

TOXOPLASMA

CE0459



ICT IgG-IgM

Test immuno-chromatographique de diagnostic *in vitro*
Technique manuelle

In vitro diagnostic immuno-chromatographic assay
Manual technique

#TOXO Ab ICT20: 20 tests

#TOXO Ab ICT100: 100 tests

NOTICE D'UTILISATION

INSTRUCTIONS FOR USE (page 9)

Retrouvez plus d'informations et les notices traduites dans votre langue sur notre site internet www.ldbiodiagnostics.com

Find more information and translated IFU on our website at
www.ldbiodiagnostics.com



INDICATION DU TEST

TOXOPLASMA ICT IgG-IgM est un test immuno-chromatographique qualitatif à usage unique. Ce test rapide destiné à un usage professionnel est proposé comme test de dépistage sérologique de la toxoplasmose par la **détection simultanée** des IgG et des IgM anti-*Toxoplasma gondii*, chez toute personne dans le cadre d'une suspicion de toxoplasmose, hors contexte de la transplantation d'organe. Il peut être pratiqué sur le sérum, le plasma ou le sang total humain.

PRINCIPE DU TEST

TOXOPLASMA ICT IgG-IgM est un test unitaire qualitatif à usage unique. Il est basé sur le principe du sandwich homogène (réaction immunologique de 2 épitopes identiques avec les deux sites de liaison d'un anticorps bivalent).

A l'intérieur de la cassette, le dispositif est composé de :

- Une bandelette de nitrocellulose sur laquelle sont répartis en deux bandes réactives : l'antigène (*Toxoplasma gondii*) de la bande « test » (T) et les gammaglobulines de lapin de la bande « contrôle » (C).
- Un support en fibre de verre (pad conjugué) imprégné de particules de **latex noir** couplées à l'antigène *T. gondii* (« latex test » = latex T) et des particules de **latex bleu** couplées à un anti sérum de chèvre anti-IgG de lapin (« latex contrôle » = latex C).

Le test consiste à déposer successivement un échantillon de sérum (plasma ou sang total) puis une solution éluante (appelée éluant) dans le puits prévu à cet effet. Commence alors la migration concomitante (chromatographie) du sérum et des particules de latex. Cette migration est achevée en 20-30 minutes.

En cas de présence d'anticorps spécifiques (IgG et/ou IgM) dans l'échantillon, un complexe se forme entre les anticorps du patient et le latex T. Ce complexe est capturé par la bande T et se traduit par l'apparition d'une **bande colorée en noir** : le test est positif.

La capture directe du latex C par la bande C provoque l'apparition d'une **bande colorée en bleu**, témoin du bon fonctionnement de la chromatographie ; l'apparition de la bande contrôle bleue est systématique quel que soit le statut sérologique du patient.

Les deux lettres « T » et « C » sont imprimées sur la cassette afin de matérialiser la position de la zone de lecture correspondante.

COMPOSITION DU COFFRET

ID	Description	Conditionnement	
		20 tests	100 tests
R1	Sachet (scellé + fermeture à zip) de 10 cassettes prêtes à l'emploi + un dessicant	2	10
R2**	Flacon compte-gouttes de 3 mL de tampon d'éluion	1	5
	Notice d'utilisation	1	1

** Eluant R2

- **Pictogrammes de danger :**



- Mention d'avertissement : **Attention !**

Code	Mentions de danger
H317	Peut provoquer une allergie cutanée
Code	Prévention
P261	Eviter de respirer les aérosols
P272	Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail
P280	Porter des gants et vêtements de protection
Intervention	
P302+P352 P333+P313 P363	En cas de contact avec la peau, laver abondamment à l'eau et au savon En cas d'irritation ou d'éruption cutanée consulter un médecin Laver les vêtements contaminés avant réutilisation
Elimination	
P501	Eliminer contenu et récipient conformément à la réglementation applicable.

- **Autres dangers**

EUH 210 Fiche de données de sécurité disponible sur demande ainsi que sur notre site internet www.ldbiodiagnostics.com.

CONDITIONS DE STOCKAGE ET STABILITÉ

- **Conserver les sachets scellés entre 2 et 8°C.** Les cassettes sont stables jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du sachet. Ne pas congeler. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.
- **La 1^{ère} ouverture doit être effectuée après au minimum 15 minutes** de séjour du sachet à température du laboratoire pour éviter la condensation dans le sachet.
- **Laisser l'éluant au moins 15 minutes à température ambiante avant utilisation.**
- **Après la 1^{ère} ouverture d'un sachet de 10 tests, le conserver à température ambiante (18-30 °C), soigneusement refermé** (fermeture à zip), le dessicant à l'intérieur. La péremption des cassettes est de **2 mois après ouverture du sachet.**
- L'éluant est stable 2 mois à température ambiante (18-30°C) et jusqu'à la date de péremption indiquée sur le kit s'il est conservé entre 2 et 8°.

PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

Sécurité

- Fiche de données de sécurité disponible sur demande ainsi que sur notre site internet www.ldbiodiagnostics.com.
- Pour usage *in vitro* exclusivement. Manipuler selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire et considérer tout réactif et tout échantillon comme potentiellement toxique et/ou infectieux.
- Pour usage professionnel uniquement. Réservé à un personnel formé à la technique.
- Tout échantillon humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les protections d'usage.
- Porter une blouse, des gants et lunettes, ne pas boire, manger ou fumer dans le laboratoire. Ne pas pipeter avec la bouche.
- Éliminer les déchets (prélèvements, pointes, tubes, liquides de lavage, réactifs usagés...) conformément aux bonnes pratiques en usage dans la profession et aux règlements en vigueur dans le Pays.
- Tout incident grave doit faire l'objet d'une déclaration auprès du fabricant et de l'autorité compétente.

