



MONOSCREEN^{Ab} ELISA

Notice d'utilisation
BIOK139-MANH_NO_(FR)_V04
29/06/2026

Monoscreen AbELISA *Mannheimia haemolytica*

Référence : BIO K 139

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de *Mannheimia haemolytica*

Monocupule, test indirect

Usage in vitro et strictement vétérinaire



Echantillon / dilution	Bovin
Sérum – plasmas* / 100X	✓

*Par la suite, nous retiendrons la dénomination sérum.

Présentation

Référence produit	BIO K 139/2
Format	2 plaques, barrettes de 8 puits
Réactions	192 tests

Composition du kit

	Matériel fourni	Code	Type*	BIO K 139/2
Microplate	Microplaques	D01028	1	2
Washing solution (20X)	Solution de lavage (20X)	D00695	A	1 x 100 mL
Dilution solution (1X)	Solution de dilution colorée (1X)	D01511	A	3 x 125 mL
TMB solution (1X)	Solution de TMB monocomposant (1X)	D01585	A	1 x 30 mL
Stop solution (1X)	Solution d'arrêt (1X)	D00680	A	1 x 30 mL
Conjugate (50X)	Conjugué (50X)	D01596	1	1 x 0,6 mL
CTL POS	Contrôle positif	D01574	a	1 x 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	D01030	a	1 x 0,5 mL

* : (1): dépendant kit et lot / (a) : dépendant kit / (A) : substituable entre composants A / (B) : substituable entre composants B.

Historique de révision

Date	Version	Modifications
29/06/2026	V04	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice. Ajustement des volumes des composants. Distribution de la solution d'arrêt modifiée de 50 µL à 100 µL.

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

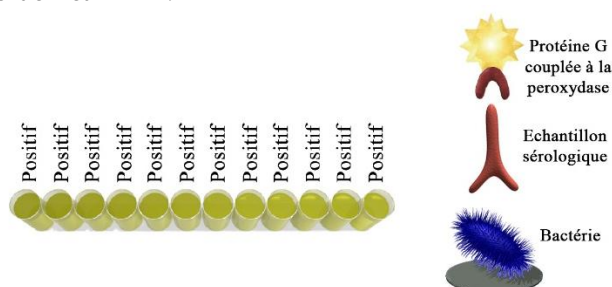
Mannheimia haemolytica est l'agent responsable de la pneumonie épizootique du bétail appelée également fièvre des transports ou pneumonie à *Pasteurella*. 90% des cas sont causés par le biotype A sérotype 1 de *Mannheimia haemolytica* mais également par *Pasteurella multocida*. *Mannheimia haemolytica* est souvent un agent secondaire retrouvé après une infection virale telle que celles causées par le virus Parainfluenza-3 ou l'IBR ou après une infection bactérienne causée par *Mycoplasma*.

Des facteurs de stress environnementaux peuvent également agir en tant qu'agents primaires.

Mannheimia haemolytica peut contribuer à la pneumonie enzootique des veaux et des agneaux et à la péritonite du mouton. Elle est également responsable de mammites gangréneuses du mouton. Les souches de *Mannheimia* produisent souvent une cytotoxine appelée leucotoxine. Cette dernière provoque la lyse des leucocytes des ruminants. La leucotoxine est un membre du groupe des toxines RTX. Cette toxine est probablement largement responsable de la pathogénicité de la bactérie dans les cas de septicémie et de pneumonie.

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par du lipopolysaccharide (LPS) de *Mannheimia haemolytica*. L'entièreté des microplaques est sensibilisée par le LPS. Les sérums sanguins et les plasmas sont dilués dans la solution de dilution. Après incubation et lavage de la préparation, on ajoute le conjugué, de la protéine G couplée à la peroxydase. A l'issue d'une seconde incubation d'une heure à $21\pm3^{\circ}\text{C}$ et d'un second lavage, on ajoute la solution de révélation (TMB Monocomposant). Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérogène. En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques de *Mannheimia haemolytica* dans le sérum ou le plasma, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant le LPS 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. Il est possible d'attribuer à ces échantillons un niveau de positivité compris entre + et +++++.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée.
- Microplaques de dilution (facultatif).
- Pipette mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20µL, 20-200 µL et 100-1000µL) et embouts à usage unique.
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm).
- Laveur de microplaque (facultatif).
- Incubateur à $21\pm3^{\circ}\text{C}$.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, béchers, tubes, portoirs...

Kit complémentaire

- **Tracer *Mannheimia haemolytica* (Réf. : BDE K 139) :** Matériau de référence interne pour la sérologie de *Mannheimia haemolytica* par ELISA.

