SeroPertussis™Toxin IgA

Test ELISA pour la détection quantitative des anticorps IgA anti-toxine ***Bordetella Pertussis*** dans le sérum humain.

Notice technique

Coffret de 96 tests
(Catalog No.1233-01)

Réservé au diagnostic *in vitro*
Pour usage professionnel uniquement
A conserver entre +2 et +8°C. **Ne pas congeler**

Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St.
Ashdod 7761003
ISRAEL
Tel.: +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnostics.com

Utilisation
Le coffret SeroPertussis™ Toxin IgA est un test ELISA qui permet de quantifier les anticorps spécifiques anti-toxine de *Bordetella pertussis* de type IgA dans le sérum humain ou le plasma.

Réservé au diagnostic *in vitro*

Introduction

La Coqueluche (Pertussis) est une infection bactérienne des voies respiratoires, fortement contagieuse, touchant toutes les tranches d'âges, causée par le bacille Gram - *Bordetella pertussis*, pathogène exclusif de l'homme. La transmission du microorganisme se fait par contact avec une personne infectée via les gouttelettes aériennes émises lors de la toux ou des éternuements. 90% des personnes ayant été exposées, développent cliniquement la maladie. Malgré l'immunisation infantile depuis plusieurs décennies, la coqueluche reste une des causes principales de mort évitable par la vaccination (1, 2). Les symptômes les plus sévères apparaissent chez les nourrissons non vaccinés et les enfants en bas âge : ils sont les plus vulnérables et présentent les plus hauts taux de complications et de mort. Habituellement, la maladie est atténuée chez les adolescents et les adultes qui constituent par contre un réservoir et une source de diffusion vers les enfants. (3).

Epidémiologie: La Coqueluche est une maladie endémique, avec des épidémies tous les 3 à 5 ans. Aux États-Unis, 5000 - 7000 cas sont relevés chaque année. Il a été rapporté que 21% des adultes aux États-Unis présentant une toux prolongée (durée > 2 semaines) avaient la Coqueluche (4). L'Organisation Mondiale de la Santé estime qu'en 2008 environ 16 millions de cas de Coqueluche ont été identifiés dans le monde entier. 95 % des cas sont présents dans les pays en voie de développement et environ 195 000 enfants sont morts de cette maladie (5). Depuis 2011, l'augmentation du nombre de cas de Coqueluche a été rapportée à plusieurs reprises dans différentes régions du monde, même dans celles ayant une importante couverture de vaccination. En Europe, la situation se développe de façon similaire avec une augmentation des cas surtout chez les nourrissons, mais aussi les adolescents et les adultes (6).

Immunisation & Vaccination: La durée de protection après la vaccination contre la Coqueluche est peu connue dans les pays en voie de développement, cependant plusieurs études réalisées dans les pays industrialisés montrent une réduction de la protection après 4-12 ans (7, 8). L'infection chez les personnes vaccinées se manifeste comme une maladie non spécifique plus douce, sans les symptômes cliniques classiques de la Coqueluche. Elle est identifiée dans seulement 6 % des cas. L'infection peut aussi se manifester sous la forme d'une toux non spécifique se prolongeant durant plusieurs semaines ou mois. En raison de ces symptômes atypiques, la Coqueluche est sous-diagnostiquée chez les adultes et les adolescents, ce qui constituent une source d'infection pour les nourrissons non vaccinés (4, 6, 9).

Traitement: Un traitement antimicrobien précoce réduit la gravité des symptômes et limite la période de transmission. L'identification rapide des cas peut permettre de prévenir la contamination des personnes non-vaccinées ou sous - vaccinées par la vaccination ou par la prophylaxie antimicrobienne.