Précautions

- Lire et interpréter les résultats sous une lumière blanche et directe.
- Ne pas utiliser un éluant ayant un numéro de lot différent des cassettes.
- Ne pas travailler avec deux lots de cassettes différents dans la même série.
- Refermer les flacons après usage, ne pas utiliser en cas de pénétration accidentelle de substance dans les réactifs. Ne pas utiliser de réactif provenant d'un flacon présentant des signes de fuite. Ne pas utiliser de solution trouble ou précipitée.

- N'utiliser que des cônes de pipette à usage unique. Eviter toute contamination inter-cassette.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
- L'omission de distribution d'un échantillon ou la distribution d'un volume inapproprié peut faire considérer comme positif ou négatif le résultat du test quel que soit son statut sérologique réel.
- N'utiliser que des cassettes soigneusement conservées dans leur sachet fermé, le dessicant à l'intérieur.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

- Le test utilise indifféremment du sérum ou du plasma.
 - Le prélèvement sanguin doit être fait de façon aseptique sur tube sec ou tube avec anticoagulant (héparine, citrate ou EDTA).
 - Sur tube avec gel, ne pas prélever de gel qui peut être responsable de faux positifs.
 - Eviter autant que possible l'hémolyse du prélèvement.
 - Maintenir les échantillons à 2-8°C jusqu'à leur mise en œuvre. S'ils doivent être conservés, les congeler à une température inférieure à -15°C. Ne pas utiliser d'échantillon contaminé. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois.
- Le test peut également être fait sur sang total
 - Dans ce cas, le prélèvement doit être fait sur une peau préalablement nettoyée selon les bonnes pratiques de prélèvement applicables.

MODE OPÉRATOIRE

Sérum ou plasma

Matériel nécessaire mais non fourni : micropipette et embouts à usage unique pour la distribution de 15µL, chronomètre.

Si les sachets de 10 tests sont conservés à 2-8°C, les laisser 15 minutes au minimum à température ambiante avant de les ouvrir : les températures s'équilibrent pour éviter la condensation dans le sachet.

1. Après avoir sorti le nombre de cassettes désiré, refermer soigneusement le sachet (avec le dessicant à l'intérieur) en chassant au mieux l'air contenu. Conserver le sachet fermé et l'éluant à température ambiante, 2 mois au maximum.
2. **Identifier chaque cassette** à l'aide du numéro de l'échantillon à tester. Ne pas travailler avec des séries de plus de 10 cassettes. Deux séries successives de 10 cassettes doivent être décalées de quelques minutes afin de pouvoir effectuer les lectures aux temps indiqués (l'utilisation de 2 chronomètres est recommandée).
3. A l'aide d'une micropipette montée d'un embout jetable, déposer 15 µL de sérum ou plasma dans le puits échantillon. Pratiquer de même avec toutes les cassettes à utiliser d'une même série avant de passer à l'étape suivante.
4. Déposer dans le puits **4 gouttes** d'éluant présent dans le coffret. **Ne pas utiliser un éluant ayant un numéro de lot différent.** Tenir le compte-gouttes retourné verticalement pendant la distribution. Reboucher le compte-gouttes après usage.
5. Déclencher le chronomètre quand l'éluant est réparti dans les cassettes de la série.

Sang total

Si les sachets de 10 tests sont conservés à 2-8°C, les laisser 15 minutes au minimum à température ambiante avant de les ouvrir : les températures s'équilibrent pour éviter la condensation dans le sachet.

Matériel nécessaire mais non fourni : lancettes stériles pour prélèvement capillaire, capillaires ou micropipette et embouts à usage unique pour la distribution de 30µL, chronomètre.

1. Ne pas travailler en série, mais avec un seul patient.
2. Après avoir sorti la cassette, refermer soigneusement le sachet (avec le dessicant à l'intérieur) en chassant au mieux l'air contenu. Conserver le sachet fermé et l'éluant à température ambiante, 2 mois au maximum.

3. **Identifier la cassette.** Ne pas travailler en séries. Deux prélèvements doivent être décalés de quelques minutes afin de pouvoir effectuer les lectures aux temps indiqués (l'utilisation de 2 chronomètres est recommandée).
4. A l'aide d'une lancette adaptée, procéder à une piqure au bout du doigt (majeur ou annulaire recommandés), puis prélever 30µl de sang (1/2 capillaire de 60µl par exemple) et le déposer immédiatement dans le puits échantillon par capillarité.
6. Déposer dans le puits **4 gouttes** d'éluant présent dans le coffret. **Ne pas utiliser un éluant ayant un numéro de lot différent.** Tenir le compte-gouttes retourné verticalement pendant la distribution. Reboucher le compte-gouttes après usage.
5. Déclencher le chronomètre une fois l'éluant déposé.

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Effectuer la lecture près d'une fenêtre à la lumière du jour ou sous éclairage direct (par exemple : une lampe de bureau). Éviter les ombres projetées sur la zone de lecture. La lecture du test doit être faite entre 20 et 30 minutes après déclenchement du chronomètre.

Ne pas tenir compte des résultats obtenus après 30 minutes.

