

ELI.HA Toxo

Serodiagnostiek van toxoplasmose indirecte hemagglutinatie

120 Onderzoeken
(Artikel 66610)

8000160-NL-2012-02

Naar de *in vitro*-Diagnose, voor professioneel gebruik.
De testen zijn voor eenmalig gebruik.



0459

1 - DOEL

ELI.HA Toxo maakt de kwantitatieve bepaling van serumantilichamen mogelijk Gericht tegen *Toxoplasma gondii* door indirecte hemagglutinatie. Met de kit kunnen 120 tests of 20 reacties worden uitgevoerd met 6 verdunningen.

2 - INVOERING

Toxoplasmose is een parasitaire infectie, waarvan de veroorzaker de protozoa is *Toxoplasma gondii* is. Goedaardig of in de overgrote meerderheid van de gevallen zelfs asymptomatisch, dit vormt alleen een ernstig risico voor seronegatieve zwangere vrouwen en patiënten met een zwak immuunsysteem.

Tijdens de immuunrespons ontwikkelt het individu verschillende soorten antilichamen gericht tegen verschillende toxoplasmatische antigenen. Het relatieve percentage van elk van deze antilichamen in serum kan variëren van persoon tot persoon en binnen dezelfde persoon, afhankelijk van het ontwikkelingsstadium van de infectie.

3 - BEGINSEL

ELI.H.A Toxo is gebaseerd op het principe van indirecte hemagglutinatie. de Gesensibiliseerde rode bloedcellen bestaan uit rode bloedcellen van schapen die bedekt zijn met een toxoplasmatisch antigeen. Deze techniek wordt gebruikt om antitoxoplasmatisch IgG en IgM te detecteren. Ze kunnen worden onderscheiden door het serum te behandelen met 2-mercapto-ethanol (2-ME), dat de bindingskracht van IgM remt.

De aanwezigheid van anti-*Toxoplasma gondii* -Antilichamen in het serum agglutineren gesensibiliseerde rode bloedcellen, wat leidt tot een roodbruine waas in het putje. Bij afwezigheid van specifieke antistoffen bezinken deze rode bloedcellen in de vorm van een ring op de bodem van het putje.

De niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen zorgen voor de specificiteit van de reactie en elimineren interferentie van natuurlijke agglutinen tegen schapen (Forssman's hetero-antilichamen, antilichamen tegen infectieuze mononucleosis, enz.).

De reactie vindt plaats in een U-vormige microtiterplaat.

De afhandeling is snel en eenvoudig. De resultaten worden bereikt in 2 uur.

4 - REAGENTIA EN MATERIELEN

Omschrijving	Aantal
R1: Houder met 2.4 ml gesensibiliseerd rode bloedcellen	1
R2: Container met 1 ml niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
BUF: Container met 55 ml buffer fosfaat pH 7,2	1
R3 : Container met 2 ml adsorbens	1
CONTROL + : Container met 0,2 ml getitreerd Positieve controle	1
CONTROL - : Container met negatieve controle van 0,2 ml	1
MICROPLAAT: U-vormige microplaten	2
DROPPER: speciale druppelaar (18 ± 2 µL)	2

5 - VOORZORGSMAATREGELEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn daar alleen voor *in vitro* -De diagnose wordt vastgesteld en moet worden uitgevoerd door bevoegd personeel.
- De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Alle reagentia behalve **BUF**, bevatten stoffen van dierlijke oorsprong en moeten met zorg worden behandeld.
- De monsters zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden behandeld met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en in overeenstemming met de hygiënevoorschriften die van toepassing zijn in het land van gebruik.
- de containers **CONTROL** bevatten natriumazide (<0,1%).
- Gebruik geen reagentia na de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia uit verschillende batches.
- Wacht tot het serum en de reagentia bij kamertemperatuur zijn geëquilibreerd voordat u de test uitvoert.
- reagentia **R1** en **R2** Goed schudden voor gebruik.
- Bij het doseren van de reagentia **R1** en **R2** zorg ervoor dat de druppelaar verticaal staat. Zorg ervoor dat er geen luchtbellen in de druppels zitten zodat het debiet constant blijft.

6 - PROBENAHE UND-VERARBEITUNG

Gebruik verse sera of sera die bij -20°C zijn bewaard en vrij zijn van hemolyse, troebelheid of verontreiniging.
Vermijd herhaaldelijk invriezen en ontdooien.
Ontleed het serum niet.

7 - CONSERVERING EN VERVAARDIGING VAN REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik.

Alle reagentia die bij 2-8 °C worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevroren.

