

PLATELIA TOXO IgM

1° Principe :

Détection qualitative des IgM anti-Toxoplasma gondii dans le sérum par technique immunoenzymatique en double sandwich avec capture des anticorps IgM sériques sur la phase solide.

La microplaque est recouverte d'anticorps anti-chaîne μ humaine.

L'anticorps monoclonal anti-Toxoplasma gondii marqué à la peroxydase utilisé dans ce test est spécifique d'une protéine majeure de la surface des tachyzoïtes, cible privilégiée de la réponse immunitaire humorale.

2° Mode opératoire :

Les étalons devront être testés à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

- Sortir le cadre support et les barrettes de l'emballage protecteur.
- Laver toutes les cupules de la microplaque avec la solution de lavage diluée puis, sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant.
- Diluer les sérums à tester et les étalons au 1/101^{ème} (10 μ l de sérum + 1 ml de diluant). Bien homogénéiser au vortex.
- Déposer les étalons et les sérums dilués selon le schéma suivant :

Cupule A1	200 μ l de contrôle non réactif
Cupule B1	200 μ l de contrôle valeur seuil
Cupule C1	200 μ l de contrôle valeur seuil
Cupule D1	200 μ l de contrôle positif
Cupule E1, F1, G1, H1	200 μ l de sérum dilué

- Couvrir la microplaque d'un film adhésif. Incuber 1 heure à 37°C.
- Retirer le film adhésif, aspirer le contenu des cupules dans un conteneur pour déchets et réaliser 3 lavages avec une solution de lavage.
- Distribuer immédiatement 200 μ l de la solution de conjugué.
- Recouvrir d'un film adhésif neuf et incuber 1 heure à 37°C.
- Retirer le film adhésif, aspirer le contenu des cupules dans un conteneur pour déchets et réaliser 4 lavages avec une solution de lavage.
- Distribuer immédiatement et rapidement dans toutes les cupules 200 μ l de la solution de révélation enzymatique prête à l'emploi. Laisser la réaction se dérouler à l'obscurité 300 minutes à température ambiante.

- Ajouter 100 µl de solution d'arrêt en adoptant la même séquence de distribution que pour la solution de révélation.
- Bien essuyer le dessous de la plaque. Lire la densité optique à 450/620 nm dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

3° Calcul et interprétation des résultats :

3.1. Validation de l'essai :

Pour valider la manipulation, les critères suivants doivent être respectés :

- Valeurs des DO :

DO R3	< 0,100
DO R4b	> 1,000

- Rapport :

DO R4b/DO R3	> 3
DO R4b/DO R4a	> 1,8

3.2. Calculs de la densité optique de la valeur seuil et du ratio :

La densité optique valeur seuil Dom R4a correspond à la moyenne des densités optiques du sérum valeur seuil R4a.

Le résultat peut être exprimé en utilisant le ratio suivant :

$$\text{Ratio sérum testé} = \text{DO sérum testé} / \text{Dom R4a}$$

3.3. Interprétation des résultats :

En ratio sérum testé	Résultat	Interprétation
< 0,8	Sérum négatif	Pas de primo-infection à <i>Toxoplasma gondii</i> probable
0,8 < ratio < 1	Sérum douteux	Résultats à confirmer par un nouveau test 15 jours plus tard ou par l'examen quantitatif des IgG.
> 1	Sérum positif	Résultats à confirmer par un nouveau test 15 jours plus tard ou par l'examen quantitatif des IgG.