- **Test positif** : 2 lignes, une **noire** (T) et une **bleue** (C), apparaissent dans les zones correspondantes. Toute ligne « T » noire, même de faible intensité doit être considérée comme positive. Pour lire avec certitude une bande de faible intensité, effectuer la lecture l'œil à la verticale de la zone de lecture.
- **Test négatif** : Aucune ligne noire n'apparaît, seule la ligne bleue « C » apparaît.
- **Test équivoque** : Dans de très rares cas, une ligne grise, pâle, diffuse peut apparaître sur la bande « T ». Ce résultat est à considérer comme négatif mais à reconstrôler sur un prélèvement ultérieur ou par une autre technique.
- **Test non valide** : La ligne « C » bleue n'apparaît pas. Relire les instructions et renouveler le test. Si le problème persiste, contacter le fabricant ou votre distributeur.

Remarques : Le test est qualitatif. L'intensité de la bande noire ne peut en aucun cas indiquer le taux d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon.

La positivité du test met en évidence le contact du patient avec l'agent infectieux et ne préjuge pas de la date de ce contact ou du statut immunitaire du patient.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

La ligne « C » bleue permet de valider le bon déroulement du test. Il est néanmoins recommandé d'incorporer de temps en temps dans la série de tests à effectuer un échantillon positif faible connu.

LIMITES DU TEST

- Ne pas tester des échantillons sériques trop âgés par cette technique. Il est recommandé de se limiter à des sérums conservés congelés de moins de 2 ans.
- La positivité peut être liée à la présence d'IgG et/ou d'IgM dirigés contre l'agent infectieux, le test ne permet pas de distinguer le type d'anticorps présents.
- L'utilisation d'autres liquides corporels autre que le sérum ou le plasma n'a pas été validée (urine, LCR, salive...).
- L'utilisation d'échantillons hémolysés, ictériques ou lipidiques n'est pas recommandée ; néanmoins, il n'a pas été noté d'interférence dans la réaction pour des échantillons présentant ce type d'aspect. Toutefois, une hémolyse importante peut masquer la présence éventuelle d'une bande test de faible intensité du fait du bruit de fond rougeâtre lié à l'hémolyse.
- Ne pas déposer 3 ou 5 gouttes d'éluant.
- **Ne pas utiliser un éluant autre que celui livré avec les cassettes (même numéro de lot).**
- Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne peut pas être établi sur la base du résultat d'un seul test.
- Les résultats sérologiques doivent être interprétés en fonction des renseignements disponibles (ex : épidémiologie, clinique, imagerie, biologie...) afin d'établir un diagnostic.

PERFORMANCES (voir références bibliographiques)

Sensibilité, Spécificité (sérum/plasma)

Matériel et méthode

L'évaluation a été réalisée dans un laboratoire de référence, spécialiste du diagnostic de la toxoplasmose et appartenant au réseau du Centre National de Référence (CNR) de la toxoplasmose.

Le statut sérologique (positif ou négatif) est celui qui a été retenu par le laboratoire à partir des données biologiques et épidémiologiques et après traitement de tous les résultats discordants par techniques de confirmation (LDBIO-TOXO II IgG, ISAGA IgM, test de lyse des toxoplasmes de Sabin et Feldman).

Le principe de l'évaluation a consisté à comparer sur 486 échantillons (dont 67 sangs de cordon) les résultats de la technique LDBIO ICT avec 3 techniques sérologiques commercialisées : ELISA IgG, ELISA IgM (Abbott Architect) et hémagglutination - HAI (Fumouze).

Les résultats ELISA G et ELISA M ont été analysés ensemble (= ELISA G+M) pour une meilleure comparaison du fait de la détection simultanée des IgG et des IgM par l'ICT et l'HAI.

Deux études ont été menées parallèlement :

- Une étude prospective : sur 356 échantillons issus de l'activité de routine du laboratoire.
- Une étude rétrospective sur 130 échantillons sélectionnés pour leur profil particulier et répartis en 5 groupes :
 - Groupe 1 - séroconversion : Il s'agit de l'analyse rétrospective de 9 séquences de sérums (30 échantillons) provenant de patientes ayant présenté une séroconversion toxoplasmique pendant leur grossesse.
 - Groupe 2 - suivi d'enfants non infectés : Il s'agit de l'analyse rétrospective de 15 échantillons correspondant à 5 séquences du suivi post-natal d'enfants nés de mères ayant présenté une séroconversion toxoplasmique en cours de grossesse.
 - Groupe 3 - faux positifs ELISA : 4 faux positifs ELISA G, 11 faux positifs ELISA M dont 1 faux positif et 6 équivoques ISAGA IgM.
 - Groupe 4 – populations particulières :
 - IgM résiduelles (n=5),
 - IgG taux faibles (n=20) sélectionnés en ELISA G entre 1,1 et 3,3 UI/mL (remarque : sur ces 20 échantillons, 2 sont donc considérés négatifs et 16 équivoques selon les critères de positivité de l'ELISA utilisée),
 - IgG taux forts (n=10),
 - Réactivations sérologiques (n=10),
 - Sérums issus de prélèvements multi-organes (n=10, 9 positifs, 1 négatif).
 - Groupe 5 – réactions croisées potentielles : sérums négatifs en toxoplasmose mais positifs en recherche d'anticorps anti-EBV et/ou CMV (n=10) ou du facteur rhumatoïde (n=5).

