

**VIROTECH Bordetella pertussis Toxin (PT) IgG ELISA  
(B. pertussis PT IgG ELISA)**

**Référence : EC215G00**

**B. pertussis PT IgG Quant.-Set**

**Référence : EN215Q60**

**VIROTECH Bordetella pertussis Toxin (PT) IgA ELISA  
(B. pertussis PT IgA ELISA)**

**Référence : EC215A00**

**Code couleur :**

**IgG: argenté/bleu marine**

**IgA: argenté/noir**

**POUR DIAGNOSTIC IN-VITRO UNIQUEMENT**

**VIROTECH Diagnostics GmbH  
Loewenplatz 5  
D- 65428 Ruesselsheim**

**Tél. : +49-6142-6909-0  
Télécopie : +49-6142-966613  
<http://www.virotechdiagnostics.com>**



# Sommaire

<b>1. Usage prévu.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Principe du test .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Contenu.....</b>	<b>3</b>
3.1 Kit de test IgG .....	3
3.2 Kit de quantification des IgG .....	3
3.3 Kit de test IgA .....	3
<b>4. Stockage et conservation du kit et des réactifs prêts à l'emploi .....</b>	<b>3</b>
<b>5. Mesures de précaution et mises en garde .....</b>	<b>4</b>
<b>6. Matériel et produits supplémentaires nécessaires (non livrés avec le produit) .....</b>	<b>4</b>
<b>7. Réalisation du test .....</b>	<b>4</b>
7.1 Echantillons d'analyse.....	4
7.2 Préparation des réactifs .....	5
7.3 Réalisation du test ELISA VIROTECH .....	5
7.4 Utilisation de dispositifs de traitement automatisé des tests ELISA .....	5
<b>8. Évaluation du test aux plans qualitatif et semi-quantitatif .....</b>	<b>6</b>
8.1 Contrôle du bon fonctionnement du test .....	6
8.2 Calcul des unités VIROTECH (VE) .....	6
8.3 Schéma d'interprétation des IgG .....	6
8.4 Schéma d'interprétation des IgA .....	7
8.5 Limites du test.....	7
<b>9. Évaluation quantitative du test sur les IgG en UI/ml .....</b>	<b>7</b>
9.1 Contrôle de fonctionnement du test.....	8
9.2 Calcul des résultats quantitatifs en unités internationales par millilitre (UI/ml).....	8
9.3 Schéma d'interprétation des IgG .....	8
<b>10. Littérature .....</b>	<b>9</b>
<b>11. Schéma du déroulement du test .....</b>	<b>9</b>

## 1. Usage prévu

---

Ce kit ELISA permet la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps IgG ou IgA anti-toxine pertussique dans le sérum humain.

Il est destiné à la mise en évidence d'une infection aiguë, d'une infection ayant eu lieu depuis peu ou bien à la détection d'anticorps vaccinaux (contrôle de la réussite d'une vaccination). Pour les IgG, il est en outre possible d'effectuer une quantification en unités internationales par millilitre (UI/ml) en utilisant le kit de quantification des IgG (EN215Q60) disponible séparément.

## 2. Principe du test

---

L'anticorps recherché dans le sérum humain forme un immunocomplexe avec l'antigène coâté sur la plaque. Les immunoglobulines non fixées sont éliminées par lavage. Le conjugué enzymatique se fixe à cet immunocomplexe. Les immunoglobulines non fixées sont à leur tour éliminées par lavage. Après l'ajout de substrat TMB en solution, l'activité enzymatique (peroxydase) engendre l'apparition d'un colorant bleu qui tourne au jaune lorsque l'on y ajoute la solution d'arrêt.

## 3. Contenu

---

### 3.1 Kit de test IgG

1. **Une microplaque** composée de 96 puits détachables à revêtement antigénique, lyophilisée
2. **Tampon de dilution PBS, (bleu, prêt à l'emploi), 2 x 50 ml**, pH 7,2, avec conservateur et Tween 20
3. **Solution de lavage PBS (concentrée au facteur 20), 50 ml**, pH 7,2, avec conservateur et Tween 20
4. **Contrôle négatif des IgG, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
5. **Contrôle cut-off des IgG, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
6. **Contrôle positif des IgG, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
7. **Conjugué IgG (anti-humain), 11 ml**, conjugué à la peroxydase de raifort (chèvre ou mouton) avec stabilisants des protéines et conservateur en tampon tris, prêt à l'emploi
8. **Substrat de tétraméthylbenzidine en solution (TBM 3',5,5'), 11 ml**, prêt à l'emploi
9. **Solution d'arrêt au citrate, 6 ml**, contient un mélange à l'acide.

