aus 10 folienversiegelten Küvetten. Auf dem Etikett sind der Testcode, die Chargennummer und das Verfallsdatum des Kits im Barcode festgehalten. Die erste Küvette ist perforiert, um das Einpipettieren der Probe zu erleichtern. In der letzten, durchsichtigen Küvette wird die photometrische Messung durchgeführt. Die mittleren Küvetten beinhalten die verschiedenen Testreagenzien.

Beschreibung des TXC Reagenzienriegels

| Küvetten | Reagenzien |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Probenküvette. |
| 2 | Probendiluent: TRIS Puffer (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + Protein- und chemische Stabilisatoren + 1 g/l Natriumazid (400 µl). |
| 3 | Vorwaschpuffer: TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + Protein- und chemische Stabilisatoren + 1 g/l Natriumazid (600 µl). |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Waschpuffer: TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + Natriumazid 1 g/l (600 µl). |
| 6 | Konjugat: mit alkalischer Phosphatase markierter, monoklonaler Anti-P30 Antikörper (Maus) + 1 g/l Natriumazid (400 µl). |
| 9 | Leere Küvette. |
| 10 | Messküvette mit Substrat: 4-Methyl-umbelliferyl-phosphat (0,6 mmol/l) + Diäthanolamin (DEA*) (0,62 mol/l bzw. 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l Natriumazid (300 µl). |

* REIZENDES Reagenz:

- **R 36:** Reizt die Augen.
- **S 26:** Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

Weitere Informationen entnehmen Sie dem Sicherheitsdatenblatt, das auf Anfrage erhältlich ist.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- Pipette mit Einwegspitzen für 125 µl.
- Ungepuderte Einweg-Latexhandschuhe

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für die *in vitro* Diagnostik.
- Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.
- Dieser Kit enthält Bestandteile humanen Ursprungs. Bislang gibt es kein bekanntes Verfahren mit dem völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten. Es ist empfehlenswert, sie als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß zu behandeln (siehe Laboratory Biosafety Manual - WHO - Geneva - neueste Ausgabe).
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Die Reagenzien nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien (oder Verbrauchsmaterialien) aus unterschiedlichen Chargen nicht mischen.
- SPR aus beschädigten (perforierten) Beuteln nicht verwenden.

- Reagenzienriegel mit sichtbaren Beschädigungen (der Aluminiumfolie oder des Kunststoffes) nicht verwenden.
- Verwenden Sie **ungepuderte** Einweg-Handschuhe, da Puder bei einer Reihe von Enzymimmunoassays zu falschen Ergebnissen geführt hat.
- Die Reagenzien des Kits enthalten ein Konservierungsmittel (Natriumazid), das mit Blei- oder Kupferrohren zu explosiven Metallaziden reagieren kann. Beim Ableiten in die Kanalisation sollten die Reagenzien immer mit reichlich Wasser verdünnt werden.
- Das Substrat (Küvette 10) enthält ein reizendes Agens (6,6% Diäthanolamin). Beachten Sie den oben genannten Gefahrenhinweis „R“ und die Sicherheitsratschläge „S“.
- Verschüttete oder übergelaufene Flüssigkeiten mit flüssigem Detergenz oder einer Haushaltsbleichlösung mit mindestens 0,5% Natriumhypochlorit zur Inaktivierung infektiösen Materials behandeln. Bei Verunreinigung auf oder im VIDAS-Gerät folgen Sie bitte den Anweisungen des Handbuchs. Lösungen, die Bleichmittel enthalten, dürfen nicht in den Autoklaven gestellt werden.
- Das VIDAS und das mini VIDAS Gerät regelmäßig reinigen und dekontaminieren (siehe Benutzerhandbuch).

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

- Den VIDAS TXC Kit bei 2-8°C lagern.
- **Die Reagenzien nicht einfrieren.**
- **Nicht gebrauchte Reagenzien wieder bei 2-8°C lagern.**
- Überprüfen Sie nach dem Öffnen des Kits den (die) SPR-Beutel. Bei Beuteln, die nicht korrekt verschlossen oder die beschädigt sind, dürfen die SPR nicht verwendet werden.
- **Den SPR-Beutel mit dem Trockenmittel nach jedem Gebrauch wieder sorgfältig verschließen, um die Haltbarkeit der SPR nicht zu beeinträchtigen und den gesamten Kit wieder bei 2-8°C lagern.**
- Unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen sind alle Bestandteile bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN

Probenart und Probengewinnung

Humanserum oder -plasma (Antikoagulanzen: Lithiumheparinat, EDTA). Es ist empfehlenswert, dass jedes Labor die Kompatibilität der verwendeten Probenentnahmeröhrchen überprüft. **Die Verwendung von Proben mit sicht-baren hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Anzeichen wurde nicht validiert.** Die Seren können vor der Testung inaktiviert werden (30 min bei 56°C).

Haltbarkeit der Proben

Die Proben können frisch gewonnen oder bei 2-8°C maximal 5 Tage aufbewahrt werden; darüber hinaus bei -25 ± 6 C einfrieren.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

Eine Studie, die mit 2 Monate lang eingefrorenen Seren durchgeführt wurde, hat gezeigt, dass die Qualität der Ergebnisse nicht beeinträchtigt wird.

ARBEITSANLEITUNG

Ausführliche Informationen entnehmen Sie dem VIDAS oder mini VIDAS Benutzerhandbuch.

Eingabe der Master Lot Daten

Für jede neue Charge müssen **vor Testbeginn** die Master Lot Daten (Master Lot Entry) mit der mitgelieferten MLE-Karte in das Gerät (VIDAS oder mini VIDAS) eingegeben werden, andernfalls kann das Gerät keine Ergebnisse ausdrucken. Die Master Lot Daten werden für jede Charge nur einmal eingegeben.

Die Dateneingabe mit der MLE-Karte kann automatisch oder manuell durchgeführt werden.

Kalibration

Für jede neue Reagenziencharge muss mit dem in der Packung enthaltenen Standard nach der Eingabe der chargenspezifischen Daten eine Kalibration durchgeführt werden. Die Rekalibration wird anschließend 14-tägig durchgeführt. Dadurch wird die Eichkurve gerätespezifisch justiert und eventuelle lagerungsbedingte Veränderungen des Reagenzes kompensiert.

Der mit S1 identifizierte Standard muss **doppelt** getestet werden (siehe Benutzerhandbuch). Der Wert des Standards muss innerhalb des festgelegten RFV-Bereiches („Relativer Fluoreszenzwert“) liegen. Ist dies nicht der Fall, wiederholen Sie die Kalibration.

Testdurchführung

1. Nehmen Sie nur die erforderlichen Reagenzien aus dem Kühlschrank und lassen Sie sie vor Gebrauch mindestens 30 min bei Raumtemperatur stehen.
2. Verwenden Sie für jede zu testende Probe bzw. Kontrolle oder Standard einen TXC Reagenzienriegel und einen TXC SPR. **Vergewissern Sie sich, dass der Beutel mit den SPR nach jedem Gebrauch wieder gut verschlossen wird.**
3. Drücken oder wählen Sie „TXC“, um den Testcode einzugeben. Der Standard muss unbedingt mit „S1“ identifiziert und **doppelt** getestet werden. Wenn die Positivkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit „C1“. Wenn die Negativkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit „C2“.
4. Den Standard, die Kontrollen und die Proben auf dem Vortex gut homogenisieren.
5. Pipettieren Sie **125 µl** Standard, Probe oder Kontrolle in die Probenküvette.
6. Führen Sie die SPR und Reagenzienriegel in das Gerät ein. Vergewissern Sie sich, dass die Farb- und Buchstabencodierung auf dem SPR-Etikett mit der auf dem Reagenzienriegel übereinstimmt.
7. Starten Sie den Test (siehe Benutzerhandbuch). Alle weiteren Schritte werden automatisch vom VIDAS-Gerät durchgeführt. Die Ergebnisse liegen nach ca. 40 min vor.
8. Nehmen Sie nach Beendigung des Tests die SPR und Riegel aus dem Gerät.
9. Entsorgen Sie die SPR und Reagenzienriegel nach Gebrauch in einem geeigneten Abfallbehälter.

ERGEBNISSE UND INTERPRETATION

Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom VIDAS-Gerät ausgewertet. Für jede Probe werden zwei Fluoreszenzmessungen in der Messküvette des Reagenzienriegels durchgeführt. Die erste Messung ist eine Hintergrundmessung der Küvette und des Substrates, bevor der SPR in das Substrat eintaucht. Die zweite Messung erfolgt nach der Inkubation des Substrates mit dem im SPR vorhandenen Enzym. Aus der Differenz beider Messungen ergibt sich ein relativer Fluoreszenzwert (RFV), der auf dem Ergebnisblatt ausgedruckt wird.

Das Gerät berechnet für jede Probe einen Testwert. Hierfür wird der relative Fluoreszenzwert (RFV) des Tests durch den RFV des gespeicherten Standards dividiert.

Grenzwert und Interpretation der Ergebnisse

| Testwert | Interpretation |
|--------------|----------------|
| $i \geq 1,6$ | negativ |
| $i < 1,6$ | positiv |

Bei einem negativen Ergebnis liegt keine Immunität und keine Serokonversion vor.

Bei einem positiven Ergebnis ist es empfehlenswert, mit dieser und/oder einer 21 Tage später abgenommenen Probe anhand spezifischer Tests (zum Nachweis von IgG und IgM) geprüft werden, ob eine Serokonversion oder eine schützende Immunität vorliegt.

Die Ergebnisse des Tests müssen unter Berücksichtigung der klinischen Daten und gegebenenfalls anderer Laboruntersuchungen interpretiert werden.

VIDAS TOXO Competition ist in Bezug auf Stammseren kalibriert.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jeder VIDAS TXC Kit enthält eine Positiv- und eine Negativkontrolle.

Diese Kontrollen müssen für jede neu angebrochene Packung getestet werden, um einen lieferungs- und lagerungsbedingten Qualitätsverlust der Reagenzien auszuschließen. Zur Qualitätssicherung müssen diese Kontrollen außerdem nach jeder Rekalibration getestet werden. Damit das Gerät den Wert der Kontrollen überprüfen kann, müssen die Kontrollen mit C1 und C2 identifiziert werden.

Bei einer Abweichung der Kontrollwerte von den Sollwerten können die Ergebnisse nicht validiert werden.

Der Wert der Negativkontrolle muss innerhalb des auf der MLE Karte angegebenen Sollwertes liegen.

Hinweis:

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

Bei einigen Seren, die Antikörper enthalten, die gegen die Bestandteile des Reagenzes gerichtet sind, kann es zu Interferenzen kommen. Bei der Interpretation der Ergebnisse dieses Tests müssen deshalb der klinische Hintergrund des Patienten und gegebenenfalls andere Laboruntersuchungen berücksichtigt werden.

VIDAS TOXO Competition wurde nicht zur Testung von neonatalen Proben (Nabelschnurblut ...) oder anderen Proben als Humanserum validiert.

PERFORMANCE

Studien, die mit dem VIDAS TXC durchgeführt wurden, ergaben folgende Ergebnisse.

Sensitivität und Spezifität:

In einer Multicenter-Studie wurden 2.021 Seren, darunter 200 Seren mit Serokonversion, untersucht. Seren, die im Vergleich zu Referenzmethoden diskrepanz reagierten, wurden mit dem Dye-Test und dem ISAGA überprüft. 7 Seren konnten mit Referenzmethoden nicht klassifiziert werden und wurden bei der Performance-Berechnung nicht berücksichtigt.

Es wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

| N = 2014 | | Referenzmethoden | |
|----------|---|------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS | + | 1101 | 6 |
| TXC | - | 7 | 900 |

Sensitivität: 99,37 %. 95% Konfidenzintervall (98,68 - 99,70 %)

Spezifität: 99,34 %. 95% Konfidenzintervall (98,54 - 99,70 %)

Das einzige Serum mit einer Serokonversion, das nicht mit dem VIDAS Toxo Competition detektiert wurde, zeigte folgende Ergebnisse:

Dye-Test: 2 IU/ml (Grenzwert)
 Direkte Agglutination: negativ
 ISAGA: 6 (zweifelhaft).

PRÄZISION

Intra-Assay Reproduzierbarkeit:

3 Proben wurden in derselben Testserie getestet.

| | n | RFV Mittelwert | VK (%) |
|-----------------|----|----------------|--------|
| negativ | 30 | 2215 | 2,8 |
| schwach positiv | 26 | 1700 | 2,5 |
| stark positiv | 27 | 118 | 6,2 |

Inter-Assay Reproduzierbarkeit:

Einfachbestimmung von 3 Proben in 17 verschiedenen Testserien auf demselben VIDAS-Gerät.

| | RFV Mittelwert | VK (%) |
|-----------------|----------------|--------|
| negativ | 2117 | 4,4 |
| schwach positiv | 1706 | 3,7 |
| positiv | 1044 | 4,6 |

KREUZREAKTIONEN UND INTERFERENZEN

| | n | Immunologischer Status in Bezug auf Toxoplasmose gemäß Referenzmethoden | |
|------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------|---------|
| | | positiv | negativ |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Anti-nukleäre Ak | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Schwangere (Multipara) | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Rheumafaktoren | 4 | 0 | 4 |
| Syphilis | 4 | 4 | 0 |

Es wurden keine Interferenzen durch die Anwesenheit dieser potenziell interferierenden Faktoren nachgewiesen, bis auf 2 EBV-positive und eine Rheumafaktor-positive Probe, die mit dem VIDAS TOXO Competition zu falsch positiven Ergebnissen führten.

PRÄVALENZ

Toxoplasma gondii ist ein Erreger, dessen Prävalenz von Land zu Land oder sogar von Region zu Region stark variiert. Die Zahl der *T. gondii* Infektionen ist von kulturellen Faktoren und Essgewohnheiten abhängig. Daraus resultieren Prävalenzen, die einerseits weniger als 10% (in einzelnen Regionen Nordeuropas) und andererseits mehr als 90% (in Afrika) betragen können.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE









Entsorgen Sie alle gebrauchten und nicht gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.

Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Fest- und Flüssigabfälle gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

LITERATUR

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

SYMBOLE

| Symbol | Bedeutung |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
|  | Bestellnummer |
|  | In Vitro Diagnostikum |
|  | Hersteller |
|  | Zulässiger Temperaturbereich |
|  | Verwendbar bis |
|  | Chargenbezeichnung |
|  | Gebrauchsanweisung beachten |
|  | Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen |

VIDAS[®] TOXO Compétition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Compétition es una prueba cualitativa automatizada en los sistemas VIDAS, que permite la detección inmunoenzimática de las Ig totales *anti-Toxoplasma gondii* en suero o plasma humano (heparinato de litio o EDTA) por técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCCION Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

Toxoplasma gondii, protozoo, parásito intracelular obligado, es un patógeno ampliamente extendido en el hombre. El parásito, cuyo huesped definitivo es el gato, está diseminado en la naturaleza e infecta a numerosos mamíferos.

La toxoplasmosis es generalmente muy discreta en el sujeto inmunocompetente, pero los daños fetales, así como en inmunodeprimidos, pueden ser graves (2). Las toxoplasmosis congénitas unidas a una contaminación previa a la concepción son excepcionales y sobrevienen muy frecuentemente en mujeres inmunodeprimidas (7). Las pacientes seronegativas son susceptibles de ser infectadas durante su embarazo (1).

El diagnóstico de una infección por *T.gondii* se basa esencialmente en la exploración biológica : detección de inmunoglobulinas específicas (IgM y IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Compétition es una prueba de detección destinada a evaluar el estado inmunitario de los pacientes (3). En caso de positividad, el diagnóstico debe ser precisado (seroconversión o inmunidad adquirida) con la ayuda de pruebas específicas para la detección de IgG y de IgM.

PRINCIPIO

El principio de determinación asocia el método inmunoenzimático por inhibición a una detección final por fluorescencia (ELFA).

El cono de un solo uso sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la reacción inmunológica están listos al empleo y previamente distribuidos en el cartucho. Todas las etapas de la prueba se realizan automáticamente por el sistema.

Están constituidas por una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio de reacción.

Después de diluir, la muestra se incuba con el cono. Este, sensibilizado previamente por proteínas de un lisado de *Toxoplasma Gondii*, fija entonces los anticuerpos anti-Toxoplásmicos (IgM e IgG) presentes en la muestra. Los componentes no unidos de la muestra son eliminados por lavados.

La fase sólida es seguidamente incubada con el conjugado : anticuerpo monoclonal anti-P30 marcado con la fosfatasa alcalina. Este conjugado entra en competición con los anticuerpos del suero unidos sobre la fase sólida por el antígeno toxoplásmico. El conjugado no unido es eliminado por lavado.

Durante la etapa final de revelado, el sustrato (4-Metil-umbeliferona) es aspirado después expulsado del interior del cono ; el enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida es medida a 450 nm.

El valor de la señal de fluorescencia es inversamente proporcional a la cantidad de inmunoglobulinas presentes en la muestra. Los resultados se analizan automáticamente por el sistema y se expresan en forma de índice respecto a un estándar.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (60 DETERMINACIONES) :

| | | |
|-------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 cartuchos TXC | STR | Listos al empleo. |
| 60 conos TXC 2 x 30 | SPR | Listos al empleo. Conos sensibilizados con antígeno toxoplásmico, cepa RH Sabin cultivada en ratón (8). |
| Control positivo TXC 1 x 1,9 ml (líquido) | C 1 | Suero humano * con IgG anti- toxoplásmicas + azida sódica 1 g/l y estabilizantes proteicos. Listo al empleo. Índice : el intervalo de confianza está indicado en la tarjeta MLE con la indicación : "Control C1 (-) Test Value Range". |
| Control negativo TXC 1 x 1,9 ml (líquido) | C 2 | Suero humano* + azida sódica 1 g/l y estabilizantes proteicos. Listo al empleo. Índice : el intervalo de confianza está indicado en la tarjeta MLE con la indicación : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Estándar 1 x 1,2 ml (líquido) | S 1 | Suero humano* con IgG anti- Toxoplásmicas + azida sódica 1 g/l y estabilizantes proteicos. Listo al empleo. |
| 1 Tarjeta MLE | | Ficha de especificaciones con los datos de fabricación necesarios para la calibración de la prueba. |
| 1 Ficha técnica | | |

*Se ha verificado la ausencia de antígeno HBs, de anticuerpos anti-VIH1, anti-VIH2 y de anticuerpos anti-VHC . Sin embargo, ninguna prueba puede aportar una garantía absoluta , este producto debe ser manipulado con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos.