Résultats

- Population totale (étude prospective + rétrospective) : n=486

	ELISA G+M	HAI	LDBIO ICT		ELISA G+M	HAI	LDBIO ICT
Positif	151	175	189	Positif	16	2	7
Négatif	9	14	0	Négatif	276	295	290
Equivoque	29	0	0	Equivoque	5	0	0
Se	94,6%	92,9%	100%	Sp	94,6%	99,3%	97,7%

Table 1 : résultats sur l'ensemble de l'étude des différentes techniques par rapport au statut sérologique retenu (n=486). Pour l'ELISA, les résultats équivoques ont été exclus des calculs de sensibilité et spécificité.

- Etude prospective : n=356

	ELISA G+M	HAI	LDBIO ICT
Positif	88	96	105
Négatif	4	9	0
Equivoque	13	0	0
Se	95,7%	91,4%	100%

	ELISA G+M	HAI	LDBIO ICT
Positif	1	0	6
Négatif	249	251	245
Equivoque	1	0	0
Sp	99,6%	100%	97,6%

Table 2 : Résultats lors de l'étude prospective des différentes techniques par rapport au statut sérologique retenu (n=356). Pour l'ELISA, les résultats équivoques ont été exclus des calculs de sensibilité et spécificité.

- Etude rétrospective : n=130
 - Groupe 1 – séroconversion :
Sur les 9 séquences, 1 est détectée plus précocement par LDBIO ICT. Tous les autres résultats sont concordants avec les 3 techniques.
 - Groupe 2 – suivi d'enfants non infectés :
LDBIO ICT a permis de détecter la positivité résiduelle d'un sérum déjà négatif avec les autres techniques. Tous les autres résultats sont concordants avec les 3 techniques.
 - Groupe 3 – faux positifs ELISA (statut sérologique NEGATIF) : n=15

	HAI		ISAGA IgM			LDBIO ICT	
	POS	NEG	POS	EQUIVOQUE	NEG	POS	NEG
Faux positif ELISA IgG	0	4	NA	NA	NA	0	4
Faux positif ELISA IgM	2	9	1	6	4	0	11

Table 3 : Performances comparées des différentes techniques pour les sérums faux positifs en ELISA.

- Groupe 4 – populations particulières :
A l'exception des sérums avec un taux faible d'IgG, les résultats sont concordants entre toutes les techniques. Aucun phénomène de prozone, même au taux de 2000 UI/mL, n'a été observé dans aucune des trois techniques.
Pour les IgG de taux faibles (statut sérologique POSITIF), les résultats sont les suivants : n=20

	ELISA G+M			HAI		LDBIO ICT	
	POS	EQUIVOQUE	NEG	POS	NEG	POS	NEG
IgG entre 1,1 et 3,3 UI/mL	2	16	2	18	2	20	0

Table 4 : Performances des différentes techniques pour les échantillons présentant un taux d'IgG faible.

- Groupe 5 – réactions croisées potentielles :
Sur les 10 sérums positifs en EBV et/ou CMV, aucun n'a rendu de résultat faussement positif ni en LDBIO ICT ni en HAI. 1 résultat équivoque a été retrouvé en ELISA. Sur les 5 sérums positifs en facteur rhumatoïde, 1 échantillon était faussement positif en LDBIO ICT et équivoque en ELISA mais était bien identifié en HAI.
Il pourrait donc y avoir un risque de réaction croisée avec cette population, mais une étude sur une plus grande population est nécessaire pour pouvoir l'affirmer avec certitude.

Remarque : Il a été observé de faibles réactions faussement positives sur ~10% d'échantillons positifs en sérologie Leishmania, ce qui pourrait expliquer certaines des réactions non spécifiques enregistrées.

Conclusion

La corrélation entre le statut sérologique et LDBIO ICT est excellente :

Sensibilité Se = 100%, [IC95 : 95,6 – 100 %]

Spécificité Sp = 97,7%, [IC95 : 94,9 – 99,0 %]

Les intervalles de confiance sont calculés selon la méthode d'Agresti-Coull.

LDBIO ICT présente une limite de détection basse (<2UI/mL) sans présenter de résultats équivoques.

L'analyse des 67 sangs de cordons n'a révélé aucun résultat discordant entre le statut sérologique et LDBIO ICT, ce qui permettrait de valider l'utilisation de la technique sur de tels prélèvements.

Un résultat positif en ICT ne permet pas de faire la différence entre IgG, IgM ou la présence simultanée d'IgG et d'IgM.

Sensibilité, Spécificité (sang total)

Matériel et méthode

Cette étude a été réalisée par l'Institut National d'Hygiène au Maroc. 349 patientes (femmes >15 ans) ont été enrôlées sur 3 sites. Les patientes ont eu un prélèvement capillaire au travers d'une lancette et d'un capillaire de collecte de 60µl, rempli à moitié. Le prélèvement a servi à la réalisation « point-of-care » du test **Toxoplasma ICT IgG-IgM** sur sang total. Elles ont également eu un prélèvement de sang au pli du coude afin de réaliser au laboratoire un test **Toxoplasma ICT IgG-IgM** sur sérum, après centrifugation. Un test de confirmation **WB LDBIO Toxo II IgG** a également été réalisé.

Résultats

		Toxoplasma ICT IgG-IgM sérum		Total
		Pos	Neg	Total
Toxoplasma ICT IgG-IgM sang total	Pos	108	1	109
	Neg	4	236	240
	Total	112	237	349

Table 5 : Résultats de l'évaluation sang total

La corrélation entre les résultats sériques et le WB est de 100%.

