



ANSES, Laboratoire de Sophia Antipolis
Unité Fièvre Q Animale
Les Templiers, Sophia Antipolis
105, route des Chappes, 06410 BIOT
Tél. : 04 92 94 37 36

Laboratoire National de Référence Fièvre Q

Liste des méthodes PCR (temps réel) pour la recherche de Coxiella burnetii pour le diagnostic d'avortement

1. METHODES VALIDEES

Les méthodes ont été validées pour la cible *Coxiella burnetii* par chaque développeur et approuvées par le laboratoire ANSES de Sophia Antipolis, en tant que LNR-FQ, sous forme d'une attestation de validation (en respect de la norme AFNOR U47-600-2 et des critères établis par le LNR rapport aux besoins).

Les modes opératoires consignés dans les notices sont revues par le LNR et font office de protocole standard officiel.

Les recommandations d'adoption ont été élaborées en respect de la norme AFNOR U47-600-1 et des spécifications du LNR-FQ, en particulier les critères d'adoption annoncés. Un formulaire pour accompagner les essais d'adoption est disponible auprès du LNR-FQ.

Le tableau suivant spécifie les performances des méthodes PCR commerciales validées (limite de détection, limite de quantification, exactitude) pour le diagnostic de fièvre Q abortive en élevage de ruminants, permettant l'interprétation des résultats par rapport à un seuil clinique.

2. METHODES COMPAREES A UNE METHODE VALIDEE

Une évaluation comparée des résultats de PCR quantitative et de PCR relative entre une méthode validée et les kits suivants a montré que ces kits peuvent être utilisés dans le diagnostic d'avortement. Ces méthodes sont autorisées^(*) :

- LSI VetMAX™ Screening Pack Real-Time PCR Kit, ruminant abortion", ciblant Salmonella spp., L.monocytogenes, C. burnetii, Leptospirapathogenes, A. phagocytophilum, C. fetus, Chlamydomphila spp., et BHV-4
- LSI VetMAX™ Triplex Coxiella burnetii & Chlamydomphila spp. Real-Time PCR Kit", ciblant C. burnetii et Chlamydia abortus

Méthodes PCR commerciales validées U47-600 ou autorisées pour le diagnostic de la fièvre Q lors d'avortements en élevage de ruminants (PCR quantitative et PCR relative).

Matrices biologiques validées pour le diagnostic d'avortement des ovins, caprins et bovins sont : mucus vaginal, mucus endocervical, cotylédon placentaire prélevé sur écouvillon

| Fournisseur | N° | Kit d'Extraction ADN | Kit PCR | Mode opératoire | Performances validées | | | | | | | Type de PCR (Avortement <i>C. burnetii</i>) | |
|---|----|--|--|--|-----------------------|-------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|--|---|---|
| | | | | | LDPCR | | LQPCR | | PCR : | LD _{méthode} | LQ _{méthode} | | Méthode |
| | | | | | (copies GE/PCR5µL) | (copies GE/mL) | (copies GE/PCR5µL) | copies GE/mL (ou log10/mL) | Exactitude maximale (log10/mL) | (copies GE/mL) | en copies GE/mL (ou log10/mL) | complette : Exactitude maximale (log10/mL) | |
| AB™ by Thermo Fisher Scientific (ex LSIVET) | 1 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | VetMAX™ C.burnetii Absolute Quant Kit (cible: <i>Coxiella burnetii</i>) | Notice MAN0007807 Notice MAN0008765 Recommandations LNR-FQ | 1 | 200 | 1,5 | 300 (2,47) | ±0,25 | 200 | 500 (2,69) | ±0,70 | Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 2 | x manuel: Nucleospin tissue (Macherey Nagel) | | | | | | | | | | | |
| | 3 | x robot: MagVet Universal Isolation kit (LSI) | | | | | | | | | | | |
| Adiagene - Bio-X- Diagnostics | 4 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | ADI143 ADIAVET COXIELLA REAL TIME (cible: <i>C. burnetii</i>) | Notice NF143 | 1,5 | 300 | 2 | 400 (2,60) | ±0,25 | 300 | 500 (2,69) | ±0,70 | Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 5 | x manuel: Nucleospin tissue (Macherey Nagel) | | | | | | | | | | | |
| | 6 | x robot: Billes magnétiques ARN/ADN (Bio-X-Diagnostics)b | | | | | | | | | | | |
| | 7 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | 418025 ADIAVET CHLAMCOX REAL TIME (<i>C. burnetii</i> et <i>Chlamydia abortus</i>) | Notice NF313 | 1,4 | 280 | 2 | 400 (2,60) | ±0,25 | 300 | 500 (2,69) | ±0,70 | Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 8 | x manuel: Nucleospin tissue (Macherey Nagel) | | | | | | | | | | | |
| | 9 | x robot: Billes magnétiques ARN/ADN (Bio-X-Diagnostics) | | | | | | | | | | | |
| BioSellal | 10 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | Bio-T kit <i>Coxiella burnetii</i> BIOTK016 (cible: <i>C. burnetii</i>) | MU/qFQ/00001/FR | 1 | 200 | 1 | 200 (2,30) | ±0,25 | 400 | 500 (2,69) | ±0,70 | Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 11 | x robot: BioExtract SuperBall (BioSellal) | | | | | | | | | | | |
| | 12 | x manuel: BioExtract Column (BioSellal) | | | | | | | | | | | |
| | 13 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | Bio-T kit <i>Coxiella burnetii</i> & <i>Chlamydia abortus</i> BIOTK039 | MU/qFQChab/00001/FR | 1 | 200 | 1 | 200 (2,30) | ±0,25 | 400 | 500 (2,69) | ±0,70 | Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 14 | x robot: BioExtract SuperBall (BioSellal) | | | | | | | | | | | |
| | 15 | x manuel: BioExtract Column (BioSellal) | | | | | | | | | | | |
| AB™ by Thermo Fisher Scientific | 16 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | VetMAX™ Ruminant Abortion Screening Kit | Notice MAN0008871 MAN0008873 (Guide) | | | | | | | | | Autorisé* : Qualitatif, Quantitatif, Relative |
| | 17 | x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen) | VetMAX™ C. burnetii & <i>Chlamydia</i> spp. Kit | Notice MAN0008882 MAN0008884 (Guide) | | | | | | | | | |

A noter que 2 kits PCR ciblant à la fois *Coxiella* et *Chlamydia* ont été validés.