



MONOSCREEN^{Ab} ELISA

Notice d'utilisation
BIOK260-MYCB_NO_(FR)_V03
29/06/2026

Monoscreen AbELISA *Mycoplasma bovis*

Référence : BIO K 260

Test ELISA pour le diagnostic sérologique de *Mycoplasma bovis*

Bicupule, test indirect

Usage in vitro et strictement vétérinaire



Echantillon / dilution	Bovine
Sérum/Plasmas* / 100X	✓
Lait / 1X	✓

*Par la suite, nous retiendrons la dénomination sérum.

Présentation

Référence produit	BIO K 260/2	BIO K 260/5
Format	2 plaques, barrettes de 16 puits	5 plaques, barrettes de 16 puits
Réactions	96 tests	240 tests

Composition du kit

	Matériel fourni	Type *	Code	BIO K 260/2	Code	BIO K 260/5
Microplate	Microplaques	1	D00575	2	D00576	5
Washing solution (20X)	Solution de lavage (20X)	A	D00695	1 x 100 mL	D00696	1 x 250 mL
Dilution solution (1X)	Solution de dilution colorée (1X)	A	D01511	2 x 125 mL	D01511	3 x 125 mL
TMB solution (1X)	Solution de TMB Monocomposant (1X)	A	D01585	1 x 30 mL	D01557	1 x 60 mL
Stop solution (1X)	Solution d'arrêt (1X)	A	D00680	1 x 30 mL	D01556	1 x 60 mL
Conjugate (50X)	Conjugué (50X)	1	D01596	1 x 0,6 mL	D01563	1 x 1,5 mL
CTL POS	Contrôle positif	a	D01033	1 x 0,5 mL	D01033	1 x 0,5 mL
CTL NEG	Contrôle négatif	a	D01030	1 x 0,5 mL	D01030	1 x 0,5 mL

* : (1) : dépendant kit et lot / (a) : dépendant kit / (A) : substituable entre composants A / (B) : substituable entre composants B.

Historique de révision

Date	Version	Modifications
29/06/2026	V03	Mise en page et simplification de l'ensemble de la notice. Ajustement des volumes des composants. Distribution de la solution d'arrêt modifiée de 50 µL à 100 µL.

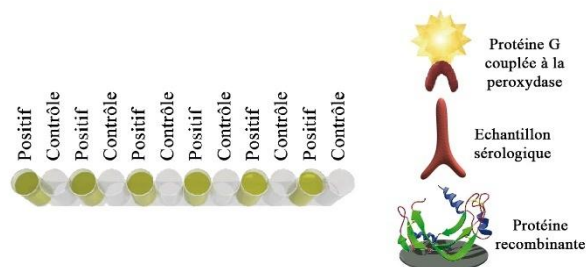
Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

A. Introduction

Mycoplasma bovis est associé à de multiples pathologies des bovidés parmi lesquelles des arthrites, des pneumonies du veau et du jeune bétail, des mammites et des infections de la sphère génitale. Les pneumonies infectieuses qui affectent les veaux en élevage intensif sont responsables de pertes économiques importantes à cause des mortalités, des coûts des traitements et des retards de croissance qu'elles occasionnent. Ces affections respiratoires sont souvent plurifactorielles et elles sont causées par des interactions entre des virus, des Mycoplasmes et des bactéries. Plusieurs espèces de Mycoplasmes ont pu être isolées du tractus respiratoire du veau. Certaines sont plus que probablement de simples commensaux ou opportunistes qui ne font qu'étendre les dommages pulmonaires occasionnés par d'autres agents. *Mycoplasma bovis* a été isolé du poumon de veaux atteints de pneumonie et c'est probablement l'espèce la plus pathogène qui touche le bétail exception faite toutefois de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Mycoplasma bovis* peut induire des pneumonies chez des veaux gnotobiotiques. On retrouve fréquemment *Mycoplasma bovis* associé à *Mannheimia haemolytica* lors de pneumonies chez le veau.

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par un antigène de *Mycoplasma bovis*. Les colonnes impaires (1, 3, 5, 7, 9, 11) des microplaques contiennent une protéine recombinante extraite d'une culture de *E. coli* dans lequel un gène de *Mycoplasma bovis* a été inséré tandis que les colonnes paires (2, 4, 6, 8, 10, 12) renferment un antigène témoin. On dispose de la sorte d'un témoin négatif véritable qui permet de différencier les anticorps spécifiques. L'utilisation d'un tel témoin permet de limiter dans des proportions importantes le nombre d'échantillons faussement positifs. Les sérums sanguins ou les plasmas sont dilués dans la solution de dilution. Les laits sont utilisés purs. Après incubation et lavage de la préparation, on ajoute le conjugué, de la protéine G couplée à la peroxydase. A l'issue d'une seconde incubation d'une heure à 21°C +/- 3°C et d'un second lavage, on 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. En cas de présence d'immunoglobulines spécifiques de *Mycoplasma bovis* dans le sérum, le plasma ou le lait, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant l'antigène recombinant 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. Le signal enregistré sur la cupule négative sensibilisée par l'antigène témoin est retranché du signal de la cupule positive sensibilisée par l'antigène bactérien. Il est possible d'attribuer à ces échantillons un niveau de positivité compris entre 0 et +++++.