El cono

El cono se sensibiliza durante su fabricación con proteínas de un lisado de *Toxoplasma gondii*. Cada cono está identificado con el código TXC. Utilizar únicamente el número de conos necesario y dejar los conos no usados en su bolsa. **Cerrar bien la bolsa después de su apertura.**

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 pocillos recubiertos de una hoja de aluminio sellada y etiquetada. La etiqueta incluye un código de barras donde se indica el código de la prueba realizada, el número de lote y la fecha de caducidad del equipo. El primer pocillo tiene una parte precortada para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorescencia. Los diferentes reactivos necesarios para el análisis se incluyen en los pocillos intermedios.

Descripción del cartucho TXC

| Pocillo | Reactivos |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Pocillo de la muestra |
| 2 | Diluyente de la muestra : Tampon TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + estabilizantes proteicos y químicos + azida sódica 1 g/l (400 µl) |
| 3 | Tampón de prelavado : TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + estabilizantes proteicos y químicos + azida sódica 1 g/l (600 µl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Tampón de lavado : TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + azida sódica 1 g/l (600 µl) |
| 6 | Conjugado : Anticuerpo monoclonal anti-P30 (ratón) marcado con fosfatasa alcalina + azida sódica 1 g/l (400 µl) |
| 9 | Pocillo vacío |
| 10 | Cubeta de lectura con sustrato : 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/l es decir 6,6%, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 µl). |

* Reactivo IRRITANTE :

- **R 36** : irritante para los ojos.
- **S 26** : en caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente y abundantemente con agua y consultar a un especialista.

Para más información, consultar la ficha de seguridad disponible bajo pedido.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Pipeta de punta desechable de 125 µl.
- Guantes sin talco de un solo uso.

PRECAUCIONES DE UTILIZACION

- Para diagnóstico *in vitro* únicamente.
- Para uso profesional únicamente.
- Este equipo contiene componentes de origen humano. Ningún método de análisis actualmente conocido puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible. Se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (consultar el Manual de bioseguridad en el laboratorio – OMS - Ginebra - última edición).
- Este equipo contiene componentes de origen animal. El certificado de origen y/o el estado sanitario de los animales no pueden garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible, se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir ; no inhalar).
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada sobre la etiqueta del envase.
- No mezclar los reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.

- No utilizar los conos si la bolsa está perforada.
- No utilizar cartuchos visiblemente alterados (hoja de aluminio o plástico dañados).
- No utilizar **guantes con talco**, el talco puede originar falsos resultados con ciertas determinaciones inmunoenzimáticas.
- Los reactivos del equipo contienen un conservante (azida sódica), susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas explosivas . Se recomienda enjuagar con agua todo desecho para evitar su acumulación.
- El sustrato (pocillo 10 del cartucho) contiene un agente irritante (dietanolamina 6,6%). Tener en cuenta la frase de riesgo "R" y los consejos de prudencia "S" citados anteriormente.
- Las proyecciones deben ser tratadas con un líquido detergente o una solución de lejía con al menos 0,5 % de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de Utilización para eliminar las proyecciones sobre o en el interior del sistema. No autoclavar productos con lejía.
- Los elementos del módulo analítico VIDAS y mini VIDAS deben ser regularmente limpiados y descontaminados (referirse al Manual de Utilización).

CONDICIONES DE CONSERVACION

- Conservar el equipo VIDAS TXC a 2-8°C.
- **No congelar los reactivos.**
- **Dejar a 2-8°C los reactivos no utilizados.**
- Cuando se abra el equipo, verificar la integridad y el correcto cierre de (de las) bolsa(s) de los conos. En caso contrario, no utilizar los conos.
- **Después de cada utilización , cerrar bien la bolsa con el deshidratante para mantener la estabilidad de los conos y conservar todo el equipo a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada sobre la etiqueta del equipo, si se conserva en las condiciones recomendadas.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de muestra :

Sueros o plasmas humanos (anticoagulantes : heparinato de litio, EDTA). Se recomienda a cada laboratorio validar el tipo de tubo de toma de muestra utilizado. **No se ha validado la utilización de muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas.** Los sueros pueden estar inactivados antes de ser analizados (30 minutos a 56°C).

Estabilidad de las muestras

Las muestras pueden ser recientes o conservadas 5 días a 2-8°C como máximo ; si no congelarlas a -25 ± 6 °C. Evitar las congelaciones y descongelaciones sucesivas. Un estudio realizado sobre muestras congeladas durante dos meses, no ha mostrado ninguna influencia sobre la calidad de los resultados.

TECNICA

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización del VIDAS o mini VIDAS.

Introducción de los datos de la tarjeta MLE

Cuando se abra un nuevo lote, las especificaciones (o datos de fabricación) deben ser introducidos en el sistema (VIDAS o mini VIDAS) con la ayuda de la tarjeta MLE (ficha de especificaciones) incluida en cada equipo. Si esta operación no se efectúa **antes de comenzar las pruebas**, el sistema no podría editar los resultados. Estas especificaciones se introducen solo una vez para cada lote.

Es posible introducir las especificaciones manualmente o de forma automática gracias a la tarjeta MLE.

Calibración

La calibración, con la ayuda del calibrador suministrado en el equipo, debe efectuarse con cada nuevo lote que se abra después de introducir las especificaciones del lote, y después cada 14 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada instrumento y a la eventual evolución del reactivo en el tiempo.

El calibrador, identificado por S1, será analizado **en doble** (ver Manual de Utilización). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fijados. Si no es así, la media no será memorizada : repetir una calibración .

Realización de la prueba

1. Sacar únicamente los reactivos necesarios, dejarles 30 minutos a temperatura ambiente antes de su utilización.
2. Utilizar un cartucho TXC y un cono TXC para cada muestra, control o calibrador a analizar. **Verificar que la bolsa de conos ha sido bien cerrada después de cada utilización .**
3. Teclear o seleccionar " TXC " en el sistema para introducir el código de la prueba. El calibrador identificado obligatoriamente por "S1", debe analizarse **en doble**. Si debe procesarse el control se identificará por "C1". Si debe procesarse el control negativo, se identificará por C2.
4. Homogeneizar con la ayuda de un agitador tipo vortex el calibrador , los controles y las muestras.
5. Distribuir **125 µl** de muestra, calibrador o controles en el pocillo de muestra.
6. Colocar en el sistema los conos y los cartuchos. Verificar bien la concordancia de los códigos entre el cono y el cartucho (colores y letras) impresos sobre la etiqueta.
7. Iniciar el análisis (ver Manual de Utilización) . Todas las etapas son creadas automáticamente por el sistema. Los resultados se obtienen en 40 minutos aproximadamente.
8. Al finalizar el análisis , retirar los conos y los cartuchos del sistema.
9. Eliminar los conos y los cartuchos utilizados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACION

Una vez finalizada la prueba, los resultados se analizan automáticamente por el sistema informático. El sistema efectúa dos lecturas de fluorescencia en la cubeta de lectura para cada determinación. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta del sustrato antes de ponerse en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con el enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) es el resultado de la diferencia de estas dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados.

El sistema calcula para cada muestra un valor para la determinación que es la relación entre su RFV (valor de fluorescencia relativo) y el del estándar memorizado.

Umbral e interpretación de los resultados

| Valor de la prueba | Interpretación |
|--------------------|----------------|
| $i \geq 1,6$ | Negativo |
| $i < 1,6$ | Positivo |

Cuando el resultado es negativo, el paciente no está inmunizado y no hay seroconversión.

Cuando el resultado es positivo, debe determinarse sobre esta muestra y/o sobre una muestra extraída 21 días más tarde , si se trata de una seroconversión o de una inmunidad establecida, con la ayuda de pruebas específicas (detección de IgG y de IgM).

La interpretación de los resultados de la prueba debe hacerse teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otras pruebas.

El reactivo VIDAS TOXO Compétition está calibrado respecto a sueros de seroteca.

CONTROL DE CALIDAD

Se incluye un control positivo y un control negativo en cada equipo VIDAS TXC.

Estos controles deben ser utilizados cuando se abra un nuevo equipo con el fin de verificar la ausencia de alteración de los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de estos controles. Para que el sistema pueda verificar el valor de los controles, deben ser identificados por C1 y C2.

Si el valor de los controles se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

El valor esperado para el control negativo debe estar comprendido en el intervalo de confianza indicado en la tarjeta MLE

Advertencia

Es responsabilidad del usuario garantizar que el control de calidad se realiza conforme a la legislación local en vigor.

LIMITES DE LA PRUEBA

Se puede encontrar una interferencia con ciertos sueros con anticuerpos dirigidos contra los componentes del reactivo, por esto los resultados de esta determinación deben ser interpretados dentro del cuadro clínico global.

La utilización de VIDAS TOXO Compétition no se ha validado ni sobre muestras neonatales (sangre de cordón,...) ni sobre otro tipo de muestras distintas al suero humano.

PRESTACIONES TECNICAS

Los estudios de VIDAS TXC han dado los siguientes resultados

Sensibilidad y especificidad :

Se ha realizado un estudio multicéntrico realizado sobre 2021 sueros, de los cuales 200 sueros eran de seroconversiones. Los sueros discordantes respecto a las técnicas de referencia de cada sitio se analizaron por Dye-Test e ISAGA. 7 muestras no pudieron ser clasificadas por las técnicas de referencia, estas muestras no se tuvieron en cuenta en el cálculo de las prestaciones .

Los resultados han sido los siguientes :

| N = 2014 | | Técnicas de referencia | |
|-----------|---|------------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Sensibilidad : 99,37 % intervalo de confianza del 95% (98,68 - 99,70 %)

Especificidad : 99,34 % intervalo de confianza del 95% (98,54 - 99,70 %)

El umbral de seroconversión no detectado por VIDAS Toxo Compétition presentaba las siguientes características :

Dye-Test : 2 IU/ml (umbral)

Agglutinación Directa Sensibilizada : Negativo

ISAGA : 6 (dudoso).

PRECISION**Reproductibilidad intra-serie :**

Se analizaron 3 muestras en una misma serie.

| | n | RFV media | CV (%) |
|-----------------|----|-----------|--------|
| negativo | 30 | 2215 | 2,8 |
| positivo débil | 26 | 1700 | 2,5 |
| positivo fuerte | 27 | 118 | 6,2 |

Reproductibilidad inter-serie

Se valoraron 3 muestras en simple en 17 series diferentes sobre un mismo instrumento VIDAS.

| | RFV media | CV (%) |
|----------------|-----------|--------|
| negativo | 2117 | 4,4 |
| positivo débil | 1706 | 3,7 |
| positivo | 1044 | 4,6 |

REACCIONES CRUZADAS E INTERFERENCIAS

| | | Estado inmunológico frente a la toxoplasmosis según las técnicas de referencia | |
|-------------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Ac anti nucleares | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Mujeres múltiples embarazadas | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Factores reumatoides | 4 | 0 | 4 |
| Sífilis | 4 | 4 | 0 |

No se observó ninguna influencia ligada a la presencia de estos interferencias potenciales , con la excepción de 2 muestras positivas para EBV y de una muestra con factor reumatoide que presentaron resultados falsos positivos con VIDAS TOXO Compétition.

PREVALENCIA

T. gondii es un patógeno cuya prevalencia es muy diferente de un país a otro o incluso de una región a otra. La contaminación por *T. gondii* puede variar según los hábitos culturales y alimentarios conduciendo a una prevalencia que puede llegar a menos del 10 % en ciertas regiones de la Europa del Norte y a más del 90 en Africa.

ELIMINACION DE DESECHOS









Eliminar los reactivos utilizados o no utilizados así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de sus desechos y efluentes según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

TABLA DE SIMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Número de catálogo |
|  | Producto sanitario para diagnóstico in vitro |
|  | Fabricante |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Código de lote |
|  | Consulte las instrucciones de uso |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |

VIDAS® TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Competition è un test qualitativo, automatizzato sugli strumenti VIDAS, per la determinazione immunoenzimatica delle Ig totali anti-Toxoplasma gondii nel siero o nel plasma umano (eparinato di litio o EDTA) con la tecnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Toxoplasma gondii, protozoo, parassita intracellulare obbligato, è un patogeno molto diffuso nell'uomo. Il parassita, il cui ospite definitivo è il gatto, è disseminato in natura ed infetta numerosi altri mammiferi.

La toxoplasmosi è generalmente quasi inapparente nei soggetti immunocompetenti, ma può provocare gravi conseguenze quando colpisce i feti o soggetti immunodeficienti (2). Le toxoplasmosi congenite conseguenti ad una contaminazione della madre antecedente al concepimento sono eccezionali e si verificano la maggior parte delle volte in donne immunodepresse (7). Quelle che invece sono sieronegative possono contrarre l'infezione durante la gravidanza (1).

La diagnosi di una infezione da *T. gondii* si basa essenzialmente sulle indagini biologiche: ricerca delle immunoglobuline specifiche (IgM e IgG) (4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition è un test di screening destinato a valutare lo stato immunitario dei pazienti (3). In caso di positività, occorre determinare, tramite test specifici per la ricerca delle IgG e delle IgM, se si tratta di sieronegazione o immunità acquisita.

PRINCIPIO

Il principio del dosaggio associa una tecnica immunoenzimatica per competizione ad una rivelazione finale in fluorescenza (ELFA).

I coni, monouso, servono sia da fase solida che da sistema di pipettamento. Gli altri reattivi della reazione immunologica sono pronti per l'uso e pre-distribuiti nella cartuccia. Tutte le fasi del test vengono eseguite automaticamente dallo strumento.

Esse consistono in una sequenza di cicli di aspirazione/erogazione del mezzo di reazione.

Dopo essere stato diluito, il campione viene incubato nel cono. Il cono, sensibilizzato con proteine di un lisato di *Toxoplasma Gondii*, fissa quindi gli anticorpi anti-Toxoplasma (IgM e IgG) presenti nel campione. I componenti del campione non legati sono eliminati con lavaggi.

La fase solida viene quindi incubata con il coniugato: anticorpo monoclonale anti-P30 marcato con fosfatasi alcalina. Questo coniugato entra in competizione con gli anticorpi del siero fissati sulla fase solida tramite gli antigeni del Toxoplasma. Il coniugato non legato viene eliminato con lavaggi.

Nella fase finale di rivelazione il substrato (4-Metil-umbelliferil fosfato) viene aspirato/rilasciato dal cono; l'enzima del coniugato ne catalizza l'idrolisi in un prodotto fluorescente (4-Metil-umbelliferone). L'intensità della fluorescenza emessa è misurata a 450 nm.

Il valore del segnale di fluorescenza è inversamente proporzionale alla quantità di immunoglobuline presenti nel campione. I risultati sono analizzati automaticamente dallo strumento e sono espressi come indice in rapporto ad uno standard.

COMPOSIZIONE DELLA CONFEZIONE (60 DETERMINAZIONI):

| | | |
|------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 cartucce TXC | STR | Pronte per l'uso. |
| 60 coni TXC 2 x 30 | SPR | Pronti per l'uso. Coni sensibilizzati con antigene <i>Toxoplasma gondii</i> , ceppo RH Sabin, coltivato su topi (8). |
| Controllo positivo TXC 1 x 1,9 ml (liquido) | C 1 | Siero umano* contenente IgG anti-Toxoplasma + 1 g/l di sodio azide e stabilizzanti proteici. Pronto per l'uso. Indice: l'ambito fiduciario è indicato sulla card MLE con la menzione: "Control C1 (+) Test Value Range". |
| Controllo negativo TXC 1 x 1,9 ml (liquido) | C 2 | Siero umano* + 1 g/l di sodio azide e stabilizzanti proteici. Pronto per l'uso. Indice: l'ambito fiduciario è indicato sulla card MLE con la menzione: "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Standard 1 x 1,2 ml (liquido) | S 1 | Siero umano* contenente IgG anti-Toxoplasma + 1 g/l di sodio azide e stabilizzanti proteici. Pronto per l'uso. |
| 1 Scheda MLE | | Scheda delle specifiche tecniche contenente i dati forniti dalla casa produttrice per la calibrazione del test. |
| 1 Scheda tecnica | | |

* E' stata verificata l'assenza di antigeni HBs, di anticorpi anti-HIV1, anti-HIV2 e di anticorpi anti-HCV. Tuttavia, poiché nessun test può darne garanzia assoluta, questo prodotto deve essere manipolato con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

Il cono

Durante la produzione il cono viene sensibilizzato con le proteine di un lisato di *Toxoplasma gondii*. Ogni cono è contrassegnato con il codice TXC. Prelevare soltanto il numero di coni necessario e lasciare i coni non utilizzati nel loro sacchetto. **Richiudere accuratamente il sacchetto dopo l'apertura.**

La cartuccia

La cartuccia è composta da 10 pozzetti ricoperti da un foglio di alluminio sigillato ed etichettato. Sopra vi è stampato un codice a barre che corrisponde al tipo di test da realizzare, al numero di lotto utilizzato ed alla data di scadenza della confezione. L'etichetta, in corrispondenza del primo pozzetto, è ritagliata per facilitare l'introduzione del campione. L'ultimo pozzetto è una cuvetta ottica che consente la lettura in fluorimetria. I pozzetti intermedi contengono i diversi reattivi necessari per l'analisi.

Descrizione della cartuccia TXC

| Pozzetto | Reattivi |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Pozzetto del campione. |
| 2 | Diluyente del campione : Tampone TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + stabilizzanti proteici e chimici + 1 g/l di sodio azide (400 µl). |
| 3 | Tampone di prelavaggio : TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + stabilizzanti proteici e chimici + 1 g/l di sodio azide (600 µl). |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Tampone di lavaggio : TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + 1 g/l di sodio azide (600 µl). |
| 6 | Coniugato : Anticorpo monoclonale anti-P30 (topo) marcato con fosfatasi alcalina + 1 g/l di sodio azide (400 µl). |
| 9 | Pozzetto vuoto. |
| 10 | Cuvetta di lettura contenente il substrato : 4 Metil-umbelliferil fosfato(0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA* (0,62 mol/l pari al 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l di sodio azide (300 µl). |

* Reattivo IRRITANTE :

- **R 36:** Irritante per gli occhi.
 - **S 26:** In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.
- Per informazioni più complete consultare la Scheda di Sicurezza disponibile su richiesta.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Pipetta con puntali monouso per la distribuzione di 125 µl.
- Guanti di lattice monouso senza talco.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Unicamente per diagnostica *in vitro*.**
- **Esclusivamente per uso professionale.**
- **Questa confezione contiene componenti di origine umana. Poiché nessuno dei metodi di analisi attualmente conosciuti può garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso riservate ai prodotti potenzialmente infettivi (consultare Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - ultima edizione).**
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.
- Non mescolare i reattivi (o i consumabili) di lotti differenti.

