



MONOSCREEN^{Ab} ELISA

Notice d'utilisation
BIOK222-Epsilon toxine_NO_(FR)_V03
05/06/2024

Monoscreen AbELISA Clostridium perfringens toxine Epsilon

Référence : BIO K 222

Test ELISA sérologique pour le dosage des anticorps spécifiques de la toxine Epsilon de *Clostridium perfringens*
Monocupule, test de blocage

Usage in vitro et strictement vétérinaire



Echantillon / Dilution	Toutes espèces
Sérum – Plasma* / 2X	✓

*Par la suite, on retiendra la dénomination sérum.

Présentation

Référence produit	BIO K 222/2
Format	2 plaques, barrettes de 8 puits
Réactions	192 tests

Composition du kit

Matériel fourni		BIO K 222/2
Microplate	Microplaques	2
Washing solution	Solution de lavage (20X)	1 x 100 mL
Dilution solution	Solution de dilution colorée (1X)	1 x 60 mL
TMB solution	Solution de TMB Monocomposant (1X)	1 x 25 mL
Stop solution	Solution d'arrêt (1X)	1 x 15 mL
Conjugate	Conjugué (20X)	1 x 1,25 mL
CTL POS	Contrôle positif	1 x 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	1 x 0,5 mL

Historique de révision

Date	Version	Modifications
05/06/2024	V03	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice

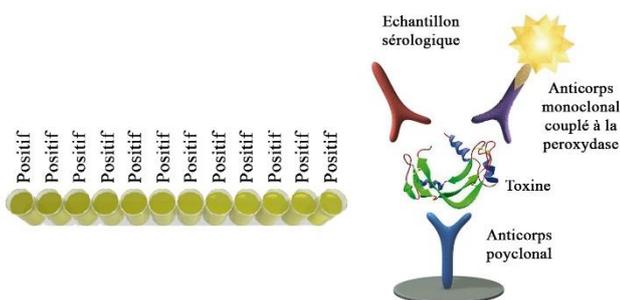
Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions

A. Introduction

L'entérototoxicité est une affection intestinale qui peut toucher toutes les espèces animales domestiques. Elle est causée par une bactérie, *Clostridium perfringens* qui produit certaines toxines. Cette bactérie à coloration de Gram positive est anaérobie et elle peut former des endospores très résistantes à la température. La bactérie est subdivisée en 5 types (types A, B, C, D et E) sur base de sa capacité à produire ou non les 4 toxines létales majeures (Alpha, Bêta, Epsilon ou Iota). *Clostridium perfringens* peut causer chez l'homme des gangrènes gazeuses (myonécrose clostridienne), des intoxications d'origine alimentaire ou des entérocolites nécrosantes chez l'enfant. La bactérie est aussi l'agent causal du pigbell, une pathologie digestive qui touche les populations de Papouasie. *Clostridium perfringens* est l'agent responsable de la dysenterie de l'agneau, de l'entérototoxicité ovine (struck) et de la maladie du rein pulpeux du mouton. Elle est également l'agent causal de l'entérototoxicité du veau ou de l'agneau. En règle générale, on peut retrouver de grandes quantités de bactéries et de toxines bactériennes dans le fluide intestinal des animaux décédés d'entérototoxicité. Comme *Clostridium perfringens* est un commensal de l'intestin des humains et des animaux, l'identification seule de la bactérie dans le contenu intestinal est insuffisante pour poser un diagnostic étiologique. Il est en effet nécessaire de déterminer le toxinotype de la bactérie isolée et de quantifier *Clostridium perfringens* au sein du liquide intestinal. La trousse BIO K 222 est préparée pour suivre le statut sérologique des animaux après vaccination ou lors d'un contact naturel avec la bactérie. Comme il s'agit d'un test de blocage, il peut être utilisé chez toutes les espèces animales.

B. Principe du test

La microplaque à 96 puits a été sensibilisée par un anticorps polyclonal spécifique de la toxine Epsilon de *Clostridium perfringens*. Puis coâtée avec la toxine Epsilon de *Clostridium perfringens*. L'utilisateur de la trousse dépose dans les cupules de la microplaque les sérums et les plasmas à tester, préalablement dilués. Après une incubation de 2 heures et une étape de rinçage, il ajoute le conjugué, un anticorps monoclonal spécifique de la toxine Epsilon de *Clostridium perfringens* couplé à la peroxydase. Après incubation et lavage de la préparation, il ajoute la solution de révélation (TMB Monocomposant). Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérigène. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle au titre sérique de l'échantillon. Des contrôles positif et négatif sont fournis avec la trousse de façon à pouvoir établir la validité des résultats obtenus.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée.
- Microplaques de dilution.
- Pipette mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20 µL, 20-200 µL et 100-1000 µL) et embouts à usage unique.
- Lecteur de microplaques (filtre 450nm).
- Laveur de microplaques.
- Incubateur à 21±3°C.
- Incubateur à 37±2°C.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, béchers, tubes, portoirs...

