



**ToxoBiColor BMDT**  
**Réactif d'agglutination sur carte**  
**pour la recherche d'anticorps anti-toxoplasme**

**Notice d'utilisation**

**Introduction**

La toxoplasmose est due à un protozoaire *Toxoplasma gondii* pouvant parasiter de nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux. Chez l'homme, c'est une parasitose cosmopolite habituellement bénigne, mais potentiellement grave chez le fœtus et l'immunodéprimé. Il est donc important de connaître le statut immunitaire de la femme enceinte. La recherche d'anticorps (Ac) dans le sérum permet de savoir si elle est immunisée et protégée contre ce parasite.

**Objectif du test**

ToxoBiColor BMDT est un réactif d'agglutination sur carte pour la recherche d'Ac anti *Toxoplasma gondii* dans le sérum humain. Les résultats obtenus avec ce test apportent des arguments immunologiques pour le diagnostic de la toxoplasmose.

**Principe du test**

Le test ToxoBiColor BMDT pour la détection des Ac anti *T. gondii* est un test rapide d'agglutination indirecte utilisant des particules rouges de latex, sensibilisées avec des antigènes (Ag) "solubles/mixtes" (AgSM) de toxoplasme contenant des constituants membranaires, notamment les antigènes SAG (Surface Antigen) : SAG1 (p30) et SAG2 (p22), et cytoplasmiques. Ces particules sont en suspension dans un tampon vert. Après agitation une suspension de couleur marron est obtenue. Lorsque les particules sensibilisées sont en contact avec des Ac anti-toxoplasme, une agglutination des particules est obtenue. Elle se traduit par une rupture de l'homogénéité de la suspension avec l'apparition d'agglutinats rouges sur un fond vert plus ou moins intense. Si la réaction est négative (absence d'Ac) la suspension reste homogène et de couleur marron.

Le seuil de la sensibilité du ToxoBicolor BMDT peut légèrement varier d'un lot à un autre. Ce seuil est donc indiqué sur l'étiquette secondaire du coffret pour chaque lot.

**Composition du coffret**

**1. Composition d'un coffret ToxoBicolor BMDT 24 tests**

	Nombre	Volume
Latex BiColor	Flacon : 1	0,7mL
Tampon PBS	Flacon : 1	10 mL
Contrôle positif prêt à l'emploi	Flacon : 1	0,2 mL
Contrôle négatif prêt à l'emploi	Flacon : 1	0,2 mL
Cartes à usage unique pour agglutination	4 cartes de 6 cercles	
Agitateurs à usage unique	1 sachet de 27-30	
Notice	1	

**Matériel nécessaire non fourni**

- Tubes à hémolyse avec bouchon.
- Agitateur type Vortex.
- Micropipette pour 25, 100 et 1000 µl
- Agitateur 3D (optionnel)
- Container pour déchets biologiques

### **Stockage des réactifs**

- Le coffret doit être stocké à l'obscurité entre +2° et +8°C. Les produits sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret et sur les étiquettes (y compris après ouverture).
- Ne pas congeler, ni laisser les réactifs sous une lumière intense.

### **Conservation des prélèvements**

- Conserver les sérums dans des tubes hermétiquement clos.
- Utiliser les sérums fraîchement préparés ou conservés au maximum 7 jours entre +4°C et +8°C.
- Pour toute conservation supérieure à 7 jours, congeler les sérums entre -18°C et -22°C.
- Ne pas décongeler et recongeler les sérums plus de trois fois.
- Bien homogénéiser (par 4 à 5 retournements du tube ou à l'aide d'un agitateur type vortex) les sérums après décongélation.
- Ne pas utiliser les sérums hémolysés, troubles ou contaminés.

### **Précaution d'utilisation**

- Pour usage in vitro.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Respecter les instructions de la notice d'utilisation.
- Utiliser du matériel propre tel que les pointes pour micropipette, les tubes et autre matériel de laboratoire.
- Ne pas utiliser de réactifs périmés.
- Ne pas interchanger les réactifs (latex Bicolor, tampon PBS, sérum positif, sérum négatif) de différents kits ou différents lots.
- En cas de versement accidentel du réactif, nettoyer le plan de travail à l'aide de papier absorbant et rincer avec de l'eau. En cas de contamination de l'environnement par les échantillons, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.
- Eviter tout contact du réactif avec la peau, les yeux et les muqueuses. Ne pas ingérer.
- Les échantillons, les composants du coffret ainsi que le matériel et les produits contaminés, doivent être éliminés dans un conteneur pour déchets contaminés, selon les recommandations et la réglementation en vigueur.
- Porter des gants appropriés, des lunettes de protection et une blouse de protection.
- Tous les produits biologiques doivent être considérés et traités comme potentiellement infectieux.

