



MULTISCREEN[®] Ag ELISA

Notice d'utilisation
BIOK151-Easy-Digest4_NO_(FR)_V03
24/09/2024

Multiscreen AgELISA Easy Digest 4

Référence : BIO K 151

Test ELISA pour le diagnostic antigénique du Rotavirus, Coronavirus, du Facteur d'attachement F5 du colibacille et de *Cryptosporidium parvum*

Monocouple, sandwich

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon / Dilution	Bovin
Fèces / 2X	✓

Présentation

Référence produit	BIO K 151/1	BIO K 151/2
Format	1 plaque, barrettes de 8 puits Barrettes sécables en puits individuels	2 plaques, barrettes de 8 puits Barrettes sécables en puits individuels
Réactions	96 tests	192 tests

Composition du kit

	Matériel fourni	BIO K 151/1	BIO K 151/2
Microplate	Microplaques	1	2
Washing solution	Solution de lavage (20X)	1 X 100 mL	1 X 100 mL
Dilution solution	Solution de dilution colorée (5X)	1 X 50 mL	1 X 50 mL
Conjugate	Conjugués (1X)	4 X 12 mL	4 X 12 mL
CTL POS	Contrôle positif (1X)	1 X 3 mL	1 X 3 mL
CTL NEG	Contrôle négatif (1X)	1 X 3 mL	1 X 3 mL
TMB solution	Solution de TMB monocomposant (1X)	1 X 12 mL	1 X 25 mL
Stop solution	Solution d'arrêt (1X)	1 X 6 mL	1 X 15 mL

Historique de révision

Date	Version	Modifications
24/09/2024	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

La diarrhée est une des causes majeures de mortalité chez les jeunes veaux de moins d'un mois. La gastroentérite néonatale est souvent plurifactorielle chez le bovin. Elle peut être la conséquence d'une infection par virus (Corona et Rotavirus), bactéries (Salmonella, Colibacille entérotoxigène) ou protozoaires (*Cryptosporidium parvum*). Le diagnostic des causes de diarrhée passe obligatoirement par des tests de laboratoire car il n'est pas possible d'identifier l'agent causal sur base des signes cliniques. La technique ELISA est de mise en œuvre facile, demande peu de moyens et se prête particulièrement bien à l'analyse d'un grand nombre d'échantillons. Le test est rapide, fiable et peut être évalué directement à l'œil si un équipement spectrophotométrique n'est pas disponible.

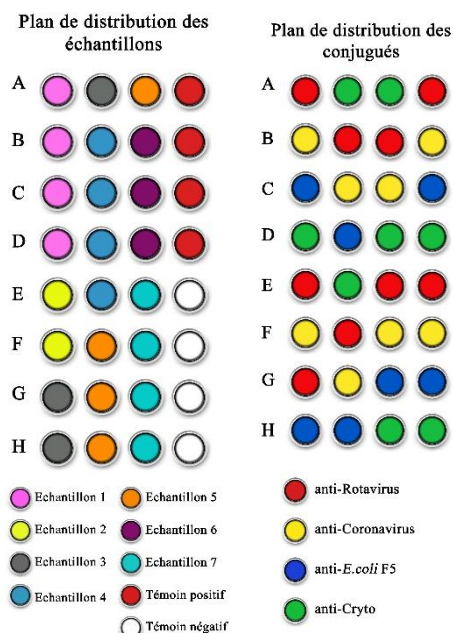
B. Principe du test

L'entière du de la microplaque du test est sensibilisée avec un mélange d'anticorps spécifiques des 4 agents pathogènes (voir le schéma de la dernière page). Les anticorps assurent la capture des agents pathogènes à partir de l'échantillon. Les matières fécales sont diluées dans la solution de dilution et incubées durant une demi-heure sur la microplaque. On ajoute sur la microplaque un contrôle positif et un contrôle négatif.

Après incubation et lavage de la préparation, les conjugués prêts à l'emploi sont distribués sur la plaque. Le choix du ou des conjugués est laissé à l'utilisateur du test.

Le schéma ci-dessous présente un exemple de plan de distribution des échantillons et des conjugués.

A l'issue d'une seconde incubation d'une demi-heure à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ et d'un second lavage, on ajoute le chromogène, la tétraméthylbenzidine (TMB). Ce chromogène présente le double avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes de la peroxydase et de ne pas être cancérigène. En cas de présence d'un ou de plusieurs des agents pathogènes recherchés dans l'échantillon, le ou les conjugués correspondants restent fixés dans les cupules et l'enzyme catalyse la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur en agent pathogène de l'échantillon.



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) avec embouts à usage unique et réservoirs à réactifs.
- Lecteur de microplaques (filtre 450 nm).
- Laveur de microplaques (facultatif).
- Microplaque de dilution (facultatif).

- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...
- Incubateur à $21 \pm 3^\circ\text{C}$.

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 trousses.
- 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 à ce que tous les cristaux disparaissent ; bien mélanger la solution et en prélever le volume nécessaire.
- La solution de dilution est à diluer 5 fois dans de l'eau distillée/déminéralisée.
- Les conjugués sont prêts à l'emploi.
- 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 fèces sont à diluer au demi dans la solution de dilution.

N.B : Si la consistance de l'échantillon rend l'homogénéisation difficile, ajouter des billes de verre dans le récipient et déliter la selle en agitant vigoureusement l'ensemble. Ne pas centrifuger.

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 du kit **prêt à l'emploi** à raison de **100 μL par puits**. Couvrir et incubé la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **30 ± 2 min**.

N.B : Le plan de distribution des échantillons sur la microplaque est établi par l'utilisateur en fonction du nombre de matières fécales à tester et des valences sélectionnées pour chaque échantillon. Pour les témoins, distribuez un puits par valence testée.

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. Distribuez les **conjugués** à raison de **100 μL par puits**. Couvrir et incubé la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **30 ± 2 min**.
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 $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **10 ± 1 min** 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 **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 les antigènes positifs de contrôle fournissent une différence de densité optique en 10 minutes supérieure aux valeurs suivantes :

Rotavirus	>1,000
Coronavirus	>1,000
<i>E. coli</i> F5	>1,000
<i>Cryptosporidium parvum</i>	>1,000

I. Interprétation des résultats

Calculer pour chaque échantillon la densité optique nette en déduisant de chaque résultat obtenu, la densité optique du contrôle négatif correspondant.

Procéder à la même opération pour les contrôles positifs.

Diviser chaque valeur obtenue par la valeur fournie avec le contrôle positif correspondant et multiplier ce résultat par 100 pour l'exprimer sous la forme d'un pourcentage.

$$\text{Val(eur)} = \frac{\text{Delta DO échantillon}}{\text{Delta DO positif}} * 100$$

En utilisant le premier tableau repris ci-dessous, déterminer le statut des échantillons (positif ou négatif) :

Rotavirus	Val ≥ 6%
Coronavirus	Val ≥ 7%
<i>E. coli</i> F5	Val ≥ 6%
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Val ≥ 6%

Tout échantillon donnant un résultat supérieur ou égal aux pourcentages ci-dessus est considéré comme positif pour la valence considérée.

À l'opposé, tout échantillon donnant un résultat inférieur aux pourcentages ci-dessus est considéré comme négatif pour la valence considérée.

Si on réalise une interprétation visuelle des résultats (lecture dans le bleu), considérer comme positifs les échantillons qui produisent une coloration bleue supérieure à la coloration de la cupule du témoin négatif correspondante.

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 BioX Diagnostics
- Très simple d'emploi



SCAN ME

