

Monoscreen AbELISA Rotavirus bovin

Référence : BIO K 126

Test ELISA pour le diagnostic sérologique du rotavirus bovin

Monocupule, test de compétition

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce	Dilution
Sérum	Bovin	20x

Présentation

Référence produit	BIO K 126/2
Format	2 plaques, barrette de 8 puits
Réactions	192 tests

Composition du kit

Matériel fourni	BIO K 126/2
Microplaque	2
Solution de lavage (20X)	1 X 100 mL
Solution de dilution colorée (1X)	1 X 100 mL
Conjugué (50X)	1 X 0,55 mL
Contrôle positif	1 X 0,5 mL
Contrôle négatif	1 X 0,5 mL
Solution de TMB monocomposant (1X)	1 X 25 mL
Solution d'arrêt (1X)	1 X 15 mL

Historique de révision

Date	Version	Modifications
27/03/2023	V04	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice Suppression des matrices colostrum et lait Modification de la dilution du conjugué

Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

A. Introduction

La diarrhée est une des causes majeures de mortalité chez les jeunes veaux de moins d'un mois. Depuis la découverte en 1969 par Mebus que des virus pouvaient être détectés dans des selles de veaux souffrant de diarrhée, il a été prouvé que le **rotavirus** pouvait infecter le veau et être responsable de diarrhées parfois sévères.

Le rotavirus est un des agents le plus fréquemment associé aux problèmes de gastroentérite chez le jeune veau. Le rotavirus est ubiquiste et de ce fait, la majorité des animaux provenant d'exploitations pratiquant une politique d'élevage intensif possèdent des anticorps spécifiques de ce pathogène. Les anticorps produits par la vache suite à des immunisations naturelles ou par la vaccination sont transmis à la naissance au veau via le colostrum.

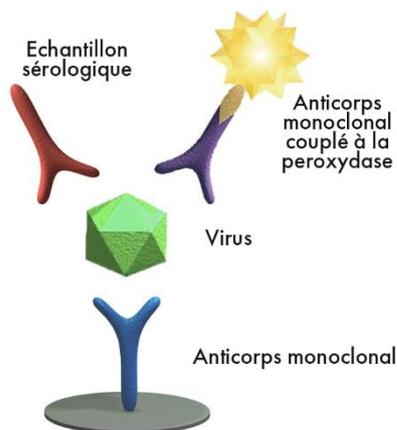
Il arrive fréquemment que la transmission des immunoglobulines colostrales au veau ne s'effectue pas correctement (colostrum de mauvaise qualité, administration trop tardive, quantité trop faible, mammite avant vêlage etc...) et de ce fait, la protection du veau est insuffisante.

La trousse sérologique Rotavirus permet de mesurer le taux de protection spécifique du jeune veau vis-à-vis du rotavirus. Pour cela, il convient de prélever un échantillon sérique dans les premiers jours qui suivent la naissance lorsque le veau est toujours sous protection colostrale et avant qu'il n'ait pu développer une immunité active contre le virus. D'autre part il faudra attendre au moins 24 heures après la première prise de colostrum, avant de réaliser la prise de sang de contrôle pour que la résorption intestinale des immunoglobulines ait pu se dérouler. La trousse peut également être utilisée pour tester l'efficacité de préparations vaccinales.

B. Principe du test

Le test utilise des plaques de microtitration à 96 puits sensibilisés par un anticorps monoclonal spécifique du rotavirus. Cet anticorps a permis de capturer le rotavirus afin de le présenter pour le test de compétition. Les sérums sont dilués dans le tampon de dilution et distribués en même temps que le conjugué (anticorps monoclonal spécifique du rotavirus couplé à la peroxydase). A l'issue d'une incubation de 60 minutes à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ et d'un lavage, on ajoute la solution de révélation (TMB Monocomposant). L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration en immunoglobulines de l'échantillon. La lecture est réalisée à 450 nm.

Ce chromogène a l'avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes à peroxydase et de ne pas être cancérigène. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle au titre sérique de l'échantillon. Des sérums de contrôle positifs et négatifs sont fournis avec le kit afin de pouvoir valider les résultats du test.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée.
- Pipette mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20 μL , 20-200 μL et 100-1000 μL) et embouts à usage unique.
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm).
- Laveur de microplaques.
- Incubateur à $21 \pm 3^\circ\text{C}$.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs entre $+2$ et $+8^\circ\text{C}$.
- Les barrettes non utilisées sont conservées dans l'enveloppe d'aluminium fermée hermétiquement avec son dessiccant.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de validité.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres trousse.
- Veiller à utiliser de l'eau distillée/déminéralisée.
- La solution d'arrêt est de l'acide phosphorique 1 M. Manipuler ce produit avec prudence.
- Éliminer le matériel utilisé en respectant la législation en vigueur en matière de protection de l'environnement et de gestion des déchets biologiques.
- Conserver la solution de TMB à l'abri de la lumière.

