

MONOSCREEN[®] Ab ELISA

Notice d'utilisation
BIOK140-BRUC_NO_(FR)_V03
23/04/2026

Monoscreen AbELISA Brucellosis

Référence : BIO K 140

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de *Brucella abortus*

Monocupule, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce	Analyse individuelle	Analyse en mélange*, possible jusqu'à
Sérum/Plasma	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 (20X)	Solution de lavage (20X)	A	D00695	1 x 100 mL	D00696	1 x 250 mL
Dilution solution (1X)	Solution de dilution colorée (1X)	A	D01511	3 x 125 mL	D01555	3 x 250 mL
TMB solution (1X)	Solution de TMB monocomposant (1X)	A	D01585	1 x 30 mL	D01557	1 x 60 mL
Stop solution (1X)	Solution d'arrêt (1X)	A	D00680	1 x 30 mL	D01556	1 x 60 mL
Conjugate (50X)	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.
23/04/2026	V03	Modification nom du kit et introduction. Ajout table des symboles.

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

Brucella est l'agent responsable de la brucellose, maladie infectieuse et contagieuse chez l'animal, transmissible à l'homme. Le genre *Brucella* comprend dix espèces classées selon leur pouvoir pathogène et leurs hôtes, 7 espèces peuvent être isolées de mammifères terrestres : *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, et *B. microti*.

Les principaux réservoirs animaux des *Brucella* sont les bovins (*B. abortus*), les ovins et caprins (*B. melitensis*) et les porcins (*B. suis*) domestiques. Chez l'animal, la brucellose se traduit par des avortements, une réduction de fertilité et des pertes en lait, pouvant impliquer des pertes économiques importantes. La maladie est transmise principalement par contact direct avec des animaux infectés ou par consommation de produits laitiers non pasteurisés provenant d'animaux infectés. Les bactéries peuvent survivre pendant plusieurs mois hors de l'organisme de l'animal, dans le milieu extérieur, en particulier dans des conditions froides et humides. Ces bactéries dans l'environnement restent une source d'infection pour les autres animaux qui s'infectent par contact proche (voie respiratoire ou conjonctivale voire par ingestion). Le diagnostic de la brucellose peut être difficile car les symptômes sont souvent similaires à ceux d'autres maladies. Des tests diagnostiques sont nécessaires pour diagnostiquer la brucellose.

B. Principe du test

Ce test ELISA a été mis au point et validé pour la détection de *Brucella abortus* chez les bovins.

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

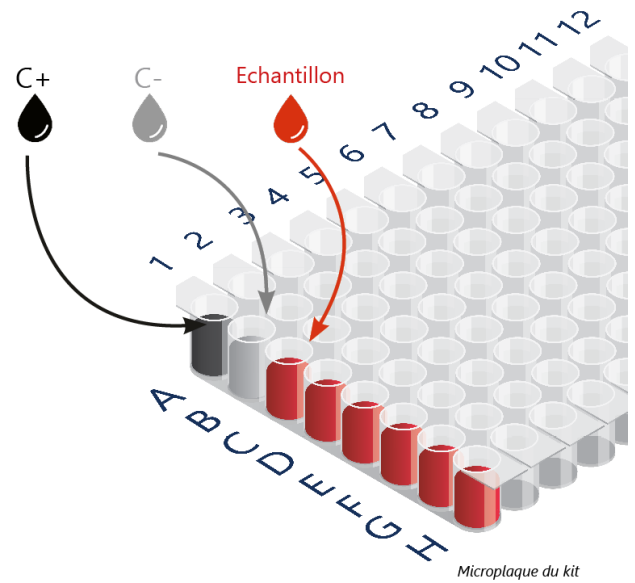


SCAN ME

Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite 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

- 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)

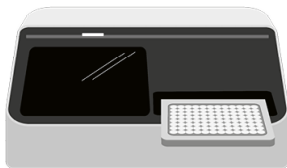


- 3 Ajouter 100 μ L de TMB



- 4 Ajouter 100 μ L de solution d'arrêt

- 5 Enregistrer les densités optiques



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