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs entre +2 et +8°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±3°C de façon à ce que tous les cristaux disparaissent ; bien mélanger la solution et en prélever le volume nécessaire.
- La solution de dilution est prête à l'emploi. La solution de dilution est colorée en jaune. Elle est utilisée pour la dilution des échantillons, des contrôles du kit, et du conjugué.
- Le conjugué est à diluer 20 fois dans la solution 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. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21±3°C avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

1. Distribuer la solution de dilution à raison de 50 µL par puits. Ajouter les échantillons de sérums, le contrôle positif et le contrôle négatif à raison de 50 µL par puits. Homogénéiser par aspiration/refoulement.

Couvrir et incuber la plaque à **37±2°C** pendant **120±5min**

N.B. : Pour éviter les différences de temps d'incubation entre échantillons, il est possible de préparer les dilutions des échantillons, des contrôles positif et négatif dans une microplaque de dilution (dilution recommandée : 60 µL de solution de dilution + 60 µL d'échantillon) avant leur transfert (**100 µL**) dans la microplaque test à l'aide d'une pipette multicanaux.

2. Éliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Éviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
3. Distribuer le **conjugué dilué** à raison de **100 µL** par puits. Couvrir et incuber à **37±2°C** pendant **30±2min**.
4. Éliminer le contenu de la microplaque. **Laver 3 fois** la microplaque avec **300 µL** de solution de lavage par puits. Éviter la formation de bulles dans les cupules entre chaque lavage.
5. Distribuer **100 µL** de la solution de **TMB** par puits. Incuber à **21±3°C** pendant **10±1min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
6. Distribuer la **solution d'arrêt** à raison de **50 µL** par puits. La couleur passe de bleu à jaune.
7. Enregistrer les densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre pour plaques en utilisant un filtre de **450nm** dans les **5 minutes** après l'ajout de la solution d'arrêt.

G. Validation des résultats

Le test ne peut être **validé** que si les deux conditions suivantes sont remplies :

- DO nég – DO pos > 0,7
- % inh positif > 30%

H. Interprétation des résultats

Mesurer les **densités optiques** des contrôles positif et négatif (DO pos et DO nég) ainsi que celles de tous les échantillons (DO échantillons).

Pour chaque échantillon testé et pour le contrôle positif, **calculer le pourcentage d'inhibition (% inh)** en appliquant les formules suivantes :

$$\% \text{ inh échantillon} = \frac{\text{DO nég} - \text{DO échantillon}}{\text{DO nég}} \times 100$$

$$\% \text{ inh positif} = \frac{\text{DO nég} - \text{DO pos}}{\text{DO nég}} \times 100$$

Déterminer le niveau de positivité des échantillons en utilisant l'échelle reprise dans le tableau ci-dessous :

Valeur calculée	Niveau de positivité
% inh < 20	0
20 ≤ % inh < 40	+
40 ≤ % inh < 60	++
60 ≤ % inh < 80	+++
80 ≤ % inh	++++

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>



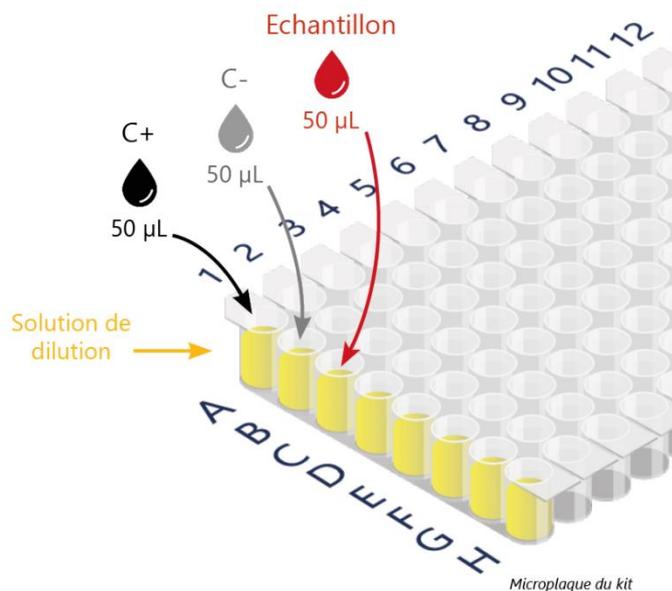
AnalysiScreen™ est le nouveau module de lecture et d'interprétation de tous les types de plaques ELISA Monoscreen™ et Multiscreen™. AnalysiScreen™ est :

- 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

- 1 Distribuer 50 μ L de solution de dilution
+
Ajouter 50 μ L d'échantillons et 50 μ L de contrôles



- 2 Ajouter 100 μ L de conjugué



- 3 Ajouter 100 μ L de TMB



- 4 Ajouter 50 μ L de solution d'arrêt

- 5 Enregistrer les densités optiques

450 nm



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