### 3.2 Kit de quantification des IgG

1. **Contrôle d'étalonnage des IgG, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
2. **Contrôle d'IgG faiblement réactif, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
3. **Contrôle d'IgG fortement réactif, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi

### 3.3 Kit de test IgA

1. **Une microplaque** composée de 96 puits détachables à revêtement antigénique, lyophilisée
2. **Tampon de dilution PBS, (bleu, prêt à l'emploi), 2 x 50 ml** pH 7,2, avec conservateur et Tween 20
3. **Solution de lavage PBS (concentrée au facteur 20), 50 ml**, pH 7,2, avec conservateur et Tween 20
4. **Contrôle négatif des IgA, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
5. **Contrôle cut-off des IgA, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
6. **Contrôle positif des IgA, 2000 µl**, sérum humain avec stabilisants des protéines et conservateur, prêt à l'emploi
7. **Conjugué IgA 2 (anti-humain), 11 ml**, conjugué à la peroxydase de raifort (chèvre ou mouton) avec sérum fœtal de veau (FCS) et conservateur en tampon tris, prêt à l'emploi
8. **Substrat de tétraméthylbenzidine en solution (TBM 3',5,5'), 11 ml**, prêt à l'emploi
9. **Solution d'arrêt au citrate, 6 ml**, contient un mélange à l'acide.

## 4. Stockage et conservation du kit et des réactifs prêts à l'emploi

---

Stocker le kit à une température comprise entre 2 et 8 °C. La durée de conservation des différents composants est indiquée sur leur étiquette ; la durée de conservation du kit est indiquée sur le certificat de contrôle-qualité.

1. Après avoir détaché les puits individuels nécessaires, remettre les puits restants dans un sachet fermé hermétiquement et contenant un dessiccateur, puis stocker ce sachet à une température comprise entre 2 et 8 °C. Stocker à nouveau les réactifs à une température comprise entre 2 et 8 °C immédiatement après leur utilisation.

- Le conjugué prêt à l'emploi et le substrat TMB en solution sont photosensibles et doivent donc être conservés à l'abri de toute lumière. Si la solution de substrat se colore suite à une exposition à la lumière, jeter la solution.
- Prélever uniquement la quantité de conjugué prêt à l'emploi ou de TMB nécessaire à la réalisation du test. Si un excédent de conjugué ou de TMB a été prélevé, ne pas le réinjecter dans son récipient, mais l'éliminer.

Matériel	Etat	Conservation	Date de péremption
Echantillons d'essai	Dilué	+2 jusqu'à +8° C	max. 6 h
	Non dilué	+2 jusqu'à +8° C	1 semaine
Contrôles	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
Plaque de microtitration	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (conservation dans le sachet fourni avec un sachet d'agent de dessiccation)	3 mois
Absorbant facteur rhumatoïde	Non dilué, Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
	Dilué	+2 jusqu'à +8° C	1 semaine
Conjugué	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (protégé contre la lumière)	3 mois
Tétraméthylbenzidine (TMB)	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (protégé contre la lumière)	3 mois
Solution d'arrêt	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
Solution de lavage	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
	Dilué final (prêt à l'emploi)	+2 jusqu'à +25° C	4 semaines

## 5. Mesures de précaution et mises en garde

- Les sérums de contrôle utilisés ont réagi négativement aux tests de détection des anticorps du HIV1, du HIV2, de l'hépatite C ainsi que de l'antigène HBs. Toutefois, tous les échantillons, les échantillons dilués, les contrôles, les conjugués et la microplaque doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés comme tels. Les dispositions légales respectives en vigueur pour les laboratoires doivent être appliquées.
- Les composants contenant des conservateurs, la solution d'arrêt au citrate et la tétraméthylbenzidine (TBM), ont un effet irritant sur la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement les parties du corps touchées à l'eau courante et consulter éventuellement un médecin.
- Éliminer le matériel et les produits utilisés dans le respect des directives nationales en vigueur.