- Non utilizzare i coni il cui sacchetto sia forato.
- Non utilizzare le cartucce visibilmente alterate (foglio di alluminio o plastica danneggiati).
- I guanti **non devono essere talcati** poiché il talco, in alcuni test immunoenzimatici, può causare falsi risultati.
- I reattivi della confezione contengono un conservante (sodio azide) suscettibile di reagire con le tubature dei lavelli in piombo o in rame formando azidi metalliche esplosive. Si raccomanda di sciacquare con acqua dopo ogni operazione di scarico.
- Il substrato (pozzetto 10 della cartuccia) contiene un agente irritante (dietanolamina al 6,6%). Prestare attenzione alla frase di rischio "R" ed ai consigli di prudenza "S" sopra riportati.
- Versamento di liquidi : in caso di versamento di liquidi si deve trattare con detergenti o con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %. Per eliminare liquidi versati all'interno o sullo strumento, consultare il Manuale d'Uso. Non autoclavare i prodotti trattati con ipoclorito di sodio.
- Gli elementi del modulo analitico VIDAS e mini VIDAS devono essere regolarmente puliti e decontaminati (consultare il Manuale d'Uso).

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

- Conservare la confezione VIDAS TXC a 2-8°C.
- **Non congelare i reattivi.**
- **Lasciare a 2-8°C i reattivi non utilizzati.**
- All'apertura della confezione, verificare l'integrità e la corretta chiusura del(dei) sacchetto(i) dei coni. In caso contrario, non utilizzare i coni.
- **Per conservare la stabilità dei coni, richiudere accuratamente, dopo ogni utilizzazione, il sacchetto che li contiene con il suo disidratante e rimettere tutta la confezione a 2-8°C.**
- Tutti i componenti della confezione, se correttamente conservati alle condizioni prescritte, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

CAMPIONI

Natura e prelievo dei campioni

Siero o plasma (anticoagulanti : eparinato di litio, EDTA). Si consiglia che ogni laboratorio verifichi l'idoneità delle provette utilizzate per il prelievo. **Non è stato validato l'uso di campioni visibilmente emolizzati, lipemici od itterici.** I sieri possono essere inattivati prima di essere analizzati (30 minuti a 56°C).

Stabilità dei campioni

I campioni possono essere prelevati di recente o possono essere conservati per un massimo di 5 giorni a 2-8°C; per conservazioni più lunghe congelarli a -25 ± 6°C. Evitare di congelare e scongelare più volte. Uno studio realizzato su campioni congelati nell'arco di due mesi non ha mostrato alcuna influenza sulla qualità dei risultati.

PROCEDIMENTO

Per le istruzioni complete, far riferimento al Manuale d'Uso del VIDAS o del mini VIDAS.

Registrazione dei dati della scheda MLE

All'apertura di un nuovo lotto, prima di eseguire le analisi, devono essere registrate nello strumento (VIDAS o mini VIDAS), tramite la scheda MLE (scheda delle specifiche acclusa ad ogni confezione), le specifiche (dati forniti dal fabbricante) del lotto. Se questa operazione non è stata fatta **prima di avviare gli esami**, lo strumento non potrà fornire i risultati.

La registrazione delle specifiche va fatta una sola volta per lotto; può essere effettuata manualmente od in maniera automatica mediante la scheda MLE.

Calibrazione

La calibrazione, mediante dello standard fornito nella confezione, deve essere effettuata all'apertura di ogni nuovo lotto, dopo aver memorizzato le specifiche del lotto stesso, e deve essere ripetuta ogni 14 giorni. Questa operazione permette di aggiustare la calibrazione ad ogni strumento ed all'evoluzione eventuale dei reattivi nel tempo.

Lo standard, identificato con S1, deve essere analizzato **in doppio** (consultare il Manuale d'Uso).

Il valore dello standard deve essere compreso nei limiti di RFV (Relative Fluorescence Value) fissati. In caso contrario occorrerà eseguire una nuova calibrazione.

Esecuzione del test

1. Prelevare dal frigorifero soltanto i reattivi necessari e lasciarli a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima dell'uso.
2. Prelevare dalla confezione una cartuccia TXC ed un cono TXC per ogni campione, controllo o standard da analizzare. **Dopo l'uso, verificare di aver ben richiuso il sacchetto dei coni.**
3. Digitare o selezionare sullo strumento " TXC " per inserire il codice del test. Lo standard, identificato obbligatoriamente con "S1", dovrà essere inserito **in doppio**. Se si deve esaminare il controllo positivo, dovrà essere identificato con "C1". Se si deve esaminare il controllo negativo, dovrà essere identificato con C2.
4. Omogeneizzare con un agitatore tipo vortex lo standard, il controllo ed i campioni.
5. Distribuire **125 µl** dello standard, dei campioni o del controllo nel pozzetto del campione delle cartucce.
6. Inserire nello strumento i coni e le cartucce. Verificare attentamente la concordanza dei codici (colori e lettere) dei coni e delle cartucce.
7. Avviare l'analisi (vedere il Manuale d'Uso). Tutte le fasi del procedimento vengono gestite automaticamente dallo strumento. I risultati si ottengono in circa 40 minuti.
8. Alla fine dell'analisi estrarre dallo strumento i coni e le cartucce.
9. Eliminare i coni e le cartucce utilizzati in un idoneo recipiente.

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Una volta terminato il test, i risultati vengono analizzati automaticamente dal sistema informatico dello strumento. L'apparecchio esegue per ogni test due misure di fluorescenza nella cuvetta di lettura. La prima lettura prende in considerazione il rumore di fondo della cuvetta del substrato prima che il substrato venga a contatto con il cono. La seconda lettura è eseguita dopo l'incubazione del substrato con l'enzima presente nel cono. Il calcolo dell'RFV (Relative Fluorescence Value) è il risultato della differenza delle due misure. Viene stampato sul foglio dei risultati.

Lo strumento calcola per ogni campione un valore del test che è il rapporto tra l'RFV (valore di fluorescenza relativo) del campione e l'RFV dello standard conservato in memoria.

Valore soglia e interpretazione dei risultati

| Valore del test | Interpretazione |
|-----------------|-----------------|
| $i \geq 1,6$ | Negativo |
| $i < 1,6$ | Positivo |

Quando il risultato è negativo il paziente non è immunizzato e non vi è sierconversione.

Quando il risultato è positivo bisogna determinare, sullo stesso prelievo e/o su un prelievo eseguito 21 giorni più tardi, se si tratta di sierconversione o di immunità, utilizzando dei test specifici (VIDAS Toxo IgG e VIDAS Toxo IgM).

L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto del contesto clinico ed eventualmente dei risultati di altri esami.

Il reattivo VIDAS TOXO Competition è calibrato in rapporto a sieri di sieroteca.

CONTROLLO DI QUALITÀ

In ogni confezione VIDAS TXC sono inclusi un controllo positivo ed un controllo negativo.

Questi controlli devono essere utilizzati all'apertura di ogni nuova confezione per verificare che i reattivi non siano alterati. Anche ogni ricalibrazione deve essere verificata tramite questi controlli. Affinché lo strumento possa verificare il valore dei controlli, bisogna identificarli con C1 e con C2.

Se il valore dei controlli risulta al di fuori degli ambiti indicati, i risultati non possono essere considerati validi.

Il valore atteso per il controllo negativo deve essere compreso nell'ambito di valori indicato sulla card MLE

Nota

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione locale vigente.

LIMITI DEL METODO

Poiché con alcuni sieri che contengono anticorpi diretti contro qualche componente del reattivo è possibile avere interferenze, i risultati del test devono essere interpretati tenendo conto del contesto clinico ed eventualmente dei risultati di altri esami.

L'impiego del VIDAS TOXO Competition non è stato validato ne sui prelievi neonatali (sangue del cordone,...) ne su prelievi diversi dal siero umano.

PERFORMANCE

Gli studi condotti sul VIDAS TXC hanno dato i seguenti risultati :

Sensibilità e specificità :

E' stato eseguito uno studio multicentrico su 2021 sieri (tra cui più di 200 sieri di siero conversioni). I sieri discordanti rispetto alle tecniche di riferimento di ogni Centro sono stati esaminati con il Dye-Test e con l'ISAGA. 7 campioni, che non hanno potuto essere classificati con le tecniche di riferimento, non sono stati inclusi nel calcolo delle performance.

I risultati sono stati i seguenti:

| N = 2014 | | Tecniche di riferimento | |
|-----------|---|-------------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Sensibilità : 99,37 % Ambito fiduciario al 95% (98,68 - 99,70 %)

Specificità : 99,34 % Ambito fiduciario al 95% (98,54 - 99,70 %)

L'unico siero di sieroconversione non rilevato dal VIDAS TOXO Competition presentava le seguenti caratteristiche:

Dye-Test : 2 IU/ml (valore limite)

Agglutinazione Diretta Sensibilizzata : Negativo

ISAGA : 6 (dubbio).

PRECISIONE

Riproducibilità intra-serie :

3 campioni sono stati dosati in una stessa serie di dosaggi.

| | n | RFV medio | CV (%) |
|-----------------|----|-----------|--------|
| Negativo | 30 | 2215 | 2,8 |
| Positivo debole | 26 | 1700 | 2,5 |
| Positivo forte | 27 | 118 | 6,2 |

Riproducibilità inter-serie

3 campioni sono stati dosati in singolo, su uno stesso strumento VIDAS, in 17 diverse serie di dosaggi.

| | RFV medio | CV (%) |
|-----------------|-----------|--------|
| Negativo | 2117 | 4,4 |
| Positivo debole | 1706 | 3,7 |
| Positivo forte | 1044 | 4,6 |

REAZIONI CROCIATE E INTERFERENZE

| | | Situazione immunologica nei confronti della toxoplasmosi secondo le tecniche di riferimento | |
|-------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Anticorpi anti-nucleo | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Donne multipare in gravidanza | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Fattori Reumatoidi | 4 | 0 | 4 |
| Sifilide | 4 | 4 | 0 |

Non è stata messa in evidenza nessuna influenza legata alla presenza di questi potenziali interferenti, ad eccezione di 2 campioni positivi per l'EBV e di un campione portatore di fattori reumatoidi che sono risultati falsamente positivi con il VIDAS TOXO Competition.

PREVALENZA

T. gondii è un patogeno la cui prevalenza è molto differente da un Paese all'altro od anche da una regione all'altra.

La contaminazione da parte del *T. gondii* può variare a seconda delle abitudini culturali ed alimentari che portano ad una prevalenza che può andare da meno del 10 % in alcune regioni dell'Europa del Nord a più del 90 % in Africa.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI









Smaltire i reattivi utilizzati o non utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUICHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

TABELLA DEI SIMBOLI

| Simbolo | Significato |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|  | Numero di catalogo |
|  | Dispositivo medico-diagnostico in vitro |
|  | Fabbricante |
|  | Limiti di temperatura |
|  | Utilizzare entro |
|  | Codice del lotto |
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | Contenuto sufficiente per "n" saggi |

VIDAS® TOXO Compétition (TXC)

IVD

O VIDAS TOXO Compétition é um teste qualitativo automatizado no sistema VIDAS, que permite a detecção imunoenzimática das Ig totais anti-Toxoplasma gondii no soro ou no plasma humano (heparinato de lítio ou EDTA) pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O *Toxoplasma gondii*, protozoário, parasita intracelular obrigatório, é um agente patogénico bastante frequente no homem. O parasita, cujo hospedeiro definitivo é o gato, é disseminado na natureza e infecta inúmeros outros mamíferos.

A toxoplasmose é geralmente muito discreta no sujeito imunocompetente, mas os danos causados ao feto e aos imunodeprimidos, podem ser severos (2). As toxoplasmoses congénitas ligadas a uma contaminação materna pré-concepcionais são excepcionais e são mais frequentemente detectadas nas mulheres imunodeprimidas (7). As seronegativas estão sujeitas a serem infectadas durante a gravidez (1).

O diagnóstico de uma infecção por *T.gondii* baseia-se essencialmente na exploração laboratorial: detecção das imunoglobulinas específicas (IgM e IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Compétition é um teste de pesquisa destinado a avaliar o estado imunitário dos pacientes (3). Em caso de positividade, o diagnóstico deve ser realizado (seroconversão ou imunidade adquirida) com testes específicos para a pesquisa das IgG e das IgM.

PRINCÍPIO

O princípio do doseamento associa o método imunoenzimático por inibição a uma detecção final em fluorescência (ELFA).

O cone de utilização única serve tanto de fase sólida como de suporte de pipetagem. Os outros reagentes da reacção imunológica estão prontos a ser usados e pré-repartidos na barrete. Todas as etapas do teste são realizadas automaticamente pelo aparelho.

São constituídas por uma sucessão de ciclos de aspiração e de dispensação do meio reaccional.

Após diluição, a amostra é incubada com o cone. Este, previamente sensibilizado com proteínas de um lisado de *Toxoplasma Gondii*, fixa então os anticorpos anti-Toxoplásmicos (IgM e IgG) presentes na amostra. Os componentes não ligados da amostra são eliminados por lavagens.

A fase sólida é então incubada com o conjugado: anticorpo monoclonal anti-P30 marcado com fosfatase alcalina. Este conjugado vai entrar em competição com os anticorpos do soro fixados na fase sólida pelo antigénio da Toxoplasmose. O conjugado não fixado é eliminado por lavagem.

Durante a etapa final de revelação, o substrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) é aspirado e dispensado no cone; a enzima do conjugado catalisa a reacção de hidrólise deste substrato num produto (4-Metil-umbeliferona) cuja fluorescência emitida é medida a 450 nm.

O valor do sinal de fluorescência é inversamente proporcional à quantidade de imunoglobulinas presentes na amostra. Os resultados são analisados automaticamente pelo aparelho e expressos em índice em relação a um calibrador.

COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES DA EMBALAGEM (60 TESTES) :

| | | |
|-----------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 barretes TXC | STR | Prontas a usar. |
| 60 cones TXC 2 x 30 | SPR | Prontas a usar. Cones sensibilizados por antigénio toxoplásmico, estirpe/cepa RH Sabin cultivada em rato (8). |
| Controlo positivo TXC 1 x 1,9 ml (líquido) | C 1 | Soro humano* contendo IgG anti-Toxoplásmicas + azida sódica 1 g/l e estabilizantes proteicos. Pronto a usar. Índice: o intervalo de confiança está indicado no cartão MLE com a menção: "Control C1 (+) Test Value Range". |
| Controlo negativo TXC 1 x 1,9 ml (líquido) | C 2 | Soro humano* + azida sódica 1 g/l e estabilizantes proteicos. Pronto a usar. Índice : o intervalo de confiança está indicado no cartão MLE com a menção : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Calibrador 1 x 1,2 ml (líquido) | S 1 | Soro humano* contendo IgG anti-Toxoplásmicas + azida sódica 1 g/l e estabilizantes proteicos. Pronto a usar. |
| 1 Cartão MLE | | Ficha de especificações que contém os dados de fabrico necessários à calibração do teste. |
| 1 Folheto informativo | | |

* Foi verificada a ausência de antigénio HBs, de anticorpos anti-VIH1, anti-VIH2 e de anticorpos anti-VHC. No entanto, não podendo nenhum teste dar uma garantia absoluta, deve este produto ser manipulado com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos.

O cone

O cone é sensibilizado na altura do fabrico com proteínas de um lisado de *Toxoplasma gondii*. Cada cone é identificado pelo código TXC. Utilizar unicamente o número de cones necessário e deixar os restantes na saqueta/sachet. **Fechar correctamente a saqueta/sachet após a abertura.**

A barrete

A barrete é composta por 10 poços cobertos por uma folha de alumínio selada e etiquetada. A etiqueta tem um código de barras com informação relativa ao tipo de teste realizado, ao número de lote e à data de validade. O primeiro poço apresenta uma parte perfurada para facilitar a introdução da amostra. O último poço é uma cuvete que permite a leitura em fluorimetria. Os poços intermédios contêm os diferentes reagentes necessários à análise.

Descrição da barrete TXC

| Poços | Reagentes |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Poço-amostra |
| 2 | Diluyente da amostra : Tampão TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 1 g/l (400 µl) |
| 3 | Tampão de pré-lavagem : TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 1 g/l (600 µl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Tampão de lavagem : TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + azida sódica 1 g/l (600 µl) |
| 6 | Conjugado : Anticorpo monoclonal anti-P30 (rato) marcado com fosfatase alcalina + azida sódica 1 g/l (400 µl) |
| 9 | Poço vazio |
| 10 | Cuvete de leitura com substrato : 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/l seja 6,6%, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 µl). |

* Reagente IRRITANTE :

- **R 36** : irritante para os olhos.
 - **S 26** : em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
- Para mais informações, consultar a ficha de segurança disponível a pedido.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Pipeta de ponta descartável que permite a distribuição de 125 µl.
- Luvas de latex sem pó de talco.

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- **Este dispositivo contém componentes de origem humana. Nenhum dos métodos de análise actualmente conhecidos pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível. É aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (consultar o manual : Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - última edição).**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- Não utilizar os reagentes após a data de validade indicada na etiqueta da embalagem.
- Não misturar os reagentes (ou consumíveis) provenientes de números de lotes diferentes.
- Não utilizar os cones se a saqueta/sachet estiver danificada.

- Não utilizar as barretes visivelmente alteradas (folha de alumínio ou de plástico danificada).
- Não utilizar **luvas com pó de talco**, o talco pode levar a falsos resultados para alguns testes imunoenzimáticos.
- Os reagentes da embalagem contêm um conservante (azida sódica), susceptível de reagir com as canalizações de chumbo ou de cobre dos lavatórios, formando azidas metálicas explosivas. É aconselhável passar por água qualquer produto de rejeição.
- A solução de lavagem (poço 10 da barrete) contém um agente nocivo (dietanolamina 11,5 %). Ter em atenção as frases de risco "R" e os conselhos de prudência "S" supra citados.
- As projecções devem ser tratadas com um líquido detergente ou uma solução de lixívia/água sanitária contendo, pelo menos 0,5 % de hipoclorito de sódio. Consultar o Manual de Utilização para eliminar as projecções sobre ou no interior do VIDAS. Não autoclavar produtos que contenham lixívia/água sanitária.
- Os elementos do módulo VIDAS e mini VIDAS devem ser regularmente limpos e descontaminados (consultar o Manual de utilização).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- Conservar a embalagem VIDAS TXC a 2°-8°C.
- **Não congelar os reagentes.**
- **Deixar a 2° - 8° C os reagentes não utilizados.**
- Na abertura da embalagem, verificar se a(s) saqueta(s)/sachet(s) dos cones está(ão) bem fechada(s) e se não está(ão) danificada(s). Se não for o caso, não utilizar os cones.
- **Após cada utilização, fechar bem a saqueta/sachet com o desidratante para manter a estabilidade dos cones e colocar novamente a embalagem a 2° - 8° C.**
- Todos os componentes permanecem estáveis até à data de validade indicada na etiqueta da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas.