Diagnostique de la Coqueluche: La détection de la Coqueluche peut se faire soit directement par des tests de biologie moléculaire (PCR) ou de culture cellulaire, soit indirectement par des tests sérologiques qui permettent de quantifier les anticorps spécifiques. Pendant les trois premières semaines de l'infection, les bactéries résident dans les voies respiratoires supérieures et peuvent être détectées, uniquement par des méthodes directes (10, 11, 12).
Les tests sérologique ELISA pour la détection des anticorps anti-toxine pertussis sont recommandés pour différencier *B. pertussis* de *B. parapertussis*. Pour le diagnostic sérologique, il est nécessaire de suivre une paire de sérums. Si la différence de titre est d'au minimum 2 fois le taux d'anticorps anti-toxine pertussis initial (augmentation ou diminution des IgG), le diagnostic sera fiable pour une infection courante aigue dans le cas d'absence de vaccination l'année précédente (13, 14). Cependant, pour diverses raisons, un seul test sérologique est généralement pratiqué (13, 14, 15, 16). Les concentrations d'anticorps anti-antigènes de *B. pertussis* sont quantitativement exprimées en Unités Internationales par millilitre (UI/ml) conformément aux standards de référence existants.

Le coffret SeroPertussis™ Toxin IgA permet de quantifier les anticorps spécifiques anti-toxine de *Bordetella pertussis* de type IgA. L'antigène utilisé est la toxine purifiée de *Bordetella pertussis.* Le test est standardisé par rapport au standard international WHO (WHO International Standard Pertussis Antiserum, human, 1st IS NIBSC Code 06/140) (17)).

Principe du test

- Les microplaques du test SeroPertussis™ Toxin sont sensibilisées par une fraction enrichie de toxines purifiées de *Bordetella pertussis*.
- Le sérum à tester est dilué au 1/101 puis mis à incuber dans les puits de la microplaque du test SeroPertussis™ Toxin. Lors de cette étape, les anticorps spécifiques vont se fixer à la toxine de *Bordetella pertussis* immobilisées.
- Les anticorps non spécifiques sont éliminés par lavage.
- Un conjugué anti-IgA humaines couplé à la peroxydase de raifort (HRP) est ajouté. Durant l'incubation, le conjugué HRP va se lier au complexe antigène-anticorps précédemment fixé.
- Le conjugué non fixé est éliminé par lavage.
- Après l'ajout du substrat TMB, ce dernier est hydrolysé par la peroxydase, donnant une solution bleue de substrat réduit.
- La solution d'arrêt est ensuite ajoutée, la couleur bleue devient jaune. Les puits sont lus à l'aide d'un lecteur ELISA à une longueur d'onde de 450nm / 620 nm.
- L'absorbance est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques fixés par les antigènes immobilisés.

Résumé de la Procédure: **Manuelle/ Automatisée***

Puits de la microplaque
enduits d'antigènes toxines de *Bordetella pertussis*.

Dans des puits séparés :
Ajouter 100µl de chaque calibrateur prêt-à-l'emploi :
C10, C20, C40
Ajouter 100µl de contrôle négatif, de contrôle positif et d'échantillons dilués au 1/101
↓
Couvrir la microplaque et laisser incuber
1 heure à 37°C à un taux d'humidité de 100%
↓
Laver 5 fois avec le tampon de lavage
↓
Ajouter 100µl de conjugué-HRP prêt à l'emploi
↓
Couvrir la microplaque et laisser incuber
1 heure à 37°C à un taux d'humidité de 100%
↓
Laver 5 fois avec le tampon de lavage
↓
Ajouter 100µl de substrat TMB
↓
Couvrir la microplaque et laisser incuber
15 minutes à température ambiante
↓
Ajouter 100µl de solution d'arrêt
↓
Lire l'absorbance à 450nm/620nm
↓
Calculer et interpréter les résultats

****Procédure automatisée:***
Incubation des échantillons: *25 minutes* à température ambiante puis *35 minutes* à 35°C.
Incubation du conjugué: *15 minutes* à température ambiante puis *35 minutes* à 35°C.
Etapes de lavage: *5 cycles de lavage*

Composition du coffret : pour une utilisation manuelle / pour une utilisation sur automate

