

# Manuel du test *pigtype*<sup>®</sup> *Yersinia* Ab



1 (n° de référence 273801)



5 (n° de référence 273803)\*



20 (n° de référence 273805)\*

Pour la détection d'anticorps aux  
espèces *Yersiniae* pathogènes

Enregistré conformément à l'article 17c de la loi  
allemande sur les maladies animales (Flu-B 441)

**REF**

273801, 273803, 273805



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](http://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](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing).

## Sommaire

<b>Contenu du kit</b>	<b>4</b>
<b>Utilisation prévue</b>	<b>5</b>
<b>Symboles</b>	<b>5</b>
<b>Conservation</b>	<b>6</b>
<b>Informations de sécurité</b>	<b>6</b>
<b>Contrôle qualité</b>	<b>7</b>
<b>Introduction</b>	<b>8</b>
Principe	8
<b>Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur</b>	<b>9</b>
<b>Précautions générales</b>	<b>10</b>
<b>Protocole :</b>	
■ <b>ELISA</b>	<b>13</b>
<b>Interprétation des données</b>	<b>15</b>
Critères de validation	15
<b>Guide de dépannage</b>	<b>17</b>
<b>Pour commander</b>	<b>18</b>
<b>Guide rapide</b>	<b>21</b>
<b>Interprétation des données</b>	<b>21</b>

## Contenu du kit

<b><i>pigtype</i> Yersinia Ab</b>			
<b>N° de référence</b>	<b>273801</b>	<b>273803*</b>	<b>273805*</b>
<b>Nombre de plaques</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>20</b>
Test Plate (plaque de test) : microplaque 96 puits, enrobée d'antigène <i>Yersinia</i> non infectieux	1	5	20
Sample diluent (diluant d'échantillon), prêt à l'emploi	1 x 60 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Negative Control (contrôle négatif), prêt à l'emploi	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Positive Control (contrôle positif), prêt à l'emploi	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Wash buffer (tampon de lavage) (10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugate (conjugué), prêt à l'emploi	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB Substrate (substrat TMB), prêt à l'emploi	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Stop solution (solution d'arrêt), prête à l'emploi	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Handbook (manuel)	1	1	1

\* Disponible uniquement sur demande.

## Utilisation prévue

Le test *pigtype* Yersinia Ab, spécifique et sensible, est un test ELISA destiné à la détection d'anticorps aux espèces *Yersinia* pathogènes dans les échantillons de sérum, de plasma et de jus de viande prélevés sur des porcs. Le kit est approuvé par le Friedrich-Loeffler-Institut et enregistré conformément à l'article 17c de la loi allemande sur les maladies animales (Flu-B 441) 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 prélevés sur des porcs

## Conservation

Les composants du test ELISA *pigtype* Yersinia Ab doivent être conservés à une température comprise entre 2 °C 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](http://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 *pigtype* Yersinia Ab est testé selon  
des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité  
constante du produit.

## Introduction

Le test *pigtype* Yersinia Ab est une solution hautement spécifique et sensible destinée à la détection d'anticorps aux souches *Yersinia* pathogènes. Les antigènes (protéines externes *Yersinia*) utilisés dans le cadre de ce test sont produits uniquement par les souches pathogènes, couvrant tous les sérotypes. Ainsi, la réactivité croisée des anticorps aux espèces non pathogènes ou autres entérobactéries peut être exclue.

Quinze espèces appartiennent au genre *Yersinia*. Trois d'entre elles (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*) sont des espèces pathogènes pour les humains. Selon la directive 2003/99/CE, la yersiniose et les agents correspondants sont des zoonoses devant être surveillées.

Le test *pigtype* Yersinia Ab est une méthode efficace permettant de surveiller l'état d'infection des troupeaux sur des périodes prolongées et de contrôler l'état sérologique d'animaux achetés.

## Principe

Le test *pigtype* Yersinia Ab est un test ELISA indirect. La microplaque de test est enrobée d'antigène *Yersinia* recombinant et non infectieux. Lors de l'incubation des échantillons, les anticorps spécifiques à *Yersinia* se lient à l'antigène immobilisé. Le rinçage élimine le matériel non lié. Le conjugué anti-IgG-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 *Yersinia* 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-*Yersinia* 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 **1:100** dans du diluant d'échantillon (p. ex. diluer un échantillon de 5 µl dans 495 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.

**Jus de viande :** avant d'analyser les échantillons de jus de viande, diluer **1:10** dans du diluant d'échantillon (p. ex. diluer 25 µl d'échantillon dans 225 µl de diluant d'échantillon) et bien mélanger.