### **Consignes d'hygiène et de sécurité**

- Observer les techniques et précautions en vigueur en matière de protection contre les dangers microbiologiques.
- Pour connaître les recommandations liées aux risques et les précautions relatives à certains produits chimiques contenus dans le coffret, consulter les pictogrammes figurant sur les étiquettes.
- La fiche technique de sécurité est disponible sur demande.

### **Mode opératoire**

1. Il est recommandé de lire toute la notice avant de commencer le test et de suivre strictement le protocole proposé.
2. Laisser les réactifs et les sérums à analyser revenir à température ambiante (+18°C à +30°C).
3. Bien homogénéiser (par 7 à 8 retournements du tube ou à l'aide d'un agitateur type vortex) la suspension de latex Bicolor et déposer avec une micropipette 20 µL dans autant de cases de la carte que de sérums à tester.
4. Déposer avec une micropipette dans chaque case de la carte 20 µL de sérum à tester ou 20 µL de contrôle positif ou 20 µL de contrôle négatif (attention : changer de pointe pour chaque sérum et pour chaque contrôle).
5. Bien mélanger les deux gouttes (latex BiColor et sérum) avec un agitateur à usage unique et étaler le mélange sur toute la surface de la case.
6. Incliner la carte d'environ 45°, tout en lui imprimant un lent mouvement oscillant circulaire, de telle sorte que la goutte du mélange sérum-latex suive le bord de la case ou placer la carte sur l'agitateur 3D et agiter pendant 5 à 7 minutes au maximum jusqu'à l'apparition éventuelle d'une agglutination.
7. Réaliser la lecture (à l'œil nu) et interpréter les résultats.

### **Interprétation des résultats**

1. Dans le cas d'une réaction positive (sérum à analyser contenant des Ac dirigés contre l'Ag de toxoplasme), un éclaircissement total ou partiel du milieu réactionnel est observé avec :
  - 1.1. présence dans la case d'agglutinats rouge-brun au sein d'un liquide vert,
  - 1.2. présence d'un liseré rouge entourant tout ou partie de la caseCe changement de couleur correspondait à la rupture de l'homogénéité de la suspension.
2. Dans le cas d'une réaction négative (sérum à analyser ne contenant pas des Ac anti-toxoplasme à une concentration détectable par la technique) :
  - 2.1. un non éclaircissement du milieu réactionnel est noté avec absence d'agglutination et de couleur verte,
  - 2.2. la suspension reste homogène et marron. Il est possible de noter la présence d'un fin liseré marron entourant tout ou partie de la case.
3. Une réaction est qualifiée de douteuse lorsqu'une coloration vert-marron et la présence de fins agglutinats est observée ainsi qu'un fin liseré rouge entourant tout ou partie de la case.
4. Lorsque la réaction est positive, il est possible de tester des dilutions du sérum (1/2, 1/4, 1/8 ...) avec du PBS pour évaluer le titre des Ac antitoxoplasme. Le résultat peut être exprimé en UI/mL en multipliant le seuil de sensibilité du réactif ToxoBiColor BMDT en UI/mL indiqué sur le coffret par l'inverse de la plus grande dilution du sérum donnant une réaction positive. Pour un sérum donné le titre peut varier selon la technique utilisée. Il est donc indispensable d'indiquer le réactif ou la technique utilisé(é).

### **Contrôle qualité du ToxoBiColor**

1. Après agitation, la solution de latex BiColor doit être parfaitement homogène et de couleur marron.
2. Les contrôles positif et négatif permettent de vérifier la bonne réactivité du latex BiColor. Une réaction positive et une réaction négative doivent être observées respectivement avec le contrôle positif et le contrôle négatif.
3. Le latex BiColor ne doit pas être utilisé lorsqu'il n'agglutine pas avec le contrôle positif, ou s'il agglutine avec le contrôle négatif (Ces mauvais résultats peuvent être

due à une mauvaise conservation du coffret de ToxoBiColor BMDT ou à une contamination d'un latex BiColor).