AMOSTRAS

Natureza e colheita/coleta das amostras:

Soros ou plasmas humanos (anticoagulantes: heparinato de lítio, EDTA). É aconselhado a cada laboratório validar o tipo de tubo de colheita/coleta utilizado. **É aconselhado não utilizar amostras visivelmente hemolisadas, lipémicas, ictericas.** Os soros podem ser inativados antes de serem testados (30 minutos a 56°C).

Estabilidade das amostras

As amostras devem ser colhidas/coletadas recentemente ou conservadas durante 5 dias a 2°-8°C, no máximo. Para além desse período, congelá-las a $-25^{\circ} \pm 6^{\circ} \text{C}$. Evitar as congelações e descongelações sucessivas. Um estudo realizado com amostras congeladas durante dois meses, não demonstrou nenhuma alteração na qualidade dos resultados.

PROCEDIMENTO

Para instruções completas, consultar o Manual de Utilização do VIDAS ou do mini VIDAS.

Introdução dos dados do cartão MLE

Na recepção de um novo lote, as especificações (ou dados de fabrico) devem ser introduzidas no aparelho (VIDAS ou mini VIDAS) usando o cartão MLE (ficha de especificações) incluído em cada embalagem. Se esta operação não for efectuada **antes de começar os testes**, o aparelho não poderá editar os resultados. Estas especificações introduzem-se uma única vez para cada lote.

É possível introduzir as especificações manual ou automaticamente com o cartão MLE.

Calibração

A calibração, utilizando o padrão fornecido na embalagem, deve ser efectuada na recepção de cada novo lote após introdução das especificações do lote e todos os 14 dias. Esta operação permite ajustar a calibração a cada aparelho e à evolução eventual do reagente no decorrer do tempo.

O padrão, identificado por S1, será analisado em **duplicado** (consultar o Manual de Utilização). O valor do padrão deve estar compreendido nos limites de RFV (Relative Fluorescence Value) fixados. Se não for o caso: fazer novamente uma calibração.

Realização do teste

1. Tirar do frigorífico apenas os reagentes necessários, deixá-los 30 minutos à temperatura ambiente antes de os utilizar.
2. Utilizar uma barrete TXC e um cone TXC para cada amostra, controlo ou padrão a testar. **Verificar se a saqueta/sachet de cones está bem fechada após cada utilização.**
3. Digitar ou seleccionar " TXC " no aparelho para introduzir o código do teste. O padrão identificado obrigatoriamente por "S1", deve ser utilizado em **duplicado**. Se o controlo positivo tiver de ser testado, será identificado por C1. Se o controlo negativo tiver de ser testado, será identificado por C2.
4. Homogeneizar em vortex o padrão, os controlos e as amostras.
5. Pipetar **125 µl** de padrão, de amostra ou de controlo no poço-amostra.
6. Colocar no aparelho os cones e as barretes. Verificar a concordância dos códigos (cores e letras) na etiqueta.
7. Começar a análise (consultar o Manual de Utilização). Todas as etapas são geridas automaticamente pelo aparelho. A duração do teste é de cerca de 40 minutos.
8. Terminada a análise, retirar os cones e as barretes do aparelho.
9. Eliminar os cones e barretes utilizados num recipiente apropriado.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo sistema informático. O aparelho efectua duas medidas de fluorescência na cuvete de leitura para cada teste. A primeira leitura corresponde ao branco da cuvete antes do substrato entrar em contacto com o cone. A segunda leitura é efectuada após incubação do substrato com a enzima presente no cone. O cálculo do RFV (Relative Fluorescence Value) é o resultado da diferença das duas medidas. Este aparece na folha de resultados.

O aparelho calcula para cada amostra um valor de teste que é a relação entre o RFV (valor de fluorescência relativa) e o calibrador memorizado.

Limiar e interpretação dos resultados

| Valor do teste | Interpretação |
|----------------|---------------|
| $i \geq 1,6$ | Negativo |
| $i < 1,6$ | Positivo |

Quando o resultado for negativo, o paciente não está imunizado e não há seroconversão.

Quando o resultado for positivo, é necessário determinar nesta colheita/coleta e/ou numa colheita/coleta 21 dias depois se se trata de uma seroconversão ou de uma imunidade antiga, com testes específicos (para a pesquisa das IgG e das IgM).

A interpretação dos resultados do teste deve ser feita tendo em conta o contexto clínico e, eventualmente, os resultados de outros testes.

O reagente VIDAS TOXO Compétition é calibrado em relação a soros de seroteca.

CONTROLO DE QUALIDADE

Um controlo positivo e um controlo negativo estão incluídos em cada embalagem VIDAS TXC.

Estes controlos devem ser utilizados na abertura de cada nova embalagem para confirmar a ausência de alteração dos reagentes. Cada calibração deve ser também verificada utilizando estes controlos. Para que o aparelho possa verificar o valor dos controlos, é necessário identificá-los por C1 e C2.

Se o valor dos controlos se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.

O valor esperado para o controlo negativo deve estar compreendido no intervalo de confiança indicado no cartão MLE

Nota

É da responsabilidade do utilizador garantir que o controlo da qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

Pode ser detectada uma interferência em alguns soros contendo anticorpos dirigidos contra componentes do reagente, por isso, os resultados deste teste devem ser interpretados tendo em conta o contexto clínico e, eventualmente, os resultados de outros testes.

A utilização de VIDAS TOXO Compétition não foi validada em colheitas/coletas neonatais (sangue de cordão,...) nem em outras colheitas/coletas que não o soro humano.

COMPORTEAMENTO FUNCIONAL

Os estudos VIDAS TXC deram os seguintes resultados :

Sensibilidade e especificidade :

Foi efectuado um estudo multicêntrico baseado em 2021 soros entre os quais mais de 200 soros eram de seroconversões. Os soros discordantes comparados com outras técnicas de referência de cada local foram testados em Dye-Test e ISAGA. 7 amostras não puderam ser classificadas pelas técnicas de referência, estas não foram consideradas no cálculo do comportamento funcional.

Os resultados foram os seguintes :

| N = 2014 | | Técnicas de referência | |
|----------|---|------------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS | + | 1101 | 6 |
| TXC | - | 7 | 900 |

Sensibilidade : 99,37 % intervalo de confiança a 95% (98,68 % - 99,70 %)

Especificidade : 99,34 % intervalo de confiança a 95% (98,54 % - 99,70 %)

O único soro de seroconversão não detectado pelo VIDAS Toxo Compétition apresentava as seguintes características:

Dye-Test : 2 IU/ml (limiar)

Aglutinação Directa Sensibilizada : Negativo

ISAGA : 6 (equivoco).

PRECISÃO.

Reprodutibilidade intra-ensaio:

Foram doseadas 3 amostras numa mesma série.

| | n | RFV médio | CV (%) |
|----------------|----|-----------|--------|
| Negativo | 30 | 2215 | 2,8 |
| Positivo fraco | 26 | 1700 | 2,5 |
| Positivo forte | 27 | 118 | 6,2 |

Reprodutibilidade inter-ensaio

Foram doseadas 3 amostras em simples em 17 séries diferentes no mesmo aparelho VIDAS.

| | RFV médio | CV (%) |
|----------------|-----------|--------|
| Negativo | 2117 | 4,4 |
| Positivo fraco | 1706 | 3,7 |
| Positivo | 1044 | 4,6 |

REACÇÕES CRUZADAS E INTERFERÊNCIAS

| | n | Estatuto imunológico em relação à toxoplasmose em conformidade com as técnicas de referência | |
|------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| VIH | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Ac anti nucleares | 23 | 7 | 16 |
| VEB | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Mulheres grávidas múltiparas | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Factores Reumatóides | 4 | 0 | 4 |
| Sífilis | 4 | 4 | 0 |

Não foi detectada nenhuma influência ligada à presença destes interferentes potenciais, com a excepção de 2 amostras positivas para VEB e de uma amostra portadora de factor reumatóide que apresentavam respostas falsamente positivas com VIDAS TOXO Compétition.

PREVALÊNCIA

T. gondii é um patógeno estrito cuja prevalência é muito diferente de um país para outro ou até de uma região para outra.

A contaminação por *T.gondii* pode variar consoante os hábitos culturais e alimentares conduzindo a uma prevalência que pode ir de menos de 10 % em algumas regiões da Europa do norte a mais de 90 em África.

ELIMINAÇÃO DOS RESÍDUOS









Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados e os materiais descartáveis contaminados seguindo os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- B. FORTIER, F.AJANA, D. CAMUS. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUICHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. -Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. - Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

QUADRO DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Referência de catálogo |
|  | Dispositivo médico para diagnóstico in vitro |
|  | Fabricante |
|  | Limites de temperatura |
|  | Prazo de validade |
|  | Código do lote |
|  | Consulte as instruções de utilização |
|  | Conteúdo suficiente para "n" ensaios |

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM



 **bioMérieux® SA**
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>


Impresso em França

A bioMérieux, o logotipo azul, VIDAS e SPR são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux SA ou de uma das suas filiais.

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

Το VIDAS TOXO Competition είναι μια αυτοματοποιημένη ποιοτική εξέταση για χρήση στα όργανα VIDAS, για την ανοσοενζυμική ανίχνευση των ολικών anti-Toxoplasma gondii Ig σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα (ηπαρινικό λίθιο ή EDTA) χρησιμοποιώντας την τεχνική ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το *Toxoplasma gondii*, ένα υποχρεωτικώς ενδοκυτταρικό πρωτοζωικό παράσιτο, είναι ένα σημαντικό παθογόνο στον άνθρωπο. Το παράσιτο, του οποίου ο αρχικός ξενιστής είναι η Felidae, είναι διασκορπισμένο στη φύση και εισβάλλει σε όλες τις τάξεις των θηλαστικών.

Η Τοξοπλάσμωση είναι συνήθως καλοήθης ή ασυμπτωματική, αλλά μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις αν εμφανισθεί σε ανοσοανεπαρκή άτομα ή σε έμβρυα (2). Η συγγενής τοξοπλάσμωση που συνδέεται με μητρική μόλυνση πριν από τη σύλληψη αποτελεί εξαίρεση και πιο συχνά συμβαίνει σε ανοσοκατεσταλμένες γυναίκες (7). Γυναίκες οι οποίες είναι οροθετικές πριν καταστούν έγκυοι, είναι ουσιαστικά προφυλαγμένες από τη μετάδοση της λοίμωξης στο αγέννητο παιδί τους. Γυναίκες οι οποίες είναι οροαρνητικές, κινδυνεύουν να μολυνθούν κατά τη διάρκεια της κύησης (1).

Η διάγνωση της λοίμωξης από *T.gondii* γίνεται συνήθως με βιολογική εξέταση: ανίχνευση ειδικών ανοσοσφαιρινών (IgM και IgG) (4, 5, 6).

Το VIDAS TOXO Competition είναι μια εξέταση προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) σχεδιασμένη να εκτιμά την ανοσολογική κατάσταση των ασθενών (3). Αν η εξέταση είναι θετική, η ορομετατροπή ή η επίκτητη ανοσία θα πρέπει να προσδιοριστούν χρησιμοποιώντας ειδικές εξετάσεις για την ανίχνευση των IgG και IgM.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η αρχή της ανάλυσης συνδυάζει μια ανοσοενζυμική ανασταλτική-ανταγωνιστική μέθοδο με μια τελική ανίχνευση φθορισμού (ELFA).

Ο Υποδοχέας Στερεάς Φάσης (SPR), χρησιμεύει ως στερεά φάση καθώς και ως ρύγχος αναρρόφησης για την ανάλυση. Τα αντιδραστήρια για την ανάλυση είναι έτοιμα προς χρήση και προ-διανεμημένα στις σφραγισμένες ταινίες αντιδραστηρίων. Όλα τα στάδια της ανάλυσης διεξάγονται αυτόματα από το όργανο.

Το υλικό της αντίδρασης αναρροφάται κι εκροφάται από τον SPR αρκετές φορές.

Μετά από την αραίωση, το δείγμα επωάζεται με τον SPR. Τα αντισώματα anti-Toxoplasma (IgM και IgG) που βρίσκονται στο δείγμα θα συνδεθούν με τις πρωτεϊνικές κυτταρολύματος του *Toxoplasma gondii* οι οποίες επικαλύπτουν το εσωτερικό του SPR. Μη συνδεδεμένα συστατικά αποκλείονται κατά τη διάρκεια των σταδίων έκπλυσης.

Κατόπιν η στερεά φάση επωάζεται με το σύμπλοκο: σημασμένα με αλκαλική φωσφατάση μονοκλωνικά αντισώματα anti-P30. Το σύμπλοκο αυτό θα ανταγωνιστεί με τα αντισώματα που επικαλύπτουν το εσωτερικό του SPR για το αντιγόνο Τοξοπλάσματος. Το μη συνδεδεμένο σύμπλοκο απομακρύνεται με έκπλυση.

Κατά τη διάρκεια του τελικού σταδίου ανίχνευσης, το υπόστρωμα (Φωσφορική 4-Μεθυλ-ουμπτελιφερόλη) αναρροφάται και εκροφάται από τον SPR. Το συζευγμένο ένζυμο καταλύει την υδρόλυση αυτού του υποστρώματος σε ένα φθορίζον προϊόν (4-Μεθυλ-ουμπτελιφερόνη), ο φθορισμός του οποίου μετράται στα 450 nm.

Η ένταση του φθορισμού είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης των ανοσοσφαιρινών που βρίσκονται στο δείγμα. Τα αποτελέσματα υπολογίζονται αυτόματα από το όργανο και εκφράζονται ως ένας δείκτης σε σχέση με την καμπύλη βαθμονόμησης που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (60 ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ):

| | | |
|----------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 Ταινίες TXC | STR | Έτοιμες προς χρήση. |
| 60 SPRs TXC 2 x 30 | SPR | Έτοιμοι προς χρήση. Οι SPRs είναι επικαλυμμένοι με πρωτεΐνες κυτταρολύματος του <i>Toxoplasma gondii</i> , στέλεχος RH Sabin από καλλιέργεια ποντικού (8). |
| Θετικός ορός ελέγχου TXC 1 x 1,9 ml (υγρό) | C 1 | Ανθρώπινος ορός* που περιέχει anti- toxoplasma IgG + 1 g/l αζίδιο του νατρίου και πρωτεϊνικούς σταθεροποιητές. Έτοιμος προς χρήση. Δείκτης: εύρος που υποδεικνύεται στην κάρτα MLE μετά την παρακάτω αναφορά: "Control C1 (+) Test Value Range". |
| Αρνητικός ορός ελέγχου TXC 1 x 1,9 ml (υγρό) | C 2 | Ανθρώπινος ορός* + 1 g/l αζίδιο του νατρίου και πρωτεϊνικοί σταθεροποιητές. Έτοιμος προς χρήση. Δείκτης : το διάστημα εμπιστοσύνης σημειώνεται πάνω στην κάρτα MLE με την αναφορά : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Πρότυπο Διάλυμα 1 x 1,2 ml (υγρό) | S 1 | Ανθρώπινος ορός* που περιέχει anti-Toxoplasma IgG + 1 g/l αζίδιο του νατρίου και πρωτεϊνικούς σταθεροποιητές. Έτοιμο προς χρήση. |
| 1 Κάρτα MLE | | Φύλλο προδιαγραφών που περιέχει τα εργοστασιακά πρότυπα δεδομένα βαθμονόμησης τα οποία απαιτούνται για τη βαθμονόμηση της εξέτασης. |
| 1 Εσώκλειστο οδηγίων | | |

* Το προϊόν αυτό έχει εξεταστεί και έχει εμφανιστεί να είναι αρνητικό ως προς το αντιγόνο HBs, και τα αντισώματα HIV1, HIV2 και HCV. Εντούτοις, εφόσον καμία υπάρχουσα μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να εγγυηθεί πλήρως την απουσία τους, αυτό το προϊόν πρέπει να αντιμετωπίζεται ως δυνητικώς μολυσματικό. Γι' αυτό πρέπει να τηρούνται οι συνήθεις διαδικασίες ασφαλείας, κατά τον χειρισμό του.

Ο SPR

Το εσωτερικό του SPR επικαλύπτεται κατά την παραγωγή με πρωτεΐνες κυτταρολύματος του *Toxoplasma gondii*. Κάθε SPR ταυτοποιείται από τον κωδικό ΤΧC. Αφαιρέστε μόνο τον απαιτούμενο αριθμό SPRs από το φάκελο και **ξανασφραγίστε ερμητικά το φάκελο μετά το άνοιγμα.**

Η Ταινία του Αντιδραστήριου

Η ταινία αποτελείται από 10 κυψέλες καλυμμένες με ένα σημασμένο φύλλο αλουμινίου. Η σήμανση περιλαμβάνει γραμμωκώδικα, ο οποίος υποδεικνύει κυρίως τον κωδικό της ανάλυσης, τον αριθμό παρτίδας συσκευασίας και την ημερομηνία λήξης. Το φύλλο αλουμινίου της πρώτης κυψέλης είναι διατετηρημένο προς διευκόλυνση της εισαγωγής του δείγματος. Η τελευταία κυψέλη κάθε ταινίας είναι μια κυβέττα στην οποία πραγματοποιείται η ανάγνωση φθορισμού. Οι κυψέλες στην κεντρική περιοχή της ταινίας περιέχουν τα διάφορα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την ανάλυση.

Περιγραφή της ταινίας ΤΧC

| Κυψέλες | Αντιδραστήρια |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Κυψέλη δείγματος |
| 2 | Αραιωτικό δείγματος: Ρυθμιστικό διάλυμα TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + πρωτεϊνικοί και χημικοί σταθεροποιητές + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (400 μl) |
| 3 | Διάλυμα προ-έκπλυσης: TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 - Tween + πρωτεϊνικοί και χημικοί σταθεροποιητές + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (600 μl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Διάλυμα έκπλυσης: TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 - Tween + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (600 μl) |
| 6 | Σύμπλοκο: Σημασμένα με αλκαλική φωσφάταση, μονοκλωνικά anti-P30 αντισώματα (ποντικού) + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (400 μl) |
| 9 | Κενή κυψέλη |
| 10 | Κυβέττα με υπόστρωμα: Φωσφορική 4-Μεθυλ-ουμπτελιφερύλη (0,6 mmol/l) + διαιθανολαμίνη (DEA*) (0,62 mol/l ή 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (300 μl). |

*** ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ αντιδραστήριο:**

- **R 36** : Ερεθίζει τα μάτια.
 - **S 26**: Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, πλύνετε τα αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.
- Για επιπλέον πληροφορίες, αναφερθείτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας, διαθέσιμο εφόσον ζητηθεί.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

- Πιπέττα με αναλώσιμο ρύγχος, βαθμονομημένη να διανέμει 125 μl.
- Γάντια latex μιας χρήσης, χωρίς ταλκ.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- **Αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστική χρήση.**
- **Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.**
- **Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ανθρώπινης προέλευσης. Καμία γνωστή μέθοδος ανάλυσης δε μπορεί να εγγυηθεί πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (βλέπε **Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Τελευταία έκδοση**).**
- Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του κουτιού.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια (ή αναλώσιμα) από διαφορετικές παρτίδες.