## 6. Matériel et produits supplémentaires nécessaires (non livrés avec le produit)

- Eau distillée/déminéralisée
- Pipette à plusieurs conduits 50 µl, 100 µl
- Micropipettes : 10 µl, 100 µl, 1000 µl
- Tubes à essai
- Chiffons en cellulose
- Couvercles pour les plaques ELISA
- Poubelle pour les déchets infectieux
- Dispositif de lavage manuel pour test ELISA, ou dispositif de lavage automatique des plaques de microtitrage
- Spectrophotomètre pour plaques de microtitration avec filtre 450/620 nm (longueur d'onde de référence 620-690nm)
- Incubateur

## 7. Réalisation du test

Le respect scrupuleux des consignes de travail de VIROTECH Diagnostics est le préalable à obtenir des résultats corrects.

### 7.1 Echantillons d'analyse

Le sérum ou le plasma (en l'occurrence, le type d'anticoagulants n'est pas important) peut être utilisé comme matériel à analyser, même lorsque seul le sérum est mentionné dans la notice.

Les échantillons doivent être préparés directement avant commencer le test.

Lorsque les sérums doivent être conservés pendant une période prolongée, ceux-ci doivent être congelés. Il est déconseillé de décongeler les sérums plusieurs fois.

- N'utiliser que des sérums frais non inactivés.

2. Ne pas utiliser d'échantillons hyperlipémiques, hémolytiques ou contaminés par des bactéries, ni de sérums à l'aspect trouble (résultats positifs/négatifs faussés).

## 7.2 Préparation des réactifs

Le système de diagnostic VIROTECH Diagnostics offre une grande flexibilité, grâce à la possibilité d'utiliser le tampon de dilution et de lavage, le TMP, la solution d'arrêt au citrate ainsi que le conjugué pour tous les paramètres et les lots. Les contrôles prêts à l'emploi sont spécifiques des paramètres et doivent être utilisés exclusivement avec le lot de lames indiqué dans le certificat de contrôle de qualité.

1. Régler l'incubateur à 37 °C et vérifier que cette température règne bien à l'intérieur de celui-ci avant de commencer l'incubation.
2. Amener tous les réactifs à la température ambiante ; ouvrir ensuite l'emballage avec les barettes.
3. Bien agiter les composants liquides avant leur utilisation.
4. Compléter le concentré de solution de lavage avec de l'eau distillée / déminéralisée pour obtenir 1 litre (au cas où le concentré formerait éventuellement des cristaux, portez-le à température ambiante avant de le diluer et agitez bien avant utilisation).
5. **Pour une détermination IgA anti-toxine pertussique correcte, il est nécessaire d'effectuer un traitement préalable des sérums à l'aide de RF-SorboTech** (agent d'adsorption VIROTECH). Lors de contrôles IgA, la pré-adsorption n'est pas nécessaire.

## 7.3 Réalisation du test ELISA VIROTECH

1. Par préparation de test, distribuer à la pipette 100 µl du tampon de dilution prêt à l'emploi (valeur à blanc), des contrôles et des sérums dilués des patients. Nous recommandons respectivement une préparation en double exemplaire (valeur à blanc, contrôles et sérums des patients) ; pour le contrôle cut-off et le contrôle d'étalonnage, une préparation en double exemplaire est absolument nécessaire. Dilution de travail des sérums de patients : 1+100 ; par exemple 10 µl de sérum + 1 ml de tampon de dilution.
2. Après la distribution, incuber à 37 °C la plaque pendant 30 minutes (avec couvercle).
3. Mettre fin à la période d'incubation par quatre lavages effectués chacun à l'aide de 350 à 400 µl de solution de lavage pour chaque puits. Ne pas laisser de solution de lavage dans les puits, mais en éliminer les derniers restes en tapotant la plaque sur une protection en cellulose étendue à cet effet sur le plan de travail.
4. Déposer 100 µl de conjugué prêt à l'emploi dans tous les puits.
5. Incubation des conjugués : 30 minutes à 37 °C (avec couvercle).
6. Mettre fin à l'incubation du conjugué en effectuant quatre lavages (voir le point 3).
7. Déposer 100 µl de substrat TMB dans chacun des puits.
8. Incubation de la solution de substrat : 30 minutes à 37 °C (avec couvercle, placer dans un endroit sombre).
9. Arrêt de la réaction : déposer 50 µl de solution d'arrêt dans chacun des puits. Agiter la plaque avec précaution jusqu'à ce que les liquides se soient complètement mélangés et qu'ils présentent une couleur jaune uniforme.
10. Mesurer les extinctions à 450/620 nm (longueur d'onde de référence 620-690nm). Régler le photomètre de façon à ce que la valeur à blanc mesurée soit déduite de toutes les autres extinctions. La mesure photométrique doit être réalisée en l'espace d'une heure à partir de l'ajout de la solution d'arrêt.

