

Monoscreen AbELISA *Coxiella burnetii*

Référence : BIO K 298

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de la fièvre Q

Monocupule, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon / dilution	Bovin	Caprin	Ovin
Sérum / 100X	✓	✓	✓
Lait* / 1X	✓	✗	✗

* Préparation : centrifugation 20 min. 4000 g, prélever le liquide intermédiaire

Présentation

Référence produit	BIO K 298/2
Format	2 plaques, barrette de 8 puits
Réactions	192 tests

Composition du kit

Matériels fourni	BIO K 298/2
Microplaque	2
Solution de lavage (20X)	1 X 100 mL
Solution de dilution colorée (1X)	3 X 100 mL
Conjugué (50X)	1 X 0,5 mL
Sérum positif	1 X 0,5 mL
Sérum négatif	1 X 0,5 mL
Traceur	1 X 0,5 mL
Solution de TMB monocomposant (1X)	1 X 25 mL
Solution d'arrêt (1X)	1 X 15 mL

Historique de révision

Date	Version	Modifications
01/06/2022	V03	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice

Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

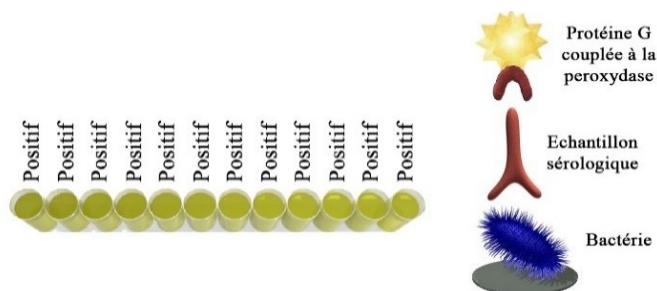
A. Introduction

La fièvre Q affecte surtout l'homme, le bétail, les moutons et les chèvres. L'agent étiologique, *Coxiella burnetii* est une bactérie intracellulaire Gram négatif qui se multiplie dans les phagolysosomes des macrophages. *Coxiella burnetii* peut se présenter sous deux formes antigéniques : une phase I pathogène, isolée d'animaux ou d'individus infectés et une phase II avirulente, obtenue *in ovo* ou *in vitro*. Il existe 2 formes d'infection, aiguë et chronique, qui ont des profils sérologiques différents : pendant la phase aiguë de la maladie, des titres d'anticorps de type IgG sont élevés contre la phase II, tandis que pendant la phase chronique de la maladie, des niveaux élevés d'anticorps de type IgG anti-phase I et II sont observés. Chez les vaches, les brebis et les chèvres, la fièvre Q a surtout été associée à des avortements tardifs et à des troubles de la reproduction comme les naissances prématurées, les fœtus morts ou affaiblis, les métrites et l'infertilité. Néanmoins, chez une espèce donnée les réponses sérologiques ou l'isolement de la bactérie ne sont pas nécessairement en corrélation avec l'expression de la maladie clinique. Les analyses sérologiques sont appropriées pour le criblage des troupeaux, mais l'interprétation au niveau individuel peut être difficile.

B. Principe du test

L'entière des microplaques à 96 puits a été sensibilisée par des extraits antigéniques de *Coxiella burnetii* en phase I + II. Les sérums sanguins, les plasmas et les témoins sont dilués dans la solution de dilution. Les laits sont utilisés purs. Après 60 minutes d'incubation et une étape de rinçage, on ajoute le conjugué, de la protéine G couplée à la peroxydase. Après 60 minutes d'incubation et une étape de rinçage, l'opérateur ajoute le chromogène tétraméthylbenzidine (TMB).

Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérigène. En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques de *Coxiella burnetii* dans le sérum, le plasma ou dans le lait, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant l'antigène bactérien et l'enzyme catalyse la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur en anticorps spécifiques présents dans l'échantillon.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée
- Pipette mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20 µL, 20-200 µL et 100-1000 µL) avec embouts à usage unique et réservoirs à réactifs
- Lecteur de microplaques (filtre 450 nm)
- Laveur de microplaques (facultatif)
- Microplaque de dilution (facultatif)
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs entre +2 et +8°C.
- Les barrettes non utilisées sont conservées dans l'enveloppe d'aluminium fermée hermétiquement avec son dessiccant.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de validité.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres trousses.
- Veiller à utiliser de l'eau distillée/déminéralisée.
- La solution d'arrêt est de l'acide phosphorique 1 M. Manipuler ce produit avec prudence.
- Éliminer le matériel utilisé en respectant la législation en vigueur en matière de protection de l'environnement et de gestion des déchets biologiques.
- Conserver la solution de TMB à l'abri de la lumière.

E. Préparation des solutions

- Les solutions sont à préparer extemporanément.
- La solution de lavage est à diluer 20 fois dans de l'eau distillée/déminéralisée. La solution cristallise spontanément à froid. Amener le flacon à 21±3°C de façon à ce que tous les cristaux disparaissent ; bien mélanger la solution et en prélever le volume nécessaire.
- La solution de dilution est prête à l'emploi. La solution de dilution est colorée en jaune.
- Le conjugué est à diluer 50 fois dans la solution de dilution.
- La solution d'arrêt est prête à l'emploi.
- La solution de TMB est prête à l'emploi. Elle doit être parfaitement incolore.