- Μη χρησιμοποιείτε τους SPRs σε περίπτωση που ο φάκελος είναι τρυπημένος.
- Μη χρησιμοποιείτε STRs που παρουσιάζουν ορατές φθορές (κατεστραμμένο φύλλο αλουμινίου ή πλαστικό).
- Χρησιμοποιείτε γάντια **χωρίς ταλκ**, καθώς έχει αναφερθεί ότι το ταλκ μπορεί να προκαλέσει εσφαλμένα αποτελέσματα σε ορισμένες ανοσοενζυμικές εξετάσεις.
- Τα αντιδραστήρια της συσκευασίας περιέχουν αζίδιο του νατρίου που μπορεί να αντιδράσει με μόλυβδο ή χαλκό υδραυλικών σωληνώσεων σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Αν οποιοδήποτε υγρό που περιέχει αζίδιο του νατρίου απορρίπτεται στο υδραυλικό σύστημα, οι σωληνώσεις πρέπει να ξεπλένονται με νερό για να αποφεύγεται η συσσώρευση.
- Η οπτική κυβέττα με υπόστρωμα (κυψέλη 10) περιέχει έναν ερεθιστικό παράγοντα (6,6% διαιθανολαμίνη). Ανατρέξτε στις φράσεις κινδύνου "R" και ασφαλείας "S" παραπάνω.
- Τυχόν κηλίδες από χυμένα αντιδραστήρια και δείγματα θα πρέπει να σκουπίζονται επισταμένως μετά από χρήση απολυμαντικού υγρού και διαλύματος οικιακής χλωρίνης με περιεκτικότητα τουλάχιστον 0,5% σε υποχλωριώδες νάτριο. Βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης για τον καθαρισμό κηλίδων επάνω ή μέσα στο όργανο. Μην τοποθετείτε στο αυτόκαυστο διαλύματα που περιέχουν χλωρίνη.
- Τα όργανα VIDAS και mini VIDAS θα πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται τακτικά (βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης).

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

- Φυλάσσετε τη συσκευασία VIDAS TXC στους 2-8°C.
- **Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια.**
- **Φυλάσσετε όλα τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια στους 2-8°C.**
- Μετά το άνοιγμα της συσκευασίας, ελέγξτε αν ο φάκελος που περιέχει τους SPRs είναι ερμητικά σφραγισμένος και άθικτος. Σε αντίθετη περίπτωση, μην χρησιμοποιείτε τους SPRs.
- **Ξανασφραγίστε προσεκτικά το φάκελο με τον αφυγραντή στο εσωτερικό του μετά τη χρήση ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των SPRs και επανατοποθετήστε την πλήρη συσκευασία στους 2-8°C.**
- Αν η συσκευασία φυλάσσεται στις συνιστώμενες συνθήκες, όλα τα συστατικά παραμένουν σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τύπος δείγματος και συλλογή:

Ανθρώπινος ορός ή πλάσμα (αντιπηκτικά: ηπαρηνικό λίθιο, EDTA). Συνιστάται κάθε εργαστήριο να ελέγχει την συμβατότητα των σωληναρίων συλλογής που χρησιμοποιεί. **Η χρήση εμφανώς αιμολυμένων, λιπαιμικών ή ικτερικών δειγμάτων δεν έχει αξιολογηθεί.** Οι οροί μπορεί να αδρανοποιηθούν πριν από την εξέταση (30 λεπτά στους 56°C).

Σταθερότητα δείγματος

Τα δείγματα είναι δυνατόν να έχουν συλλεχθεί πρόσφατα, ή να έχουν φυλαχτεί στους 2-8°C για 5 ημέρες, διάστημα μετά από το οποίο, θα πρέπει να καταψυχθούν στους -25 ± 6°C.

Αποφύγετε διαδοχική κατάψυξη και απόψυξη.

Μελέτη που έγινε σε καταψυγμένα δείγματα για μια περίοδο 2 μηνών, έδειξε ότι δεν επηρεάστηκε η ποιότητα των αποτελεσμάτων.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Για πλήρεις οδηγίες, βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης VIDAS ή mini VIDAS.

Εισαγωγή πρότυπων δεδομένων παρτίδας

Πριν από τη χρήση κάθε νέας παρτίδας αντιδραστηρίων, οι προδιαγραφές (ή τα πρότυπα εργοστασιακά δεδομένα καμπύλης βαθμονόμησης) πρέπει να εισάγονται στο όργανο (VIDAS ή mini VIDAS) χρησιμοποιώντας την κάρτα (MLE) εισαγωγής πρότυπων δεδομένων παρτίδας (φύλλο προδιαγραφών) που συμπεριλαμβάνεται σε κάθε συσκευασία. Αν δεν διεξαχθεί αυτή η λειτουργία **πριν από την έναρξη των εξετάσεων**, το όργανο δεν θα μπορεί να εκτυπώσει τα αποτελέσματα. Τα πρότυπα δεδομένα παρτίδας χρειάζεται να εισαχθούν μόνο μια φορά για κάθε παρτίδα.

Είναι δυνατόν τα δεδομένα να εισαχθούν αυτόματα χρησιμοποιώντας την κάρτα MLE ή χειροκίνητα.

Βαθμονόμηση

Η βαθμονόμηση, με τη χρήση του πρότυπου διαλύματος που παρέχεται στη συσκευασία, πρέπει να διεξάγεται μετά την παραλαβή μιας νέας παρτίδας αντιδραστηρίων αφού έχουν εισαχθεί τα πρότυπα δεδομένα παρτίδας. Κατόπιν θα πρέπει να διεξάγεται βαθμονόμηση κάθε 14 ημέρες. Η λειτουργία αυτή εξασφαλίζει ειδικές για το όργανο καμπύλες βαθμονόμησης και αντισταθμίζει πιθανές ελάσσονες μεταβολές στο σήμα της ανάλυσης καθ' όλη τη διάρκεια ζωής της συσκευασίας.

Το πρότυπο διάλυμα, ταυτοποιούμενο ως S1, πρέπει να εξετάζεται εις **διπλούν** (βλέπε Εγχειρίδιο Χρήσης). Η τιμή του πρότυπου διαλύματος πρέπει να βρίσκεται εντός των ορίων της οριζόμενης RFV (Relative Fluorescence Value). Σε περίπτωση που αυτό δεν επιτευχθεί, επαναβαθμονομήστε.

Διαδικασία

1. Βγάλτε από το ψυγείο μόνο τα απαιτούμενα αντιδραστήρια και αφήστε τα τουλάχιστον 30 λεπτά ώστε να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Αφαιρέστε μια ταινία TXC και έναν SPR TXC από τη συσκευασία για κάθε δείγμα, ορό ελέγχου ή πρότυπο διάλυμα που πρόκειται να εξεταστεί. **Βεβαιωθείτε ότι ο φάκελος φύλαξης ξανασφραγίζεται μετά την αφαίρεση των απαιτούμενων SPRs.**
3. Πληκτρολογήστε ή επιλέξτε "TXC" στο όργανο προκειμένου να εισάγετε τον κωδικό εξέτασης. Το πρότυπο διάλυμα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "S1", και να εξεταστεί εις **διπλούν**. Αν πρόκειται να εξεταστεί ο θετικός ορός ελέγχου, θα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "C1". Αν πρόκειται να εξεταστεί ο αρνητικός ορός ελέγχου, θα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "C2".
4. Αναδεύστε έντονα το πρότυπο διάλυμα, τους ορούς ελέγχου, και τα δείγματα χρησιμοποιώντας έναν περιδινητή τύπου Vortex.
5. Εισάγετε **125 μl** πρότυπου διαλύματος, δείγματος ή ορού ελέγχου στην κυψέλη δείγματος.
6. Εισάγετε τους SPRs και τις ταινίες VIDAS στο όργανο. Ελέγξτε, να βεβαιωθείτε πως οι έγχρωμες επικέτες με τον κωδικό ανάλυσης τριών γραμμών στους SPRs και στις Ταινίες των Αντιδραστηρίων ταιριάζουν.
7. Ξεκινήστε την ανάλυση όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Χρήσης VIDAS. Όλα τα στάδια της ανάλυσης εκτελούνται αυτόματα από το όργανο. Η ανάλυση θα ολοκληρωθεί σε περίπου 40 λεπτά.
8. Αφού ολοκληρωθεί η ανάλυση, απομακρύνετε τους SPRs και τις ταινίες από το όργανο.
9. Απορρίψτε τους χρησιμοποιημένους SPRs και τις ταινίες σε κατάλληλο δοχείο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Αφού ολοκληρωθεί η ανάλυση, τα αποτελέσματα αναλύονται αυτόματα από τον υπολογιστή. Ο φθορισμός μετράται δυο φορές στην κυβέττα ανάγνωσης της Ταινίας Αντιδραστηρίου για κάθε εξεταζόμενο δείγμα. Η πρώτη ανάγνωση (background) αποτελεί την αρχική μέτρηση της κυβέττας του υποστρώματος πριν από την εισαγωγή του SPR στο υπόστρωμα. Η δεύτερη ανάγνωση λαμβάνεται αφού επωαστεί το υπόστρωμα με το ένζυμο που παραμένει στο εσωτερικό του SPR. Η RFV (Σχετική Τιμή Φθορισμού) υπολογίζεται αφαιρώντας την αρχική μέτρηση από το τελικό αποτέλεσμα. Αυτός ο υπολογισμός εμφανίζεται στο φύλλο αποτελεσμάτων.

Το όργανο υπολογίζει μια τιμή εξέτασης για κάθε δείγμα. Αυτή η τιμή είναι ο λόγος της RFV (Σχετική Τιμή Φθορισμού) της εξέτασης και του προτύπου διαλύματος που είναι αποθηκευμένο στη μνήμη.

Όριο και ερμηνεία των αποτελεσμάτων

| Τιμή εξέτασης | Ερμηνεία |
|---------------|----------|
| $i \geq 1,6$ | Αρνητικό |
| $i < 1,6$ | Θετικό |

Εάν το αποτέλεσμα είναι αρνητικό, ο ασθενής δεν είναι ανοσοποιημένος και δεν υπάρχει ορομετατροπή.

Εάν το αποτέλεσμα είναι θετικό, συνιστάται το ίδιο δείγμα ή ένα άλλο που θα συλλεχθεί 21 ημέρες αργότερα, να εξεταστεί χρησιμοποιώντας ειδικές εξετάσεις (για ανίχνευση των IgG και IgM) προκειμένου να προσδιορισθεί αν το αποτέλεσμα είναι ορομετατροπή ή μια ήδη υπάρχουσα ανοσία.

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης θα πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, και όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί.

Το αντιδραστήριο VIDAS TOXO Competition βαθμονομείται έναντι ορών συλλογής.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Σε κάθε συσκευασία VIDAS TXC συμπεριλαμβάνονται ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου.

Αυτοί οι οροί πρέπει να ελέγχονται αμέσως μετά το άνοιγμα μιας νέας συσκευασίας ώστε να εξασφαλίζεται ότι η απόδοση του αντιδραστηρίου δεν έχει μεταβληθεί. Κάθε βαθμονόμηση πρέπει επίσης να ελέγχεται χρησιμοποιώντας αυτούς τους ορούς ελέγχου. Το όργανο θα μπορεί να ελέγξει τις τιμές των ορών ελέγχου μόνο αν αυτοί ταυτοποιηθούν ως C1 και C2.

Τα αποτελέσματα δεν μπορούν να επικυρωθούν αν οι τιμές των ορών ελέγχου αποκλίνουν από τις αναμενόμενες τιμές.

Η αναμενόμενη τιμή του αρνητικού ορού ελέγχου πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στο εύρος που αναγράφεται στην κάρτα MLE.

Σημείωση

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μπορεί να παρατηρηθεί παρεμβολή σε ορισμένους ορούς που περιέχουν αντισώματα έναντι συστατικών του αντιδραστηρίου. Για αυτόν τον λόγο, τα αποτελέσματα της ανάλυσης θα πρέπει να ερμηνεύονται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, και όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί.

Το VIDAS TOXO Competition δεν έχει αξιολογηθεί για χρήση με δείγματα νεογνών (αίμα λώρου, κλπ.) ή με άλλα δείγματα εκτός ανθρώπινου ορού.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το VIDAS TXC έδωσαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Ευαισθησία και ειδικότητα:

Διενεργήθηκε μια πολυκεντρική μελέτη σε 2021 ορούς συμπεριλαμβανομένων 200 ορών από ορομετατροπή. Οι οροί που έδωσαν αντιφατικό αποτέλεσμα σε σύγκριση με τις τεχνικές αναφοράς εξετάστηκαν με Dye-Test και ISAGA. 7 οροί δεν μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν με τις τεχνικές αναφοράς και αποκλείστηκαν από τον υπολογισμό της απόδοσης.

Τα αποτελέσματα ήταν τα ακόλουθα:

| | | N = 2014 | |
|-------|---|-------------------|-----|
| | | Τεχνικές αναφοράς | |
| | | + | - |
| VIDAS | + | 1101 | 6 |
| TXC | - | 7 | 900 |

Ευαισθησία: 99,37 %. Εύρος στο 95% (98,68 – 99,70 %)

Ειδικότητα: 99,34%. Εύρος στο 95% (98,54 – 99,70 %)

Ο μοναδικός ορός από ορομετατροπή που δεν ανιχνεύθηκε με το VIDAS Toxo Competition είχε τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

Dye-Test: 2 IU/ml (τιμή ορίου)

Ευαισθητοποιημένη Άμεση Συγκόλληση: Αρνητική

ISAGA: 6 (αμφίβολη).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ**Επαναληψιμότητα εντός της σειράς:**

3 δείγματα εξετάστηκαν στην ίδια σειρά

| | n | μέση RFV | CV (%) |
|----------------|----|----------|--------|
| αρνητικό | 30 | 2215 | 2,8 |
| ασθενώς θετικό | 26 | 1700 | 2,5 |
| έντονα θετικό | 27 | 118 | 6,2 |

Επαναληψιμότητα μεταξύ των σειρών

3 δείγματα εξετάστηκαν άπαξ σε 17 διαφορετικές σειρές στο ίδιο όργανο VIDAS.

| | μέση RFV | CV (%) |
|----------------|----------|--------|
| αρνητικό | 2117 | 4,4 |
| ασθενώς θετικό | 1706 | 3,7 |
| θετικό | 1044 | 4,6 |

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ

| | | Ανοσολογική κατάσταση σε σχέση με την Τοξοπλάσμωση σύμφωνα με τεχνικές αναφοράς | |
|--------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Θετικό | Αρνητικό |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| <i>P. falciparum</i> | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Αντι-πυρηνικά αντισώματα | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Πολύτοκες έγκυοι | 21 | 8 | 13 |
| <i>C. trachomatis</i> | 7 | 7 | 0 |
| Ρευματοειδείς παράγοντες | 4 | 0 | 4 |
| Σύφιλη | 4 | 4 | 0 |

Δεν διαπιστώθηκε καμιά παρεμβολή που να συνδέεται με την παρουσία αυτών των δυνητικών παραγόντων παρεμβολής, με εξαίρεση 2 δειγμάτων θετικών σε EBV και ενός δείγματος με ρευματοειδή παράγοντα τα οποία έδωσαν ψευδώς θετικά αποτελέσματα με το VIDAS TOXO Competition.

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ

Το *T. gondii* είναι ένα αποκλειστικά παθογόνο παράσιτο του οποίου ο επιπολασμός διαφέρει από χώρα σε χώρα ή ακόμα και από περιοχή σε περιοχή.

Η μόλυνση από *T. gondii* μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τα πολιτισμικά έθιμα και τις διατροφικές συνήθειες, έχοντας ως αποτέλεσμα έναν επιπολασμό το εύρος του οποίου κυμαίνεται σε ποσοστό μικρότερο του 10% σε ορισμένες περιοχές της Βόρειας Ευρώπης έως μεγαλύτερο του 90% στην Αφρική.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ



Απορρίψτε τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα απόβλητα και τα υγρά εκροής που παράγονται σύμφωνα με τον τύπο και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOI, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. – Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

| Σύμβολο | Επεξήγηση |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Αριθμός καταλόγου |
|  | In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν |
|  | Κατασκευαστής |
|  | Περιορισμοί θερμοκρασίας |
|  | Ημερομηνία λήξης |
|  | Αριθμός Παρτίδας |
|  | Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης |
|  | Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις |



BIO MÉRIEUX



bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

Η bioMérieux και ο κυανός λογότυπος αποτελούν χρησιμοποιημένα, κατατεθειμένα ή/ και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στη bioMérieux SA ή μιας εκ των θυγατρικών της.

69280 Marcy-l'Etoile / France
Τηλ. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>



Εκτυπώθηκε στη Γαλλία

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Competition är ett automatiserat kvalitativt test för användning med VIDAS instrument. Testet används för detektion av anti-Toxoplasma gondii total-Ig i humanserum eller plasma (litium heparinat eller EDTA) med hjälp av ELFA-teknik (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Toxoplasma gondii, en obligat intracellulär protozoisk parasit, är en viktig patogen hos människa. Parasiten, vars primära värd är katt, finns spridd i naturen och invaderar alla typer av däggdjur.

Toxoplasmos är vanligtvis benign eller asymptomatisk, men kan få allvarliga konsekvenser om den förekommer hos personer med immunbrist eller hos foster (2). Medfödd toxoplasmos, förknippad med att modern smittats innan befruktning, är ovanlig och uppkommer oftast hos kvinnor med nedsatt immunförsvar (7). Kvinnor som är seropositiva före graviditet är i huvudsak skyddade mot att överföra infektionen till det ofödda barnet. Seronegativa kvinnor riskerar att infekteras under graviditet (1).

Toxoplasma-infektion diagnostiseras oftast genom biologisk undersökning: specifik detektion av immunoglobulin (IgM och IgG) (4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition är ett screeningstest avsett för att bedöma patientens immunstatus (3). Om testet visar positiva värden, bör serokonversion eller förvärvat immunitet bestämmas med hjälp av specifika tester för detektion av IgG och IgM.

METOD

Analysprincipen kombinerar en enzymimmunoassay av typen kompetitiv inhibering med en slutlig fluorescensdetektion (ELFA).

Fastfasbehållaren (SPR) fungerar både som fast fas och pipett för analysen. Reagenserna för analysen är färdiga för bruk och i förväg doserade i de förseglade reagensstripsen. Alla analyssteg utförs automatiskt av instrumentet.