## Performances

### 1. Précision

La reproductibilité et la répétabilité du réactif ToxoBiColor BMDT ont été étudiées en utilisant des pools de sérums positifs (tableau 1). Les coefficients de variation (CV) pour ces deux composantes de la variabilité du test étaient respectivement inférieurs à 25% et à 7%. Ces CV sont conformes pour un test d'agglutination (technique semi-quantitative) utilisant comme antigène, un extrait total contenant un grand nombre de molécules.

Répétabilité (Reproductibilité intra-lot)	Nombre de tests	Moyenne du titre en UI/mL	CV (%)
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps élevé (A : ELISA - IgG = 520 UI/mL)	10	465,6±23	4,9
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps moyen (B : ELISA - IgG = 125 UI/mL)	10	93,6±23	24,7
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps faible (C : ELISA - IgG = 23 UI/mL)	10	29,4±4	4,3
Pool de sérums négatifs (D)	10	Négatif	NA
Reproductibilité inter-lots		Moyenne du titre en UI/mL	CV (%)
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps élevé (A : ELISA - IgG = 520 UI/mL)	3 lots testés	464±27,7	5,9
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps moyen (B : ELISA - IgG = 125 UI/mL)		60	0
Pool de sérums positifs avec un titre d'anticorps faible (C : ELISA - IgG = 23 UI/mL)		28±1,7	6,1
Pool de sérums négatifs (D)		Négatif	NA

Tableau 1: Coefficients de variation obtenus des études de répétabilité et de reproductibilité

### 2. Spécificité et sensibilité

2.1. Les études de spécificité et de sensibilité effectuées lors de l'étude comparative entre ToxoBiColor BMDT et le test ELISA d'ABBOTT "Architect Toxo IgG", avec 174 sérums, de femmes, dans le cadre de la détermination de leur statut immunitaire vis à vis de la toxoplasmose (tableau 2) ont montré que:

2.1.1. une concordance pour 166 sérums (95,4%) : 65 sérums positifs avec les 2 techniques et 101 négatifs avec les 2 techniques,

2.1.2. trois sérums (2,7%) présentaient un résultat discordant : 2 sérums négatifs avec ToxoBiColor BMDT et positifs avec ELISA et 1 sérum négatif avec ELISA et positif avec ToxoBiColor BMDT

		ToxoBicolor BMDT		Douteux	Total
		Positif	Négatif		
ELISA - IgG	Positif	65	2	2	69
	Négatif	1	101	1	103
	Douteux	1	1	0	2
	Total	67	104	3	174

Tableau 2 : nombre de sérums positifs, négatifs ou douteux obtenu avec les 174 sérums de femmes dans le cadre de la détermination de leur statut immunitaire vis à vis de la toxoplasmose, avec le ToxoBiColor BMDT et ELISA - IgG

2.1.3. concernant les résultats douteux : 3 sérums ont été noté douteux avec ToxoBiColor BMDT (2 positifs et 1 négatif en ELISA) et 2 sérums ont été

observé douteux avec l'ELISA (1 positif et 1 négatif avec ToxoBiColor BMDT),

2.1.3.1. si les échantillons douteux dans l'une des techniques étaient exclus des calculs le pourcentage de concordance (résultats positifs ou négatifs avec les 2 techniques) serait de 95,4%,

2.1.3.2. si les résultats douteux étaient considérés comme positifs, les valeurs statistiques seraient :

Concordance	97,12%
Sensibilité	97,14%
Spécificité	97,12%
Valeur prédictive positive	95,77%
Valeur prédictive négative	98,06%

2.1.3.3. si les résultats douteux étaient considérés comme négatifs, les valeurs statistiques seraient :

Concordance	96,55%
Sensibilité	97,01%
Spécificité	96,26%
Valeur prédictive positive	94,2%
Valeur prédictive négative	98,1%

Pour tous les cas envisagés ci-dessus les différences observées entre ToxoBiColor BMDT et la technique d'EISA – IgG ne sont pas significatives ( $P > 0.1$ ).

2.2. Une étude réalisée avec 40 sérums contenant des IgM anti-toxoplasme et testés avec ToxoBiColor BMDT et un test ELISA – IgM : le test ELISA d'ABBOTT "Architect Toxo IgM" a montré que tous les sérums étaient positifs.