Coffret pour 96 déterminations; Référence : 1233-01

1. **Microplaque sensibilisée par la toxine *B. pertussis*:** 96 puits sécables (8x12) sensibilisés par une fraction enrichie de toxines purifiées de *Bordetella pertussis* et conservés dans un sachet d'aluminium avec un déshydratant.
   1 microplaque
2. **Tampon de lavage concentré (20X):** Tampon PBS - Tween. Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 100 ml
3. **Diluant échantillon:** Prêt à l'emploi. Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   2 flacons, 60 ml
4. **Contrôle positif:** Prêt à l'emploi. Sérum humain positif en anticorps IgA anti-toxine *B. pertussis.* Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 2 ml
5. **Contrôle Négatif:** Prêt à l'emploi. Sérum humain négatif en anticorps IgA anti-toxine *B. pertussis.* Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 2 ml
6. **Calibrateur C10:** Prêt à l'emploi. Calibrateur contenant 10 UI/ml (Unités internationales) d'anticorps anti-toxine *B. pertussis* de type IgA. Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 2 ml
7. **Calibrateur C20:** Prêt à l'emploi. Calibrateur contenant 20 UI/ml (Unités internationales) d'anticorps anti-toxine *B. pertussis* de type IgA. Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 2 ml
8. **Calibrateur C40:** Prêt à l'emploi. Calibrateur contenant 40 UI/ml (Unités internationales) d'anticorps anti-toxine *B. pertussis* de type IgA. Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 2 ml
9. **Conjugué HRP:** Prêt à l'emploi. anti-IgA humaines (spécifique des chaînes α) couplés à la peroxydase de raifort (HRP). Contient du Proclin <0.05% comme agent conservateur.
   1 flacon, 15 ml
10. **Substrat TMB:** Prêt à l'emploi. Contient du 3, 3', 5, 5' Tetramethylbenzidine comme chromogène et du peroxyde comme substrat.
    1 flacon, 16 ml
11. **Solution Stop:** Prête à l'emploi. Contient de l'acide sulfurique 1M H_2SO_4.
    1 flacon, 16 ml
12. **Couvercle de microplaque : 1 unité**
13. **Notice technique 1 / 1**
14. **CD 1**

Matériel nécessaire non fourni

1. Tubes à hémolyse et portoirs pour préparer les dilutions des sérums de patients.
2. Micropipettes ou pipettes multicanaux (5-50, 50-200 et 200-1000µl) avec embouts jetables.
3. Éprouvette volumétrique de 1 litre.
4. Une éprouvette volumétrique de 50ml.
5. Bouteille pour la solution de lavage.

6. Papier absorbant.
7. Agitateur vortex.
8. Bain marie à 37°C avec couvercle ou chambre humide en étuve à 37°C
9. Lecteur ELISA équipé d'un filtre à 450nm et 620 nm.
10. Eau distillée ou déionisée.

Précautions d'emploi

Réservé à l'usage de diagnostic.

1. Ce kit contient des sérums humains qui ont été testés par des techniques approuvées par la FDA ou marquées CE – Ils ont été trouvés négatifs vis-à-vis des antigènes HBs, des anticorps VIH 1 et 2 et anti VHC. Comme aucune technique ne peut garantir l'innocuité absolue des produits testés, ceux-ci doivent donc être manipulés comme potentiellement infectieux - selon les recommandations publiées dans le manuel "Sécurité biologique dans les laboratoires de microbiologie et de biologie médicale, 1988" du CDC/NIH (National Institute of Health - Institut National Américain de la Santé).
2. La solution de substrat TMB est une substance irritante pour la peau et les muqueuses. Éviter tout contact direct.
3. L'acide sulfurique dilué (1M H_2SO_4) est un agent irritant pour les yeux et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
4. Tous les composants de la trousse ont été testés par lot. Ne pas mélanger les composants de différents lots et ne pas utiliser des réactifs provenant d'autres fournisseurs.

Conservation et Stabilité des Réactifs

1. Tous les composants de la trousse doivent être conservés entre +2°C et +8°C. Dans ces conditions, les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. L'exposition des composants de la trousse pendant plusieurs heures à température ambiante n'altère pas les réactifs s'ils sont munis de leur bouchon d'origine ou restés scellés. **NE PAS CONGELER!**
2. Une fois le coffret ouvert, les réactifs se conservent pendant 90 jours.
3. Le sachet d'aluminium contenant les barrettes de puits doit être soigneusement refermé avec le sachet déshydratant et scellé avec du ruban adhésif sur toute la longueur de l'ouverture ».
4. Il est possible que des cristaux se forment durant la conservation de la solution de lavage concentrée (20x). Dissoudre les cristaux en plaçant le tampon à +37°C avant dilution. Une fois diluée, la solution reconstituée est stable pendant 21 jours si elles conservée entre +2°C et +8°C.

