

MULTISCREEN[®] Ab ELISA

Notice d'utilisation
BIOK368-Abort-BNQSV_NO_(FR)_V02
05/06/2026

Multiscreen AbELISA bovine abortion

Référence : BIO K 368

Test ELISA pour le diagnostic sérologique du BoHV-4, de la Néosporose, Fièvre Q, Salmonellose et BVDV

Bicupule, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon / Dilution	Bovin
Sérum – Plasma* / 100X	✓

*Par la suite, nous retiendrons la dénomination sérum.

Présentation

Référence produit	BIO K 368/2
Format	2 plaques, barrettes de 8 puits
Réactions	32 tests

Composition du kit

	Matériel fourni	Code	Type*	BIO K 368/2
Microplate	Microplaques	D01623	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	1 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)	D01476	1	1 X 0,6 mL
CTL POS	Contrôle positif	D01624	a	1 X 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	D01123	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
2016	V01	Création.
05/06/2026	V02	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice. Remplacement de Leptospirose par BVDV. 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

Déterminer la cause d'un avortement chez le bovin est une tâche en général assez difficile. La plupart du temps, cet avortement est la conséquence d'un événement qui est survenu des semaines, voire des mois plus tôt. Très souvent, le fœtus est maintenu dans l'utérus des heures et parfois même des jours après sa mort. Lorsqu'il est enfin évacué, il a subi des lésions d'autolyse telles qu'il est difficile de le soumettre à une quelconque analyse. Il faut encore ajouter que de nombreuses causes d'avortement chez le bovin restent encore inconnues à l'heure actuelle. Par ailleurs, certains agents sont trop rarement recherchés parce qu'ils sont difficiles ou dangereux à manipuler (*Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus*...). Les agents pathogènes directement ou indirectement responsables d'avortements sont par ailleurs nombreux et variés, ce qui complique bien évidemment le diagnostic.

La trousse ELISA avortement de Bio-X Diagnostics permet d'évaluer la réponse immunitaire humorale des bovins contre 5 agents fréquemment impliqués dans les avortements. Ces agents sont le BoHV-4 (Herpès-virus bovin de type 4), *Neospora caninum*, *Coxiella burnetii*, *Salmonella* et BVDV (virus de la diarrhée bovine).

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique d'une protéine de *Neospora caninum*. L'anticorps assure la capture et la purification de cette protéine à partir d'une culture du protozoaire.

Pour BoHV-4, les colonnes correspondantes sont sensibilisées par du virus purifié.

Pour *Salmonella*, les colonnes correspondantes sont sensibilisées par du lipopolysaccharide (LPS).

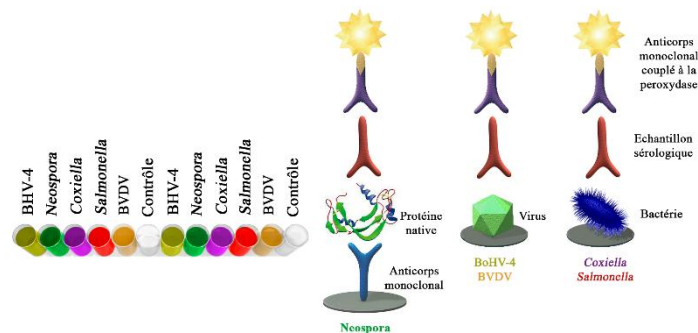
Pour *Coxiella burnetii*, les colonnes correspondantes ont été sensibilisées par des extraits antigéniques de *Coxiella burnetii* en phase I et en phase II.

Pour BVDV, les colonnes correspondantes ont été sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique d'une protéine de BVDV qui assure la capture et la purification de cette protéine à partir d'une culture du virus BVD.

La répartition sur la microplaque de ces agents, est la suivante :

- Colonnes 1 et 7 : BoHV-4
- Colonnes 2 et 8 : *Neospora caninum*
- Colonnes 3 et 9 : *Coxiella burnetii* phase I + II
- Colonnes 4 et 10 : *Salmonella dublin*
- Colonnes 5 et 11 : BVDV
- Colonnes 6 et 12 : Témoin cellulaire

Les colonnes 6 et 12 contiennent un anticorps monoclonal. L'utilisation d'un tel témoin permet de limiter dans des proportions importantes le nombre de sérums faussement positifs. Les sérums et plasmas à tester sont dilués au 1/100 dans la solution de dilution et sont incubés durant une heure à 21±3°C. Après incubation et lavage de la préparation, le conjugué, un anticorps monoclonal spécifique des IgG1 bovines couplé à la peroxydase, est ajouté. A l'issue d'une seconde incubation d'une heure à 21±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 cancérigène. En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques dans les échantillons testés, le conjugué reste fixé sur la cupule correspondante 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. Les signaux enregistrés sur les cupules témoins (colonnes 6 et 12) sont retranchés des signaux des cupules positives correspondantes. Il est possible de quantifier la réactivité des sérums inconnus suivant une échelle de positivité comprise entre 0 et +++++.



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, ...
- Incubateur à 21±3°C.

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 contrôles du kit (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 **sérums** et les contrôles du kit sont à diluer 100 fois dans la solution de dilution. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou renfermant des coagula.

Dilution recommandée :

990 µL solution de dilution + 10 µL échantillon

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à **21±3°C** avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

- Distribuer les échantillons et les contrôles du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits** en respectant la disposition suivante, par exemple : Contrôle positif : puits H1 à H6, contrôle négatif puits G1 à G6, échantillon 1 : puits A1 à A6, échantillon 2 : puits B1 à B6, etc...
Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
- 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.
- Ajouter **100 µL de conjugué dilué** par puits.
Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
- 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. La solution doit être parfaitement incolore.
Incuber à **21 ± 3°C** pendant **10 ± 1 min** 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 **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 le contrôle positif fournit une différence de densité optique en dix minutes supérieure pour chaque valence aux valeurs suivantes :

BoHV-4	> 0,550
<i>Neospora caninum</i>	> 1,000
<i>Coxiella burnetii</i>	> 1,000
<i>Salmonella dublin</i>	> 1,000
BVDV	> 1,000

Et le contrôle négatif, une différence de densité optique en dix minutes inférieure pour chaque valence à 0,300.