2.3. Une étude effectuée avec 22 sérums contenant des IgG anti-toxoplasme à un titre élevé ( $> 300$  UI/mL) a montré, qu'un sérum était négatif et 1 présentait un résultat douteux avec le ToxoBiColor BMDT. Ces 2 sérums étaient par contre positifs après dilution au 1/10. Ces résultats faussement négatifs s'expliquent par un phénomène de zone ou de pro-zone par excès d'Ac.

### 3. Réaction croisée

Soixante sérums connus comme étant négatifs en Ac anti-toxoplasme, avec les techniques d'ELISA IgG et IgM, provenant de patients ayant diverses pathologies et contenant des marqueurs biologiques pouvant être à l'origine de réactions faussement positives, ont été testés avec ToxoBiColor BMDT. Un résultat négatif a été obtenu avec tous les sérums.

#### Limites du ToxoBiColor BMDT

Une réaction positive du ToxoBiColor BMDT indique la présence d'Ac anti-toxoplasme. La classe des immunoglobulines IgG ou IgM devra être déterminée à l'aide de techniques adaptées telles que l'IFI et l'ELISA.

Exceptionnellement, certains sérums ayant un titre très élevé en IgG anti-toxoplasme, peuvent provoquer un phénomène de zone (résultat négatif) ou de pro-zone (résultat douteux).

Le diagnostic immunologique d'une toxoplasmose récente ne peut être posé que sur la base d'un ensemble de résultats obtenus avec différentes techniques et avec des sérums prélevés à 2 ou 3 semaines d'intervalles.

## Bibliographie

1. Barros GB, Lemos EM, E Silva-Dos-Santos PP, Dietze R, Zandonade E, Mineo JR, de Oliveira Silva DA, Pajuaba ACM, de Souza Gomes M, do Amaral LR, Coelho-Dos-Reis JG, Martins-Filho OA, Serufo JC. Proposed panel of diagnostic tools for accurate temporal classification of symptomatic *T. gondii* infection. *J Immunol Methods*. 2017;451:61-70.
2. Bachi F, Gourbdji E, Yebbous Bensaid SA, Taourirt L, Ouchait A, Lazizi L, Boudhane M. Toxoplasmose congénitale : bilan du CNR Toxoplasmose, de l'institut Pasteur d'Algérie. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*. 2019;32:20-31
3. Baschiroto PT, Krieger MA, Foti L. Preliminary multiplex microarray IgG immunoassay for the diagnosis of toxoplasmosis and rubella. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112:428-436.
4. Berredjem H, Aouras H, Benlaifa M, Becheker I, Djebar MR. Contribution of IgG avidity and PCR for the early diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women from the North-Eastern region of Algeria. *Afr Health Sci*. 2017 ;17:647-656.
5. Capobianco JD, Monica TC, Ferreira FP, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, Garcia JL, Reiche EM. Evaluation of the Western blotting method for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Pediatr (Rio J)*. 2016;92:616-623.
6. Felgner J, Juarez S, Hung C, Liang LI, Jain A, Döşkaya M, Felgner PL, Caner A, Gürüz Y, Davies DH. Identification of *Toxoplasma gondii* antigens associated with different types of infection by serum antibody profiling. *Parasitology*. 2015;142:827-838.
7. Genco F, Sarasini A, Parea M, Prestia M, Scudeller L, Meroni V. Comparison of the LIAISON®XL and ARCHITECT IgG, IgM, and IgG avidity assays for the diagnosis of *Toxoplasma*, cytomegalovirus, and rubella virus infections. *New Microbiol*. 2019;42:88-93.
8. Greigert V, Pfaff AW, Sauer A, Filisetti D, Candolfi E, Villard O. Biological Diagnosis of Ocular Toxoplasmosis: a Nine-Year Retrospective Observational Study. *mSphere*. 2019;4:e00636-19.
9. Hajissa K, Zakaria R, Suppian R, Mohamed Z. An evaluation of a recombinant multi-epitope based antigen for detection of *Toxoplasma gondii* specific antibodies. *BMC Infect Dis*. 2017;17:807.
10. Lecolier B, Pucheu B. Sérodiagnostic de la toxoplasmose : performances et intérêt d'un test au latex. *Feuillets de Biologie*. 1993;69-71.
11. Le Pape P, Munoz U, Tromeur ML, Marjolet M. Association d'un test au latex et d'une réaction d'hémagglutination indirecte pour le dépistage de la toxoplasmose. *Feuillets de Biologie* 1996;XXXVII:43-5.
12. Li X, Pomares C, Gonfrier G, Koh B, Zhu S, Gong M, Montoya JG, Dai H. Multiplexed Anti-*Toxoplasma* IgG, IgM, and IgA Assay on Plasmonic Gold Chips: towards Making Mass Screening Possible with Dye Test Precision. *J Clin Microbiol*. 2016;54:1726-1733.
13. Li X, Zhang Q, Hou P, Chen M, Hui W, Vermorken A, Luo Z, Li H, Li Q, Cui Y. Gold magnetic nanoparticle conjugate-based lateral flow assay for the detection of IgM class antibodies related to TORCH infections. *Int J Mol Med*. 2015;36:1319-1326.
14. Luo J, Wan J, Tang Z, Shen S. Identification of novel antigens for serum IgG diagnosis of human toxoplasmosis. *Exp Parasitol*. 2019;204:107722.
15. Messerer L, Bouzbid S, Gourbdji E, Mansouri R, Bachi F. Séroprévalence de la

