

Manuel du test *flocktype*[®] *Mycoplasma Mg Ab*



2 (n° de référence 274502)



5 (n° de référence 274503)*

Pour la détection d'anticorps à
Mycoplasma gallisepticum

Enregistré conformément à l'article 17c de la loi
allemande sur les maladies animales (Flu-B 437)

REF

274502, 274503*



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b, 04103 Leipzig,
Allemagne



* Disponible uniquement sur demande.

Technologies d'échantillonnage et de dosage QIAGEN

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices d'échantillonnage et de dosage permettant d'isoler et de détecter le contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services avancés de haute qualité garantissent le succès, de l'échantillon jusqu'au résultat.

QIAGEN fixe les normes en matière de :

- purification d'ADN, d'ARN et de protéines
- dosages d'acides nucléiques et de protéines
- recherche micro-ARN et ARNi
- automatisation des technologies d'échantillonnage et de dosage

Notre mission consiste à permettre à notre clientèle de réussir et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visiter www.qiagen.com.

De plus, QIAGEN fournit des solutions moléculaires simples d'utilisation, de haute qualité et d'une grande sensibilité permettant la détection des agents pathogènes animaux et la recherche sur ces agents pathogènes. La gamme de produits vétérinaires de QIAGEN comprend un vaste éventail de tests PCR spécifiques à la détection d'agents pathogènes et une large palette de tests ELISA. Pour plus d'informations, consulter le site www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing.

Sommaire

Contenu du kit	4
Utilisation prévue	5
Symboles	5
Conservation	6
Informations de sécurité	6
Contrôle qualité	7
Introduction	7
Principe	9
Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur	10
Précautions générales	11
Protocole :	
■ ELISA	13
Interprétation des données	15
Critères de validation	15
Guide de dépannage	17
Pour commander	18
Guide rapide	21
Interprétation des données	21

Contenu du kit

flocktype Mycoplasma Mg Ab		
N° de référence	274502	274503*
Nombre de plaques	2	5
Test Plate (plaque de test) : microplaque 96 puits, enrobée d'antigène Mg non infectieux	2	5
Sample diluent (diluant d'échantillon), prêt à l'emploi	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Negative Control (contrôle négatif), prêt à l'emploi	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Positive Control (contrôle positif), prêt à l'emploi	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Wash buffer (tampon de lavage) (10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Conjugate (conjugué), prêt à l'emploi	1 x 24 ml	1 x 60 ml
TMB Substrate (substrat TMB), prêt à l'emploi	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Stop solution (solution d'arrêt), prête à l'emploi	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Handbook (manuel)	1	1

* Disponible uniquement sur demande.

Utilisation prévue

Le test *flocktype* Mycoplasma Mg Ab est un test ELISA spécifique et sensible, servant à détecter les anticorps à *Mycoplasma gallisepticum* dans des échantillons de sérum et de plasma issus de poulets et de dindes. Le kit est approuvé par le Friedrich-Loeffler-Institut et enregistré conformément à l'article 17c de la loi allemande sur les maladies animales (FluB 437) pour une utilisation en Allemagne à des fins de procédures diagnostiques en médecine vétérinaire. Réservé exclusivement à un usage vétérinaire.

Symboles



Contient des réactifs pour <N> plaques



Fabricant autorisé



Numéro de lot



À utiliser avant le



Limites de température pour le stockage



Manuel



Numéro de référence



Numéro de matériel



Conserver à l'abri de la lumière



Pour les échantillons de poulet et de dinde

Conservation

Les composants du test ELISA *flocktype* Mycoplasma Mg Ab doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 ° C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Le tampon de lavage (10x) et la solution d'arrêt peuvent être conservés à température ambiante (18 à 25 ° C) pour éviter la cristallisation du sel. Si des bandelettes de test sont fournies avec le kit, conservez celles qui restent dans la poche en aluminium rescellée avec un absorbeur d'humidité, à une température comprise entre 2 et 8 ° C jusqu'à la prochaine utilisation. Les bandelettes de test peuvent être conservées pendant au moins 6 semaines à compter de la date d'ouverture de la poche de la plaque.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation des produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site www.qiagen.com/safety répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.