Prélèvement des échantillons

Recueillir les échantillons en respectant les conditions d'asepsie. Ne pas utiliser de sérums inactivés par la chaleur.
Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums lipémiques, troubles ou contaminés. Les particules et les précipités contenus dans le sérum peuvent fausser les résultats. Ces échantillons doivent être clarifiés par centrifugation ou filtration avant analyse.

Conservation

Les échantillons à tester peuvent être conservés 7 jours entre +2°C et +8°C (il est recommandé de rajouter de l'azide de sodium à 0,1%). Si le test est prévu dans un délai plus long, conserver et aliquoter les prélèvements à -20°C. Il est recommandé de ne pas effectuer des décongélations successives.

Réalisation manuelle du test

A. Préparation des réactifs

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Bien homogénéiser les calibrateurs (C10, C20, C40), le contrôle négatif, le contrôle positif et les échantillons à tester.
2. Déterminer le nombre total d'échantillons à analyser. Outre les échantillons, inclure les réactifs suivants dans chaque analyse : trois puits pour les calibrateurs (C10, C20, C40) et un puits pour le contrôle négatif. Le contrôle positif est optionnel.
3. Retirer la microplaque de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité du sachet au niveau de la partie scellée. Prélever le nombre de barrettes nécessaires au test, les placer sur le support de 96 puits.
   Replacer les barrettes inutilisées dans le sachet d'aluminium avec le sachet déshydratant. Refermer soigneusement sur toute sa longueur.
4. Diluer le tampon de lavage concentré au 1/20 avec de l'eau distillée.
   Exemple: pour 1L de tampon de lavage : 50 ml de tampon de lavage concentré + 950 ml d'eau distillée.

B. Incubation des échantillons et contrôles

5. Diluer les sérums de patients au 1/101 de la manière suivante: ajouter 10µl de sérum de patient à 1000µl de diluant des sérums.
6. Déposer 100µl de calibrateurs (C10, C20, C40), de contrôle négatif, de contrôle positif et d'échantillons dilués au 1/101 dans des puits séparés.
7. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de microplaque et laisser incuber 1 heure à 37°C dans une chambre humide.
8. Vider les puits.
9. **Etape de lavage**
   Lavage manuel:
   Remplir entièrement chaque puits avec le tampon de lavage puis éliminer ce liquide. Répéter encore quatre fois, pour un total de cinq étapes de lavage.
   Lavage automatisé:
   Remplir chaque puits avec 350µl de tampon de lavage puis éliminer ce liquide. Répéter encore quatre fois, pour un total de cinq étapes de lavage
10. Sécher les microplaques et le portoir en les tapotant sur du papier absorbant.

C. Incubation du Conjugué

11. Déposer 100µl de conjugué HRP prêt à l'emploi dans chaque puits.
12. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de microplaque et laisser incuber pendant 1 heure à 37°C dans une chambre humide.

13. Vider le contenu des puits puis réaliser l'étape de lavage comme indiqué précédemment : étapes 9-10.

D. Incubation du Substrat TMB

14. Distribuer 100µl de Substrat TMB dans chaque puits. Recouvrir les barrettes avec le couvercle de microplaque et laisser incuber pendant **15 minutes** à température ambiante.
15. Arrêter la réaction en ajoutant dans chaque puits 100µl de solution d'arrêt (1 M H_2SO_4).

E. Lecture

16. Lire la densité optique de chaque puits à 450nm/620nm au cours des 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction. Ne pas interpréter les résultats au-delà des 30 minutes.

Note : *Éliminer les éventuelles bulles d'air présentes dans les puits et essuyer soigneusement le dessous de la microplaque avant la lecture au spectrophotomètre.*

Procédure dans le cas d'une utilisation sur automate

Les flacons et le volume des réactifs ont été adaptés pour une utilisation sur automate.