Reaktionsmediet förs cykliskt ut och in flera gånger i SPR. Provet inkuberas med SPR efter utspädning. Anti-toxoplasma antikroppar (IgM och IgG) som finns i provet kommer att binda till de *Toxoplasma gondii*-lyserande proteiner som täcker det inre av SPR. Obundna provkomponenter elimineras under sköljningsstegen.

Fastfasen inkuberas sedan med konjugatet: alkalisk fosfatasmärkt monoklonal anti-P30 antikropp. Detta konjugat kommer att konkurrera om Toxoplasma antigen med de antikroppar som täcker det inre av SPR. Obundet konjugat avlägsnas med sköljning.

Under det sista steget i detektionen, förs substratet (4-metyl-umbelliferylfosfat) cykliskt in och ut i SPR. Konjugatenzymet katalyserar hydrolys av detta substrat till en fluorescerande produkt (4-metyl-umbelliferon), vars fluorescens mäts vid 450 nm.

Fluorescensens intensitet är omvänt proportionell mot koncentrationen av immunoglobuliner som finns i provet. Resultaten beräknas automatiskt av instrumentet och uttrycks som ett index i relation till kalibreringskurvan som finns lagrad i minnet.

KITETS INNEHÅLL (60 TESTER):

| | | |
|---------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 TXC strips | STR | Färdiga för användning. |
| 60 TXC SPR 2 x 30 | SPR | Färdiga för användning. SPR invändigt belagda med <i>Toxoplasma gondii</i> lyserande proteiner, RH Sabin-stam som vuxit i möss (8). |
| TXC positiv kontroll 1 x 1,9 ml (vätska) | C 1 | Humanserum* innehållande anti-Toxoplasma IgG + 1 g/l natriumazid och proteinstabilisatorer. Färdiga att använda. Index: konfidensintervallet är angivet på MLE-kortet på följande sätt: "Control C1 (+) Test Value Range". |
| TXC negativ kontroll 1 x 1,9 ml (vätska) | C 2 | Humanserum* + 1 g/l natriumazid och proteinstabilisatorer. Färdiga för användning Index : konfidensintervallet är angivet på MLE-kortet på följande sätt : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| 1 x 1,2 ml (vätska) | S 1 | Humanserum* innehållande anti-Toxoplasma gondii IgG + 1 g/l natriumazid och proteinstabilisatorer. Färdiga för användning |
| 1 MLE-kort | | Specifikationskort med tillverkarens baskalibreringsdata som krävs för att kalibrera testet. |
| 1 Bipacksedel | | |

* Denna produkt har blivit testad och visat sig vara negativ för HBs antigen, och antikroppar mot HIV1, HIV2 and HCV. Produkten måste ändå behandlas som potentiellt infektiös eftersom ingen känd testmetod kan garantera total frånvaro av dessa smittämnen. Därför bör sedvanliga säkerhetsåtgärder observeras vid användning.

SPR

Vid tillverkningen har SPR invändigt belagts med lyserande proteiner från *Toxoplasma gondii*. Varje SPR identifieras med TXC-koden. Ta inte ur fler SPR ur påsen än som behövs och **återförslut påsen korrekt när den varit öppen.**

Stripset

Stripset består av 10 brunnar täckta med en märkt folieförslutning. På etiketten finns en streckod som huvudsakligen anger analyskod, batchnummer och utgångsdatum. Foliet över den första brunnen är perforerat för att underlätta att provet förs in. Den sista brunnen på varje strips är en kyvett, där den fluorometriskt avläsningen utförs. Brunnarna i stripsets mittdel innehåller de olika reagenser som analysen kräver.

Beskrivning av TXC- strips

| Brunnar | Reagens |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Provbrunn. |
| 2 | Provspädning: TRIS-buffert (50mmol/l) pH =7,3 - Tween + protein och kemiska stabilisatorer + 1 g/l natriumazid (400 µl). |
| 3 | Försköljningslösning: TRIS (50mmol/l) pH =7,3 - Tween + protein och kemiska stabilisatorer + 1 g/l natriumazid (600 µl). |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Sköljningslösning TRIS (10mmol/l) pH =7,3 - Tween + protein och kemiska stabilisatorer + 1 g/l natriumazid (600 µl). |
| 6 | Konjugat: Alkalisk fosfatamärkt monoklonal anti-P30-antikropp (mus) + 1 g/l natriumazid (400 µl). |
| 9 | Tom brunn. |
| 10 | Kyvett med substrat: 4-Metyl-umbelliferylfosfat (0,6 mmol/l) + dietanolamin (DEA*) (0,62 mol/l eller 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l natriumazid (300 µl). |

*** IRRITERANDE reagens:**

- **R 36:** Irriterar ögonen.
 - **S 26:** Vid kontakt med ögonen, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare.
- För ytterligare information, se säkerhetsföreskrifterna. Dessa kan erhållas på begäran.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)

- Pipett med engångspets som är kalibrerad för att dosera 125 µl.
- Opudrade, engångshandskar i latex.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.
- Endast för professionell användning.
- Detta kit innehåller produkter av humant ursprung. Ingen känd analys kan garantera total frånvaro av överförbara patogena agens. Vi rekommenderar därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och att de handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (se Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - senaste upplagan).
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Vi rekommenderar därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (ska inte förtäras eller inandas).
- Använd inga reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Blanda inte reagenser (eller engångsartiklar) från olika batcher.
- Använd inte SPR med skadad påse.
- Använd inte synbart försämrade STR (skadad folie eller plast).
- Använd **opudrade** handskar, eftersom det finns fall rapporterade där puder ska ha orsakat felaktiga resultat för vissa enzymimmunoassayer.

- Reagenserna i kitet innehåller natriumazid, vilket kan reagera med bly eller koppar i ledningsrör, och bilda explosiva metallazider. Om någon vätska innehållande natriumazid skulle komma ut i avloppssystemet, ska avloppet spolats med vatten för att förhindra ackumulering.
- Den optiska kyvetten med substrat (brunn 10) innehåller ett irriterande ämne (6,6% dietanolamin). Se risker "R" och säkerhetsåtgärder "S" ovan.
- Utspillt material ska torkas upp noggrant efter tillförsel av flytande rengöringsmedel och en lösning av hushållsblekmedel innehållande minst 0,5% natriumhypoklorit. För att tvätta upp spill på eller i instrumentet, se användarmanualen. Autoklavera inte lösningar som innehåller blekmedel.
- VIDAS- och mini VIDAS-instrumenten bör rengöras och dekontamineras regelbundet (se VIDAS' Användarmanual).

FÖRVARING

- Förvara VIDAS TXC- kitet vid 2-8°C.
- **Frys inte reagenserna.**
- **Förvara alla oanvända reagenser vid 2-8°C.**
- När kitet har öppnats, kontrollera att SPR-påsen är försluten och oskadad. Om den är skadad, skall SPR inte användas.
- **Efter användning ska påsen med torkmedlet återförslutas för att hålla SPR stabila. Kitet förvaras åter i 2-8°C.**
- Vid förvaring enligt rekommendationerna är alla komponenter stabila till det utgångsdatum som anges på etiketten.

PROVER

Provtyp och provtagning:

Humanserum eller -plasma (antikoagulanter: litium-heparinat, EDTA). Det rekommenderas att varje laboratorium kontrollerar att provtagningsrören är kompatibla. **Användning av tydligt hemolyserade, lipemiska eller ikteriska prover har inte utvärderats.** Sera kan inaktiveras före testning (30 minuter vid 56°C).

Provstabilitet

Proverna kan vara nytagna eller förvarade i upp till 5 dagar vid 2-8°C, därefter måste de frysas in vid -25 ± 6°C.

Undvik upprepade infrysningar och upptiningar.

En studie av frysta prover under 2 månader, visade att resultat kvaliteten inte påverkas.

BRUKSANVISNING

För kompletta instruktioner, se VIDAS och mini VIDAS användarmanual.

Inmatning av batchens basdata

Innan varje ny reagensbatch används måste specifik data (företagets baskalibreringskurva) föras in i instrumentet (VIDAS eller mini VIDAS) genom att använda "master lot entry" (MLE)-kortet (specifikationskort) som medföljer varje kit. Om detta inte görs **innan analysen påbörjas**, kommer instrumentet inte att kunna skriva ut resultaten. Batchens basdata behöver bara föras in en gång för varje batch.

Man kan föra in data automatiskt med hjälp av MLE-kortet, eller manuellt.

Kalibrering

Kalibrering, genom att använda standarden i kitet, måste utföras när en ny batch av reagenser tas i bruk, efter att basdata har införts. Kalibrering skall sedan ske varannan vecka. Detta förfarande ger instrumentspecifika kalibreringskurvor och kompenserar för tänkbara mindre variationer i analys signalen under kitets livstid.

Standarden, identifierad med S1, måste testas **dubbelt** (se Användarmanualen). Standardvärdet måste ligga inom området för det bestämda RFV "Relativa Fluorescensvärdet". Om så inte blir fallet ska omkalibrering ske.

Utförande

1. Ta inte ut fler reagenser än nödvändigt från kylan, och låt dem uppnå rumstemperatur under minst 30 minuter.
2. Använd ett TXC strips och en TXC SPR från kitet för varje prov, kontroll eller standard som ska testas. **Se till att förvaringspåsen har återförslutits sedan SPR har tagits ut.**
3. Skriv in eller välj "TXC" för att föra in testkoden. Standarden ska identifieras med "S1", och testas **dubbelt**. Om den positiva kontrollen ska testas, ska den identifieras med "C1". Om den negativa kontrollen behövs testas ska den identifieras med "C2".
4. Blanda standarden, kontroller och prover med hjälp av en mixer av Vortextyp.
5. Pipettera **125 µl** standard, prov eller kontroll till provbrunnen.
6. Sätt in VIDAS SPR och strips i instrumentet. Kontrollera för säkerhets skull att färgetiketterna med analyskoderna (tre bokstäver), på SPR och reagensstrips, överensstämmer.
7. Påbörja förloppet enligt VIDAS användarmanual. Alla analysstegen utförs automatiskt av instrumentet. Analysen är färdig inom uppskattningsvis 40 minuter.
8. Efter slutförd analys, ta bort SPR och strips från instrumentet.
9. Kasta använda SPR och strips i en lämplig avfallsbehållare.

RESULTAT OCH TOLKNING

När analysen är klar, analyseras resultaten automatiskt av datorn. Fluorescensen mäts två gånger i reagensstripsets avläsningskyvett för varje prov som testas. Den första avläsningen analyserar bakgrundsvärde för substratkyvetten innan SPR förs ner i substratet. Den andra avläsningen sker sedan substratet inkuberats med enzymet som finns kvar invändigt i SPR. RFV (Relative Fluorescence Value) beräknas genom att man subtraherar bakgrundsvärdet från det slutliga resultatet. Denna beräkning visas i resultatprotokollet. Instrumentet beräknar ett testvärde för varje prov. Värdet utgörs av förhållandet mellan testets RFV (Relative Fluorescence Value) och den standard som finns lagrad i minnet.

Tröskel och tolkning av resultat

| Testvärde | Tolkning |
|--------------|----------|
| $i \geq 1,6$ | Negativt |
| $i < 1,6$ | Positivt |

Om resultatet är negativt, föreligger ingen immunisering eller serokonversion hos patienten.

Om resultatet är positivt, rekommenderas det att testa samma prov, eller ett annat prov som tagits 21 dagar senare, med specifika tester (för detektion av IgG och IgM) för att avgöra om resultatet är en serokonversion eller en etablerad immunitet.

Tolkningen av testresultaten bör göras med hänsyn till patientens anamnes och andra utförda tester. VIDAS TOXO Competition reagenser är kalibrerade mot samlingssera.

KVALITETSKONTROLL

I varje VIDAS TXC-kit ingår en positiv och en negativ kontroll.

Dessa kontroller måste utföras omedelbart sedan ett nytt kit har öppnats för att man säkert ska veta att reagensets egenskaper inte har förändrats. Varje kalibrering måste kontrolleras med dessa kontroller. Instrumentet kommer bara att kunna validera kontrollvärdena om de identifieras som C1 och C2.

Resultaten kan inte valideras om kontrollvärdena avviker från de förväntade värdena.

Det förväntade negativa kontrollvärdet måste finnas upptaget inom det intervall som anges på MLE-kortet.

Obs:

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med lokalt tillämpliga bestämmelser.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

Interferens kan förekomma med vissa sera som innehåller antikroppar riktade mot beståndsdelar i reagenset. Därför bör tolkning av testresultaten göras med hänsyn till patientens anamnes och andra utförda tester. VIDAS TOXO Competition har inte validerats för användning med neonatala prover (navelsträngsblod, etc.), inte heller med andra prover än human serum.

PRESTANDA

Studier som gjorts med VIDAS TXC har gett följande resultat:

Sensitivitet och specificitet:

En studie vid flera centra av 2021 sera, inklusive 200 sera från serokonversion, genomfördes. Sera med avvikande resultat i jämförelse med referensteknikerna testades med infärgningstest och ISAGA. 7 sera kunde inte klassificeras med referensteknikerna och uteslöts från prestandaberäkningen.

Resultaten var följande:

| N = 2014 | | Referenstekniker | |
|--------------|---|------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Sensitivitet: 99,37%. (95% konfidensintervall: (98,68 – 99,70 %))

Specificitet: 99,34%. (95% konfidensintervall: (98,54 – 99,70 %))

Det enda serum från serokonversionen som inte detekterades med VIDAS Toxo Competition hade följande karakteristika:

Infärgningstest: 2 IU/ml (tröskelvärde)

Sensibiliserad direkt agglutination: Negativt

ISAGA: 6 (osäkra).

PRECISION

Reproducerbarhet inom körningar:

3 prover testades i samma körning.

| | n | medel-RFV | CV (%) |
|-----------------|----|-----------|--------|
| negativa | 30 | 2215 | 2,8 |
| svagt positiva | 26 | 1700 | 2,5 |
| starkt positiva | 27 | 118 | 6,2 |

Reproducerbarhet mellan körningar:

3 prover testades enskilt i 17 olika körningar med samma VIDAS-instrument.

| | medel-RFV | CV (%) |
|----------------|-----------|--------|
| negativa | 2117 | 4,4 |
| svagt positiva | 1706 | 3,7 |
| positiva | 1044 | 4,6 |

KORSREAKTIVITET OCH TÄNKBARA STÖRNINGAR

| | | Immunologisk status i relation till Toxoplasmos enligt referenstekniker | |
|---------------------------|----|-------------------------------------------------------------------------|---------|
| | | Positiv | Negativ |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Anti-nukleära antikroppar | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Multipara gravida kvinnor | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Rheumatoida faktorer | 4 | 0 | 4 |
| Syfilis | 4 | 4 | 0 |

Det upptäcktes ingen interferens kopplad till närvaron av någon av dessa potentiella interferensfaktorer, förutom 2st EBV (+) prover och ett prov med rheumatoida faktorer som visade falska positiva resultat med VIDAS TOXO Competition.

PREVALENS

Toxoplasma gondii är en strikt patogen vars prevalens skiljer sig mellan olika länder och områden. Kontaminering med *T. gondii* kan variera beroende på kulturella seder och matvanor. Detta resulterar i en prevalens som sträcker sig från lägre än 10% i vissa områden av Norra Europa till högre än 90% i Afrika.









AVFALLSHANTERING

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser samt övrigt kontaminerat engångsmaterial följer procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter. Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls och avloppsprodukter enligt typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

REFERENSLITTERATUR

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3, 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified paralabprotein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. -Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. - Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

SYMBOLER

| Symbol | Betydelse |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|  | Katalognummer |
|  | Medicintekniska produkter för in vitro diagnostik |
|  | Tillverkare |
|  | Temperaturbegränsning |
|  | Använd före |
|  | Lot nummer |
|  | Se handhavandebeskrivningen |
|  | Räcker till "n" antal tester |

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS Toxo Competition er en automatiseret kvalitativ test til brug med VIDAS-instrumenterne til immunanalyzedetektion af anti-Toxoplasma gondii total Ig i humant serum eller plasma (lithium heparinat eller EDTA) ved hjælp af ELFA-teknikken (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

RESUME OG FORKLARING

Toxoplasma gondii, en obligat intracellulær protozoisk parasit, er et hyppigt patogen hos mennesket. Parasitten, hvis primære vært er katten, er udbredt i naturen og invaderer alle pattedyrordener.

Toxoplasmose er normalt godartet eller asymptomatisk, men kan få svære følger, hvis den optræder hos immunsvækkede personer eller fostre (2). Kongenit toxoplasmose forbundet med moderlig kontaminering før undfangelse er usædvanlig og sker oftest i immuncomprimerede kvinder. Kvinder, der er seropositive, før de bliver gravide, er i det væsentlige beskyttet mod at overføre infektionen til deres ufødte barn (7). Kvinder, der er seronegative, er udsat for at blive smittet under svangerskabet (1).

Diagnosticeringen af *Toxoplasmainfektion* foregår i reglen ved hjælp af biologisk undersøgelse: specifik immunglobulin detektion (IgM og IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition er en screeningstest beregnet til at vurdere patienters immunitetsstatus. (3). Hvis testen er positiv, bør serokonversion eller erhvervet immunitet bestemmes ved hjælp af specifikke tests til detektion af IgG og IgM.

PRINCIP

Analyseprincippet kombinerer en inhibitions-competitions enzym-immunanalysemetode med en afsluttende fluorescensdetektion (ELFA).

Fast -fase-delen (Solid Phase Receptacle (SPR)) tjener både som fast fase og som pipetteringsudstyr for analysen. Reagenserne til analysen er klar til brug og prædispenserede i de forseglede reagensstrips. Alle trin i analysen udføres automatisk af instrumentet.

Reaktionsmediet føres cyklisk ind i og ud af SPR'en flere gange.

Efter fortynding bliver prøven inkuberet med SPR'en. Anti-Toxoplasma antistoffer (IgM og IgG) i prøven vil bindes til de *Toxoplasma gondii* lysat proteiner, der coater indersiden af SPR'en. Ubundne komponenter fjernes ved vaskeprocessen.

Fastfasen inkuberes derpå med konjugatet: Alkalisk - fosfatase-mærkede monoklonale anti-P30 antistoffer. Dette konjugat vil konkurrere med de antistoffer, der er coatet på indersiden af SPR'en, om Toxoplasma antigenet. Ubundet konjugat fjernes ved vask.

Under det sidste detektionstrin føres substratet (4-Methylumbelliferylfosfat) cyklisk ind i og ud af SPR'en. Konjugatet katalyserer enzymatisk hydrolysen af dette substrat til et fluorescerende produkt (4-Methylumbelliferon), hvis fluorescens måles ved 450 nm.