AVERTISSEMENT : la solution d'arrêt contient 0,5 M d'acide sulfurique.

Tous les résidus d'échantillons et les objets qui ont été en contact avec les échantillons doivent être décontaminés ou éliminés comme des substances présentant un risque potentiel d'infection.

Informations d'urgence 24 heures sur 24

Aide d'urgence chimique et assistance en cas d'accident disponible 24 heures/24 auprès de :

CHEMTREC

Aux États-Unis et au Canada ■ Tél. : 1-800-424-9300

Dans les autres pays ■ Tél. : +1-703-527-3887

(appels à frais virés acceptés)

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot de *flocktype* Mycoplasma Mg Ab est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Introduction

Le test *flocktype* Mycoplasma Mg Ab est une solution hautement spécifique et sensible, servant à détecter les anticorps à *Mycoplasma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) dans des échantillons de sérum et de plasma issus de poulets et de dindes.

M. gallisepticum est répandu dans le monde entier et provoque des maladies respiratoires chroniques, une croissance et une production d'œufs réduites chez les oiseaux. Les taux de morbidité et de mortalité peuvent varier considérablement et dépendent des conditions de stress et des infections secondaires. Les *mycoplasmes* adhèrent à l'épithélium respiratoire et aux érythrocytes. La réponse immunitaire cellulaire est au cœur des infections à *M. gallisepticum*, même si la production d'anticorps spécifiques peut aussi être induite par des infections et des vaccinations.

Le test *flocktype* Mycoplasma Mg Ab utilise une protéine membranaire de *Mycoplasma gallisepticum* préparée avec la technologie des recombinants comme antigène. Cette protéine est hautement conservée parmi les souches de *Mycoplasma gallisepticum* et fortement immunogène.

Le test *flocktype* Mycoplasma Mg Ab en combinaison avec le logiciel FlockSoft™ peut calculer le titre d'anticorps dans un poulet/une dinde et illustrer les résultats quantitativement.

Principe

La microplaque est enrobée d'une protéine de recombinant spécifique à *M. gallisepticum*. Lors de l'incubation des échantillons, les anticorps spécifiques à Mg se lient à l'antigène immobilisé. Le rinçage élimine le matériel non lié. Le conjugué anti-IgY-HRP détecte le sérum des anticorps liés à l'antigène. Le rinçage élimine le conjugué non lié. Une réaction colorimétrique est initiée par l'ajout de solution de substrat et arrêtée au bout de 10 minutes. En présence d'anticorps spécifiques à Mg dans l'échantillon, la peroxydase de raifort (HRP) catalyse un développement de couleur bleue qui devient jaune après l'ajout de solution d'arrêt. La densité optique (DO) est mesurée dans un spectrophotomètre. Les valeurs de DO sont en corrélation avec la concentration d'anticorps anti-Mg dans l'échantillon.

Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur

Lors de la manipulation des produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

- Bêchers
- Éprouvettes graduées
- Pipettes (adaptables)
- Pipettes multicanaux (adaptables)
- Papier aluminium ou film adhésif pour couvrir la plaque de test
- Appareil de distribution et d'aspiration de solution de lavage (facultatif)
- Lecteur d'absorbance pour microplaques
- Tubes ou plaques pour diluer les échantillons
- Eau distillée

Précautions générales

L'utilisateur doit toujours faire attention aux éléments suivants :

- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à une lumière intense ou à la lumière du soleil lors de la réalisation du test.
- Les composants du kit de test ne doivent pas être contaminés ou mélangés avec les composants d'autres lots.
- Ne pas utiliser les composants du kit de test après la date de péremption.
- Si l'eau des systèmes d'échange d'ions utilisée pour diluer la solution de lavage (10x) n'est pas assez pure, elle peut interférer avec le test. La qualité de l'eau bidistillée ou hautement purifiée (Milli-Q) est adaptée.
- Pour des résultats de test précis, il est essentiel d'utiliser des dispositifs aux verres propres, de pipeter et de rincer soigneusement lors du test et de respecter strictement les temps d'incubation indiqués.