8 - MATERIAAL VEREIST MAAR NIET INBEGREPEN

- Automatische pipet(en) met een pipetteervolume aangepast aan de te meten hoeveelheid
- Containers voor verontreinigd afval - Centrifuge
- 2-mercaptoëthanol (2-ME) - hemolyse buizen.

9 - METHODE

Laat de reagentia vóór gebruik bij kamertemperatuur in evenwicht komen.

9.1 - Voorbereiding van het monster

Verdun het te testen serum tot 1/40:

- 50 µL serum;
- 1,95 ml van reagens **BUF**.

9.2 - De microtiterplaatstest uitvoeren

- Voeg 50 µL van het reagens toe met behulp van een meerkanaalspipet **BUF** in 8 putjes van de microtiterplaat.
- Gebruik een micropipet om 50 µL van het verdunde serum toe te voegen aan de 1e put.
Met het reagens **BUF** Meng en pipet 50 µL van de 1e put in de 2e, van de 2e in de 3e, enzovoort tot aan de 6e put, waarbij 50 µL uit de 6e put wordt afgevoerd.
Dit resulteert in verdunningen van 1/80 tot 1/2560.
- Voeg 50 µL van het verdunde serum toe aan de 7e put.
Met reagens **BUF** meng en gooi 50 µL weg.
Deze verdunning (1/80) vormt de serumcontrole die tot taak heeft de natuurlijke antischaaapagglutinenen die bepaalde serums kunnen bevatten, op te sporen.
- de reagentia **R1** en **R2** schud zachtjes.
 - Voeg 1 druppel reagens toe **R1** in de eerste 6 putten.
 - Voeg 1 druppel reagens toe **R2** in het 7e putje (serumcontrole).
 - Voeg 1 druppel reagens toe **R1** in het 8e putje (reagenscontrole), waarvan de taak is om de geldigheid van het reagens te controleren **BUF** en het reagens **R1** te beheersen.

Opmerking: Voer slechts één reactieve controle uit per testrun.

- homogeniseer de inhoud van de putjes zeer zorgvuldig:
 - ofwel handmatig, door zijdelings op de zijanten van de microplaat, plat gelegd;
 - of het gebruik van een vibrerende schudder voor microtiterplaten. niet gebruik geen orbitaal schudapparaat.
- Laat de plaat daarna stil en trillingsvrij staan.
- Lees de reactie 2 uur later.

9.3 - IgM-detectie: behandeling met 2-mercapto-ethanol

De bepaling van antitoxoplasmatische antilichamen voor en na behandeling van het serum met 2-ME maakt het mogelijk om de aanwezigheid van IgM-antilichamen te benadrukken.

- Bereid de 2-ME-oplossing voor: 140 µL 2-ME qsp 10 mL met reagens **BUF**. Deze oplossing moet in een bruine fles worden bewaard. Het is 1 maand bij + 2 ° ...+ 8 ° C stabiel.
- Schud en verdeel 50 µL van deze 2 ME-oplossing in 6 putjes van de microtiterplaat.
- Volg vervolgens vanaf de tweede stap het protocol "Uitvoeren van de microtiterplaatstest".

9.4 - Adsorptie van natuurlijke anti-schapenagglutinenen in serumcontroleagglutinatie

- Schud het reagens **R3** voorzichtig.
- Plaats het in een buisje en meng het:
 - 0,1 ml serum;
 - 0,3 ml reagens **R3**.
- Laat 60 min bij kamertemperatuur incuberen.
- Centrifugeer gedurende 15 minuten op 800 g.
- Verzamel het supernatant; het serum wordt vervolgens 1/4 verdund.
- Verdun het supernatant tot 1/10 in reagens **BUF** verdunnen om een geadsorbeerde verdunning van de stof te verkrijgen (1/40).
- Herhaal het protocol "Uitvoeren van de test op microtiterplaat" en vervang de moederverdunning door de geadsorbeerde moederverdunning.

10 - INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- de reagentia **CONTROL +** en **CONTROL -** moeten worden behandeld als sera voor analyse. de titel van **CONTROL +** moet overeenkomen met de titel op het

etiket van de fles bij ± één verdunning. Dat **CONTROL** - mag geen hemagglutinatie hebben. Als dit niet het geval is, is de test niet geldig.

- De serumcontrole zou een negatieve reactie (ring) moeten veroorzaken. Als deze controle gehemagglutineerd is, moet de test worden herhaald nadat de natuurlijke anti-schapeagglutinines door middel van adsorptie uit het serum zijn verwijderd.

- De reactieve controle moet een negatieve reactie (ring) veroorzaken. Als deze controle gehemagglutineerd is, kan het product: **ELI.HA Toxo** Niet gebruikt.