C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée.
- Microplaques de dilution (facultatif).
- 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 de microplaque (facultatif).
- Incubateur à 21±3°C.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, béchers, tubes, portoirs...

Kit complémentaire

- **Tracer *Mycoplasma bovis* (Réf. : BDE K 302).** Matériau de référence interne pour la sérologie de *mycoplasma bovis* par ELISA.

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.
- 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 témoins du kit 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. Préparation des échantillons

- Les échantillons de **sérum** et les contrôles du kit (contrôle positif et négatif) doivent être dilués **100 fois** dans la solution de dilution et homogénéisés. Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée :

10 µL d'échantillon + 990 µL de solution de dilution

- Les échantillons de **lait** doivent être centrifugés 20 minutes à 4000g. Prélever ensuite le liquide intermédiaire en veillant à ne pas toucher le culot cellulaire sous-jacent. Les laits sont utilisés sans dilution.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21±3°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 témoins dans une microplaque de dilution avant leur transfert (100 µL) dans la microplaque test à l'aide d'une pipette multicanaux.

1. Distribuer les échantillons de sérum **dilués** ou de lait **non dilués** et les contrôles du kit **dilués** à raison de **100 µL par puits**. Couvrir et incubé la plaque à **21±3°C** pendant **60 ± 5min**.
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 incubé à **21±3°C** pendant **60±5min**.
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 **100 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.

H. Validation des résultats

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

- La différence entre les lectures de densité optique (DO) du puits impair et du puits pair du contrôle positif est supérieure à 0,800.

Contrôle positif : $DO_{\text{puits impair}} - DO_{\text{puits pair}} > 0,800$

- La différence entre les lectures de densité optique (DO) du puits impair et du puits pair du contrôle négatif est inférieure à 0,300

Contrôle négatif : $DO_{\text{puits impair}} - DO_{\text{puits pair}} < 0,300$

I. Interprétation des résultats

- Calculer pour chaque échantillon sa « delta DO » en soustrayant la densité optique du puits pair du puits impair.
- Procéder de même pour le contrôle positif et le contrôle négatif.

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

$$\text{Val(eur)} = \frac{\text{Delta DO éch} * 100}{\text{Delta DO pos}}$$

En utilisant le tableau ci-dessous, déterminer le niveau de positivité des sérums, plasmas ou laits.

	Résultats	Statut
Échantillon	$Val \leq 37\%$	0
	$37\% < Val \leq 60\%$	+
	$60\% < Val \leq 83\%$	++
	$83\% < Val \leq 106\%$	+++
	$106\% < Val \leq 129\%$	++++
	$129\% < Val$	+++++

Un échantillon doit être considéré comme **positif** s'il fournit un résultat **supérieur ou égal à une croix**. (+)

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



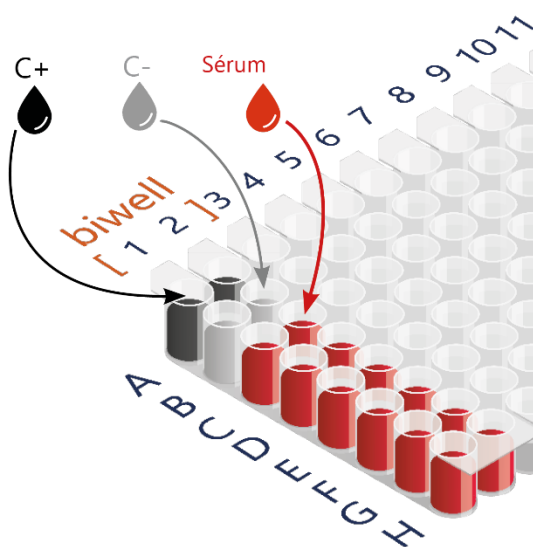
SCAN ME

Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite de température
	Utiliser jusqu'à
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Conserver à l'abri de la lumière
	Conserver au sec
	Substance corrosive
	Produit nocif / irritant

Protocole sérum

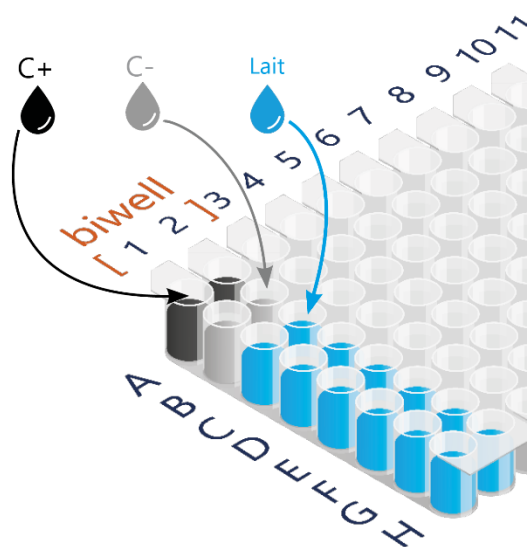
- 1 Dilution des échantillons 1/100
Dilution des contrôles du kit (contrôle positif et négatif) 1/100



Microplaque du kit

Protocole lait

- 1 Distribuer les échantillons centrifugés
Dilution des contrôles du kit (contrôle positif et négatif) 1/100



Microplaque du kit

Protocole commun

- 2 Ajouter 100 µL de conjugué dilué (1/50)



- 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.