

MonoScreen AbELISA *Ascaris suum*

Référence : BIO K 447

Test ELISA pour le diagnostic sérologique des infestations par *Ascaris suum*

Monocouple, test indirect

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce
Sérum sanguin	Porc

Pour commander

Référence produit	BIO K 447/2
Format	2 plaques, barettes de 12X8 puits
Réactions	2 X 96 tests

Composition du kit

	BIO K 447/2
Microplaques	2
Solution de lavage (20X)	1 X 100ml
Tampon de dilution coloré (5X)	1 X 50ml
Conjugué (50X)	1 X 0,5ml
Sérum positif	1 X 0,5ml
Sérum négatif	1 X 0,5ml
Solution de TMB mono-composant (1X)	1 X 25ml
Solution d'arrêt (1X)	1 X 15ml

Historique de révision

23/07/2020 - V1.1

Mise en forme du texte

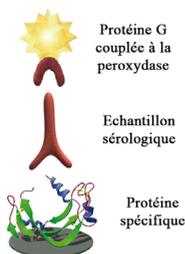
Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

A. Introduction

Ascaris suum est un ver nématode qui infeste les porcs. Il est mondialement répandu et malgré la disponibilité d'anthelminthiques efficaces, il est toujours très prévalent. Il peut être présent dans des groupes d'animaux d'âges différents. La plupart du temps, l'ascaridiose est subclinique même si dans les cas les plus sérieux, des troubles respiratoires peuvent se développer suite à la migration des larves dans le parenchyme pulmonaire. L'ascaridiose est responsable de pertes économiques importantes pour les éleveurs de porcs (retards de croissance, mauvaise conversion alimentaire, lésions hépatiques – white spots et piètre qualité des carcasses). Le diagnostic d'ascaris peut être réalisé post mortem (présence du ver dans l'intestin grêle, taches blanches à la surface du foie) ou *in vivo* en détectant les œufs ou les vers dans les faeces. Cette approche est toutefois très peu sensible car peu de larves L4 présentes dans l'intestin grêle se transforment en stades adultes. La détection des anticorps spécifiques de l'hémoglobine du parasite par un test ELISA est une technique bien plus sensible et, si elle est effectuée en fin de période d'engraissement, elle permet d'estimer l'intensité de l'infestation d'un lot de porcs. Cette approche permet également à l'éleveur d'adapter sa stratégie de déparasitage pour les lots suivants.

B. Principe du test

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par un antigène spécifique d'*Ascaris suum*. L'entièreté des microplaques est sensibilisée par l'antigène. Les sérums sanguins sont dilués dans le tampon de dilution. 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 d'*Ascaris suum* dans le sérum, le conjugué reste fixé sur la cupule contenant l'antigène spécifique 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 2-20µl, 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 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°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 à diluer 5 fois dans de l'eau distillée/déminéralisée. 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

Les échantillons de sérum sanguins et les références du kit (sérum positif et négatif) doivent être dilués 100 fois dans le tampon de dilution dilué.

Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés ou coagulés.

Dilution recommandée:

10µl d'échantillon + 990µl de tampon de dilution dilué.

G. Mode opératoire

- Tous les constituants doivent être ramenés à 21°C +/- 3°C avant utilisation.
- Lire attentivement les points précédents.

1. Distribuer les échantillons et les références du kit dilués à raison de **100 µl par puits**. Un puits par échantillon. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
2. 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.
3. Ajouter **100 µl de conjugué dilué** par puit. Couvrir avec un couvercle et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
4. 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.
5. Distribuer **100 µl de la solution de TMB** par puits.
6. Incuber à **21 ± 3°C** pendant **10 ± 1 min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
7. Distribuer la solution d'arrêt à raison de **50 µl par puits**. La couleur passe de bleu à jaune.
8. 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 différence entre les lectures de densité optique du sérum positif et du sérum négatif à dix minutes est supérieure à 0,700

$$DO_{\text{sérum positif}} - DO_{\text{sérum négatif}} > 0,700$$

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

$$DO_{\text{Sérum négatif}} < 0,400$$

I. Interprétation des résultats

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

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

Résultats	Statut
E/P % < 45 %	Négatif
E/P % ≥ 45 %	Positif

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

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 Bio-X Diagnostics
- Très simple d'emploi



 SCAN ME

Notes*

Dilution des échantillons 1/100
Dilution des sérums positif et négatif 1/100



Ajouter 100 µl d'échantillon et des références



Ajouter 100 µl de conjugué



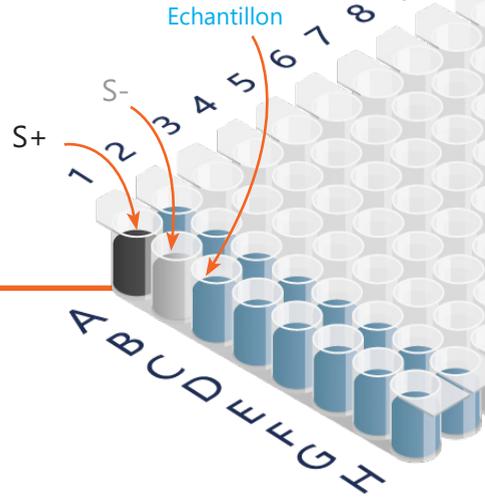
Ajouter 100 µl de TMB



Ajouter 50 µl de solution d'arrêt



Enregistrer les densités optiques



Microplaque du kit

* Les notes ne se substituent pas au mode d'emploi dont elles sont une synthèse.