Conclusion

Les performances du kit dans une utilisation « point-of-care » avec un prélèvement capillaire et sur sang total sont excellentes avec une sensibilité de 96.4% [IC95 91.1-99.0%] et une spécificité de 99.6% [IC95 97.7-99.9%].

Les intervalles de confiance sont calculés selon la méthode d'Agresti-Coull.

Reproductibilité

Reproductibilités inter-séries et inter-lots ont été testées. Dans les deux cas, la corrélation sérum à sérum, ou prélèvement capillaire à prélèvement capillaire, est excellente.

Interférences

Bien qu'aucune interférence particulière n'ait été relevée avec des sérums hémolysés, ictériques ou lipidiques, il est conseillé d'interpréter les résultats provenant de l'utilisation de tels échantillons avec prudence.

NOTIFICATION DE CHANGEMENT DE VERSION – A lire attentivement

DATE DE VERSION	VERSION	RÉSUMÉ DE LA MODIFICATION
01/10/2020	Vs 10	Mise en page - Réactifs fournis – Précautions d'utilisation – Conditions de conservation et stabilité – ajout de l'utilisation sang total
10/06/2021	Vs 11	Ajout référence kit 100 tests – Adresse mail de contact – mise à jour toxicité éluant
30/11/2022	Vs12	Nouvelle adresse
13/08/2024	Vs13	Mise à jour de l'indication du test – FDS § sécurité – dénomination et références en couleur

TOXOPLASMA ICT IgG-IgM



INTENDED USE

TOXOPLASMA ICT IgG-IgM is a single-use, qualitative immunochromatographic test (lateral flow). This rapid test is intended for professional use as a serological screening test for toxoplasmosis by simultaneous detection of anti-Toxoplasma gondii IgG and IgM, in any person with suspected toxoplasmosis, except in the context of organ transplantation. It can be performed on human serum, plasma or whole blood.

PRINCIPLE OF THE TEST

TOXOPLASMA ICT IgG-IgM is a single use unitary test for a qualitative diagnostic. It is based on the principle of the homogeneous sandwich (immunological reaction of two same antigen epitopes with the two binding sites of a bivalent antibody).

Inside the cassette, the device is composed of:

- A nitrocellulose strip on which are spread two reactive bands: the antigens (*Toxoplasma gondii*) of the “test” band (T band) and the rabbit gamma globulins of the “control” band (C band),
- A fiberglass support (conjugate pad) which is impregnated of **black latex** particles coupled with *T. gondii* antigens (“test” latex = T latex) and **blue latex** particles coupled with goat anti-rabbit IgG (“control” latex = C latex).

The test is run by successively dispensing the sample (serum, plasma or whole blood) and an eluting solution (called the eluent) in the “sample well” of the cassette. Adding the eluent starts the concomitant migration (chromatography) of the serum and the latex particles. This migration is completed in 20-30 minutes.

If specific antibodies (IgG and/or IgM) are present in the sample, a complex is formed between the T latex and the patient’s antibodies which is then captured by the T band. It results in the appearance of a **black line**: the test is positive.

The direct capture of the C latex by the C band results in the appearance of a blue line, meaning that the chromatography performed well. The appearance of this **blue line** is systematic and independent of the serological status of the patient.

Both letters “T” and “C” are printed on the cassette, materializing the position of the corresponding reading area.

KIT COMPONENTS

ID	Description	Packaging	
		20 tests	100 tests
R1	Bag (sealed + zip) of 10 ready-to-use cassettes + a desiccant	2	10
R2**	Dropper bottle of 3 mL elution buffer	1	5
	Instructions for use	1	1

** Eluent R2

- **Hazard pictograms**
- **Signal word:** Warning!



Code	Hazard statements
H317	May cause an allergic skin reaction
Code	Prevention
P261	Avoid breathing spray
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P280	Wear protective gloves and protective clothing
Intervention	
P305+P351+P338 P337+P313	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: Get medical advice/attention
Disposal	
P501	Dispose of contents and container in accordance with relevant regulations

- **Hazard statements**
- **Precautionary statements**

EUH 210 Safety data sheet available on request as well as on our website www.ldbiodiagnostics.com.

STORAGE AND STABILITY

- **Store the original sealed bag between 2 and 8°C.** Cassettes can be used until the expiry date written on the bag label. Do not freeze. Do not use after the expiration date.
- **The first opening of a bag of 10 tests must occur at least 15 minutes after** putting the bag at room temperature in order to avoid condensation in the bag.
- **Let the eluent at least 15 minutes at room temperature before use.**
- **After the first opening** of a bag, keep it **at room temperature (18-30°C)**, carefully closed (zip closure), the desiccant packet inside. After opening, the cassettes can be used **for up to 2 months**.
- The eluent is stable up to 2 months at room temperature (18-30°C) and until expiration date (as written on the kit) if kept between 2 and 8°C.

PRECAUTIONS FOR USE

Safety

- Safety data sheet available on request as well as on our website www.ldbiodiagnostics.com.
- For *in vitro* use only. Handle according to Good Laboratory Practices and consider any reagent and any sample as potentially toxic and/or infectious.
- For professional use only. Only for technically trained personnel.
- All human samples must be considered as potentially infectious and handled with care.
- Wear a lab coat, gloves and glasses; do not drink, eat or smoke in the laboratory. Do not mouth the pipettes.
- Dispose of waste (samples, tips, tubes, cassettes, used reagent...) according to good practices used in the industry and current regulations in the country.
- Any serious incident must be declared to the manufacturer and the competent authority.