11 - AFLEZEN

Negatieve reactie: Afwezigheid van hemagglutinatie .

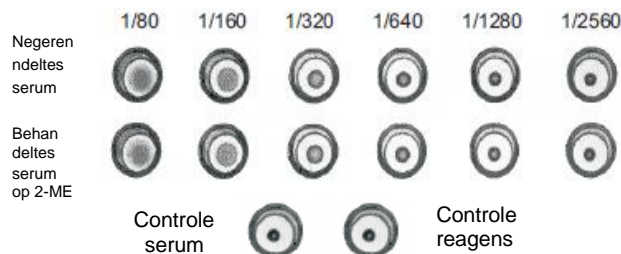
Aanwezigheid van een min of meer brede ring op de bodem van de put.

Positieve reactie: Aanwezigheid van hemagglutinatie.

Aanwezigheid van een rood/bruine sluijer langs de buisjes; soms met een dunne marge.

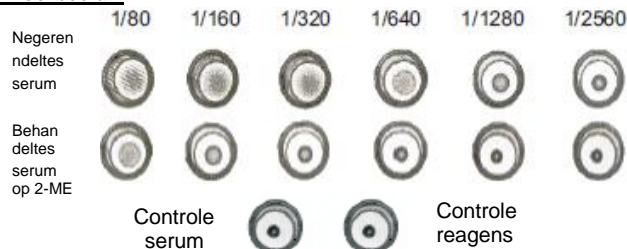
Reactieve beelden van hemagglutinatie verkregen met positieve sera worden hieronder getoond.

B.voorbeeld 1:



↳ 1/160 serumpositief zonder IgM

B.voorbeeld 2:



1/640 positief onbehandeld serum - 1/80 positief 2 ME-serum

↳ positief serum met IgM

De titer wordt gegeven door de eerste verdunning, die een brede en perifere ring heft.

De UI / ml-titer komt overeen met de wederzijdse waarde van deze beperkende verdunning vermenigvuldigd met de

gevoeligheidsdrempel van het reagens dat op de kit is gespecificeerd.

voorbeeld : Als een serum positief is tot een verdunning van 1/320 en de gevoeligheidsdrempel 0,1 IU/ml is, is de titer van dit serum $320 \times 0,1 = 32 \text{ IE/ml}$.

12 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Titer < 1/80: negatieve reactie.

Afwezigheid van anti-Toxoplasma-antilichamen of niet-detecteerbare niveaus.

- **Screeningsonderzoek:** Gebrek aan waarschijnlijke immuniteit die serologische monitoring vereist in geval van zwangerschap.
- **Onderzoek op verdenking** voor een toxoplasmatische infectie: Afwezigheid van toxoplasmatische infectie of zeer vroege infectie. Controleer met een nieuw monster om de mogelijke aanwezigheid van antilichamen te markeren.

1/80 ≤ titer < 1/160: positieve reactie.

Aanwezigheid van anti-Toxoplasma limiet antilichamen.

- **Screeningsonderzoek:** te interpreteren volgens de resultaten van alle toxoplasmatische serologische technieken toegepast op het serum. Indien nodig, om te testen op een nieuw monster.
- **Vervolgonderzoek van een zwangere vrouw** Vrouw waarvan bekend is dat ze niet immuun is of getest als een nieuwe infectie wordt vermoed: waarschijnlijk actieve toxoplasmose. Er moet een IgM-test worden uitgevoerd.

Het wordt aanbevolen om 15 tot 21 dagen later een controle uit te voeren met een nieuw monster.

Titer ≥ 1/160: positieve reactie.

Anti-Toxoplasma-antilichamen aanwezig.

- **Screening test:** Vermoedelijke immuniteit uit het verleden (resterende antilichamen).
- **Vervolgonderzoek van een zwangere vrouw waarvan bekend is dat ze niet immuun is of onderzoek als een nieuwe infectie wordt vermoed :** waarschijnlijk actieve toxoplasmose.

Het wordt aanbevolen om het serum te behandelen met 2-ME om te controleren op de aanwezigheid van IgM en om een controle uit te voeren met een nieuw monster.

Behandeling met 2-ME:

Een titerdaling van ten minste 2 serumverduunningen voor en na de 2-ME-behandeling duidt op de aanwezigheid van IgM-antilichamen. Vermoeden van progressieve toxoplasmose.

Anders: waarschijnlijke eerdere immuniteit (resterende antilichamen).

13 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

- Onjuiste opslag van het serum.
- Onjuiste opslag van reagentia na opening.

