

## Laboratoire National de Référence Fièvre Q

### **Liste des méthodes PCR (temps réel) pour la recherche de Coxiella burnetii pour le diagnostic d'avortement et les recherches d'élevages excréteurs**

## 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 relativement aux besoins).

Les modes opératoires consignés dans les notices sont revues par le LNR et font office de protocole standard officiel. Pour la réalisation des analyses, un MR bactérien commun est fourni par le LNR.

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, et pour le dépistage du statut « fortement excréteur » des élevages dans le cadre d'investigations One Health (NS DGAL/SDSPA/SDSSA/N2010-8262).

## 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	Kit d'Extraction ADN	Kit PCR	Mode opératoire	PCR : Performances validées (Exactitude maximale ±0,25 log10/mL)				Méthode complète : Performances validées (Exactitude maximale définies PCRq ±0,70 log10/mL, PCRr ±2,33 Ct)				Type de PCR							
				LD <sub>PCR</sub> (copies GE/PCRµL)	(copies GE/mL)	LQ <sub>PCR</sub> (copies GE/PCRµL)	copies GE/mL (ou log10/mL)	LD <sub>méthode</sub> (copies GE/mL)	LQ <sub>méthode</sub> en copies GE/mL (ou log10/mL)	Fidélité en PCR relative (Ct) MRSI au seuil 10 <sup>4</sup> GE/mL	MRSI au seuil 10 <sup>3</sup> GE/mL								
AB™ by Thermo Fisher Scientific (LSI S.A.S)	x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen)	VetMAX™ C. burnetii Absolute Quant Kit (FQPAQ) (cible: <i>Coxiella burnetii</i> )	Notice MAN0007807 Notice MAN0008765 Recommandations LNR-FQ	1	200	1,5	300 (2,47)	500	900 (2,95)	±0,35	±1,19	Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative							
	x robot: MagMAX CORE							700	900 (2,95)	±0,90	±0,62								
	x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen)	VetMAX™ Ruminant Abortion Screening Kit (SARP)						Notice MAN0008871 MAN0008873 (Guide complémentaire)	500*	900* (2,95)	±0,35*	±1,19*	Autorisé* : Qualitatif, Quantitatif, Relative						
	x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen)	VetMAX™ C. burnetii & Chlamydia spp. Kit (TFQQCHP)						Notice MAN0008882 MAN0008884 (Guide complémentaire)	500*	900* (2,95)	±0,35*	±1,19*							
Adiagene - Bio-X-Diagnostics	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)	300	500 (2,69)	±0,54	±1,01	Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative							
	x manuel: Nucleospin tissue (Macherey Nagel)							500	750 (2,87)	±1,02	±1,40								
	x robot: Billes magnétiques ARN/ADN (Bio-X-Diagnostics)b							300	500 (2,69)	±0,57	±0,67								
	x manuel: Qiamp DNA mini kit (Qiagen)	418025 ADIAVET CHLAMCOX REAL TIME (C. burnetii et Chlamydia abortus)						Notice NF313	1,4	280	2		400 (2,60)	300	500 (2,69)	±0,31	±0,41		
	x manuel: Nucleospin tissue (Macherey Nagel)													500	750 (2,87)	±1,04	±1,40		
	x robot: Billes magnétiques ARN/ADN (Bio-X-Diagnostics)													400	500 (2,69)	±0,41	non réalisé		
BioSella	x robot: BioExtract SuperBall (BioSella)	Bio-T kit <i>Coxiella burnetii</i> BIOTK016 (cible: <i>C. burnetii</i> )	MU/qFQ/00001/FR	1	200	1	200 (2,30)					400		500 (2,69)	±0,53	non réalisé			
	x manuel: BioExtract Column (BioSella)											600		800 (2,90)	±0,42				
	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)	400	500 (2,69)
	x robot: BioExtract SuperBall (BioSella)							600	800 (2,90)	±0,39									
	x manuel: BioExtract Column (BioSella)							400	500 (2,69)	±0,45	non réalisé								
	x robot: BioExtract Column (BioSella)							600	800 (2,90)	±0,39									
IdVET	x manuel: Spin Universal SPIN50/250 (ID Gene™)	Kit IDQF (ID Gene™ Q Fever Triplex)	Mode d'emploi IDQFCH	2,5	316	2,5	316	500	500 (2,69)	±0,74	±0,59		Validé: Qualitatif, Quantitatif, Relative						
	x robot: Mag Universal Extraction Kit MAG192/384 (ID Gene™)									±0,61	±0,79								
	x robot: Mag Fast Extraction Kit MAGFAST384 (ID Gene™)									±0,57	±0,53								
	x manuel: Spin Universal SPIN50/250 (ID Gene™)	Kit IDQFCH (ID Gene™) Q Fever-Chlamydia spp								Mode d'emploi IDQFCH	2,5	316		2,5	316	500	500 (2,69)	±0,78	±0,67
	x robot: Mag Universal Extraction Kit MAG192/384 (ID Gene™)																	±0,48	±0,80
	x robot: Mag Fast Extraction Kit MAGFAST384 (ID Gene™)																	±0,58	±0,74

Les méthodes PCR sont basées sur 9 kits PCR couplés à des méthodes d'extraction :

- 6 méthodes chez BioSella,
- 6 chez BioX Diagnostics,
- 6 chez IdVet
- 4 chez ThermoFisher (LSI)

A noter que 3 kits PCR ciblant à la fois *Coxiella* et *Chlamydia* ont été validés. Les kits Adiagene sont aussi validés pour les matrices lait et fèces.

Pour le fabricant ThermoFisher, le dossier de validation a été actualisé :

- nouvelle méthode d'extraction MagMAXCore validée

(autorisée à temps pour les participants de l'EILA PCR *Coxiella* en septembre 2021)

- suppression des méthodes d'extraction Nucleospin Tissue (Macherey) et MagVet

Les dossiers de validation des fabricants comme les attestations du LNR peuvent être demandées par tout utilisateur.