

Monoscreen AbELISA BPI3

Référence : BIO K 239

Test ELISA pour le diagnostic sérologique du virus parainfluenza 3 bovin

Bicupule, test indirect

Usage in vitro et strictement vétérinaire



Echantillon / dilution	Bovin
Sérum – Plasma* / 100X	✓
Lait / 1X	✓

*Par la suite, nous retiendrons la dénomination sérum.

Présentation

Référence produit	BIO K 239/2
Format	2 plaques, barrettes de 16 puits
Réactions	96 tests

Composition du kit

	Matériel fourni	Code	Type*	BIO K 239/2
Microplate	Microplaques	D00587	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	2 x 125 mL
TMB solution (1X)	Solution de TMB Monocomposant (1X)	D01594	B	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	D01458	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
02/06/2026	V03	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.

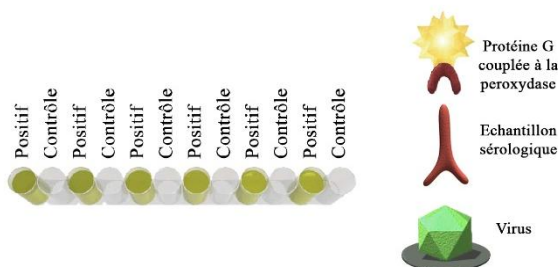
Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

A. Introduction

Le virus parainfluenza 3 a été isolé pour la première fois aux Etats-Unis à partir du mucus nasal d'un bovin montrant des signes cliniques de fièvre des transports (shipping fever). On a pu démontrer que la distribution de ce virus était mondiale au sein des populations de bovins. La plupart des cas de contamination du bétail par le virus parainfluenza 3 ont été trouvés dans des groupes de jeunes veaux présentant des troubles respiratoires tels que de la pneumonie enzootique. Les infections par le virus BPI3 ne sont pas toujours suivies de signes cliniques et il n'est pas rare de mettre en évidence des séroconversions franches sur des animaux n'extériorisant aucun trouble (infections subcliniques). En Europe, les infections par le virus BPI3 sont plus courantes au cours de l'hiver c'est-à-dire entre octobre et mars. Les infections du bétail par le virus BPI3 peuvent être accompagnées par une infection de l'arbre respiratoire par d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial bovin (BRSV), les adénovirus ou le virus de la maladie des muqueuses (BVDV). Lors de troubles respiratoires au sein d'une exploitation, il n'est pas possible de diagnostiquer le BPI3 en se basant sur les seuls signes cliniques. Pour établir un diagnostic, il est nécessaire de soumettre un échantillon de sérums couplés à un test ELISA. En cas de séroconversion franche entre l'échantillon prélevé en phase aiguë de l'infection et l'échantillon tardif prélevé durant la phase de convalescence (2 à 3 semaines après le 1er prélèvement), on pourra conclure à une contamination par le virus parainfluenza 3. Si l'animal devait succomber à son atteinte respiratoire, il est également possible de mettre en évidence le virus BPI3 par la réalisation d'un test d'immunofluorescence directe sur une coupe du poumon.

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par du virus BPI3 purifié. Les colonnes impaires (1, 3, 5, 7, 9, 11) des microplaques contiennent le virus tandis que les colonnes paires (2, 4, 6, 8, 10, 12) renferment un antigène de contrôle. Les sérums sanguins et les plasmas sont dilués dans la solution de dilution. Les laits sont utilisés purs. 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°C +/- 3°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 du BPI3 dans le sérum, le plasma ou dans le lait, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant l'antigène viral 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. Le signal enregistré sur la cupule négative sensibilisée par l'antigène de contrôle est retranché du signal de la cupule positive sensibilisée par l'antigène viral. Il est possible d'attribuer à ces échantillons un niveau de positivité compris entre 0 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±3°C.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, béchers, tubes, portoirs...

Kit complémentaire

- **Tracer BPI3 (Réf. : BDE K 239)** : Matériau de référence interne pour la sérologie de BPI3 par ELISA.

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.
- 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. Elle est utilisée pour la dilution des échantillons, des témoins 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 témoins 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

- Les échantillons de **lait** doivent être centrifugés **20 minutes à 4000g**. Prélever le liquide intermédiaire en veillant à ne pas toucher le culot cellulaire sous-jacent. Les laits sont utilisés sans dilution.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21±3°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 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** ou de lait **non dilués** et les témoins du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits**. Couvrir et incuber la plaque à **21±3°C pendant 60 ± 5min**.