Alternativement, les échantillons de jus de viande peuvent être dilués directement dans la plaque de test. Déposer 90 µl de diluant d'échantillon dans chaque puits. Ajouter 10 µl d'échantillon de jus de viande non dilué et bien mélanger (voir procédure 1a).

Extraire les échantillons de jus de viande à partir d'environ 10 g de tissu contaminé sans graisse et exempt de sang, par exemple au niveau d'un pilier du diaphragme, dans un dispositif d'échantillonnage de jus de viande, en congelant puis décongelant (alternativement, les échantillons de viande peuvent être conservés à une température de -20 °C pendant plusieurs mois avant l'analyse). Récolter le jus de viande produit par la décongélation des échantillons de viande et conserver à une température comprise entre 2 °C et 8 °C. Les échantillons conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C doivent être analysés dans les 24 heures.

- 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 (Negative Control) prêt à l'emploi (en double) et de chaque contrôle positif (Positive Control) prêt à l'emploi (en double) de même que les échantillons de jus de viande dilués à 1:10 et/ou les échantillons de sérum ou de plasma dilués à 1:100 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 de jus de viande non dilué. Bien mélanger.**

Enregistrer les positions des contrôles et des échantillons dans un protocole de test. L'utilisation de pipettes multicanaux est recommandée pour le transfert des échantillons. Couvrir la plaque de test.
- 2. Incuber pendant 60 min à température ambiante (18 à 25 °C) ou jusqu'au lendemain à une température comprise entre 2 °C et 8 °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.**
- 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\leq 0,3$

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 contrôles négatifs (NC) et les contrôles positifs (PC).

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

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

## Interprétation des résultats

### Protocole court (incubation des échantillons pendant 60 min)

**Les échantillons dont le ratio S/P est  $\geq 0,3$  sont positifs.**

Les anticorps spécifiques aux espèces *Yersinia* ont été détectés.

**Les échantillons dont le ratio S/P est  $< 0,3$  sont négatifs.**

Les anticorps spécifiques aux espèces *Yersinia* n'ont pas pu être détectés.

### Protocole avec livraison le lendemain (incubation des échantillons avec livraison le lendemain)

**Les échantillons dont le ratio S/P est  $\geq 0,4$  sont positifs.**

Les anticorps spécifiques aux espèces *Yersinia* ont été détectés.

**Les échantillons dont le ratio S/P est  $< 0,4$  sont négatifs.**

Les anticorps spécifiques aux espèces *Yersinia* n'ont pas pu être détectés.



## **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](http://www.qiagen.com)).

## Pour commander

Produit	Contenu	N° réf.
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (1)	Pour 96 réactions : 1 plaque de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273801
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (5)*	Pour 192 réactions : 5 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273803
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (20)*	Pour 96 réactions : 20 plaques de tests, tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273805
<b>Produits connexes</b>		
<i>pigtype</i> Salmonella Ab (5)†	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273003

\* Disponible uniquement sur demande.

† Autres tailles de kit disponibles ; consulter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

<b>Produit</b>	<b>Contenu</b>	<b>N° réf.</b>
<i>pigtype</i> Trichinella Ab (5)*	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273503
<i>pigtype</i> Toxoplasma Ab (5)*	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests (barrettes), tampon de lavage, diluant d'échantillon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	273403
<i>pigtype</i> PRRSV Ab (5)* <sup>†</sup>	Pour 480 réactions : 5 plaques de tests (barrettes), tampon, contrôle positif, contrôle négatif, conjugué, solution de substrat TMB, solution d'arrêt	272703

\* Autres tailles de kit disponibles ; consulter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

<sup>†</sup> En attente d'approbation du FLI.

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](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing) pour obtenir de plus amples renseignements sur les produits *bactotype*<sup>®</sup>, *cador*<sup>®</sup>, *cattletype*<sup>®</sup>, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype* et *virotype*<sup>®</sup>.

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](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

## Guide rapide

Dilution d'échantillon :

Sérum/plasma 1:100

Jus de viande 1:10

Étape	Protocole court	Protocole avec livraison le lendemain
1. Échantillon	100 µl/puits	
2. Incubation	60 min à temp. amb.	Jusqu'au lendemain 2 à 8 °C
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	Positif
Protocole court	S/P < 0,3	S/P ≥ 0,3
Protocole avec livraison le lendemain	S/P < 0,4	S/P ≥ 0,4

Notes

Marques déposées : QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, *virotype*® (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](http://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, expressées 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 le site [www.qiagen.com](http://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