- toxoplasmose chez les femmes enceintes dans la wilaya d'Annaba, Algérie. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*. 2014;62 :160-165.
16. Naghili B, Abbasalizadeh S, Tabrizi S, Rajaii M, Akramiyan M, Alikhah H, Naghavi-Behzad M, Piri R, Karkon-Shayan F, Tehrani-Ghadim S. Comparison of IIF, ELISA and IgG avidity tests for the detection of anti-Toxoplasma antibodies in single serum sample from pregnant women. *Infez Med*. 2017;25:50-56.
  17. Robert R, Chabasse D, Hocquet P. Recherche d'IgM antitoxoplasmes par immunofluorescence et hémagglutination indirecte : élimination des faux positifs et des faux négatifs par adsorption des IgG sur la protéine A immobilisée. *Biomédecine*,1981,35:61-65.
  18. Robert R, Senet JM. Evaluation d'un test au latex sensibilisé par un antigène total pour le dépistage rapide des anticorps antitoxoplasmiques. *Feuillets de Biologie* 1984;XXV:33-6.
  19. Senet JM, Robert R. Hémagglutination indirecte utilisant un antigène particulière appliquée au diagnostic immunologique de la Toxoplasmose. *Méd Mal Inf*.1974,4:21-22.
  20. Senet JM, Robert R, Mauras G. Diagnostic de la Toxoplasmose par hémagglutination indirecte. I) Etude comparative de la fixation par le glutaraldéhyde sur des globules rouges formolés d'un antigène endogène soluble, d'un antigène particulière insoluble et d'un antigène total mixte. *Biomédecine*,1976,25:191-194.
  21. Senet JM, Robert R, Mauras G. Diagnostic de la Toxoplasmose par hémagglutination indirecte. II) Intérêt de la fixation de l'antigène total mixte en présence de glutaraldéhyde dans le diagnostic précoce de l'affection. *Biomédecine*,1976,25:212-214.
  22. Sroka J, Wójcik-Fatla A, Zając V, Sawczyn A, Cisak E, Karamon J, Dutkiewicz J, Bojar I. Comparison of the efficiency of two commercial kits - ELFA and Western blot in estimating the phase of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Ann Agric Environ Med*. 2016;23:570-575.
  23. Teimouri A, Modarressi MH, Shojaee S, Mohebbali M, Zouei N, Rezaian M, Keshavarz H. Detection of toxoplasma-specific immunoglobulin G in human sera: performance comparison of in house Dot-ELISA with ECLIA and ELISA. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37:1421-1429.
  24. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E. Help in the Choice of Automated or Semiautomated Immunoassays for Serological Diagnosis of Toxoplasmosis: Evaluation of Nine Immunoassays by the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2016;54:3034-3042.
  25. Villard O, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E, Network from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Evaluation of the Usefulness of Six Commercial Agglutination Assays for Serologic Diagnosis of Toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;73:231-235.
  26. Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. *Clin Chim Acta*. 2016 ;461:83-89.