

## Résumé technique



- Test ELISA monocouple
- Coatage : lysat de culture de *Besnoitia besnoiti*



- Echantillon : sérum
- Dilution : 1/2



- Longueur d'onde de lecture : 450nm
- Durée d'incubation : 2h30
- Substrat : TMB monocomposant



### Sensibilité

- 97,5% d'animaux testés positifs en individuel
- 99,5% d'animaux testés positifs en mélange de 10



### Spécificité

- 99,5% d'animaux testés négatifs en individuel
- 100% d'animaux testés négatifs en mélange de 10

**Test utilisable en diagnostic et en screening compte tenu de ses performances exceptionnelles**

## Pour commander

Référence	Désignation	Nombre de réactions
BIO K 466/2	Monoscreen AbELISA Besnoitia besnoiti / blocking, monowell	2 plaques / 192 tests

Instructions d'utilisation et conditions de manipulation: voir instructions et MSDS (disponible sur [www.biox.com](http://www.biox.com))

## A propos d'AnalysisScreen



### GÉNÉREZ VOS RÉSULTATS EN QUELQUES CLICS

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

AnalysisScreen™ est :

- 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

**BIO-X DIAGNOSTICS**

38, rue de la Calestienne  
5580 Rochefort • BELGIUM  
T. +32(0)84 32 23 77 • F. +32(0)84 31 52 63  
info@biox.com • www.biox.com



Bio-X Diagnostics is ISO 9001 certified to assure the best to its customers



BIO K 466 - Besnoitia besnoiti\_PUB (FR) V04  
23/01/2024

# MONOSCREEN<sup>®</sup> Ab ELISA

NEW

## MonoScreen AbELISA - *Besnoitia Besnoiti*

Référence : BIO K 466/2

Validation en mélange de 10



NEW

# MONOSCREEN<sup>Ab</sup> ELISA - *Besnoitia besnoiti*

## Le point sur la maladie

*Besnoitia besnoiti* est un protozoaire intracellulaire strict responsable de la Besnoitiose bovine, souvent appelée « anasarque des bovins ». La maladie touche principalement les jeunes bovins. La Besnoitiose est épidémiologique dans le sud de la France, mais elle est maintenant largement répandue en Afrique, en Asie et dans le sud-ouest de l'Europe. Compte tenu du réchauffement climatique et des transferts d'animaux, la maladie remonte progressivement vers le nord (premiers cas en Belgique en 2021, par exemple). La voie de transmission privilégiée est transcutanée, par des insectes piqueurs (tabanidés, stomoxes).

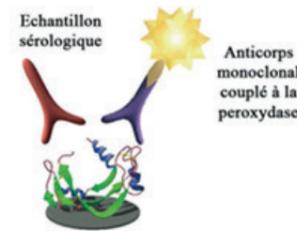
Au cours de l'infection, une phase d'incubation de 3 à 6 jours est suivie de 3 stades cliniques successifs:

- Un stade fébrile de 3 à 7 jours ; la multiplication des tachyzoïtes dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins entraîne une hyperthermie de l'animal.
- Une deuxième phase de 1 à 2 semaines ; les kystes de bradyzoïtes génèrent un œdème sous-cutané.
- Une phase chronique de plusieurs mois, caractérisée par une alopecie et une sclérodémie. La peau devient alors nettement épaissie et ridée, et des kystes parasitaires sont observés sur la conjonctive et la sclérotique. Cette phase ultime conduit généralement à la mort de l'animal ou à son euthanasie.

Bio X a été pionnier en développant une méthode PCR qui a l'avantage de dépister les animaux infectés de façon très précoce, en phase fébrile, par la détection des tachyzoïtes dans les monocytes du sang. Une nouvelle phase diagnostique est aujourd'hui permise pour la détection des anticorps spécifiques de *Besnoitia besnoiti* en phase chronique par le test ELISA développé selon le cahier des charges de l'ANSES.

## Monoscreen AbELISA *Besnoitia besnoiti* permet la détection des anticorps spécifiques de *Besnoitia besnoiti* (IgG, IgM) en compétition

Le test utilise des plaques de microtitration à 96 puits sensibilisés par le lysat de culture de *Besnoitia besnoiti*. L'opérateur dépose les sérums de test préalablement dilués dans les puits de la microplaque. Après 120 minutes d'incubation et une étape de rinçage, l'opérateur ajoute le conjugué, qui est un anticorps monoclonal spécifique de *Besnoitia besnoiti* couplé à une peroxydase. Après incubation et lavage de la préparation, l'opérateur ajoute le chromogène tétraméthylbenzidine (TMB).