- 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.
- Distribuer le **conjugué dilué** à raison de **100 µL** par puits. Couvrir et incubé à **21±3°C** pendant **60±5min**.
- 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.
- Distribuer **100 µL** de la solution de **TMB** par puits. Incuber à **21±3°C** pendant **10±1min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
- Distribuer la solution d'arrêt à raison de **100 µL** par puits. La couleur passe de bleu à jaune.
- 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 entre les lectures de densité optique (DO) du puits impair et du puits pair du contrôle positif est supérieure à 0,800.

Contrôle positif : $DO_{\text{puits impair}} - DO_{\text{puits pair}} > 0,800$

- La différence entre les lectures de densité optique (DO) du puits impair et du puits pair du contrôle négatif est inférieure à 0,300

Contrôle négatif : $DO_{\text{puits impair}} - DO_{\text{puits pair}} < 0,300$

I. Interprétation des résultats

- Calculer pour chaque échantillon sa « delta DO » en soustrayant la densité optique du puits pair du puits impair.
- Procéder de même pour le contrôle positif et le contrôle négatif.

Diviser chaque valeur obtenue par la valeur correspondante obtenue avec le contrôle positif et multiplier ce résultat par 100 pour l'exprimer sous forme de pourcentage.

$$\text{Val(eur)} = \frac{\text{Delta DO éch} \times 100}{\text{Delta DO pos}}$$

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

	Résultats	Statut
Échantillons	$\text{Val} \leq 20\%$	0
	$20\% < \text{Val} \leq 40\%$	+
	$40\% < \text{Val} \leq 60\%$	++
	$60\% < \text{Val} \leq 80\%$	+++
	$80\% < \text{Val} \leq 100\%$	++++
	$100\% < \text{Val}$	+++++

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 ou (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

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



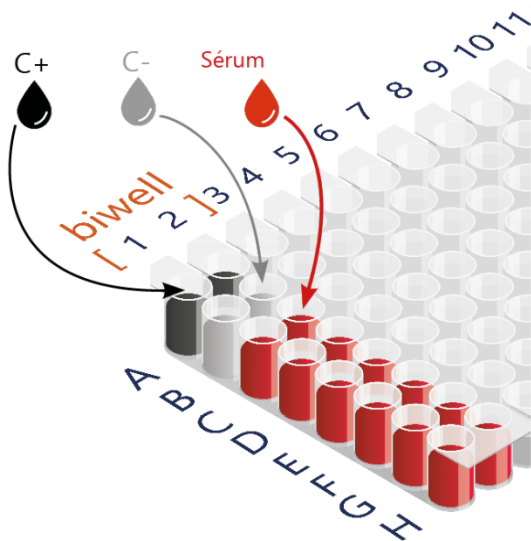
SCAN ME

Table des symboles

Symbole	Signification
REF	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite de température
	Utiliser jusqu'à
LOT	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

Protocole sérum

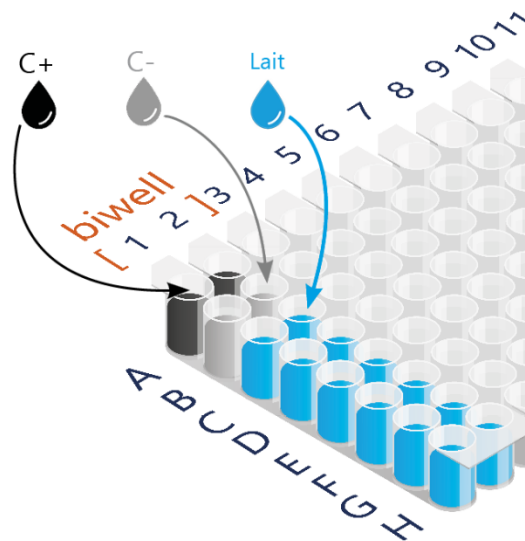
- 1 Dilution des échantillons 1/100
Dilution des témoins du kit (contrôle positif et négatif) 1/100



Microplaque du kit

Protocole lait

- 1 Distribuer les échantillons centrifugés
Dilution des témoins du kit (contrôle positif et négatif) 1/100



Microplaque du kit

Protocole commun

- 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.