Precautions

- Read and interpret the results under direct white light.
- Do not use eluent from another lot number.
- Do not use cassettes from two different lot numbers in the same run.
- Close the vials after use; do not use if a substance was accidentally introduced in the reagents. Do not use reagent from a vial that presents signs of leakage. Do not use cloudy or precipitated solution.
- Use only disposable pipette tips. Avoid any inter-cassette contamination.
- Do not use reagents after their expiration date.

- The omission of a sample or the distribution of an inadequate volume may render the test result positive or negative, regardless of its actual serological status.
- Only use cassettes carefully stored in their closed bag, the desiccant packet inside.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

- The test can be done with either serum or plasma.
 - Sample collection must be sterile and can be done either on dry tube or with heparin, citrate or EDTA.
 - On tubes with gel, do not collect gel: it could lead to false positives.
 - Avoid hemolysis as much as possible.
 - Keep the samples at 2-8 °C until they are processed. If they need to be stored, freeze the samples below -15°C. Do not use a contaminated sample. Avoid freezing and thawing the samples repeatedly.
- Test can also be performed on whole blood
 - In that case, sampling must be performed on a previously cleaned skin according to applicable good sampling practices.

TEST PROCEDURE

Serum or plasma

Additional material required: micropipette and disposable tips for dispensing volumes of 15µL, timer.

If the bags of 10 tests are kept at 2-8°C, let them at least 15 minutes at room temperature before opening: the temperature of the bag must reach the room temperature to avoid condensation in the bag.

1. Take out the desired number of cassettes, then close carefully the bag with the zip closure (the desiccant packet inside) while pressing out as much air as possible. Close and store the bag at room temperature for up to 2 months.
2. **Identify each cassette** with the reference of each sample to be tested. Do not work with runs of more than 10 cassettes. Two successive runs of 10 cassettes must be separated by a few minutes in order to be able to make the reading at the indicated times (the use of 2 timers is recommended).
3. Use a micropipette with a disposable tip to dispense 15µL of serum or plasma in the sample well. Do so for all cassettes before moving to the next step.
4. Dispense **4 drops** of the eluent of the kit. **Do not use the eluent of another lot number.** Keep the dropper vertically while dispensing. Close the dropper after use.
5. Start the timer when the eluent is dispensed in all the cassette of the run.

Whole blood

Additional material required: sterile lancets, capillaries or micropipette and disposable tips for dispensing volumes of 30µL, timer.

If the bags of 10 tests are kept at 2-8°C, let them at least 15 minutes at room temperature before opening: the temperature of the bag must reach the room temperature to avoid condensation in the bag.

1. Do not work in series but one patient at a time
2. After removing the cassette, close carefully the bag with the zip closure (the desiccant packet inside) while pressing out as much air as possible. Close and store the bag at room temperature for up to 2 months.
3. **Identify the cassette.** Do not work in series. Two successive samples must be separated by a few minutes in order to be able to make the reading at indicated times (the use of 2 timers is recommended).
4. With an adequate sterile lancet, proceed to fingerprick (middle or ring fingers recommended): sample 30µl of blood (1/2 a 60µl capillary tube for instance) and dispense immediately in the sample well by capillarity.

5. Dispense **4 drops** of the eluent of the kit. **Do not use the eluent of another lot number.** Keep the dropper vertically while dispensing. Close the dropper after use.
6. Start the timer after the eluent has been dispensed.

READING AND INTERPRETATION

The reading must be done near a window or under direct light (example: a desk lamp). Avoid shadows on the reading area.

The reading must be done between 20 and 30 minutes after starting the timer.

Do not take into account the results from readings after 30 minutes.

- **Positive test:** 2 lines, a **black "T"** and a blue **"C"** appear in the corresponding areas. Every **"T"** line must be considered positive, even of very weak intensity. For very weak lines, make the reading with the eye vertically above the reading area.
- **Negative test:** No black line appears. Only the blue **"C"** line is visible.
- **Equivocal test:** In very rare cases, a faint, diffuse, grey line can appear on the **"T"** band. This result should be considered negative but controlled on another sample or technique.
- **Invalid test:** The **"C"** line does not appear. Read once again the instruction and repeat the test. If the problem persists, contact the manufacturer or your distributor.

Notes: This is a qualitative test. Intensity of the black line does not reflect the quantity of anti-*Toxoplasma* antibodies in the sample.

Positivity of the test is proof of the contact of the patient with the infectious agent but doesn't prejudge the contact date or the clinical status of the patient.

QUALITY CONTROL

The blue **"C"** line allows the validation of the good running of the test. However, it is recommended to incorporate from times to times a known weak positive sample in a run.

TEST LIMITATIONS

- Do not use too old serum sample with this technique. It is recommended to use samples frozen for less than 2 years.
- The positivity can be caused by the presence of IgG and/or IgM directed against the infectious agent, the test does not distinguish the type of antibodies present.
- The use of other body fluids (urine, CSF, saliva...) has not been validated.
- The use of hemolytic, icteric or lipidic samples is not recommended. However, no interference in the reaction was recorded. Still, very hemolytic samples can hide a weak positive test, due to important red background from hemolysis.
- Do not dispense 3 or 5 drops of eluent.
- **Do not use eluent outside the one given with the cassettes (same lot number).**
- The diagnosis of an infectious disease cannot be established based on the results of a single test.
- Serological results must be interpreted according to available information (e.g., epidemiology, clinical, imaging, biology, etc.) in order to establish a diagnosis.