A. Préparations des réactifs

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Bien homogénéiser les calibrateurs (C10, C20, C40), le contrôle négatif, le contrôle positif et les échantillons à tester.
2. Déterminer le nombre total d'échantillons à analyser. Outre les échantillons, inclure les réactifs suivants dans chaque analyse : trois puits pour les calibrateurs (C10, C20, C40) et un puits pour le contrôle négatif. Le contrôle positif est optionnel.
3. Retirer la microplaque de son sachet d'aluminium en coupant l'extrémité du sachet au niveau de la partie scellée. Prélever le nombre de barrettes nécessaires au test les placer sur le support de 96 puits.
   Replacer les barrettes inutilisées dans le sachet d'aluminium avec le sachet déshydratant. Refermer soigneusement sur toute sa longueur.
4. Diluer le tampon de lavage concentré au 1/20 avec de l'eau distillée.
   Exemple: pour 1L de tampon de lavage : 50 ml de tampon de lavage concentré + 950 ml d'eau distillée.

B. Incubation des échantillons et des contrôles

5. Diluer chaque échantillon au 1/101 de la manière suivante:
   - Distribuer 750µl de diluant échantillon dans chaque tube échantillon
   - Prélever 250µl de diluent échantillon et 10µl d'échantillon
   - Distribuer les 260µl (1:26 de l'échantillon pré-dilué) dans chaque tube échantillon (le volume final est de 1010µl).
6. Distribuer 100µl de contrôle négatif, de contrôle positif, de chaque calibrateur (C10, C20, C40) et des échantillons dilués au 1:101 dans des puits séparés.
7. Incuber 25 minutes à température ambiante (22-28°C). Le temps d'incubation doit démarrer à partir de la distribution du premier flacon comme indiqué dans le programme par "Début du temps d'incubation à partir de l'étape d'ajout du 1er échantillon/contrôle".
   Puis, poursuivre l'incubation pendant 35 minutes à 35°C.
8. Information machine : « Éliminer la dérive engendrée par cette opération».
9. **Etape de lavage:** Effectuer 5 cycles de lavage de 500µl en utilisant le tampon de lavage Savyon®.
10. Effectuer 2 cycles d'aspiration des liquides résiduels comme indiqué dans le programme par *"Procéder par 2 cycles d'aspiration sans balayage. Pour les plaques partiellement remplies : maintenir le temps pour une plaque entière ».*

C. Incubation du conjugué

Chaque flacon de conjugué ne peut être utilisé que deux fois.

11. Distribuer dans chaque puits 100µl de conjugué HRP prêt à l'emploi.
12. Incuber 15 minutes à température ambiante (*22-28°C).* Le temps d'incubation doit démarrer à partir de la distribution du premier flacon comme indiqué dans le programme par "Début du temps d'incubation à partir de l'étape d'ajout du conjugué".
    Puis Poursuivre l'incubation pendant 35 minutes à 35°C.
13. Réaliser l'étape de lavage comme indiqué précédemment : étapes 8-9.

D. Incubation du Substrat TMB

14. Distribuer 100µl de Substrat TMB dans chaque puits et incuber à température ambiante (22-28°C) pendant **15 minutes.** Le temps d'incubation doit démarrer à partir de la distribution du premier flacon comme indiqué dans le programme par "Début du temps d'incubation à partir de l'étape d'ajout du substrat TMB".
15. Arrêter la réaction en ajoutant 100µl de solution d'arrêt (1 M H_2SO_4) dans chaque puits.

E. Lecture

16. Lire la densité optique de chaque puits à 450nm/620nm au cours des 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction. Ne pas interpréter les résultats au-delà des 30 minutes.

Noter que chaque automate possède des spécifications techniques propres. Pour l'utilisation de ce coffret avec votre automate, veuillez adapter cette procédure de test sur votre instrument.

Critères d'acceptabilité du test

Pour que le test soit valide les critères ci-dessous doivent être remplis. Si ces conditions ne sont pas retrouvées, le test doit être considéré comme non conforme et renouvelé.

1. C40: DO $\geq$ 0.8
   C20: DO $\geq$ 0.4
   C10: DO $\geq$ 0.2
2. Ratio DO C40 / DO C20: > 1.3
3. Ratio DO C20 / DO C10: > 1.3
4. **Optionnel:** Contrôle positif: $\geq$ 15 IU/ml (cf § Calcul et interprétation des résultats)
5. Contrôle négatif: <10 UI/ml (cf § Calcul et interprétation des résultats)

Calcul des résultats

***Utiliser le fichier "TECHNIQUE D'INTERPRETATION pour SeroPT" (inclut sur le CD joint*) pour rapidement calculer et interpréter les résultats.**

LES RESULTATS PEUVENT ETRE CALCULES:

1. Manuellement à l'aide de papier millimétré:

i. Placer les valeurs d'absorbances (DO) des 3 calibrateurs (C10, C20, C40) sur l'axe des abscisses (X) et leur concentration (UI/ml) sur l'axe des ordonnées (Y).

ii. A partir de la gamme de calibration, calculer la concentration des échantillons (en UI/ml) à partir de chaque absorbance mesurée (cf exemple 1).