Schéma du déroulement du test, voir dernière page

## 7.4 Utilisation de dispositifs de traitement automatisé des tests ELISA

Tous les tests ELISA de VIROTECH Diagnostics peuvent être effectués à l'aide de dispositifs de traitement automatisé des tests ELISA. L'utilisateur s'engage à procéder à une validation de l'appareil à intervalles réguliers.

VIROTECH Diagnostics recommande la procédure suivante :

1. Lors de la mise à disposition de l'appareil ou lorsque des réparations importantes ont été effectuées sur le dispositif de traitement automatisé des tests ELISA, VIROTECH Diagnostics recommande de réaliser la validation du dispositif en se conformant aux directives du fabricant de l'appareil.
2. Il est recommandé de contrôler ensuite le dispositif de traitement automatisé des tests ELISA à l'aide du kit de validation (EC250.00). Ce contrôle régulier à l'aide du kit de validation doit être effectué au moins une fois par trimestre.
3. Lors de chaque cycle d'essai, les critères de validation du certificat de contrôle-qualité du produit doivent impérativement être remplis.

Cette manière de procéder assure le fonctionnement irréprochable de votre processeur ELISA et sert de plus à la garantie de qualité du laboratoire.

## 8. Evaluation du test aux plans qualitatif et semi-quantitatif

Les contrôles prêts à l'emploi sont destinés à une détermination semi-quantitative des anticorps IgG et IgA dont la concentration est indiquée en unités VIROTECH (VE). Les fluctuations dues à la réalisation du test sont compensées par la méthode de calcul, ce qui permet d'obtenir une reproductibilité élevée. Pour le calcul des unités VIROTECH (VE), utiliser les moyennes des valeurs de DO.

### 8.1 Contrôle du bon fonctionnement du test

a) Valeurs de DO

La valeur de DO de la valeur à blanc doit être <0,15.

Les valeurs de DO des contrôles négatifs doivent être inférieures aux valeurs de DO indiquées dans le certificat de contrôle-qualité, les valeurs de DO des contrôles positifs et des contrôles cut-off doivent être supérieures aux valeurs de DO indiquées dans le certificat de contrôle-qualité.

b) Unités VIROTECH (VE)

Les unités VIROTECH (VE) du contrôle cut-off sont fixées à 10 VE. Le nombre de VE calculées pour le contrôle positif doit être compris dans la plage indiquée dans le certificat de contrôle-qualité.

Si les exigences (concernant les valeurs de DO et les unités VIROTECH) ne sont pas remplies, répéter le test.

### 8.2 Calcul des unités VIROTECH (VE)

L'extinction de la valeur à blanc (450/620 nm) doit impérativement être soustraite de toutes les extinctions.

$$VE_{\text{(contrôle positif)}} = \frac{DO_{\text{(contrôle positif)}}}{DO_{\text{(contrôle cut - off)}} \times 10$$

$$VE_{\text{(sérum patient)}} = \frac{DO_{\text{(sérum patient)}}}{DO_{\text{(contrôle cut - off)}} \times 10$$

### 8.3 Schéma d'interprétation des IgG

Les unités VIROTECH (UV) du test ELISA des IgA anti-toxine pertussiques ont été calibrées selon le WHO International Standard. Il en résulte la corrélation indiquée dans l'évaluation entre les unités VIROTECH (VE) et les unités internationales par millilitre (UI/ml) pour les IgG (7).