- Gebruik alleen de druppelaar die in de set zit.
- Verander de reagensdruppelaars **R1** en **R2** niet.
- Bij een positieve reactie in de eerste 6 putjes zet u de Verdunningen om de borderline hemagglutinatie titer te vinden.
- Sommige sera met zeer hoge antilichaamconcentraties kunnen in de eerste verdunningen een zonfenomeen (met terugtrekking van de waas) veroorzaken, die in de volgende verdunningen verdwijnen.
- De Franse nomenclatuur van de medische biologie schrijft voor dat voor de serologische diagnose van toxoplasmose 2 tests tegelijk moeten worden uitgevoerd. De globale interpretatie van deze serologie dient dan ook te gebeuren op basis van de resultaten van de verschillende technieken. In alle gevallen is het

noodzakelijk om alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens te integreren alvorens de definitieve diagnose te stellen.

14 - STROOM

De gevoeligheidsdrempel van het reagens, uitgedrukt in IE/ml, wordt weergegeven op de kit. De gevoeligheid van de voorgestelde technieken voor het testen op toxoplasmose voor elk van deze antilichamen zal afhangen van het type antigeen dat bij de reactie wordt gebruikt.

Bovendien kan de internationale standaard een relatief percentage van elk antilichaam bevatten dat verschilt van dat van het serum dat wordt getest. De titer uitgedrukt in IE/ml kan daarom sterk variëren, afhankelijk van de gebruikte methode.

Het is daarom belangrijk om de techniek waarmee de resultaten van de diagnose worden gepresenteerd in internationale eenheden te specificeren.

De kwaliteit van de reagentia maakt de reactie 's avonds en de meting de volgende ochtend mogelijk, mits de microtiterplaat niet wordt verplaatst en beschermd tegen trillingen.

het reagens **R1** bestaat uit rode bloedcellen die gesensibiliseerd zijn voor een gemengd totaal toxoplasma-antigeen dat zowel endogene als membraangebonden componenten van toxoplasma bevat. Het zorgt voor de gevoeligheid en specificiteit van de reactie.

De resultaten van de testevaluaties laten een sensitiviteit van 99,2% en een specificiteit van 97,7% zien.

Wanneer dit reagens wordt geleverd met: **ELITex Toxo** geassocieerd is, wordt een correlatie van 98,2 (18) tot 99,8% (17) bereikt, afhankelijk van de gebruikte referentietechniek.

Tijdens de "herbeoordeling van 40 reagenskits voor de detectie van antitoxoplasmose IgG-antilichamen" door het Agence du Médicament in maart 1998 (19), werden 40 verschillende sera getest met de **ELI.HA Toxo**:

- 9 negatieve sera gaven negatieve resultaten
- Bij 7 sera werd geen negatieve reactie gevonden
- 24 positieve sera werden als zodanig geïdentificeerd.

15 - AFVALVERWIJDERING

Afval moet worden verwijderd in overeenstemming met de hygiëneregels en voorschriften die van kracht zijn voor dit type product in het land Bruikbaar. Als er per ongeluk BUF-reagens is gemorst, reinigt u het werkoppervlak met absorberend papier en spoelt u het af met water. Als serum of ander reagens is gemorst, reinig dan met bleekmiddel en keukenpapier.

16 - BIBLIOGRAFIE

1. P. WATTRE, R. BRULE, A. CAPRON, J. SAMAILLE en J. FRUIT - Analyse antigénique de *Toxoplasma gondii* en diagnostische immunologie de la toxoplasmose humaine *Ann.Inst.Pasteur*, Rijsel, 1969, XX, 167-182.
2. P. AMBROISE-THOMAS - De toxoplasmose - *Cahiers Médicaux Lyonnais*, 1972, 48.
3. P. AMBROISE-THOMAS - De detectie van anticorps IgG en IgM dan de diagnostische di la toxoplasmose acquise en de prevention van de congénitale toxoplasmose - *Stier. SOC pad. brommen. en comp.*, 1972, 4, 211.
4. G. ETCHARRY, F. ETCHARRY-LAPEYRE, J. TRIBOULEY, A. CAPBERN en R. PAUTRIZEL *Ann. biol. clin.*, 1973, 31, 439-446.
5. CAPRON, P. WATTRE, A. VERNES en G. DELAUNOY - De diagnostisch immunologie de la toxoplasmose - *Rijsel Medisch*, 1974, 19, 2, 147-150.