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs entre $+2$ et $+8^{\circ}\text{C}$.
- 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.
- 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 $21\pm3^{\circ}\text{C}$ 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. Elle est utilisée pour la dilution des échantillons, des contrôles du kit (contrôle positif et négatif) et du conjugué.
- 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 contrôles du kit (contrôle positif et négatif) doivent être dilués **100 fois** dans la solution de dilution et homogénéisés. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée :

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

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à $21\pm3^{\circ}\text{C}$ 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, celle des contrôles positif et négatif dans une microplaque de dilution avant leur transfert (100 µL) dans la microplaque test à l'aide d'une pipette multicanaux.

1. Distribuer les échantillons de sérum **dilués** et les témoins du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits**. Couvrir et incubé la plaque à $21\pm3^{\circ}\text{C}$ pendant **60 ± 5min**.
2. Éliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Éviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
3. Distribuer le **conjugué dilué** à raison de **100 µL** par puits. Couvrir et incubé à $21\pm3^{\circ}\text{C}$ pendant **60±5min**.
4. Éliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Éviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
5. Distribuer **100 µL** de la solution de **TMB** par puits. Incuber à $21\pm3^{\circ}\text{C}$ pendant **10±1min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
6. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **100 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 **450nm** 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 de densité optique entre le contrôle positif et le contrôle négatif (DO contrôle positif – DO contrôle négatif) fournit une valeur en dix minutes supérieure à 0,400 et le contrôle négatif une densité optique inférieure à 0,300.

I. Interprétation des résultats

Calculer pour chaque échantillon son coefficient en appliquant la formule suivante :

$$\text{Coef éch} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO contrôle négatif}}{\text{DO contrôle positif} - \text{DO contrôle négatif}} \times 100$$

En utilisant le tableau ci-dessous, déterminer le niveau de positivité des échantillons.

	Résultats	Statut
Échantillon	Val ≤ 23%	0
	23% < Val ≤ 87%	+
	87% < Val ≤ 151%	++
	151% < Val ≤ 216%	+++
	216% < Val ≤ 280%	++++
	Val > 280%	+++++

Seule la mise en évidence d'une séroconversion franche réalisée à partir de deux échantillons sériques couplés prélevés à 2-3 semaines d'intervalle peut fournir un diagnostic fiable. Le premier prélèvement devra être effectué durant la phase aiguë de l'affection. On considère qu'il y a séroconversion franche lorsqu'il y a un accroissement du signal de 2 croix (par exemple : ++ → ++++ ou + → +++).

Un échantillon doit être considéré comme **positif** s'il fournit un résultat **supérieur ou égal à une croix**.

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™ 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

Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite de température
	Utiliser jusqu'à
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Conserver à l'abri de la lumière
	Conserver au sec
	Substance corrosive
	Produit nocif / irritant

- 1 Distribuer 100 µL des échantillons dilués (1/100) et des contrôles dilués (1/100)



- 2 Ajouter 100 µL de conjugué dilué (1/50)

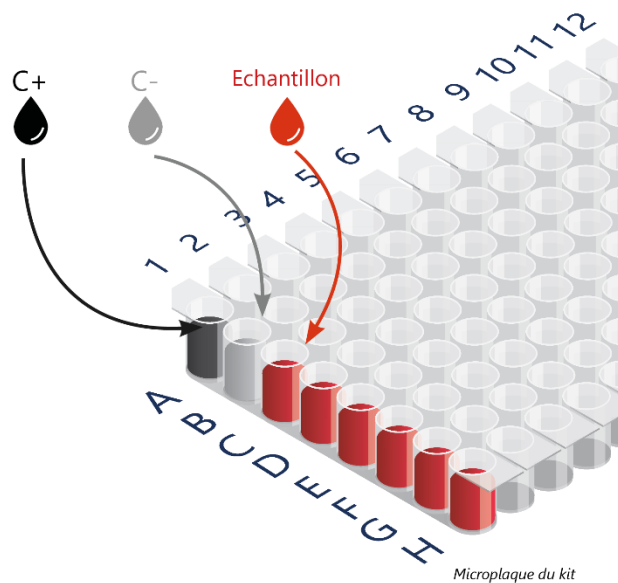
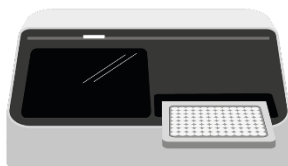


- 3 Ajouter 100 µL de TMB



- 4 Ajouter 100 µL de solution d'arrêt

- 5 Enregistrer les densités optiques



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