2. Informatiquement à l'aide d'Excel:
(Utiliser le CD joint)

i. Ouvrir le tableur Excel.

ii. Dans la colonne B, renseigner les valeurs des 3 calibrateurs (10, 20, 40) et en colonne A ajouter les valeurs des DO mesurées.

iii. Sélectionner l'icône ( ) et choisir le diagramme "nuage de points". Tracer les points de la colonne B contre la colonne A.

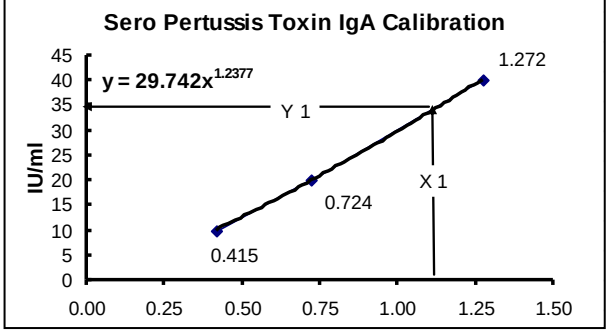
iv. Se positionner sur la courbe et choisir « Ajouter courbe de tendance » en faisant un clic droit sur la souris.

v. Sous l'onglet "Option courbe de tendance", choisir "Puissance" et « Afficher l'équation ». Puis, valider.

vi. Une équation sous la forme $Y = aX^b$ s'affiche. Les Y correspondront aux concentrations attendues en UI/mL et les X aux $DO_{450/620}$. Utiliser cette équation pour calculer les concentrations de chaque échantillon en fonction des DO mesurées (cf exemple 1).

Exemple 1. Interpolation des résultats
Lire l'absorbance de l'échantillon (X1) et le placer sur l'axe des abscisses X. Dessiner une verticale jusqu'à la courbe de calibration et tracer la ligne horizontale passant par l'axe Y.
Lire la concentration en UI/ml pour l'échantillon.

Calibrator	OD 450/620	IgA IU/ml
C10	0.415	10
C20	0.724	20
C40	1.272	40
Sample	X1=1.125	Y1=34



Excel: (Y) =29.742*1.125^1.2377

Interprétation des résultats

1. **Validité des résultats:** Si la $DO_{450/620}$ de l'échantillon est ≥ 3.0, il est recommandé de le tester à nouveau avec une dilution au 1:404. La concentration finale pour cet échantillon sera obtenue en multipliant le résultat par un facteur 4.

2. **Interprétation des résultats:** En accord avec la littérature et les recommandations des laboratoires européens de référence (16, 17), Savyon Diagnostics recommande l'interprétation des résultats suivante :

IgA UI/ml	Résultat
<12 UI/ml	**Negatif**
≥12 UI/ml	**Positif**

3. **Interprétation des profils IgG/IgA :** Afin d'obtenir un profil d'anticorps complet, Savyon Diagnostics recommande de tester la concentration d'IgA (16,17).

IgG	IgA	Interpretation
Négatif	Négatif	*Pas d'infection à B. pertussis (cf § limitation)*
Intermédiaire	Négatif	*Pas d'infection récente*
Intermédiaire ou Négatif	Positif	*Indication d'une infection récente*
Positif	Négatif ou Positif	*Indication d'une infection récente*

Limitations

1. Un test sérologique seul, ne peut être utilisé comme unique critère de diagnostic. Toutes les données cliniques et biologiques, doivent être prises en considération.
2. Les échantillons prélevés trop tôt lors d'une primo-infection peuvent ne pas contenir d'anticorps décelables. Si l'on soupçonne une infection à *B. pertussis*, effectuer un deuxième prélèvement 2-4 semaines plus tard et procéder à une nouvelle analyse en parallèle avec le 1er sérum.
3. Quand une infection est soupçonnée pour des enfants en bas âge (moins de 6 mois), un autre test (culture, PCR) doit être exécuté, car ces patients développent rarement des anticorps.
4. Le diagnostic sérologique de l'infection *B. pertussis* ne doit pas être réalisé en cas de vaccination inférieure à 1 an.