PERFORMANCES (see literature references)

Sensitivity, Specificity (serum/plasma)

Material and methods

The evaluation was done in a Reference Laboratory specialising in the diagnosis of toxoplasmosis and member of the French National Reference Centres network (CNR) for toxoplasmosis.

The serological status (positive or negative) was the final result of the routine diagnostic in the laboratory from the patient's biological and epidemiological data. The discordant biological results were solved by the use of confirmatory techniques LDBIO-TOXO II IgG, ISAGA IgM and Sabin and Feldman's DYE TEST).

The principle of the evaluation consisted of comparing the results of 486 samples (including 67 cord blood samples) obtained with the LDBIO ICT and the results obtained with 3 commercial serological tests: ELISA IgG, ELISA IgM (Abbott Architect) and Indirect Hemagglutination Assay – IHA (Fumouze).

The results of ELISA IgG and ELISA IgM were compiled (ELISA G+M) in order to have a better comparison as both LDBIO ICT and IHA detect simultaneously IgG and IgM class antibodies.

Two studies were conducted in parallel:

- A prospective study on 356 samples from the routine activity of the laboratory.
- A retrospective study on 130 samples selected for their specific profile and spread into 5 groups:
 - Group 1 – seroconversion: retrospective analysis of 9 serum sequence (30 samples) from patients having presented a toxoplasmosis seroconversion during their pregnancy.
 - Group 2 – monitoring of uninfected children: This is a retrospective analysis of 15 samples corresponding to 5 sequences of post-natal monitoring of children born to mothers who presented a toxoplasmosis seroconversion during pregnancy.
 - Group 3 – false positive with ELISA: 4 false positive with ELISA IgG and 11 false positive ELISA IgM including 1 false positive and 6 equivocal results by ISAGA IgM.
 - Group 4 – particular populations:
 - residual IgM (n=5),
 - weak IgG level (n=20), selected in ELISA IgG with antibodies level between 1.1 and 3.3 UI/mL (note: of these 20 samples, 2 were therefore considered negative and 16 equivocal according to the criteria of the ELISA used in the study)
 - strong IgG level (n=10),
 - serological reactivation (n=10),
 - sera from multi-organ transplant donor (n=10, 9 positives, 1 negative).
 - Group 5 – potential cross reactions: sera negative for toxoplasmosis but with anti-CMV and/or anti-EBV (n=10) and sera with rheumatoid factor (RF, n=5).

Results

- Whole population (prospective + retrospective studies): n=486

	ELISA G+M	IHA	LDBIO ICT		ELISA G+M	IHA	LDBIO ICT
Positive	151	175	189	Positive	16	2	7
Negative	9	14	0	Negative	276	295	290
Equivocal	29	0	0	Equivocal	5	0	0
Se	94.6%	92.9%	100%	Sp	94.6%	99.3%	97.7%

Table 1: results of the different techniques compared to the serological status (n=486) for the entire study. Equivocal results in ELISA were excluded from sensitivity and specificity calculations.

- Prospective study: n=356

	ELISA G+M	IHA	LDBIO ICT		ELISA G+M	IHA	LDBIO ICT
Positive	88	96	105	Positive	1	0	6
Negative	4	9	0	Negative	249	251	245
Equivocal	13	0	0	Equivocal	1	0	0
Se	95.7%	91.4%	100%	Sp	99.6%	100%	97.6%

Table 2: results of the different techniques compared to the serological status (n=486) for the prospective study. Equivocal results in ELISA were excluded from sensitivity and specificity calculations.

- Retrospective study n=130
 - Group 1 – seroconversion:
Of the 9 sequences, 1 is detected earlier by the LDBIO ICT. All other results were concordant for all three techniques.
 - Group 2 – monitoring of uninfected children:
LDBIO ICT allowed the detection of a serological residual positivity on a serum already negative with the two other techniques. All other results were concordant for all three techniques.
 - Group 3 – false positive ELISA (NEGATIVE serological status) n=15:

	IHA		ISAGA IgM			LDBIO ICT	
	POS	NEG	POS	EQUIVOCAL	NEG	POS	NEG
False positive ELISA IgG	0	4	NA	NA	NA	0	4
False positive ELISA IgM	2	9	1	6	4	0	11

Table 3: Compared performances of the different techniques for the false positive serum in ELISA.

- Group 4 – particular populations:
With the exception of the weak IgG level samples, the results were concordant between all the techniques. No prozone effect was observed in any of the three techniques, even with 2000UI/mL IgG level.
For the weak IgG level (POSITIVE serological status), the results are as follow: n=20

	ELISA G+M			IHA		LDBIO ICT	
	POS	EQUIVOCAL	NEG	POS	NEG	POS	NEG
IgG between 1.1 and 3.3 UI/mL	2	16	2	18	2	20	0

Table 4: Performances of the different techniques for the weak IgG level group

- Group 5 – potential cross reactions:
Of the 10 sera positive for EBV and/or CMV, none were found positive with ICT and IHA, but one was found equivocal with ELISA. Of the 5 sera positive for rheumatoid factor, one was false positive in ICT and equivocal in ELISA but correctly identified by IHA. All others samples were correctly identified.
There may be a potential cross reaction with this population, but a study on a greater number of serums is needed in order to conclude.