UI/ml (OMS)	VE	Anticorps IgG	Interprétation
	< 9	négatif	⇒ <i>pas de titrage d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'infection <i>B. pertussis</i> suspectée</li> </ul> En cas de symptômes cliniques, demander un contrôle ultérieur de l'évolution ou clarifier la situation à l'aide d'un diagnostic différentiel
36-44	9 – 11	plage limite	⇒ <i>titrage accru d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>anticorps persistants dus à une infection passée</li> <li>anticorps dus au début d'une réponse immunitaire</li> <li>anticorps dus à une vaccination</li> </ul>
	> 11	positif	⇒ <i>titrage significativement élevé d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>signe d'une infection récente ou ayant eu lieu récemment</li> <li>reconnaissance des anticorps de vaccination : respecter impérativement les consignes de gestion vaccinale, car le test ne fait pas la différence entre les anticorps vaccinaux et les anticorps dus à l'infection</li> </ul>

≥ 100	≥ 17	infection	⇒ <i>titrage significativement élevé d'anticorps contre la toxine pertussique. Il indique une infection aiguë si le dernier vaccin remonte à plus de 12 mois.</i>
-------	------	-----------	---

#### 8.4 Schéma d'interprétation des IgA

Le test ELISA des IgA anti-toxine pertussiques a été adapté au WHO International Standard. Il en résulte la corrélation indiquée dans l'évaluation entre les unités VIROTECH (VE) et les unités internationales par millimètre (UI/ml) pour les IgA (11, 12).

UI/ml (OMS)	VE	Anticorps IgA	Interprétation
< 12 UI/ml	< 9	négatif	⇒ <i>pas de titrage accru d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'infection <i>B. pertussis</i> suspectée</li> </ul> En cas de symptômes cliniques, demander un contrôle ultérieur de l'évolution ou clarifier la situation à l'aide d'un diagnostic différentiel
	9 – 11	plage limite	⇒ <i>titrage accru d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>anticorps persistants dus à une infection passée</li> <li>anticorps dus au début d'une réponse immunitaire</li> <li>anticorps dus à une vaccination</li> </ul>
≥ 12 UI/ml	> 11	positif	⇒ <i>titrage significativement élevé d'anticorps contre la toxine pertussique:</i> <b>En cas de titrage d'anticorps IgG positif (&gt; 11 VE):</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>signe d'une infection récente ou ayant eu lieu récemment</li> <li>reconnaissance des anticorps de vaccination : respecter impérativement les consignes de gestion vaccinale, car le test ne fait pas la différence entre les anticorps vaccinaux et les anticorps dus à l'infection</li> </ul> <b>En cas de titrage d'anticorps IgG négatif / dans la plage limite (≤ 11 VE):</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Demander un contrôle ultérieur</li> </ul>

**Nota :** Les anticorps IgA ne sont pas toujours formés ; ils constituent donc des marqueurs moins fiables que les anticorps IgG dans la détection de l'infection due à la *Bordetella pertussis*.

- Respecter impérativement les consignes de gestion vaccinale, car le test ne fait pas la différence entre les anticorps vaccinaux et les anticorps dus à l'infection.
- Si le nombre d'unités VIROTECH (VE) mesurées pour l'échantillon est supérieur à la limite supérieure de la plage limite, les échantillons seront considérés comme positifs.
- Si le nombre d'unités VIROTECH (VE) mesurées est compris dans la plage limite indiquée, la concentration en anticorps n'est pas significativement élevée ; les échantillons seront alors considérés comme étant à la limite. Pour qu'une infection soit mise en évidence de façon sûre, il est nécessaire de déterminer la teneur en anticorps des deux échantillons sériques. Un échantillon sérique doit être testé directement après le début de l'infection, un deuxième échantillon cinq à dix jours plus tard (sérum de convalescent). La concentration des deux échantillons doit être déterminée de façon parallèle. Il n'est pas possible d'établir de diagnostic correct sur la base de l'évaluation d'un seul échantillon sérique.
- Si les valeurs mesurées sont inférieures à la plage limite définie, l'échantillon ne contient pas d'anticorps spécifiques aux antigènes en quantité décelable. Les échantillons seront alors considérés comme étant négatifs.
- Si un résultat est compris dans la plage limite pour les IgA et si la valeur obtenue est <17 unités VIROTECH (VE) pour les IgG, il est nécessaire d'analyser un deuxième échantillon sérique pour clarifier si l'on est en présence ou non d'une infection aiguë.

