



MONOSCREEN[®] Ab ELISA

Notice d'utilisation
BIO K 451-Neo-Easy_NO_(FR)_V04
26/11/2024

Monoscreen AbELISA Neospora caninum Easy

Référence : BIO K 451

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de la néosporose bovine

Monocupule, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce
Sérum sanguin	Bovin
Lait individuel (écrémé* et non écrémé)	Bovin

* centrifugation 20 min. 4000 g

Présentation

Référence produit	BIO K 451/5
Format	5 plaques, barrette de 8 puits
Réactions	480 tests

Composition du kit

Matériel fourni		BIO K 451/5
Microplate	Microplaque	5
Washing solution	Solution de lavage (20X)	1 X 250 mL
Dilution solution	Solution de dilution colorée (1X)	2 X 100 mL
Conjugate	Conjugué (50X)	1 X 1,5 mL
CTL POS serum	Contrôle positif sérum (bouchon noir)	1 X 0,5 mL
CTL POS milk	Contrôle positif lait (bouchon jaune)	1 X 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	1 X 0,5 mL
Tracer	Traceur	1 X 0,5 mL
TMB solution	Solution de TMB mono-composant (1X)	1 X 55 mL
Stop solution	Solution d'arrêt (1X)	1 X 55 mL

Historique de révision

Date	Version	Modifications
31/08/2022	V02	Suppression du BIO K 451/2
13/09/2022	V03	Modification des noms de référence
26/11/2024	V04	Modification du volume des conjugués et de la solution d'arrêt

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

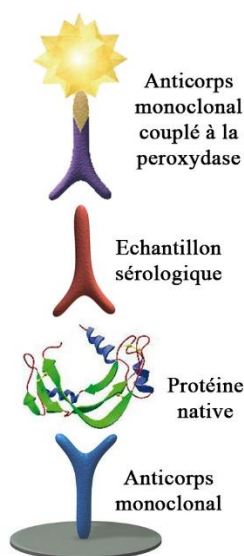
A. Introduction

Neospora caninum est un protozoaire décrit dans un premier temps comme un parasite du chien chez qui il est responsable de myosites et d'encéphalites. La néosporose bovine est maintenant reconnue comme une cause d'avortement importante chez les bovins. Elle est fortement suspectée dans 20 % des élevages à avortements répétés et une vache séropositive vis-à-vis de *Neospora caninum* a 3 fois plus de risque d'avorter qu'une vache séronégative. La transmission verticale est de règle (au minimum 80 % des veaux issus de vaches séropositives sont contaminés).

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique d'une protéine de *Neospora caninum*. L'anticorps assure la capture et la purification de cette protéine à partir d'un lysat du protozoaire.

Les sérums sanguins et les laits sont dilués dans la solution de dilution. Après incubation et lavage de la préparation, on ajoute le conjugué, un anticorps monoclonal spécifique des IgG1 bovines couplé à la peroxydase. A l'issue d'une seconde incubation de 30 minutes à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ et d'un second lavage, on ajoute la solution de révélation (TMB Monocomposant). En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques de *Neospora caninum* dans le sérum ou le lait, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant le protozoaire et l'enzyme catalyse la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la teneur en anticorps spécifiques présents dans 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) et embouts à usage unique.
- Laveur de microplaque (facultatif).
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm)
- Incubateur à $21 \pm 3^\circ\text{C}$
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, portoir, couvercle, ...
- Microplaque de dilution

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 sorte 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 positif et négatif, du traceur et du conjugué.
- Le conjugué est à diluer 50 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 $21 \pm 3^\circ\text{C}$ avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

N.B. : Pour éviter les différences de temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer les dilutions des échantillons et les dilutions des contrôles dans une microplaque de dilution avant leur transfert (200 μL) dans la microplaque test à l'aide d'une pipette multicanaux.

Protocole sérum (dilution 1/20)

1. Distribuer la solution de dilution à raison de 190 μL par puits. Ajouter les échantillons de sérums et les contrôles à raison de 10 μL par puits. Homogénéiser par aspiration/refoulement.
2. Couvrir et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 30 ± 3 min
3. 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.
4. Ajouter **100 μL de conjugué dilué** par puits. Couvrir et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 30 ± 3 min.