Performances

Précision
Précision intra-essai:

Echantillon	Nbr de réplicats	Valeur moyenne des DO	CV%
40UI/mL	10	42	3.6
10UI/ml	10	11	6.8

Précision inter-essai:

Echantillon	Nbr de réplicats	Valeur moyenne des DO	CV%
40UI/ml	10	43	8.7
30UI/ml	10	10	12.4

Bibliographie

1. Pertussis vaccines: WHO position paper. Weekly epidemiological record; No. 40; 2010, 85: 385–400; www.who.int/wer.
2. Tan T, Trindade E, Skowronski D. Epidemiology of pertussis. Pediatr. Infect. Dis. J. 24; 2005, 10-18.
3. Munoz FM. Pertussis in infants, children, and adolescents: diagnosis, treatment, and prevention. Semin. Pediatr. Infect. Dis. 17; 2006, 14-19.
4. Mattoo S. & Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other Bordetella subspecies; Clin. Microbiol. Rev. 2005; 18:362-82.
5. Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, Mathers C, Rivera J. for the Child Health Epidemiology Reference Group of WHO and UNICEF; Global regional and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis; Lancet. 2010; 375: 1969–1987.
6. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, Bernatowska E, Guiso N, Roord J, Tozzi AE, Van Damme P. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe; Lancet Infect. Dis. 2011; 11: 557–70.
7. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. Pediatric Infectious Disease Journal; 2005, 24 (Suppl. 5): S58-S61.
8. The Global Pertussis Initiative Meeting report from the Fourth Regional Roundtable Meeting, France, April 14–15; Human Vaccines. 2010; 7:4, 481-488.
9. Srugo I, Benilevi D, Madeb R, Shapiro S, Shohat T, Somekh E, Rimmar Y, Gershtein V, Gershtein R, Marva E, Lahat N. Pertussis Infection in Fully Vaccinated Children in Day-Care Centers, Israel; Emerging Infectious Diseases. 2000; Vol. 6, No. 5 September-Oct.
10. HPA Guidelines for the Public Health Management of Pertussis. www.hpa.org.uk. October 2012.
11. Riffelmann M, Wirsing von König CH, Caro V, Guiso N; Pertussis PCR Consensus Group. nucleic acid amplification tests for diagnosis of Bordetella infections. J. Clin. Microbiol. 2005; 43(10): 4925-9.
12. ECDC TECHNICAL DOCUMENT; Guidance and protocol for the use of real-time PCR in laboratory diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis* or *Bordetella parapertussis;* Version 1.0, September 2012.
13. Guiso N, Berbers G, Fry NK, He Q, Riffelmann M, Wirsing von König CH; EU Pertstrain group EU Pertstrain group. What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories; Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2011; 30: 307–312.
14. André P, Caro V, Njamkepo E, Wendelboe AM, Van Rie A, Guiso N Comparison of serological and real-time PCR assays to diagnose Bordetella pertussis infection in 2007. J Clin Microbiol; 2008, 46(5):1672–1677
15. Riffelmann M, Thiel K, Schmetz J, Wirsing von Koenig CH. Performance of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of Antibodies to Bordetella pertussis. J. Clin. Micro. 2010; 48(12); 4459-4463.
16. Xing D, Markey K, Newland P, Rigsby P, Hockley J, He Q. EUVAC. NET collaborative study: evaluation and standardization of serology for diagnosis of pertussis. J. Immunol. Methods. 2011; 372(1-2): 137-45.
17. Xing D, Wirsing von König CH, Newland P, Riffelmann M, Meade BD, Corbel M, Gaines-Das R. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. Clin. Vaccine Immunol. 2009; 16(3): 303–311.

CE

European Authorized Representative: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels, Belgium
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail:mail@obelis.net

	Limites de température
	Consulter les instructions d'utilisation
IVD	Dispositif de Diagnostic *In Vitro*
	Fabricant
EC REP	Mandataire