#### 8.5 Limites du test

L'interprétation des résultats sérologiques doit toujours inclure le tableau clinique, les données épidémiologiques et les éventuels autres résultats d'analyses existants.

### 9. Évaluation quantitative du test sur les IgG en UI/ml

Le contrôle d'étalonnage prêt à l'emploi est disponible séparément avec le kit de quantification des IgG (EN215Q60) et sert à la détermination quantitative en UI/ml d'anticorps de type IgG anti-toxine pertussique (PT) dans le sérum du patient. Le contrôle

d'étalonnage compense les fluctuations associées à la réalisation du test. Les valeurs moyennes des valeurs de DO sont employées pour le calcul.

### 9.1 Contrôle de fonctionnement du test

#### a) Valeurs de DO

La valeur de DO de la valeur à blanc doit être < 0,15.

La valeur de DO du contrôle d'étalonnage doit se situer dans la plage de valeurs indiquée sur le certificat correspondant.

#### b) UI/ml

Les concentrations d'IgG anti-PT (UI/ml) du contrôle faiblement réactif et du contrôle fortement réactif doivent se situer dans les plages de valeurs indiquées dans le certificat de contrôle qualité.

Si le test ne répond pas aux exigences (valeurs de DO, UI/ml), celui-ci doit être recommencé.

### 9.2 Calcul des résultats quantitatifs en unités internationales par millilitre (UI/ml)

La valeur d'extinction à blanc (450/620 nm) doit être soustraite de toutes les valeurs d'extinction.

La quantification des sérums de patient à l'aide du set de quantification IgG de VIROTECH est effectuée en corrélation avec le WHO International Standard. Grâce à des essais approfondis, pour chaque charge de plaque, la courbe étalon est déterminée par une régression non linéaire et décrite mathématiquement par la formule suivante (14) :

$$IU/ml = \exp(-(\ln((D-A)/((DO\ corr)-A)-1)-B)/C)$$

dans laquelle

A : est la valeur de DO attendue pour une concentration d'IgG anti-PT de 0

B : est le facteur d'accroissement

C : est le point d'inflexion

D : est la valeur de DO attendue pour une concentration d'IgG anti-PT infiniment élevée

DO corr : est la valeur de DO corrigée du sérum de patient.

Pour tenir compte des fluctuations qui se produisent lors de la réalisation du test, la valeur de DO mesurée du sérum de patient est corrigée à l'aide d'un contrôle d'étalonnage :

$$DO_{corr} = DO_{\text{sérum de patient}} * \frac{DO_{\text{contrôle d'étalonnage de consigne}}}{DO_{\text{contrôle d'étalonnage mesurée}}}$$

Les valeurs des paramètres A, B, C et D, de même que la valeur de consigne pour la DO du contrôle d'étalonnage, doivent être prises dans le certificat.

#### Détermination de l'UI/ml

La détermination de l'UI/ml peut être effectuée par le biais d'un logiciel qu'il est possible de se procurer auprès de VIROTECH. En variante, un modèle d'exploitation pour les tableurs courants peut être mis à disposition.

La plage limite dans le cas de la quantification réalisée avec le kit de quantification des IgG anti-toxine pertussique de VIROTECH est définie entre une valeur  $\geq 40$  UI/ml et une valeur < 100 UI/ml, ce qui correspond à la plage de VE comprise entre une valeur  $\geq 10$  VE et une valeur < 17 VE.

La plage quantifiable se situe entre 5 UI/ml et 500 UI/ml.

### 9.3 Schéma d'interprétation des IgG

Les unités internationales (IU/ml) du test ELISA des IgA anti-toxine pertussiques ont été calibrées selon le WHO International Standard. L'interprétation correspond aux recommandations des centres de référence européens (7, 11, 12, 13,15).