E. Préparation des solutions

- Les solutions sont à préparer extemporanément.
- La solution de lavage est à diluer 20 fois dans de l'eau distillée/déminéralisée. La solution cristallise spontanément à froid. Amener le flacon à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ de façon que tous les cristaux disparaissent ; bien mélanger la solution et en prélever le volume nécessaire.
- La solution de dilution est prête à l'emploi. Le tampon de dilution est coloré en jaune. Il est utilisé pour la dilution des échantillons, des sérums positif et négatif et du conjugué.
- Le conjugué est à diluer 50 fois dans le tampon de dilution.
- La solution d'arrêt est prête à l'emploi.
- La solution de TMB est prête à l'emploi. Elle doit être parfaitement incolore.

F. Préparation des échantillons

- Les échantillons de **sérum** et les contrôles du kit (positif et négatif) doivent être dilués **20 fois** dans la solution de dilution et homogénéisés. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée :

10 μL d'échantillon + 190 μL de solution de dilution.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

1. Distribuer les échantillons dilués et les contrôles dilués du kit à raison de 100 μL par puits.

Ajouter rapidement 100 μL de conjugué dilué par puits.
Homogénéiser les échantillons/contrôles et le conjugué par aspiration/refoulement.

Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 60 ± 5 min.

2. Eliminer le contenu de la microplaque. Laver 3 fois la microplaque avec 300 μL de solution de lavage par puits. Eviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
3. Distribuer 100 μL de la solution de TMB par puits. Incuber à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 10 ± 1 min à l'abri de la lumière, sans couvrir.
4. Distribuer la solution d'arrêt à raison de 50 μL par puits. La couleur passe de bleu à jaune.
5. Enregistrer les densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre pour plaques en utilisant un filtre de 450 nm dans les 5 minutes après l'ajout de la solution d'arrêt.

H. Validation des résultats

Le test ne peut être validé que si :

- La différence entre les lectures de densité optique du contrôle positif et du contrôle négatif est supérieure à 0,700.

$$DO_{\text{contrôle négatif}} - DO_{\text{contrôle positif}} > 0,700$$

- Le pourcentage d'inhibition (%inh) du contrôle positif est supérieur à 50%.

$$\%inh_{\text{contrôle positif}} > 50\%$$

I. Interprétation des résultats

Calculer pour chaque échantillon son pourcentage d'inhibition (%inh) au moyen de la formule suivante :

$$\% inh = \frac{DO_{\text{contrôle négatif}} - DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{contrôle négatif}}} * 100$$

	Résultats	Statut
Echantillon	%inh < 20%	Négatif
	%inh \geq 20 %	Positif

Obtenez rapidement et facilement l'interprétation de vos résultats grâce à notre plateforme en ligne gratuite **AnalysiScreen** disponible sur notre site web : <https://www.biox.com>

ANALYSISCREEN

AnalysiScreen™ est le nouveau module de lecture et d'interprétation de tous les types de plaques ELISA Monoscreen™ et Multiscreen™. AnalysiScreen™ est :

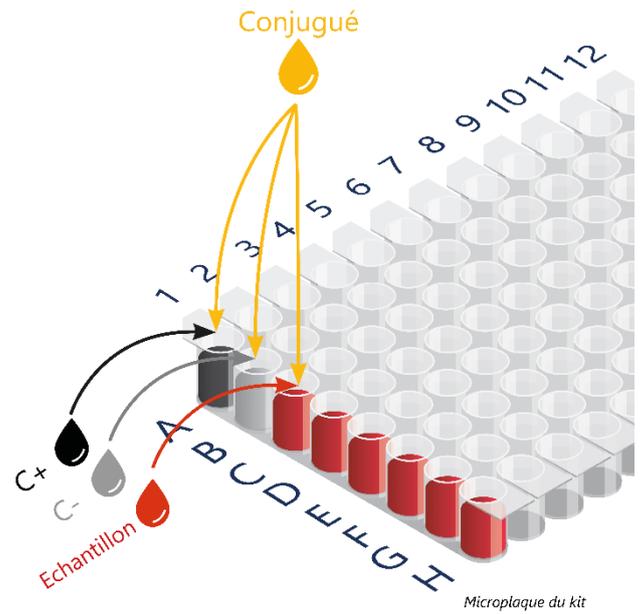
- Gratuit
- Accessible en ligne via notre site internet : <https://www.biox.com>
- Mis à jour en temps réel
- Compatible avec tous les designs de plaques Bio-X Diagnostics
- Très simple d'emploi



 SCAN ME

Notes*

- 1 Distribuer 100µL des échantillons dilués (1/20) et 100µL des contrôles dilués (1/20)
+
Ajouter rapidement 100 µL de conjugué dilué

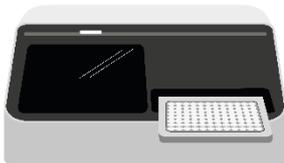


- 2 Ajouter 100 µL de TMB



- 3 Ajouter 50 µL de solution d'arrêt

- 4 Enregistrer les densités optiques



* Les notes ne se substituent pas au mode d'emploi dont elles sont une synthèse.