Intensiteten af fluorescensen er omvendt proportional med koncentrationen af immunglobuliner, der er til stede i prøven. Resultaterne beregnes automatisk af instrumentet og udtrykkes som et indeks i relation til kalibreringskurven, der er gemt i hukommelsen.

KITTETS INDHOLD (60 TESTS):

| | | |
|----------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 TXC strips | STR | Klar til brug. |
| 60 TXC SPR'er 2 x 30 | SPR | Klar til brug. SPR'er coatet med <i>Toxoplasma gondii</i> lysat proteiner, RH Sabin stamme dyrket i mus (8). |
| TXC positiv kontrol 1 x 1,9 ml (flydende) | C 1 | Humant serum* indeholdende anti-toxoplasma IgG + 1 g/l natriumazid og proteinstabilisatorer. Klar til brug. Indeks: Konfidensintervallet er beskrevet på MLE kortet efter følgende meddelelse : "Control C1 (+) Test Value Range". |
| TXC negativ kontrol 1 x 1,9 ml (flydende) | C 2 | Humant serum* + 1 g/l natriumazid og proteinstabilisatorer. Klar til brug. Indeks: Konfidensintervallet er beskrevet på MLE kortet efter følgende meddelelse : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Standard 1 x 1,2 ml (flydende) | S 1 | Humant serum* indeholdende anti-Toxoplasma gondii IgG + 1 g/l natriumazid og proteinstabilisatorer. Klar til brug. |
| 1 MLE kort. | | Specifikationsark med de masterkalibreringsdata fra producenten, der er nødvendige til kalibrering af testen. |
| 1 Indlægsseddel | | |

* Produktet er testet og fundet negativt for HBs-antigen, antistoffer mod HIV1, HIV 2 og HCV. Alligevel skal produktet behandles som potentielt smittefarligt, da ingen eksisterende test med absolut sikkerhed kan garantere at de ikke er til stede. Derfor skal sædvanlige sikkerhedsprocedurer iagttages under håndteringen.

SPR

Det indre af SPR'en er under fremstillingen coatet med *Toxoplasma gondii* lysat proteiner. Hver SPR identificeres ved hjælp af TXC-koden. Tag kun det ønskede antal SPR'er ud fra posen og **forsegl posen korrekt igen efter åbning.**

Reagensstrip

Hver strip består af 10 brønde dækket med en folieforsøgling med mærkat. Mærkatet indeholder en stregkode, som hovedsagelig angiver analysekoden, kittets lotnummer og udløbsdato. Folien over den første brønd er perforeret for at gøre det lettere at afpipettere prøven. Den sidste brønd i hver strip er en kuvette, hvori den fluorometriske aflæsning foregår. Brøndene i den centrale del af strip'en rummer de forskellige reagenser til analysen.

Beskrivelse af TXC-strip'en

| Brønde | Reagenser |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Prøvebrønd |
| 2 | Prøvefortyndingsmedie: TRIS-buffer (50 mmol/l) pH 7,3 – Tween + protein og kemiske stabilisatorer +1 g/l natriumazid (400 µl). |
| 3 | Opløsning til indledende vask: TRIS (50 mmol/l) pH 7,3 – Tween + protein og kemiske stabilisatorer +1 g/l natriumazid (600 µl). |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Vaske-opløsning: TRIS (10 mmol/l) pH 7,3 – Tween +1 g/l natriumazid (600 µl). |
| 6 | Konjugat: Alkalisk- fosfatase-mærkede monoclonale anti-P30 antistoffer (muse-) +1 g/l natriumazid (400 µl). |
| 9 | Tom brønd |
| 10 | Kuvette med substrat: 4-Methyl-umbelliferylfosfat (0,6 mmol/l) + diætanolamin (DEA*) (0,62 mol/l eller 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l natriumazid (300 µl). |

*** IRRITERENDE reagens:**

- **R 36** : Irriterer øjnene.
 - **S 26** : Kommer stoffet i øjnene, skylles der straks grundigt med vand, og læge kontaktes.
- For yderligere information henvises til Sikkerhedsdatabladet, der kan rekvireres.

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER

- Pipette med engangsspids kalibreret til at afgive 125 µl.
- Pudder-frie engangs latexhandsker.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.
- Kun til professionel brug.
- Dette kit indeholder produkter af human oprindelse. Ingen kendt analysemetode kan garantere fuldt ud, at der ikke er overførbare patogene stoffer til stede. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres med de normale sikkerhedsforanstaltninger (se Laboratory biosafety manual – WHO - Geneva – Seneste udgivelse).
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgyltig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen patogene stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Reagenserne må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er angivet på æskens etiket.
- Bland ikke reagenser (eller engangsartikler) fra forskellige lots.

- Brug ikke SPR'erne hvis posen er brudt.
- Anvend ikke synligt ødelagte STR'er (beskadiget folie eller plast).
- Brug **pudder-frie** handsker, da det er rapporteret, at pudder kan give forkerte resultater i visse enzymatiske immunanalyse-tests.
- Kittets reagenser indeholder natriumazid, som kan reagere med bly eller kobber i afløbssystemet og danne eksplosive metalazider. Hvis væske, der indeholder natriumazid, hældes ud i afløbssystemet, skal afløbet skylles med vand for at undgå akkumulering.
- Den optiske kuvette med substrat (brønd 10) indeholder et irriterende stof (6,6% diætanolamin). Der henvises til risikosætningen "R" og forholdsreglerne "S" ovenfor.
- Spild skal tørres omhyggeligt op efter behandling med flydende sæbe og en opløsning af blegemiddel med mindst 0,5% natriumhypoklorit. Se brugervejledningen vedrørende spild på eller i instrumentet. Opløsninger, der indeholder blegemiddel, må ikke autoklaveres.
- VIDAS- og mini VIDAS-instrumenter skal regelmæssigt rengøres og dekontamineres (se Brugervejledningen).

OPBEVARINGSBETINGELSER

- VIDAS TXC-kittet skal opbevares ved 2-8°C.
- **Reagenserne må ikke nedfryses.**
- **Alle ubrugte reagenser skal opbevares ved 2-8°C.**
- Kontroller at SPR-posen er korrekt forseglet og ubeskadiget, når kittet åbnes. I modsat fald må SPR'erne ikke bruges.
- **Efter brug forsegles posen med tørremidlet i påny omhyggeligt for at bevare SPR'ernes stabilitet, hvorefter hele kittet stilles tilbage ved 2-8°C.**
- Ved den anbefalede opbevaring er alle komponenter stabile indtil den udløbsdato, der er anført på etiketten.

PRØVER

Prøveart og -opsamling:

Humant serum eller plasma (antikoagulantia: lithium heparinat, EDTA). Det anbefales, at hvert enkelt laboratorium kontrollerer, at de prøvetagningsrør, der anvendes, er kompatible. **Anvendelse af tydeligt hæmolyserede, lipæmiske eller ikteriske prøver er ikke valideret.** Sera kan inaktiveres før testning (30 minutter ved 56°C).

Prøvernes stabilitet

Prøver kan være frisk indsamlet eller opbevaret i 5 dage ved 2-8°C, hvorefter de skal nedfryses ved -25 ± 6 °C. Undgå gentagen nedfrysning og optøning. En undersøgelse udført på frosne prøver over en periode på 2 måneder viste, at kvaliteten af resultaterne ikke påvirkes.

BRUGSANVISNING

Se VIDAS eller mini VIDAS brugervejledning for fuldstændig vejledning.

Registrering af masterlotdata

Inden hvert nyt lot af reagenser tages i anvendelse, skal specifikationer (eller masterlotdata til kalibreringskurven) indlæses i instrumentet (VIDAS eller mini-VIDAS) ved hjælp af det kort til indlæsning af masterlotdata (MLE) (specifikationsark), der er indeholdt i hvert kit. Hvis dette ikke udføres **inden testene påbegyndes**, vil instrumentet ikke kunne udskrive resultater. Masterlotdataene behøver kun at indlæses én gang for hvert lot.

Data kan indlæses automatisk ved hjælp af MLE-kortet eller manuelt.

Kalibrering

Kalibrering ved hjælp af den standard, der følger med sættet, skal udføres ved modtagelsen af et nyt lot reagenser, efter at masterlotdataene er indlæst. Kalibrering skal udføres hver 14. dag. Denne funktion giver instrumentspecifikke kalibreringskurver og kompenserer for eventuelle mindre variationer i analysesignalet i løbet af kittets holdbarhedsperiode.

Den standard, der identificeres som S1, skal testes **dobbel**t (se Brugervejledningen). Standardværdien skal ligge inden for området for den indstillede relative fluorescensværdi, RFV "Relative Fluorescence Value". Er dette ikke tilfældet, må man recalibrere.

Procedure

1. Tag kun de nødvendige reagenser ud af køleskabet og lad dem stå i stuetemperatur i mindst 30 minutter.
2. Brug én TXC-strip og én TXC SPR for hver prøve, kontrol eller standard, der skal testes. **Kontroller at opbevaringsposen er forseglet igen, efter at de nødvendige SPR'er er taget ud.**
3. Indtast eller vælg "TXC" på instrumentet for at indlæse testkoden. Standarden skal identificeres som "S1" og testes **dobbel**t. Hvis den positive kontrol skal testes, skal den identificeres som "C1". Hvis den negative kontrol skal testes, skal den identificeres som C2.
4. Bland standard, kontroller og prøver med en mikser af Vortex-typen.
5. Pipettér **125 µl** standard, prøve eller kontrol i prøvebrønden.
6. Indsæt VIDAS SPR og strips i instrumentet. Kontroller for en sikkerheds skyld, at de farvede mærkater med analysekoden på tre bogstaver på SPR'er og reagensstrips stemmer overens.
7. Start analysen som angivet i VIDAS brugervejledningen. Alle trin i analysen udføres automatisk af instrumentet. Analysen er færdig i løbet af cirka 40 minutter.
8. Fjern SPR'er og strips fra instrumentet, når analysen er færdig.
9. Bortskaf de brugte SPR'er og strips i en egnet beholder.

RESULTATER OG FORTOLKNING

Når analysen er gennemført, analyseres resultaterne automatisk af computeren. Fluorescens måles to gange i reagensstrip'ens aflæsningskuvette for hver testet prøve. Den første aflæsning er en baggrunds aflæsning af substratkuvetten, inden SPR'en indføres i substratet. Den anden aflæsning foretages, efter at substratet er inkuberet med det enzym, der er tilbage på det indre af SPR'en. RFV (Relativ Fluorescensværdi) beregnes ved subtraktion af baggrunds aflæsningen fra slutresultatet. Denne beregning vises på resultatarket.

Instrumentet beregner en testværdi for hver prøve. Denne værdi er forholdet mellem testens RFV (Relative Fluorescence Value) og den standard, der er gemt i hukommelsen.

Tærskel og fortolkning af resultater

| Testværdi | Fortolkning |
|--------------|-------------|
| $i \geq 1,6$ | Negativ |
| $i < 1,6$ | Positiv |

Hvis resultatet er negativt, er patienten ikke immuniseret, og der er ingen serokonversion.

Hvis resultatet er positivt, anbefales det, at den samme prøve, eller en anden prøve taget 21 dage senere, testes med specifikke tests (til detektion af IgG og IgM) for at afgøre, om resultatet skyldes en serokonversion eller en etableret immunitet.

Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie og eventuelle andre udførte undersøgelser.

Vidas TOXO Competition reagent er kalibreret overfor samlede sera.

KVALITETSKONTROL

En positiv kontrol og én negativ kontrol er indeholdt i hvert VIDAS TXC-kit.

Disse kontroller skal analyseres straks efter åbningen af et nyt kit til sikring af, at reagensets præstation ikke er ændret. Hver kalibrering skal også kontrolleres ved hjælp af disse kontroller. Instrumentet kan kun kontrollere kontrolværdierne, hvis de er identificeret som C1 og C2.

Resultater kan ikke godkendes, hvis kontrolværdierne afviger fra de forventede værdier.

Den forventede negative kontrolværdi skal være indeholdt i det område, der er angivet på MLE kortet.

Bemærk

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

Der kan forekomme interferens med visse sera, der indeholder antistoffer rettet mod reagenskomponenter. Derfor skal der ved fortolkning af testresultaterne tages højde for patientens sygehistorie og eventuelle andre udførte undersøgelser.

VIDAS TOXO Competition er ikke valideret til brug med neonatale prøver (navlestrengsblod, etc.) eller med andre prøver end humant serum.

PRÆSTATION

Undersøgelser, der blev udført med VIDAS TXC gav følgende resultater:

Sensitivitet og specificitet:

Der er foretaget en multicenterundersøgelse på 2021 sera indbefattende 200 sera fra serokonversion. Sera, som gav afvigende resultater sammenlignet med referenceteknikker, blev testet med Dye-Test og ISAGA. 7 sera kunne ikke identificeres med referenceteknikker og blev ekskluderet fra præstationsberegningen. Resultaterne var følgende:

| N= 2014 | | Referenceteknikker | |
|---------|---|--------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS | + | 1101 | 6 |
| TXC | - | 7 | 900 |

Sensitivitet: 99,37 %. Område ved 95% (98,68 – 99,70 %)

Specificitet: 99,34%. Område ved 95% (98,54 -99,70 %)

Det eneste serum fra serokonversionen, der ikke blev detekteret med VIDAS Toxo Competition, havde følgende karakteristika:

Dye-Test: 2 IU/ml (tærskelværdi)
Sensibiliseret Direkte Agglutination:Negativ
ISAGA: 6 (tvivlsom).

PRÆCISION

Reproducérbarhed i udførelsen:

3 prøver blev testet i samme kørsel.

| | n | Gennemsnitlig RFV | CV (%) |
|----------------|----|-------------------|--------|
| negative | 30 | 2215 | 2.8 |
| Svagt positiv | 26 | 1700 | 2.5 |
| Stærkt positiv | 27 | 118 | 6.2 |

Reproducérbarhed mellem udførelserne

3 prøver blev testet hver for sig i 17 forskellige kørsler på samme VIDAS-instrument.

| | Gennemsnitlig RFV | CV (%) |
|---------------|-------------------|--------|
| negative | 2117 | 4.4 |
| Svagt positiv | 1706 | 3.7 |
| positive | 1044 | 4.6 |

KRYDSREAKTIVITET OG RELEVANTE INTERFERENSER

| | n | Immunologisk status i relation til Toxoplasmosis i henhold til referenceteknikker | |
|----------------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| | | Positive | Negative |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgG | 8 | 7 | 1 |
| Antinukleære antistoffer: | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Flergangsfødende gravide kvinder | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| Rheumatoide factorer | 4 | 0 | 4 |
| Syfilis | 4 | 4 | 0 |

Der afslørede ingen interferens i relation til disse potentielt interfererende stoffers tilstedeværelse undtagen med 2 EBV positive-prøver og en prøve med rheumatoid faktor, som gav falsk positive resultater med VIDAS TOXO Competition.

FOREKOMST

T. gondii er et strict patogen hvis forekomst varierer fra land til land eller selv fra region til region.

Forurening med *T. gondii* kan variere som følge af kulturelle skikke og spisevaner, resulterende i en forekomst på mindre end 10 % i visse regioner af Nordeuropa og på mere end 90 % i Afrika.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD









Bortskaf alle brugte eller ubrugte komponenter samt eventuelle andre kontaminerede materialer efter procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets type og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

LITTERATURHENVISNINGER

1. LECOLIER B. " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
2. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
3. DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
4. POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUICHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3 , 510 - 515.
5. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
6. NAOT Y., REMINGTON J.S. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
7. DESMONTS G. –Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. Press. Méd. 1990 : 1445-9.
8. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H, Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.parasitol.Hum.Comp. 1969, 44, p.217-224.

SYMBOLFORTEGNELSE

| Symbol | Betydning |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
|  | Katalognummer |
|  | Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik |
|  | Producent |
|  | Temperaturbegrænsning |
|  | Holdbar til |
|  | Lotnummer |
|  | Se brugsanvisning |
|  | Indeholder tilstrækkeligt til "n" test |



bioMérieux® SA

au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>
Trykt i Frankrig



bioMérieux, det blå logo, VIDAS og SPR er anvendte, under registrering og/eller indregistrerede varemærker tilhørende bioMérieux SA eller et af dets datterselskaber.

VIDAS[®] TOXO Competition (TXC)

IVD

VIDAS TOXO Competition jest automatycznym testem jakościowym w systemie VIDAS do wykrywania całkowitych przeciwciał Ig anty-Toxoplasma gondii w ludzkiej surowicy lub osoczu (heparyna litowa lub EDTA) z zastosowaniem metody ELFA (metoda enzymoimmunofluorescencyjna).

WPROWADZENIE

Toxoplasma gondii – obligatoryjny wewnątrzkomórkowy pierwotniak pasożytniczy jest patogenem o istotnym znaczeniu w przypadku ludzi. Pasożyt, którego żywicielem pierwotnym są kotowate rozprzestrzeniony jest w naturze i atakuje wszystkie gatunki ssaków. Toksoplazmoza ma zazwyczaj przebieg łagodny lub bezobjawowy, ale może nieść za sobą poważne następstwa jeśli wystąpi u osobników z obniżoną odpornością lub u płodów (2). Toksoplazmoza wrodzona w połączeniu z zakażeniem matczynym przed poczęciem dotyczy przede wszystkim kobiet z obniżoną odpornością (7). Kobiety seropozytywne przed zajściem w ciążę, chronione są przed przeniesieniem zakażenia na nienarodzone dzieci. Kobiety które nie posiadają przeciwciał zagrożone są zakażeniem w czasie ciąży (1). Rozpoznanie zakażenia *Toxoplasma* dokonuje się na podstawie badań biologicznych: wykrywając specyficzne przeciwciała (IgM i IgG)(4, 5, 6).

VIDAS TOXO Competition jest testem skринingowym do oceny stanu immunologicznego pacjentów (3). Jeśli test jest dodatni, należy określić czy jest to serokonwersja czy przejaw nabytej odporności, wykonuje się to za pomocą specyficznych testów do wykrywania IgG i IgM.

ZASADA

Podstawą badania jest enzymoimmunologiczna metoda kompetycyjna (oparta na zasadzie zahamowania) połączona z końcowym odczytem fluorescencji (ELFA).