I. Interprétation des résultats

- Soustraire de chaque valeur de densité optique enregistrée sur les puits 1, 2, 3, 4, 5 le signal du puits témoin négatif correspondant (puits 6) et noter le résultat obtenu (calcul des delta DO). Pour effectuer ce calcul, tenir compte de l'existence éventuelle de valeurs négatives.
- Effectuer les mêmes opérations pour les puits correspondants au contrôle positif et au 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 la forme d'un pourcentage.

$$Val(eur) = \frac{\text{Delta DO échantillon}}{\text{Delta DO contrôle positif}} * 100$$

En utilisant le tableau en bas de page, déterminer le niveau de positivité des échantillons.

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 **AnalysisScreen™** disponible sur notre site web : <https://www.biox.com>



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

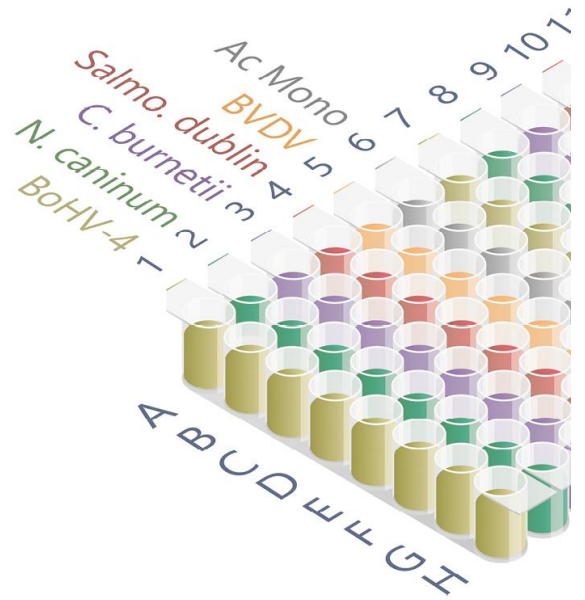
Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite de température
	Utiliser jusque
	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

	0	+	++	+++	++++	+++++
BoHV-4	Val ≤ 55%	< Val ≤ 91%	< Val ≤ 128%	< Val ≤ 164%	< Val ≤ 200%	< Val
<i>N. caninum</i>	Val ≤ 12%	< Val ≤ 40%	< Val ≤ 69%	< Val ≤ 97%	< Val ≤ 125%	< Val
<i>C. burnetii</i>	Val ≤ 43%	< Val ≤ 64%	< Val ≤ 84%	< Val ≤ 105%	< Val ≤ 125%	< Val
<i>Salmo. dublin</i>	Val ≤ 65%	< Val ≤ 80%	< Val ≤ 95%	< Val ≤ 110%	< Val ≤ 125%	< Val
BVDV	Val ≤ 20%	< Val ≤ 40%	< Val ≤ 60%	< Val ≤ 80%	< Val ≤ 100%	< Val

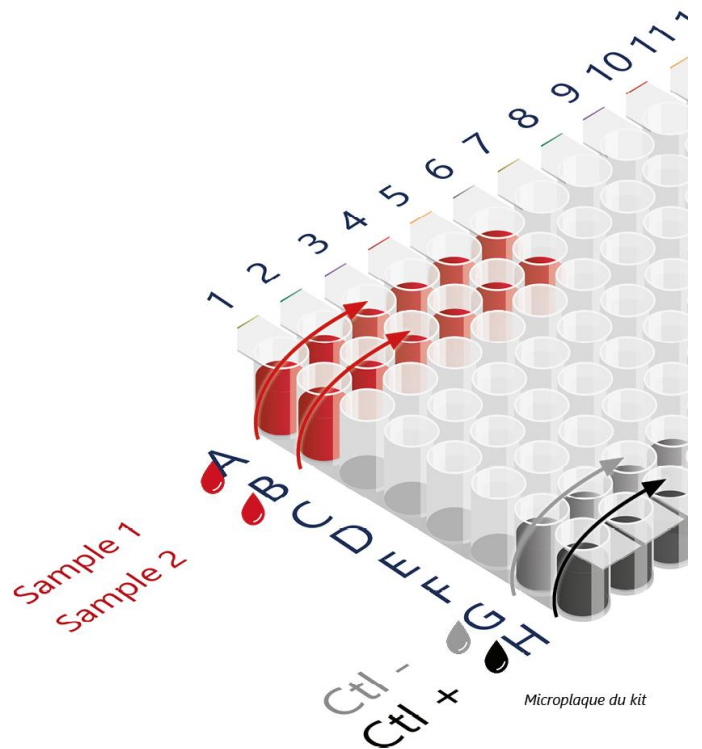
Notes*

- 1 Distribuer 100µL des échantillons dilués 1/100 et des contrôles du kit dilués (Ctl+ & Ctl-) 1/100



Microplaque du kit

- 2 Ajouter 100 µL de conjugué 1/50



Microplaque du kit

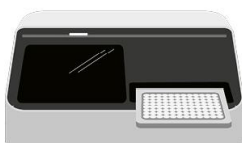
- 3 Ajouter 100 µL de TMB



- 4 Ajouter 100 µL de solution d'arrêt

- 5 Enregistrer les densités optiques

450 nm



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