À effectuer avant de commencer

- Porter les réactifs à température ambiante (18 à 25 °C) immédiatement avant de les utiliser. En cas de cristaux de sel précipités dans le tampon de lavage (10x), dissoudre en mélangeant et en chauffant doucement.

Tampon de lavage : diluer le tampon de lavage (10x) 1:10 dans de l'eau distillée. Par exemple, pour une plaque de test, diluer 25 ml de tampon de lavage (10x) dans 225 ml d'eau distillée, puis mélanger.

Sérum/plasma : avant d'analyser les échantillons de sérum/plasma, diluer **1:500** dans du diluant d'échantillon (p. ex. diluer un échantillon de 1 µl dans 499 µl de diluant d'échantillon) et bien mélanger. Utiliser des tubes en plastique ou des microplaques non enrobées pour la dilution. Changer les pointes de pipette pour chaque échantillon.

Alternativement, les échantillons de sérum/plasma peuvent être dilués à partir d'une pré-dilution (1:50 dans du diluant d'échantillon) directement dans la plaque de test (voir l'étape 1a de la procédure).

- Les **contrôles** sont prêts à l'emploi et ne nécessitent pas de dilution.

Protocole : ELISA

Lire attentivement « À effectuer avant de commencer », page 11.

Procédure

- 1. Pipeter 100 µl de chaque contrôle négatif prêt à l'emploi (en double) et de chaque contrôle positif prêt à l'emploi (en double) et les échantillons 1:500 dans les puits de la plaque de test.**
- 1a. Alternativement, pipeter 90 µl de diluant d'échantillon dans chaque puits d'échantillon et ajouter 10 µl de l'échantillon prédilué 1:50. Bien mélanger.**

Enregistrer les positions des contrôles et des échantillons dans un protocole de test. L'utilisation de pipettes multi-canaux est recommandée pour le transfert des échantillons. Couvrir la plaque de test.
- 2. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (18 à 25 °C).**
- 3. Retirer la solution des puits en aspirant ou en tapotant.**
- 4. Rincer chaque puits 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage préparé. Retirer le tampon après chaque rinçage.**
- 5. Pipeter 100 µl de conjugué prêt à l'emploi dans chaque puits et incuber pendant 30 minutes à température ambiante (18 à 25 °C). Couvrir la plaque de test.**
- 6. Retirer la solution des puits en aspirant ou en tapotant.**
- 7. Rincer chaque puits 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage préparé. Retirer le tampon après chaque rinçage.**

- 8. Pipeter 100 µl de solution de substrat TMB dans chaque puits.**
- 9. Incuber à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 10 minutes, à compter du remplissage du premier puits.**
- 10. Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de solution d'arrêt par puits. Ajouter la solution d'arrêt en suivant le même ordre que pour la solution de substrat.**
- 11. Mesurer la densité optique (DO) dans le lecteur de plaque à 450 nm pendant 20 minutes après avoir arrêté la réaction.**
La mesure à une longueur d'ondes de référence (620 à 650 nm) est facultative.

Interprétation des données

Critères de validation

Les résultats sont valides si les critères suivants sont remplis :

- La valeur moyenne (VM) de la valeur de densité optique mesurée pour le contrôle positif (PC) doit être $\geq 0,7$
- La valeur moyenne (VM) de la valeur de densité optique mesurée pour le contrôle négatif (NC) doit être $\leq 0,2$

En cas de tests invalides, les tests doivent être répétés après une révision rigoureuse des instructions d'utilisation.

Calcul

Calculer la VM de la DO mesurée pour les NC et les PC.