Pipetka SPR (Solid Phase Receptacle), jest jednocześnie nośnikiem fazy stałej i elementem pipetującym. Wszystkie odczynniki do pojedynczego badania są gotowe do użycia i rozporcjowane w szczelnie zamkniętych paskach testowych. Wszystkie etapy badania wykonywane są automatycznie przez aparat.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (60 TESTÓW):

| | | |
|-----------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60 pasków testowych TXC | STR | Gotowe do użycia. |
| 60 pipetek SPR TXC 2 x 30 | SPR | Gotowe do użycia. Wnętrze SPR opłaszczony lizatem białek <i>Toxoplasma gondii</i> , RH szczep Sabina uzyskiwany z myszy (8). |
| TXC kontrola dodatnia 1 x 1.9 ml (roztwór) | C 1 | Ludzka surowica* zawierająca anty-toksoplazma IgG + 1 g/l azydek sodowy i stabilizatory białkowe. Gotowa do użycia. Indeks : przedział ufności podany jest na karcie MLE po następującym zdaniu : "Control C1 (+) Test Value Range". |
| TXC kontrola ujemna 1 x 1.9 ml (roztwór) | C 2 | Ludzka surowica* + 1 g/l azydek sodowy i stabilizatory białkowe. Gotowa do użycia. Indeks : przedział ufności podany jest na karcie MLE po następującym zdaniu : "Control C2 (-) Test Value Range". |
| Standard 1 x 1.2 ml (roztwór) | S 1 | Ludzka surowica* zawierająca anty-toksoplazma IgG + 1 g/l azydek sodowy i stabilizatory białkowe. Gotowy do użycia. |
| 1 karta MLE | | Arkusze specyfikacji zawierający fabryczne dane kalibracyjne wymagane do skalibrowania testu. |
| 1 Ulotka techniczna | | |

* Składnik ten przebadano i uzyskano negatywny wynik dla antygenu HBs, przeciwciał Anty-HIV1, Anty-HIV 2 i Anty-HCV. Jednakże, ponieważ żaden istniejący test nie gwarantuje w pełni nieobecności powyższych czynników, należy ten składnik zestawu traktować jako potencjalnie zakaźny. Należy przestrzegać zwykłych zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się powyższym zestawem odczynnikowym.

Pipetka SPR

Wnętrze pipetki SPR w czasie produkcji jest opłaszczane lizatem białek *Toxoplasma gondii*. Każdy SPR jest oznaczony kodem TXC. Powinno się wyjmować z torebki tylko potrzebną ilość SPR, a potem ją dokładnie zamknąć.

Pasek testowy

Pasek testowy składa się z 10 zakrytych folią studzienek. Naklejka naklejona na folii zawiera kod paskowy, który określa typ wykonywanego testu, numer serii i datę ważności testu. Aby ułatwić wprowadzenie badanej próbki do pierwszej studzienki, folia zakrywająca tę studzienkę jest perforowana. Ostatnią studzienką w każdym zestawie jest kuweta pomiarowa, w której dokonywany jest pomiar fluorescencji. Studzienki w centralnej części paska zawierają wymagane odczynniki.

Opis paska testowego TXC

| Studzienki | Odczynniki |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Pusta. |
| 2 | Rozcieńczalnik surowicy : TRIS bufor (50 mmol/l) pH 7.3 - Tween + białkowe i chemiczne stabilizatory + 1 g/l azydek sodowy (400 µl) |
| 3 | Bufor przemylający: TRIS (50 mmol/l) pH 7.3 - Tween + białkowe i chemiczne stabilizatory + 1 g/l azydek sodowy (600 µl) |
| 4 - 5 - 7 - 8 | Bufor płuczający : TRIS (10 mmol/l) pH 7.3 - Tween + 1 g/l azydek sodowy (600 µl) |
| 6 | Koniugat: fosfataza alkaliczna znakowana monoklonalnymi, mysimi przeciwciałami anti-P30 + 1 g/l azydek sodowy (400 µl) |
| 9 | Pusta. |
| 10 | Kuweta optyczna z substratem: fosforan 4-Metyloumbelliferylu (0.6 mmol/l) + dietanoloamina (DEA*) (0.62 mol/l lub 6.6 % pH 9.2) + 1 g/l azydek sodowy (300 µl). |

* Odczynnik DRAŻNIĄCY:

- **R 36** : Drażni oczy.
- **S 26** : W przypadku kontaktu z oczami, przepłukać natychmiast dużą ilością wody i szukać pomocy medycznej.

W celu uzyskania dokładniejszych informacji, należy zwrócić się o Kartę Bezpieczeństwa dostępną na życzenie.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE LECZ NIE WCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

- Pipeta na 125 µl z jednorazowymi końcówkami.
- Rękawiczki jednorazowe bez talku.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.**
- **Wyłącznie do specjalistycznego zastosowania.**
- **Zestaw ten zawiera produkty pochodzenia ludzkiego. Żadne znane analizy całkowicie nie gwarantują nieobecności czynników zakaźnych. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Z tego powodu powinno się przestrzegać zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się nimi (patrz "Laboratory biosafety manual" – WHO – Geneva – ostatnie wydanie).**
- Zestaw ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt całkowicie nie gwarantują nieobecności czynników zakaźnych. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Z tego powodu powinno się przestrzegać zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się nimi (nie spożywać i nie wdychać).
- Nie używać przeterminowanych odczynników.
- Nie mieszać odczynników (lub materiałów zużywalnych) z różnych serii.
- Nie używać pipetek SPR jeżeli torebka, w której się znajdują jest przedziurawiona.
- Nie używać wizualnie uszkodzonych pasków testowych (zniszczona folia albo plastik).

- Używać rękawiczek **bez talku**, ponieważ talk może wpływać na poprawność wyników w przypadku pewnych badań immunoenzymatycznych.
- Zestaw odczynników zawiera azydek sodowy, który może reagować z ołowiem lub miedzią prowadząc do tworzenia wybuchowych azydków metali. Jeżeli jakiś roztwór zawierający azydek sodowy jest usuwany z systemu, sączi powinny być opłukiwane wodą dla uniknięcia niekorzystnego wpływu na armaturę.
- Kuweta optyczna z substratem (studzienka 10) zawiera szkodliwy środek (6.6% dietanoloamina). Patrz powyżej na temat ryzyka "R" i środków ostrożności "S".
- Zabrudzenia aparatu powinny być dokładnie wycierane przy użyciu roztworu detergentu lub przygotowanego, wybielającego roztworu zawierającego przynajmniej 0.5 % podchlorynu sodu. Zobacz - Instrukcja Użytkownika VIDAS - czyszczenie zabrudzeń lub aparat VIDAS. Nie autoklawować substancji zawierających wybielacz.
- Aparaty VIDAS i mini VIDAS powinny być regularnie czyszczone i poddawane dekontaminacji (patrz - Instrukcja Użytkownika VIDAS).

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

- Zestaw VIDAS TXC przechowywać w temp. 2-8°C.
- **Nie zamrażać odczynników.**
- **Wszystkie nieużyte odczynniki przechowywać w temp. 2-8°C**
- Po otwarciu zestawu należy sprawdzić czy torebka SPR jest zapieczętowana i czy nie jest uszkodzona. Jeżeli jest uszkodzona nie należy stosować takiego SPRu.
- **Torebkę należy dokładnie zamknąć pamiętając aby w środku pozostał osuszacz. Tak zabezpieczony zestaw można dalej przechowywać w temp. 2-8°C.**
- Jeżeli spełnione zostaną wszystkie warunki przechowywania, zestaw jest ważny aż do osiągnięcia daty ważności na etykiecie.

MATERIAŁY

Typy materiałów i ich pobieranie:

Ludzka surowica lub osocze (antykoagulanty: heparyna litowa, EDTA). Zalecane jest sprawdzenie przez każde laboratorium kompatybilności używanych próbek. **Nie zostało zatwierdzone używanie próbek zhemolizowanych, lipemicznych lub żółtaczkowych.** Surowice mogą być inaktywowane przed badaniem (30 minut w 56°C).

Trwałość materiału

Używać świeżo pobranych próbek lub przechowywać je do

5 dni w 2-8°C, po tym czasie muszą zostać zamrożone w -25 ± 6 °C.

Unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania.

Badania przeprowadzone na zamrożonych próbkach przechowywanych ponad 2 miesiące, wykazały brak wpływu zamrożenia na jakość wyników.

INSTRUKCJA UŻYTKOWNIKA

W celu uzyskania pełnych instrukcji, patrz Podręcznik Użytkownika VIDAS lub mini VIDAS.

Krzywa kalibracyjna

Przed każdym użyciem odczynników nowej serii należy wprowadzić do pamięci aparatu dane przygotowanej fabrycznie krzywej kalibracyjnej, zawarte na karcie MLE (*Master Lot Entry*). Karta MLE dołączana jest do każdego zestawu odczynnikowego. **Bez wprowadzenia danych MLE test nie zostanie wykonany.** Dane o krzywej kalibracyjnej należy wprowadzić do pamięci aparatu raz dla danej serii odczynników.

Dane z karty MLE można wprowadzać do aparatu automatycznie lub ręcznie.

Rekalibracja

Rekalibracja przy użyciu standardu dołączonego do zestawu, musi być przeprowadzona po otrzymaniu nowej serii odczynników, ale dopiero po wprowadzeniu danych krzywej kalibracyjnej (karta MLE). Następnie co 14 dni należy przeprowadzać rekalibrację. Dzięki tej operacji uzyskuje się krzywe kalibracyjne specyficzne dla danego urządzenia, operacja ta również kompensuje możliwe niewielkie odchylenia w sygnale oznaczenia aż do osiągnięcia przez zestaw daty ważności.

Standard oznaczony jako S1 powinien być badany w **dublecie** (patrz Instrukcja Użytkownika).

Poziom RFV standardu "Relative Fluorescence Value" musi zawierać się w wyznaczonym przedziale. Jeżeli tak nie jest, należy ponownie wykonać rekalibrację.

Procedura

1. Z lodówki wyjąć tylko odpowiednią ilość odczynników i umieścić je w temperaturze pokojowej na około 30 minut.
2. Wyjąć z pudełka po jednym pasku testowym TXC i jednej pipetce SPR TXC dla każdej próbki, kontroli lub standardu, które będą badane. **Należy zwrócić uwagę, aby torebka z pipetkami SPR była stale, szczelnie zamknięta.**
3. Wpisać lub wybrać " TXC " w celu określenia kodu badania. Standard musi być oznaczony jako "S1" i badany w **dublecie**. Jeżeli ma być testowana kontrola dodatnia, powinna być oznaczona "C1". Jeżeli ma być testowana kontrola ujemna, powinna być oznaczona C2.
4. Wymieszać standard, kontrolę i próbki przy użyciu mieszadła Vortex.
5. Odpipetować **125 µl** standardu, próbki lub kontroli do pierwszych studzienek pasków testowych.
6. Umieścić paski testowe i pipetki SPR w aparacie. Sprawdź czy kolorowe nalepki z kodem testu na pipetkach SPR zgadzają się z analogicznymi umieszczonymi na paskach testowych.
7. Rozpocząć badanie zgodnie z Instrukcją Użytkownika. Wszystkie etapy badania są przeprowadzane przez aparat. Badanie zostanie wykonane w ciągu około 40 minut.
8. Po zakończeniu badania usunąć paski testowe i pipetki SPR z aparatu.
9. Zużyte pipetki SPR i paski testowe należy odpowiednio potraktować.

WYNIKI I INTERPRETACJA

Po zakończeniu badania komputer automatycznie drukuje wyniki. Odczyt fluorescencji w kuwecie pomiarowej każdego paska testowego wykonywany jest dwukrotnie. Wstępny odczyt dotyczy tła kuwety z substratem. Drugi odczyt fluorescencji następuje po inkubacji pipetki SPR z substratem. RFV (Relative Fluorescence Value) obliczane jest jako różnica wartości końcowej i tła. Obliczenie to pojawia się na końcowym wydruku.

Aparat wylicza wartość testową dla każdej próbki. Ta wartość testowa jest stosunkiem RFV testu (Relative Fluorescence Value) do standardu przechowywanego w pamięci.

Punkty odcięcia i interpretacja wyników

| Wartość testowa | Interpretacja |
|-----------------|---------------|
| $i \geq 1.6$ | Ujemny |
| $i < 1.6$ | Dodatni |

Jeżeli wynik jest ujemny, to oznacza, że pacjent nie uległ immunizacji i nie doszło do serokonwersji.

Jeżeli wynik jest dodatni, zaleca się zbadanie tej samej próbki lub próbki pobranej świeżo za 21 dni stosując specyficzne testy (do wykrywania IgG i IgM) celem określenia czy wynik jest skutkiem serokonwersji czy ustalonej immunizacji.

Interpretacja wyniku testu powinna być przeprowadzana w porównaniu z historią choroby pacjenta i wynikami innych badań.

Odczynnik VIDAS TOXO Competition został skalibrowany na podstawie zebranych surowic.

KONTROLA JAKOŚCI

Jedna kontrola dodatnia i jedna kontrola ujemna znajdują się w każdym zestawie odczynników VIDAS TXC.

Kontrola, przy pomocy tych odczynników musi być wykonana po otwarciu nowego zestawu odczynników dla zapewnienia poprawności wyników. Kontrole muszą być sprawdzone podczas każdej rekaliibracji. Aparat będzie w stanie sprawdzić wartość kontroli tylko wtedy gdy będą one oznaczone jako C1 i C2.

Wyniki nie mogą zostać zatwierdzone, jeżeli nie zawierają się w oczekiwanych przedziałach.

Spodziewana wartość kontroli ujemnej musi zawierać się przedziale zaznaczonym na karcie MLE.

Uwaga

Obowiązkiem użytkownika jest przeprowadzenie kontroli jakości zgodnie z lokalnymi uregulowaniami.

OGRANICZENIA BADANIA

Interferencje mogą być spotykane w pewnych surowicach zawierających przeciwciała skierowane przeciwko składnikom odczynników. Z tego powodu wyniki powinny być interpretowane w porównaniu z historią choroby pacjenta i wynikami innych badań.

Test VIDAS TOXO Competition nie jest zatwierdzony do badania materiałów pobranych od noworodków (krew pępowinowa, itp.) ani materiałów innych niż ludzka surowica.

WIARYGODNOŚĆ

Badania przeprowadzone na teście VIDAS TXC dały następujące wyniki:

Czułość i specyficzność:

Przeprowadzono badanie wielośrodkowe 2021 surowic zawierających 200 surowic z serokonwersją. Surowice które dały rozbieżne wyniki w porównaniu z technikami referencyjnymi badano testami Dye-Test i ISAGA. 7 surowic nie mogło być sklasyfikowanych przy pomocy technik referencyjnych i zostały one wyłączone z wyliczeń wiarygodności.

Wyniki przedstawiono poniżej:

| N = 2014 | | Techniki referencyjne | |
|-----------|---|-----------------------|-----|
| | | + | - |
| VIDAS TXC | + | 1101 | 6 |
| | - | 7 | 900 |

Czułość: 99,37 %. Udział ufnosci 95% (98,68 – 99,70 %)

Specyficzność: 99,34%. Udział ufnosci 95% (98,54 – 99,70 %)

Tylko surowica z serokonwersją, która nie została wykryta przez test VIDAS Toxo Competition miała następującą charakterystykę:

Dye-Test: 2 IU/ml (poziom odcięcia)

SDA: Ujemny

ISAGA: 6 (wątpliwy).

PRECYZJA

Powtarzalność:

Testowano 3 próbki w jednej serii

| | n | Średnie RFV | CV (%) |
|----------------|----|-------------|--------|
| ujemny | 30 | 2215 | 2.8 |
| Słabo dodatni | 26 | 1700 | 2.5 |
| Silnie dodatni | 27 | 118 | 6.2 |

Odtwarzalność

Testowano 3 próbki pojedynczo w 17 różnych seriach na tym samym aparacie VIDAS.

| | średnie RFV | CV (%) |
|----------------|-------------|--------|
| ujemny | 2117 | 4.4 |
| Słabo dodatni | 1706 | 3.7 |
| Silnie dodatni | 1044 | 4.6 |

REAKCJE KRZYŻOWE I ZWIĄZANE Z NIMI INTERFERENCJE

| | | Stan immunologiczny powiązany z toksoplazmozą w odniesieniu do technik referencyjnych | |
|---------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| | | Dodatni | Ujemny |
| HBs Ag | 11 | 9 | 2 |
| HIV | 14 | 10 | 4 |
| P. falciparum | 10 | 6 | 4 |
| CMV IgM | 8 | 7 | 1 |
| Przeciwciała anty-jądrowe | 23 | 7 | 16 |
| EBV | 20 | 2 | 18 |
| Lyme | 4 | 2 | 2 |
| Ciężarne wieloródki | 21 | 8 | 13 |
| C. trachomatis | 7 | 7 | 0 |
| RF | 4 | 0 | 4 |
| Kiła | 4 | 4 | 0 |

Wykazano brak interferencji związanych z obecnością tych potencjalnych interferentów, z wyjątkiem 2 próbek EBV (+) i jednej próbki z czynnikiem reumatoidalnym, które dały fałszywie dodatnie wyniki w teście VIDAS TOXO Competition.

PREWALENCJA

Toxoplasma gondii jest patogenem, którego występowanie jest różne w zależności od kraju i regionu.

Zakażenie *T.gondii* może zależeć od zwyczajów kulturowych i nawyków żywieniowych, dając w wyniku procent występowania od poniżej 10 % w pewnych regionach Europy Północnej do powyżej 90 % w Afryce.

SKŁADOWANIE ODPADÓW

Składowanie wszystkich zużytych i niezużytych składników i innych skażonych materiałów należy przeprowadzać zgodnie z procedurą dotyczącą produktów potencjalnie zakaźnych.

Za obchodzenie się i składowanie wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i składować (lub powierzyć do składowania) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnymi.

LITERATURA

- Bertrand LECOLIER " Séroconversion de la toxoplasmose "Tempo Médical n° 422-20/03/91-13.
- FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. "Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale". NPN, Médecine n°165-Mai 1991.
- DAVE J., BALFOUR A.H., and PERKIN J. "Evaluation of the VIDAS toxo competition assay for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera". Serodiagnosis Immunotherapy Infectious Disease. 1994, 6, 41-45.
- POULETTY P., PINON J.M., GARCIA GONZALEZ M., DESONTS G., THULLIEZ P., THOANNES H., KADOUCHE J. An Anti-Human Immunoglobuline M Monoclonal Antibody for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Clin.Microbiology 1984, 3 , 510 - 515.
- SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J. Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of *Toxoplasma* infection using a purified parasite protein (P30), Clin. Exp.Immunol., 1985, 62, 262 - 269.
- Y. NAOT, J.S. REMINGTON. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* : Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. Jnl Inf Dis. 1980, 142, 757 - 766.
- G. DESMONTS. –Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. – Press. Méd. 1990 : 1445-9.
- COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

TABELA SYMBOLI

| Symbol | Znaczenie |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|  | Numer katalogowy |
|  | Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro |
|  | Producent |
|  | Przechowywać w temperaturze |
|  | Zużyć do |
|  | Numer serii |
|  | Odnieś się do instrukcji użycia |
|  | Zawartość wystarczy do wykonania <n> oznaczeń |