UI/ml (OMS)	Interprétation
----------------	----------------

< 40	Aucun signe de contact récent avec l'agent pathogène.
≥ 40 à < 100	Résultat sujet à caution. Demander un contrôle ultérieur ou une détermination des IgA anti-toxine pertussique: - IgA anti-toxine pertussique ≤ 11 VE (soit < 12 UI/ml): aucun signe de contact récent avec l'agent pathogène. - IgA anti-toxine pertussique > 11 VE (soit < 12 UI/ml): signe de contact récent avec l'agent pathogène. à condition que la dernière vaccination date de plus de 12 mois - respecter la gestion de la vaccination !
≥ 100	Signe de contact récent avec l'agent pathogène, à condition que la dernière vaccination date de plus de 12 mois - respecter la gestion de la vaccination !

## 10. Littérature

1. Medizinische Mikrobiologie Hahn, Falke, Klein, Springer-Verlag 1991, p361 - 363
2. Wiersbitzky, Pertussis Kostengünstige Prävention zuwenig genutzt, 1995, Therapiewoche 25, p1485-1486
3. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, Brandis, Köhler, Eggers, Pulverer, 7. Auflage, p483
4. Mastrantonio et al., *Bordetella parapertussis* infections, 1997, Dev Biol Stand, 89, p255-259
5. Mastrantonio et al., Antibody kinetics and long-term sero-prevalence in the Italian clinical trial of acellular pertussis vaccines, 1997, Dev Biol Stand, 89, p275-278
6. Wirsing von König et al., Evaluation of a single-Sample Serological Technique for Diagnosing Pertussis in Unvaccinated Children, 1999, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 18, p341-345
7. De Melker et al., Specificity and sensitivity of high levels of immunoglobulin G against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*, 2000, J Clin Microbiol, 38, p800-806
8. Swidsinski, Diagnostische Bibliothek, Nr. 47, April 1997
9. Meade et al., Serodiagnosis of Pertussis, 1994, Center for Biologics and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, Maryland 20892.
10. Meijer, Numerical Comparison of 4 Pertussis Toxin IgG-ELISAs, 2002, nicht publiziert, Krankenhaus Groningen, NL
11. Riffelmann et al., Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of Antibodies to *Bordetella pertussis*, 2010, J Clin Microbiol, 48, p4459-4463
12. Guiso et al., What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories, 2010, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, DOI 10.1007/s10096-010-1104-y
13. RKI Ratgeber Infektionskrankheiten - Merkblätter für Ärzte: Pertussis (Keuchhusten), 03/09/10
14. Plikaytis et al., Comparisons of Standard Curve-Fitting Methods To Quantitate *Neisseria meningitidis* Group A Polysaccharide Antibody Levels by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, 1991, J Clin Microbiol, 29, p1439-1446
15. Podbielski et al., MiQ 13/2010, Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ), Teil II (Heft 13b), Bakterielle Erreger: *Bordetella pertussis*, 2. Auflage, p98-106

## 11. Schéma du déroulement du test

# Préparation des échantillons patients et de la solution de lavage

▼ **Solution de lavage :** ajouter de l'eau distillée/déminéralisée au concentré pour obtenir un volume total d'un litre.

**Dilution du Échantillons IgG à  
1:101**

Exemple :

10 µl de sérum/plasma + 1000 µl de tampon de dilution  
(le tampon de dilution est prêt à l'emploi)

**Dilution du Échantillons IgA à  
1:100**

**Adsorption du facteur rhumatoïde avec RF-  
SorboTech**

Exemple :

Incuber 5 µl de sérum/plasma + 450 µl de tampon de dilution +  
1 goutte RF-SorboTech pendant 15 minutes

## Réalisation du test

Incubation des échantillons	<b>30 minutes à 37 °C</b>	<b>100 µl d'échantillons patients</b> blanc (tampon de dilution) et contrôles
↓		
Laver 4 fois		<b>400 µl de solution de lavage</b> bien tapoter
↓		
Incubation du conjugué	<b>30 minutes à 37 °C</b>	<b>100 µl de conjugué</b> IgG, IgA
↓		
Laver 4 fois		<b>400 µl de solution de lavage</b> bien tapoter
↓		
Incubation du substrat	<b>30 minutes à 37 °C</b>	<b>100 µl de substrat</b>
↓		
Arrêt		<b>50 µl de solution d'arrêt</b> agiter avec précaution
↓		
Mesure de l'extinction		<b>photomètre à 450/620 nm</b> <b>(longueur d'onde de référence 620-690nm)</b>