

ISAGA

1° Principe :

Les IgM humaines sériques sont capturées immunologiquement par l'anticorps monoclonal anti-IgM humaines fixé sur un support.

Les IgM spécifiques de la toxoplasmose sont ensuite révélées par fixation de toxoplasmes.

Cette technique d'immunocaptation élimine les interférences classiques de la détermination des IgM (facteur rhumatoïde, compétition IgG/IgM, anticorps antinucléaires).

2° Réactifs :

Barrettes sensibilisées par un anticorps monoclonal anti-IgM
Antigène toxoplasmique
Diluant
Sérum positif
PBS
Tween 20

3° Mode opératoire :

3.1. Screening :

Identifier convenablement les barrettes utilisées sur la partie dépolie prévue à cet effet.

Diluer les sérums en PBS :

- Sérums à tester au 1/100.
- Sérum positif au 1/10.
- Sérum de nouveau-né au 1/20.

Répartir, dans deux puits juxtaposés, 100 µl de la dilution de sérum positif et des sérums à tester.

Prévoir deux puits avec PBS seul par série.

Recouvrir les barrettes d'un couvercle et les placer à 37°C pendant 2 heures.

Vider les puits par retournement en prenant soin de pincer la partie centrale du support pour bloquer les barrettes.

Laver les puits une fois en PBS-Tween en évitant les débordements.

Vider aussitôt, laver 2 fois 5 minutes avec du PBS-Tween puis, 2 fois 5 minutes avec du PBS seul. Egoutter. Ne pas laisser sécher.

Répartir par puits 100 µl d'antigène dilué au 1/20 en tampon BABS.

Recouvrir les barrettes d'un couvercle et incuber une nuit à 37°C en atmosphère humide.

3.2. Test de confirmation :

Identifier convenablement les barrettes utilisées sur la partie dépolie prévue à cet effet.

Diluer les sérums en PBS :

- Sérums à tester au 1/100.
- Sérum positif au 1/10.
- Sérum de nouveau-né au 1/20.

Répartir, dans deux puits juxtaposés, 100 µl de la dilution de sérum positif et des sérums à tester.

Prévoir deux puits avec PBS seul par série.

Recouvrir les barrettes d'un couvercle et les placer à 37°C pendant 2 heures.

Vider les puits par retournement en prenant soin de pincer la partie centrale du support pour bloquer les barrettes.

Laver les puits une fois en PBS-Tween en évitant les débordements.

Vider aussitôt, laver 2 fois 5 minutes avec du PBS-Tween puis, 2 fois 5 minutes avec du PBS seul. Egoutter. Ne pas laisser sécher.

Répartir l'antigène dilué au 1/20 en tampon BABS de la façon suivante pour le même sérum et les témoins antigène :

- 150 µl dans le premier puits.
- 200 µl dans le deuxième puits.

Recouvrir les barrettes d'un couvercle et incuber une nuit à 37°C, en atmosphère humide.

4° Résultats :

4.1. Screening :

- **Témoin antigène :**

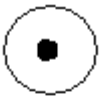

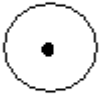
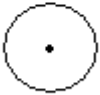
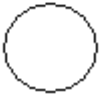
Sédimentation totale des toxoplasmes en bouton.

- **Sérum positif :**

Adhésion des toxoplasmes en voile tapissant tout le fond du puits.

- **Sérum à tester :**

Comparer la taille du bouton de sédimentation à celle du témoin antigène et noter le résultat obtenu en se référant aux définitions ci-dessous :

	0 : sédimentation totale en bouton comparable au témoin antigène.	} Réaction négative
	1+ : gros point de sédimentation.	
	2+ : point de sédimentation moyen.	
	3+ : très petit point de sédimentation.	} Réaction à compléter par le test de confirmation
	4+ : voile tapissant tout le fond du puits comparable au sérum positif.	

4.2. Test de confirmation :

- **Témoins antigène :**

Sédimentation totale des toxoplasmes en bouton.

- **Sérum positif :**

Adhésion des toxoplasmes en voile tapissant tout le fond du puits.

- **Sérum à tester :**

Comparer la taille du bouton de sédimentation à celle des témoins antigène correspondants.
Noter les résultats comme pour le screening.

L'indice ISAGA d'un sérum correspond à la somme des valeurs attribuées pour les 3 volumes d'antigènes utilisés.

5° Interprétation :

- **Toxoplasmose acquise :**

Indice ISAGA :

- 0 à 5 : réaction négative.
- 6 à 8 : réaction limite.
- 9 à 12 : réaction positive.

Les IgM détectées par la technique ISAGA correspondent soit à des IgM d'infection récente soit à des IgM résiduelles. L'évolution de l'infection sera démontrée par la mise en évidence d'une élévation significative du titre des IgG spécifiques lors d'un prélèvement ultérieur.

- **Toxoplasmose congénitale :**

Un indice ISAGA même faible peut évoquer une toxoplasmose congénitale. Il faut alors répéter les examens et comparer les sérologies mère/nouveau-né. Chez le nouveau-né, il peut arriver que la production d'IgM ne puisse être mise en évidence. Il faudra alors constater une augmentation significative du titre des IgG spécifiques.