Note: Weak false positive reactions have been observed on ~10% samples positive for *Leishmania* serology. This could explain some of the nonspecific reactions that were recorded.

Conclusions

Correlation between the serological status and LDBIO ICT is excellent:

Sensitivity Se=100%, [IC95: 95.6 – 100 %]

Specificity Sp=97.7%, [IC95: 94.9 – 99.0 %]

Confidence intervals were done using Aggresti-Coull method.

LDBIO ICT has a low detection limit (<2UI/mL) without equivocal results.

The analysis of the 67 cord blood samples did not give any discordant results between ICT and the conclusion, showing that LDBIO ICT could be use on such samples.

A positive result in LDBIO ICT cannot discriminate between IgM, IgG or the simultaneous presence of IgG and IgM.

Sensitivity, Specificity (whole blood)

Material and methods

This study was carried out by the National Institute of Hygiene in Morocco. 349 patients (female sex, >15 years old) were enrolled at 3 sites. Patients had a capillary sample taken through a lancet and a 60µl collection capillary, half filled. The sample was used for the point-of-care **Toxoplasma ICT IgG-IgM** whole blood test. They also had a blood sample taken from venipuncture in order to perform a **Toxoplasma ICT IgG-IgM** test on serum in the laboratory after centrifugation. A **WB LDBIO Toxo II IgG** confirmation test was also performed.

Results

		Toxoplasma ICT IgG-IgM serum		Total
		Pos	Neg	Total
Toxoplasma ICT IgG-IgM whole blood	Pos	108	1	109
	Neg	4	236	240
	Total	112	237	349

Table 6: Results of whole blood evaluation

The correlation between serum results and WB is 100%.

Conclusion

The performance of the kit in point-of-care use with capillary and whole blood samples is excellent with a sensitivity of 96.4% [95CI 91.1-99.0%] and a specificity of 99.6% [95CI 97.7-99.9%].

Confidence intervals are calculated according to the Aggresti-Coull method.

Reproducibility

Inter-series and inter-lot reproducibility were tested. In both cases, the serum to serum, and capillarity sampling to capillarity sampling, correlation is excellent.

Interferences

Even though no particular cross-reaction has been observed with haemolysed, icteric or lipidic sera, it is recommended to interpret the results from the use of such samples with care.

BIBLIOGRAPHIE/BIBLIOGRAPHY

- Begeman I, Lykins J, Zhou Y, Shiun Lai B, Levigne P, El Bissati K, Boyer K, *et al.* 2017. « Point-of-Care Testing for Toxoplasma Gondii IgG/IgM Using Toxoplasma ICT IgG-IgM Test with Sera from the United States and Implications for Developing Countries ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11 (6):e0005670. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005670>.
- Chapey E, Wallon M, et Peyron F. 2017. « Evaluation of the LDBIO Point of Care Test for the Combined Detection of Toxoplasmic IgG and IgM ». *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 464 (janvier):200-201. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.10.023>.
- Franck J, Garin Y, et Dumon H. 2008. « LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot Confirmatory Test for Anti-Toxoplasma Antibody Detection ». *Journal of Clinical Microbiology* 46 (7):2334-38. <https://doi.org/10.1128/JCM.00182-08>.
- Jost C, Touafek F, Fekkar A, Courtin R, Ribeiro M, Mazier D, et Paris L. 2011. « Utility of Immunoblotting for Early Diagnosis of Toxoplasmosis Seroconversion in Pregnant Women ». *Clinical and Vaccine Immunology* 18 (11):1908-12. <https://doi.org/10.1128/CVI.05303-11>.
- Khammari I, Saghrouni F, Lakhal S, Bouratbine A, Ben Said M, et Boukadida J. 2014. « A New IgG Immunoblot Kit for Diagnosis of Toxoplasmosis in Pregnant Women ». *The Korean Journal of Parasitology* 52 (5):493-99. <https://doi.org/10.3347/kjp.2014.52.5.493>.
- Khammari I, Saghrouni F, Yaacoub A, Gaied Meksi S, Ach H, Garma L, Fathallah A, et Ben Saïd M. 2013. « IgG Western Blot for Confirmatory Diagnosis of Equivocal Cases of Toxoplasmosis by EIA-IgG and Fluorescent Antibody Test ». *The Korean Journal of Parasitology* 51 (4):485-88. <https://doi.org/10.3347/kjp.2013.51.4.485>.
- Mahinc C, Flori P, Delaunay E, Guillerme C, Charaoui S, Raberin H, Hafid J, et L'Ollivier C. 2017. « Evaluation of a New ICT Test (LDBIO Diagnostics) to Detect Toxoplasma IgG and IgM: Comparison with the Routine Architect Technique. » *Journal of Clinical Microbiology*, septembre, JCM.01106-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01106-17>.
- Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, et Candolfi E. 2016. « 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 ». *Journal of Clinical Microbiology* 54 (12):3034-42. <https://doi.org/10.1128/JCM.01193-16>.

UPDATE NOTIFICATION – Please read carefully

RELEASE DATE	VERSION	MODIFICATION SUMMARY
01/10/2020	Vs 10	Layout - Reagents supplied – Precaution for use – Stability – addition of whole blood use
10/06/2021	Vs 11	Add reference for 100 tests kit – contact email address - updated eluent toxicity
30/11/2022	Vs12	New address
13/08/2024	Vs13	Updated test indication - SDS § safety - color designation and references



NF EN ISO 13485

24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
 Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com