Le ratio (S/P) de la DO échantillon sur la DO moyenne du contrôle positif est calculé selon l'équation suivante :

$$S/P = \frac{DO_{\text{échantillon}} - VM_{DO_{NC}}}{VM_{DO_{PC}} - VM_{DO_{NC}}}$$

Les titres des points de virage sont calculés à partir du ratio S/P à une dilution 1:500 à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Titre}_{\log_{10}} = 1,12 (\log_{10} S/P) + 3,83$$

Interprétation des résultats

Les échantillons dont le ratio S/P est $< 0,1$ sont négatifs.

Les anticorps spécifiques à *M. gallisepticum* n'ont pas pu être détectés.

Les échantillons dont le ratio S/P est $\geq 0,1$ et $< 0,2$ sont incertains.

Les résultats incertains doivent être regroupés avec la majorité des résultats positifs et négatifs. Il est recommandé de retester les résultats incertains après quelques semaines.

Les échantillons dont le ratio S/P est $\geq 0,2$ sont positifs.

Les anticorps spécifiques à *M. gallisepticum* ont été détectés.

Pour de plus amples résultats sérologiques de diagnostics, il est recommandé d'identifier les agents pathogènes obtenus sur des frottis trachéaux par PCR en temps réel (p. ex., avec le kit *bactotype*[®] Mycoplasma Mg/Ms PCR).

Guide de dépannage

Les techniciens de QIAGEN sont toujours heureux de répondre aux questions concernant les informations et/ou les protocoles contenus dans ce manuel ou à propos des technologies d'échantillonnage et de dosage (pour les coordonnées, voir la quatrième de couverture ou visiter le site www.qiagen.com).

Pour commander

Produit	Contenu	N° réf.
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg Ab (2)	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274502
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg Ab (5)*	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests, tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274503
Produits connexes		
<i>flocktype</i> Mycoplasma Ms Ab (2)†	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274602
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg/Ms Ab (5)†	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests, tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274803

* Disponible uniquement sur demande.

† Autres tailles de kit disponibles ; consulter www.qiagen.com.

Produit	Contenu	N° réf.
<i>bactotype</i> Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit (96)*	Pour 96 réactions : master mix, contrôle positif, contrôle négatif	288105
<i>flocktype</i> IBV Ab (2)*	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274302
<i>flocktype</i> IBDV Ab (2)*	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274202
<i>flocktype</i> AIV Ab (2)*	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	274012
<i>flocktype</i> NDV Ab (2)*	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	275002

* Autres tailles de kit disponibles ; consulter www.qiagen.com.

Produit	Contenu	N° réf.
<i>flocktype</i> Salmonella Ab (2)*	Pour 192 réactions : 2 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	275702

QIAGEN offre une gamme de kits ELISA et de kits PCR et RT-PCR en temps réel pour la détection des agents pathogènes d'animaux. Consulter le site www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing pour obtenir de plus amples renseignements sur les produits *bactotype*, *cador*[®], *cattletype*[®], *flocktype*, *pigtype*[®] et *virotype*[®].

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

* Autres tailles de kit disponibles ; consulter www.qiagen.com.

Guide rapide

Dilution d'échantillon :
Sérum/plasma 1:500

Étape	
1. Échantillon	100 µl/puits
2. Incubation	30 min à temp. amb.
3. Lavage	3 x 300 µl
4. Conjugué	100 µl/puits
5. Incubation	30 min à temp. amb.
6. Lavage	3 x 300 µl
7. TMB	100 µl/puits
8. Incubation	10 min à temp. amb.
9. Arrêt	100 µl/puits
10. Lecture	450 nm

Interprétation des données

Négatif	Incertain	Positif
$S/P < 0,1$	$S/P \geq 0,1$ et $< 0,2$	$S/P \geq 0,2$

Notes

Marques déposées : QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, FlockSoft™, *pigtype*®, *virottype*® (groupe QIAGEN). Les noms déposés, marques déposées etc. utilisés dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement indiqués comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel et uniquement avec les composants contenus dans ce kit. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir www.qiagen.com.

© 2013 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