F. Préparation des échantillons

- Les échantillons de **sérum** et les témoins du kit (sérum positif et négatif et traceur) doivent être dilués **100 fois** dans la solution de dilution et homogénéisés. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée :

10µL d'échantillon + 990µL de solution de dilution.

- Les échantillons de **lait** sont utilisés **purs**, sans dilution.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

N.B. : Pour éviter les différences de temps d'incubation entre échantillons, il est possible de préparer les dilutions des échantillons et les dilutions des témoins ou de distribuer les échantillons de lait dans une microplaque de dilution avant leur transfert (100 µL) dans la microplaque du kit à l'aide d'une pipette multicanaux.

Protocole sérum (dilution 1/100)

1. Distribuer les échantillons de sérum **dilués** et les témoins du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits**. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **60 ± 5 min**.

Protocole lait (pas de dilution)

1. Distribuer les échantillons de lait **pur** et les témoins du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits**. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **60 ± 5 min**.

Protocole commun

2. Eliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Eviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
3. Ajouter **100 µL de conjugué dilué** par puits. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **60 ± 5 min**.
4. Eliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Eviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
5. Distribuer **100 µL** de la solution de TMB par puits. Incuber à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **10 ± 1 min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
6. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **50 µL** par puits. La couleur passe de bleu à jaune.
7. Enregistrer les densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre pour plaques en utilisant un filtre de 450 nm dans les 5 minutes après l'ajout de la solution d'arrêt.

H. Validation des résultats

Le test ne peut être **validé** que si :

- la différence entre les lectures de densité optique (DO) du sérum positif et du sérum négatif est supérieure à 1,000.

$$DO_{\text{sérum positif}} - DO_{\text{sérum négatif}} > 1,000$$

- le sérum négatif a une densité optique inférieure à 0,400.

$$DO_{\text{sérum négatif}} < 0,400$$

I. Interprétation des résultats

Calculer pour chaque échantillon son coefficient (E/P %) au moyen de la formule suivante :

$$E/P \% = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{sérum négatif}}}{DO_{\text{sérum positif}} - DO_{\text{sérum négatif}}} * 100$$

	Résultats	Statut
Sérum bovin, caprin et ovin	E/P % < 40%	Négatif
	40% ≤ E/P % ≤ 60%	Douteux
	E/P % > 60%	Positif
Lait bovin	E/P % < 30%	Négatif
	30% ≤ E/P % ≤ 60%	Douteux
	E/P % > 60%	Positif

Obtenez rapidement et facilement l'interprétation de vos résultats grâce à notre plateforme en ligne gratuite **AnalysiScreen™** disponible sur notre site web : <https://www.biox.com>

ANALYSISCREEN

AnalysiScreen™ est le nouveau module de lecture et d'interprétation de tous les types de plaques ELISA Monoscreen™ et Multiscreen™. **AnalysiScreen™** est :

- Gratuit
- Accessible en ligne via notre site internet : <https://www.biox.com>
- Mis à jour en temps réel
- Compatible avec tous les designs de plaques Bio-X Diagnostics
- Très simple d'emploi



SCAN ME

Notes*

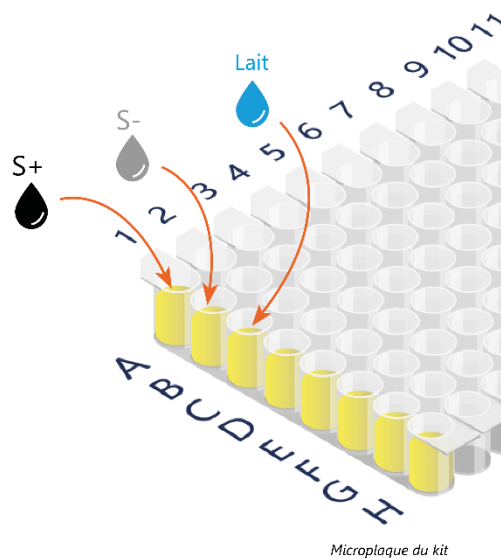
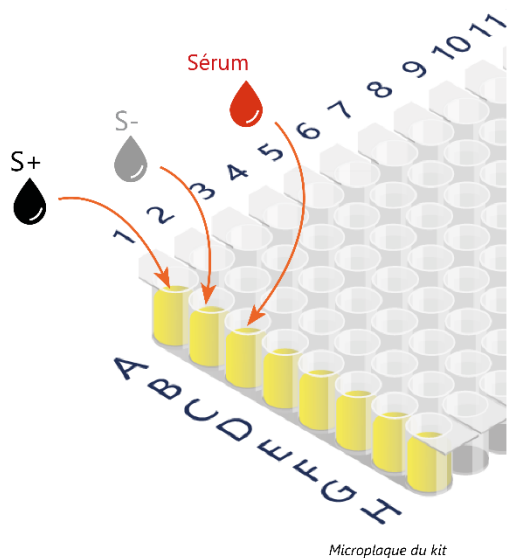
Protocole sérum (bovin, ovin & caprin)

Dilution des échantillons 1/100
Dilution des sérums positif et négatif 1/100



Protocole lait

Echantillons 1/1
Dilution des sérums positif et négatif 1/100



Ajouter 100 µl de conjugué



Ajouter 100 µl de TMB



Ajouter 50 µl de solution d'arrêt

Enregistrer les densités optiques



* Les notes ne se substituent pas au mode d'emploi dont elles sont une synthèse.