Protocole lait (dilution 1/4)

1. Pour le lait (dilution 1/4) : distribuer la solution de dilution à raison de 150 μL par puits. Ajouter les échantillons à raison de 50 μL par puits. Homogénéiser par aspiration/refoulement.
Pour les contrôles (dilution 1/20) : distribuer la solution de dilution à raison de 190 μL par puits. Ajouter les contrôles à raison de 10 μL par puits. Homogénéiser par aspiration/refoulement.
2. Couvrir et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 60 ± 5 min.
3. 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.
4. Ajouter **100 μL de conjugué dilué** par puits. Couvrir et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 60 ± 5 min.

Protocole commun

1. 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.
2. Distribuer **100 µL de la solution de TMB** par puits.
3. Incuber à **21 ± 3°C** pendant **10 ± 1 min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
4. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **100 µL par puits**. La couleur passe de bleu à jaune.
Conseil : Tapoter légèrement le cadre de la plaque pour une bonne homogénéisation après l'ajout de la solution d'arrêt.
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.

G. Validation des résultats

Le test ne peut être **validé** que si :

- La différence entre les lectures de densité optique du contrôle positif (sérum et/ou lait) et du contrôle négatif est supérieure à 0,450.

$$DO_{\text{contrôle positif (sérum et/ou lait)}} - DO_{\text{contrôle négatif}} > 0,450$$

- Le contrôle négatif donne une densité optique inférieure à 0,400.

$$DO_{\text{contrôle négatif}} < 0,400$$

H. Interprétation des résultats

Calculer pour chaque échantillon son coefficient (E/P %) au moyen de la formule suivante :

$$E/P (\%) = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{contrôle négatif}}}{DO_{\text{contrôle positif (sérum ou lait)}} - DO_{\text{contrôle négatif}}} * 100$$

		Résultats	Statut
IgG1	Sérum	E/P % < 70 %	Négatif
		E/P % ≥ 70 %	Positif
	Lait	E/P % < 50 %	Négatif
		E/P % ≥ 50 %	Positif

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

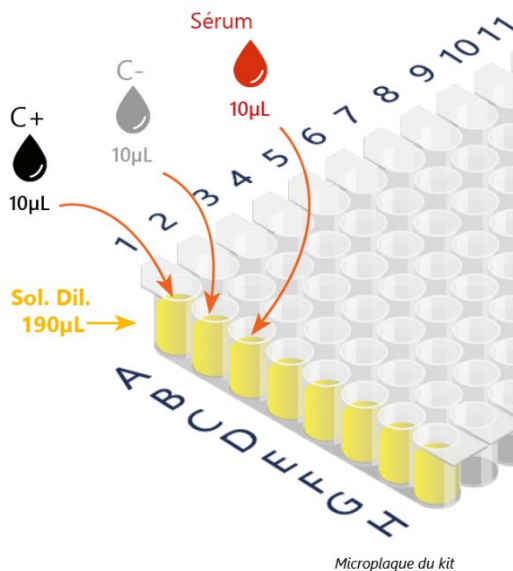
- Gratuit
- Accessible en ligne via notre site internet : <https://www.biox.com>
- Mis à jour en temps réel
- Compatible avec tous les designs de plaques Bio-X Diagnostics
- Très simple d'emploi



SCAN ME

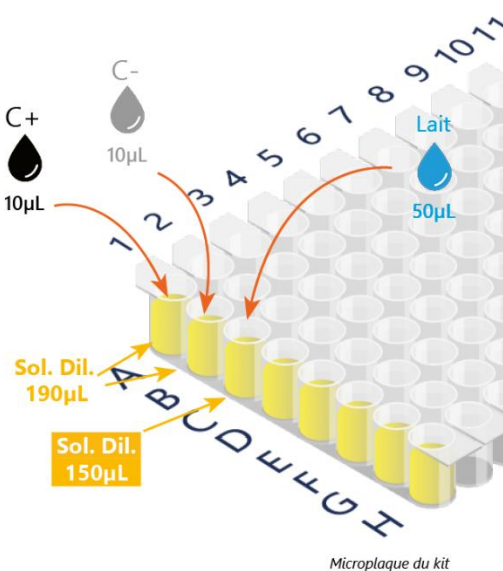
Protocole sérum

- 1 Dilution des échantillons 1/20
Dilution des C+ sérum et C- 1/20



Protocole lait

- 1 Dilution des échantillons 1/4
Dilution des C+ lait et C- 1/20



- 2 Ajouter 100 µL de conjugué



- 2 Ajouter 100 µL de conjugué



Protocole commun

- 3 Ajouter 100 µL de TMB



- 4 Ajouter 100 µL 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.