## Monoscreen AbELISA *Besnoitia besnoiti* a été validé selon le cahier des charges de l'ANSES

### Modalités d'interprétation et seuils d'interprétations

Cut off à 40% déterminé sur analyse de 150 sérums

### Sensibilité analytique - 100% positif

Sérum NED testés en 10 réplicats par série, sur deux plaques indépendantes

### Spécificité analytique - 100% négatif

Sérums issus de 14 bovins séropositifs pour *Neospora Caninum* et 5 bovins positifs pour *Toxoplasma Gondii*

### Cohérence de la loi dose-effet - Linéarité

2 séries d'au moins 4 niveaux de dilution de 2 à 2 couvrant la zone de linéarité sur 2 plaques différentes

### Répétabilité intra-essai - CV\* = 6,34%

\*Coefficient de variation  $\leq 10\%$  (3 plaques testées entièrement avec un faible positif)

### Reproductibilité intra-laboratoire - CV\* = 9,7%

\*Coefficient de variation  $\leq 15\%$  (3 niveaux de dilution d'un même échantillon situés dans la gamme linéaire analysés en triplicata sur 6 séries distinctes par au moins 2 opérateurs sur plusieurs jours différents)

### Reproductibilité inter-laboratoire - CV\* < 8,93%

\*Coefficient de variation < 20%  
Les données brutes des labos (3 niveaux de dilution de 3 sérums: fort, faible (proche du NED) et négatif) sont analysés 4 fois par 5 laboratoires différents en aveugle

### Vérification de la robustesse - CV\* = 6,6%

Vérification aux conditions extrêmes de température, temps, lavage (manuel versus automatique) sur 3 échantillons (fort, faible et négatif) en duplicata

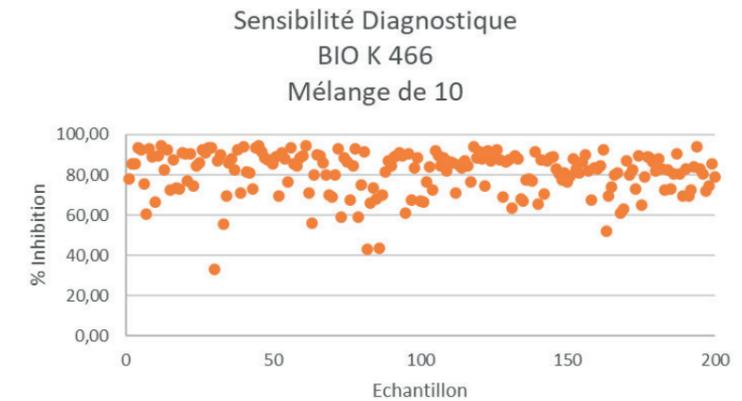


Validation par le LNR ANSES en individuel et en mélange

### Sensibilité diagnostique - 99,5% d'animaux positifs

201 mélanges au plan analytique et épidémiologique d'animaux infestés issus de 12 cheptels géographiquement représentatifs du territoire national

#### BIO K 466 - Sensibilité diagnostique



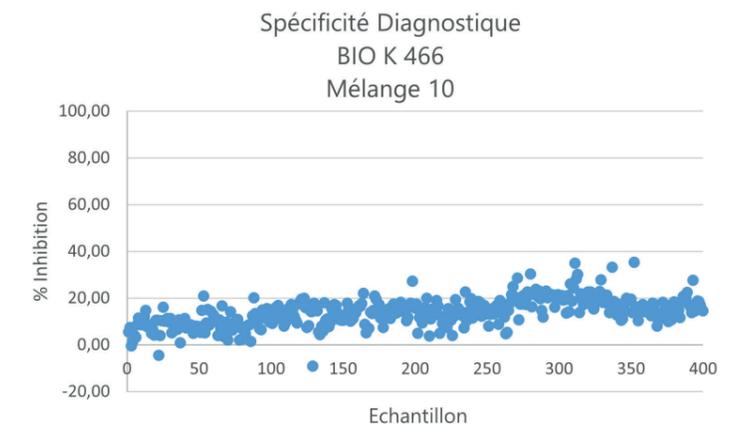
Un Cut-off unique de 40%

99,5% de sensibilité diagnostique en mélange de 10

### Spécificité diagnostique - 100% d'animaux négatifs

400 mélanges issus de plusieurs cheptels de pays européens n'ayant pas enregistré de foyer de Besnoitiose

#### BIO K 466 - Spécificité diagnostique



100% de spécificité diagnostique en mélange de 10

## Tests supplémentaires

### Validation sur le NED au 1/10ème (92 répétitions)

	% Inh	Ecart type	%CV
Entière	62,53	2,48	3,97
Bords	61,94	3,25	5,25
Centre	62,85	1,91	3,04

### Tests en mélanges de 10

Critères	Résultat
Sensibilité	99,5% positif ✓
Spécificité	100% positif ✓

## Protocole simplifié d'utilisation du BIO K 466

1

Dans chaque puits, ajouter:  
- 50  $\mu$ L tampon de dilution 1x  
- 50  $\mu$ L d'échantillon/contrôles



2

Dans chaque puits, ajouter:  
- 100  $\mu$ L solution conjugué dilué



3

Dans chaque puits, ajouter:  
- 100  $\mu$ L solution chromogène diluée



4

Dans chaque puits, ajouter:  
- 50  $\mu$ L solution d'arrêt



Enregistrement des densités optiques (DO)