

MONOSCREEN[®] Quant ELISA

BIO K 420 NO (FR) V1.2
15-07-2020

MonoScreen QuantELISA Immunoglobuline Easy

BIO K 420

Test ELISA de compétition pour le dosage des immunoglobines

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Bovin*	Equin*	Porcin
Sérums sanguins et plasma	✓	✓	-
Colostrum	✓	-	✓

* animal < 15 jours

Pour commander

Référence produits	BIO K 420/1
Format	1 plaque, barettes de 12X8 puits
Réactions	96

Composition du kit

	BIO K 420/1
Microplaques	1
Solution de lavage (20X)	1 X 100ml
Tampon de dilution coloré (1X)	1 X 30ml
Conjugué (50X)	1 X 0,3ml
Standard	1 X 0,35ml
Solution de TMB mono-composant (1X)	1 X 12ml
Solution d'arrêt (1X)	1 X 6ml

Historique de révision

23/06/2020 - V1.1	Mise en forme du texte
15/07/2020 - V1.2	Ajout d'équations (chapitre I) et mise en forme des Notes

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



Bio-X Diagnostics is ISO 9001
certified to assure the best to its customers

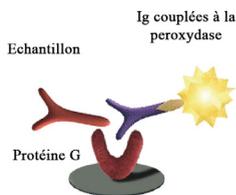
Bio-X Diagnostics - 38, Rue de la Calestienne (PAE) - 5580 Rochefort - Belgique
Tél : 0032(0)84.32.23.77 - Fax : 0032(0)84.31.52.63
www.biox.com - E-mail : infos@biox.com

A. Introduction

L'immunité d'origine colostrale est un facteur important de survie chez les jeunes animaux. Elle est conditionnée par 3 facteurs : la qualité du colostrum (concentration en immunoglobulines), la quantité distribuée et la précocité de la distribution après la naissance. La trousse ELISA de Bio-X Diagnostics permet de doser les immunoglobulines dans le colostrum (bovin et porcin) ou dans le sérum sanguin (bovin et équin).

B. Principe du test

Les microplaques ont été sensibilisées par de la protéine G spécifique des immunoglobulines. Les échantillons et le standard sont distribués en même temps que le conjugué dans les cupules de la microplaque. Après incubation et lavage de la préparation, la solution de révélation (TMB monocomposant) est ajoutée. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration en immunoglobulines de l'échantillon. La lecture est réalisée à 450 nm.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fourni

- Eau distillée/déminéralisée
- Pipette mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20µl, 20-200µl et 100-1000µl) et embouts à usage unique
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm)
- Laveur et agitateur de microplaques (facultatif)
- Microplaque de dilution
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs entre +2 et +8°C. La solution de lavage peut être conservée à température ambiante.
- 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 la qualité de l'eau utilisée.
- 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

- 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°C +/- 3°C de façon à ce que tous les cristaux disparaissent ; bien mélanger la solution et en prélever le volume nécessaire.
- Le tampon de dilution est prêt à l'emploi. Le tampon de dilution est coloré en jaune.
- 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. Si une coloration bleue devait être visible, cela indiquerait une contamination de la solution ou de la pipette.

F. Préparation des échantillons

Préparer les dilutions des échantillons et le standard en tampon PBS en utilisant le tableau ci-dessous. La précision du dosage dépend en grande partie des étapes de dilutions.

Matrice	Dilution finale	Plan de dilution conseillé			
		Dilution individuelle	Nombre de tubes	Volumes à transférer	Volume de PBS par tube
Standard	500	22,4	2	25 µl	535 µl
Sérum veau <15 jours	100	10	2	50 µl	450 µl
Colostrum bovin	1000	31,6	2	25 µl	765 µl
Sérum bovin adultes	500	22,4	2	25 µl	535 µl
Colostrum porcin	1000	31,6	2	25 µl	765 µl
Sérum poulain <15 jours	400	20	2	25 µl	475 µl

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21°C +/- 3°C avant utilisation.
 - Lire attentivement les points précédents.
1. Dans une microplaque de dilution, distribuer **2 fois le standard dilué** à raison de **100 µl par puits**. Distribuer les dilutions des échantillons à raison de **100 µl par puits**.
 2. Ajouter **100 µl de conjugué** dilué par puits dans la microplaque de dilution. Éviter de toucher les échantillons dans les puits avec les micropointes durant l'ajout du conjugué.
 3. Bien agiter la microplaque de dilution.
 4. Transférer **100 µl** de la microplaque de dilution dans la microplaque de la trousse en utilisant une pipette multicanaux. Bien veiller à changer de pointes entre deux rangées d'échantillons.
 5. Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** durant **60 ± 5 min**.
 6. 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 et le dessèchement de la microplaque entre chaque lavage.
 7. Distribuer **100 µl de la solution de TMB** par puits.
 8. Incuber **10 ± 1 min** à **21 ± 3°C** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
 9. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **50 µl par puits**. La couleur passe de bleu à jaune.
 10. 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 valeur moyenne de densité optique (DO) du Standard est supérieure à 0,800 et inférieure à 1,600.
- L'écart de densité optique (DO) entre les deux standards est inférieur à 0,250.

I. Interprétation des résultats

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

AnalysisScreen calculera vos résultats grâce aux standards de la trousse et aux courbes de calibration pré-calculées internes à la plateforme.



Pour calculer sans AnalysisScreen les concentrations en immunoglobulines des échantillons :

1. Calculer pour chaque échantillon son coefficient en appliquant la formule suivante :

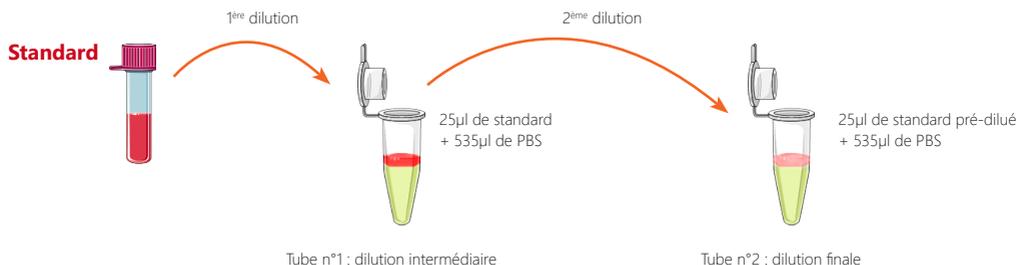
$$Y = \text{Coeff. éch.} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{moyenne standard}}}$$

2. Calculer ensuite la concentration de chaque échantillon à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Concentration (mg/ml)} = c * \left(\frac{a-d}{Y-d} - 1 \right)^{\frac{1}{b}} * \frac{\text{dilution}}{1.000.000}$$

Vous trouverez les paramètres a , b , c et d dans le certificat d'analyse fourni.

Exemple de préparation conseillée



Dilution des échantillons
2X Dilution du standard 1/500



Ajouter 100 µl d'échantillon + 100 µl de conjugué dans la **microplaque de dilution**



Transférer 100 µl du mélange de la **microplaque de dilution** dans la **microplaque du kit**



Ajouter 100 µl de TMB



Ajouter 50 µl de solution d'arrêt



Enregistrer les densités optiques

