

MONOSCREEN[®] Ab ELISA

Notice d'utilisation
BIOK140-BRUC_NO_(FR)_V02
12/02/2026

Monoscreen AbELISA Brucella

Référence : BIO K 140

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de la brucellose

Monocupule, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce	Analyse individuelle	Analyse en mélange*, possible jusqu'à
Sérum	Bovin	✓	10

* Les mélanges doivent être fait volume à volume, c'est-à-dire être réalisés en prenant le même volume de chacun des sérums constituant le mélange.

Présentation

Référence produit	BIO K 140/2	BIO K 140/5
Format	2 plaques, barrettes de 8 puits	5 plaques, barrettes de 8 puits
Réactions	192 tests	480 tests

Composition du kit

Matériel fourni		Type*	Code	BIO K 140/2	Code	BIO K 140/5
Microplate	Microplaque	1	D01425	2	D01425	5
Washing solution	Solution de lavage (20X)	A	D00695	1 x 100 mL	D00696	1 x 250 mL
Dilution solution	Solution de dilution colorée (1X)	A	D01511	3 x 125 mL	D01555	3 x 250 mL
TMB solution	Solution de TMB monocomposant (1X)	A	D01585	1 x 30 mL	D01557	1 x 60 mL
Stop solution	Solution d'arrêt (1X)	A	D00680	1 x 30 mL	D01556	1 x 60 mL
Conjugate	Conjugué (50X)	1	D01596	1 x 0,6 mL	D01563	1 x 1,5 mL
CTL POS	Contrôle positif	a	D01396	1 x 0,5 mL	D01396	1 x 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	a	D01564	1 x 0,5 mL	D01564	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
23/01/2025	V01	Première version
12/02/2026	V02	Ajout du conditionnement 2 plaques. Ajustement des volumes des composants. Ajustement des données de validation des résultats.

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 brucellose est une maladie causée par l'agent pathogène *Brucella* sp.. C'est une bactérie de l'ordre des Rhizobiales. Les cas de brucellose animale dues aux infections par *Brucella melitensis* sont observés au niveau du bassin méditerranéen et du Moyen-Orient. *Brucella abortus* est ubiquitaire tandis que les cas de *Brucella suis* sont recensés principalement en Amérique, en Asie et en Océanie.

Les animaux sont infectés par l'ingestion de produits contaminés et d'aérosols. Des transmissions verticales sont également observées lors de l'allaitement des petits par la mère contaminée. Contrairement à de nombreuses bactéries comme *Salmonella* ou *Listeria*, l'infection par *Brucella* est souvent asymptomatique. Cependant, *Brucella* induit une inflammation chronique qui peut induire des hygromas, entraînant des douleurs articulaires. Chez les mâles, les bactéries sont excrétées dans le sperme induisant une inflammation du testicule ou de l'épididyme et conduisant respectivement à une orchite ou une épépididymite. Les complications de la maladie peuvent conduire à l'infertilité chez les mâles infectés. La principale conséquence de l'infection par *Brucella* chez les femelles gestantes est l'avortement. De nombreuses lésions avec des tissus nécrotiques sont observées dans les placentas des animaux gestants infectés.

La bactérie se localise, notamment, au niveau de l'appareil reproducteur et des tissus fœtaux, entraînant des infections in utero de la progéniture mais également un taux bactérien important dans les placentas et les liquides fœtaux entraînant de nouvelles infections lors de la mise-bas ou de l'avortement par consommation et par aérosol.

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par un antigène synthétique de *Brucella*. Les sérums et les contrôles sont dilués dans la solution de dilution. Après 60 minutes d'incubation et une étape de lavage, l'opérateur ajoute le conjugué, de la protéine G couplée à la peroxydase. A l'issue d'une seconde incubation de 60 minutes et d'un second lavage, le chromogène tétraméthylbenzidine (TMB) est ajouté. 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 *Brucella* dans le sérum, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant l'antigène *Brucella* 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) et embouts à usage unique et réservoirs à réactifs.
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm).
- Laveur de microplaques (facultatif).
- Microplaques de dilution.
- Incubateur à 21±3°C.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...

Kit complémentaire

- **Tracer Brucella (Réf. : BDE K 140)** : Matériau de référence interne pour la sérologie de la brucellose 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 contrôles 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 sérums ainsi que les contrôles du kit (positif et négatif) doivent être dilués au 1/100 dans la solution de dilution puis homogénéisés. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée en deux étapes :

- 1) 10 µL d'échantillon + 90 µL de solution de dilution en microplaque de dilution.
- 2) 10 µL de la première étape + 90 µL de solution de dilution dans la plaque test.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21±3°C avant utilisation.
 - Lire attentivement les points précédents.
1. Distribuer les échantillons de sérums **dilués** et les contrôles du kit **dilués** à raison de **100 µL** par puits. Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
 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 et le dessèchement de la microplaque entre chaque lavage.
 3. Ajouter **100 µL** de **conjugué dilué** par puits. Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
 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 et le dessèchement de la microplaque entre chaque lavage.
 5. Distribuer **100 µL** de la solution de TMB par puits. Incuber à **21 ± 3°C** pendant **10 ± 1 min** 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 **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 contrôle positif et du contrôle négatif est supérieure à 0,800.

$$DO \text{ contrôle positif} - DO \text{ contrôle négatif} > 0,800$$

- la densité optique du contrôle négatif est inférieure à 0,300.

I. Interprétation des résultats

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

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

	Résultats	Statut
Echantillon individuel	%E/P < 40%	Négatif
	%E/P ≥ 40%	Positif
Mélange de 10	%E/P < 15%	Négatif
	%E/P ≥ 15%	Positif

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

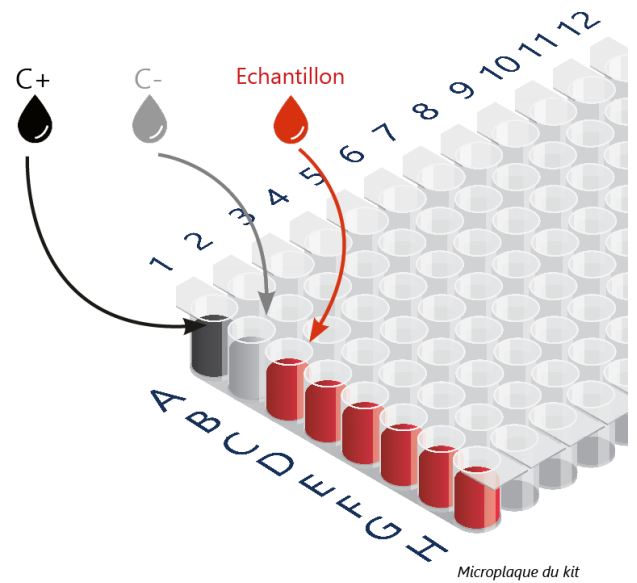


SCAN ME

Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite supérieure de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Pour usage vétérinaire <i>in vitro</i> uniquement – Pour usage animal uniquement
	Conserver à l'abri de la lumière
	Conserver au sec

- 1 Distribuer 100 μ L des échantillons dilués (1/100) et des contrôles du kit dilués (contrôles positif et négatif) (1/100)



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



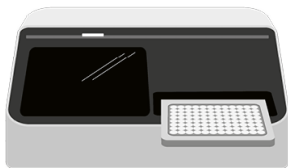
- 3 Ajouter 100 μ L de TMB



- 4 Ajouter 100 μ L 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.