6. CAPRON, A. VERNES, P. WATTRE, M. DELECOUR, J.-C. MONNIER, J.-L. LEROY, M.-V. DEVARENNE, S. MONARD, G. TAJCHNER, G. DURIEUX en MENDOLIA - De toxoplasmose en het verloskundig milieu - *Rijks Medisch*, 1974, 19, 6, 646-650.
7. J.-M. SENET et R. ROBERT - Hemagglutination indirecte utilisant un antigène particulaire. appliquée au diagnostic immunologique de la toxoplasmose - *Med. Et Mal. Inf.*, 1974, 4, 1, 21-22.
8. P. AMBROISE-THOMAS - L'immuno-fluorescence aux anti-IgM marquées dans le diagnostic précoce de la toxoplasmose acquise ou congénitale. Bilan de 24.000 examens. - *Fondation Mérieux Edit., Lyon*, 1975.
9. G. DESMONTS - Séro-diagnostic van de toxoplasmose. Intérêt et limieten des différentes méthodes. Leur application au diagnostic de la toxoplasmose acquise - *Feuillets de Biologie*, 1975, 16, 61ste finale.
10. P. WATTRE, J.-C. DUGIMONT, M. CAPRON en A. CAPRON - Evaluatie van de methodes voor indirecte magglutinatatie dans les toxoplasmoses humaines et expérimentales - *Stichting Mérieux Edit., Lyon*, 1975, 49-59.
11. M.-E. CAMARGO, P.-G. LESER en W.-S.-P. LEGER - Diagnostische informatie uit serologische tests bij menselijke toxoplasmose. I. Een vergelijkende studie van hemagglutinatatie, complementfixatie, IgG- en IgM-immunofluorescentietests in 3.752 serummonsters - *ds. Inst. Med. Trop. So Paulo*, 1976, 18.
12. M.J. CAMARGO en P.-G. LESER - Diagnostische informatie uit serologische tests bij menselijke toxoplasmose. II. Evolutive studie van antilichamen en serologische patronen in verworven toxoplasmose zoals gedetecteerd door hemagglutinatatie, complementfixatie, IgG- en IgM-immunofluorescentietests - *ds. Inst. Med. Trop. So Paulo*, 1976, 18, 227.
13. J.-M. SENET, R. ROBERT en G. MAURAS - Diagnostiek van toxoplasmose door indirecte hemagglutinatatie, I. Etude Comparative de la fixation par le glutaraldéhyde sur des globules rouges formolés d'un anti-endogène oplosbaar, d'un anti-particulaire onoplosbaar en d'un anti-total - *Biomedische*, 1976, 25, 191.
14. J.-M. SENET, R. ROBERT en G. MAURAS - Diagnostic de la toxoplasmose door hemagglutinatatie indirecte. II. Intérêt de la fixation de l'antigène total mixte en présence de glutaraldéhyde dans le diagnostic précoce de l'affection - *Biomedische*, 1976, 25, 212.
15. P. AMBROISE-THOMAS, J. SIMON en M. RAYARD - Een indirecte werking van het antigeen totaal mengsel, dan de controle van de immuniteit tegen antitoxoplasmische en de séro-diagnostic van de toxoplasmose humaine. Vergelijking à l'immuno-fluorescentie - *Biomedische*, 1978, 29, 245-248
16. J.-M. SENET en R. ROBERT - Intérêt de l'hémagglutination dans le diagnostic de maladies parasitaires. Toepassing à la toxoplasmose en à l'aspergillose - *Boog. Med. de l'Ouest*, 1979, 11,1, 39-42.
17. J.-C. FOURLINNIE, R. GUFFROY, J.-C. HERBAUT et A. LABARTHE - Optimisatie voor jou dépistage des anticorps antitoxoplasmiques IgG et IgM par l'association d'une réaction d'hémagglutination indirecte et d'un test au latex standardisé sur plaque de Kline - *Feuillets de biologie*, 1985, vol. XXVI, nr. 146, 47-49.
18. P. LE PAPE, U. MUNOZ, M.-L. TROMEUR en M. MARJOLET - Association d'un test au latex et d'une réaction d'hémagglutination indirecte pour le dépistage de la toxoplasmose: étude sérologique en enquête dans le secteur privé - *Feuillets de biologie*, 1996, vol. XXXVII, nr. 210.
19. J.-C. PETITHORY, M. MILGRAM, C. JANOT, P. MAISONNEUVE, M.-L. MIGUERES, N. CHARLIER, M. FROMAGE, F. BERTHELOT en A. LEBLANC - Réévaluation de 40 trousse de réactifs pour la détection des anticorps antitoxoplasmiques de type IgG - *Revue française des laboratoria*, maart 1998, nr. 301.

De wijzigingen sinds de laatste versie zijn grijs gemarkeerd.



ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

Tel: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

<http://www.elitechgroup.com>