

MonoScreen AbELISA *Neospora caninum* EASY

Référence : BIO K 451

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de la néosporose bovine

Monocouple, 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

Pour commander

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

Composition du kit

	BIO K 451/5
Microplaque	5
Solution de lavage (20X)	1 X 250 ml
Tampon de dilution coloré (1X)	2 X 100 ml
Conjugué (50X)	1 X 1,4 ml
Référence - Sérum positif sérum (bouchon noir)	1 X 0,5 ml
Référence - Sérum positif lait (bouchon jaune)	1 X 0,5 ml
Référence - Sérum négatif	1 X 0,5 ml
Référence - Traceur	1 X 0,5 ml
Solution de TMB mono-composant (1X)	1 X 55 ml
Solution d'arrêt (1X)	1 X 30 ml

Historique de révision

n/a	première version
V1.1.0	ajout de la matrice «lait individuel»
V1.2.0	modification au point «G. Validation des résultats»
V02	suppression du BIO K 451/2

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

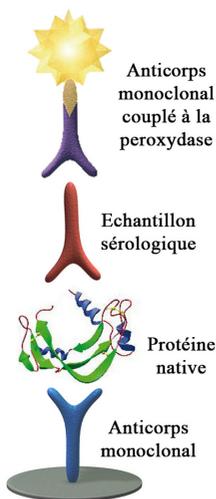
A. Introduction

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 le tampon 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
- 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 $+8^\circ\text{C}$. 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 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

- 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.
- 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.

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 échantillons, il est possible de préparer les dilutions des échantillons et les dilutions des références 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 références 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 puit. Couvrir avec un couvercle 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 références (dilution 1/20): distribuer la solution de dilution à raison de 190 µl par puits. Ajouter les références 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 puit. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **60 ± 5 min.**

Protocole commun

5. 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.
6. Distribuer **100 µl de la solution de TMB** par puits.
7. Incuber à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant **10 ± 1 min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
8. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **50 µl par puits.** La couleur passe de bleu à jaune.
9. 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 sérum positif et du sérum négatif est supérieure à 0,450.

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

- le sérum négatif donne une densité optique inférieure à 0,400.

$$DO_{\text{Sérum négatif}} < 0,400$$

H. Interprétation des résultats

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

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

Résultats		Statut
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>

ANALYSISCREEN

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

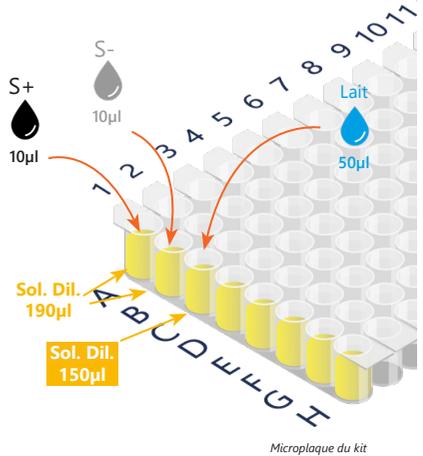
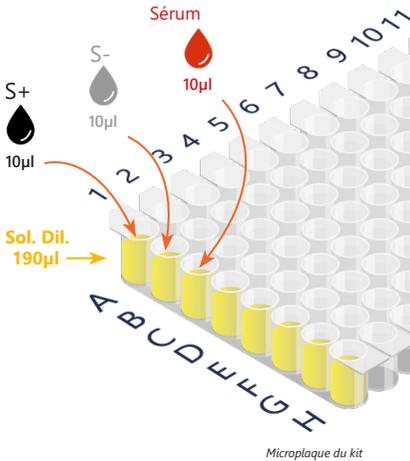
Protocole sérum

190 µl de sol. de dilution + 10 µl de sérum (1/20)
 190 µl de sol. de dilution + 10 µl de références (1/20)



Protocole lait

150 µl de sol. de dilution + 50 µl de lait (1/4)
 190 µl de sol. de dilution + 10 µl de références (1/20)



Ajouter 100 µl de conjugué dilué (dilution 1/50)



Ajouter 100 µl de conjugué dilué (dilution 1/50)



Ajouter 100 µl de TMB



Ajouter 50 µl de solution d'arrêt

Enregistrer les densités optiques

