

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 | Ruminant*** |
| Lait individuel (écrémé* et non écrémé) | Bovin |
| Buvard** | Bovin |

* Centrifugation 20 min. 4000 g.

** Nécessite une quantité plus importante de solution de dilution, contacter Bio-X si besoin.

***Le conjugué Perox Moab a-IgG1 bovines utilisé dans le kit reconnaît également les anticorps de chèvres et de moutons.

Le kit peut donc être utilisé sur sérums de petits ruminants (nous contacter).

Présentation

| Référence produit | BIO K 451/2 | BIO K 451/5 |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Format | 2 plaques, barrettes de 8 puits | 5 plaques, barrette de 8 puits |
| Réactions | 192 tests | 480 tests |

Composition du kit

| Matériel fourni | | Type* | Code | BIO K 451/2 | Code | BIO K 451/5 |
|---------------------|---|-------|--------|-------------|--------|-------------|
| Microplate | Microplaque | 1 | D01276 | 2 | D01276 | 5 |
| Washing solution | Solution de lavage (20X) | A | D00695 | 1 X 100 mL | D00696 | 1 X 250 mL |
| Dilution solution | Solution de dilution colorée (1X) | A | D01511 | 1 X 125 mL | D01555 | 1 X 250 mL |
| Conjugate anti-IgG1 | Conjugué anti-IgG1 (50X) (bouchon bleu) | 1 | D01476 | 1 X 0,6 mL | D01477 | 1 X 1,5 mL |
| Conjugate anti-IgG2 | Conjugué anti-IgG2 (50X) (bouchon vert) | 1 | D01597 | 1 X 0,6 mL | D01554 | 1 X 1,5 mL |
| CTL POS serum IgG1 | Contrôle positif sérum IgG1 (bouchon noir) | a | D01416 | 1 X 0,5 mL | D01416 | 1 X 0,5 mL |
| CTL POS serum IgG2 | Contrôle positif sérum IgG2 (bouchon mauve) | a | D01552 | 1 X 0,5 mL | D01552 | 1 X 0,5 mL |
| CTL POS milk | Contrôle positif lait (bouchon jaune) | a | D01415 | 1 X 0,5 mL | D01415 | 1 X 0,5 mL |
| CTL NEG | Contrôle négatif (bouchon blanc) | a | D01123 | 1 X 0,5 mL | D01123 | 1 X 0,5 mL |
| TMB solution | Solution de TMB mono-composant (1X) | A | D01585 | 1 X 30 mL | D01557 | 1 X 60 mL |
| Stop solution | Solution d'arrêt (1X) | A | D00680 | 1 X 30 mL | D01556 | 1 X 60 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 |
|------------|---------|---|
| 31/08/2022 | V02 | Suppression du BIO K 451/2 |
| 13/09/2022 | V03 | Modification des noms de référence |
| 31/08/2022 | V04 | Modification du volume des conjugués et de la solution d'arrêt |
| 15/01/2025 | V05 | Ajout du conjugué IgG2 |
| 01/10/2025 | V06 | Ajout de la matrice buvard et ajustement des volumes des composants |
| 07/01/2026 | V07 | Ajout du conditionnement 2 plaques. |

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

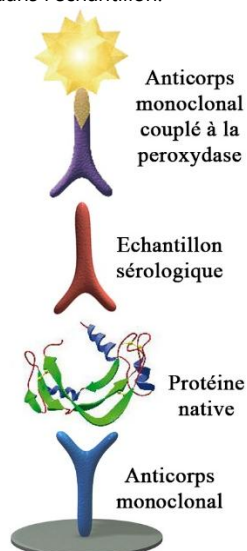
Neospora caninum est un protozoaire décrit dans un premier temps comme un parasite du chien chez qui il est responsable de myosites et d'encéphalites. La néosporose bovine est maintenant reconnue comme une cause d'avortement importante chez les bovins. Elle est fortement suspectée dans 20 % des élevages 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).

D'une manière générale, chez les bovins, la placentation syndesmochoriale ne permet pas le transfert des immunoglobulines de la vache à sa progéniture durant la gestation. De plus au niveau de la mamelle, essentiellement les IgG1 passent dans colostrum*. Certains pathogènes comme *Neospora caninum* ont la capacité de traverser la barrière placentaire et d'entrer en contact avec le fœtus bovin. Si le veau est immunocompétent lors de cette infestation, il produira des anticorps spécifiques d'isotype IgG2 contre le pathogène rencontré. Ceux-ci vont ensuite pouvoir être dosés grâce à des tests sérologiques (ELISA) spécifiques. Un résultat positif rendra compte de la circulation active du pathogène et de sa transmission verticale dans le cheptel.

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 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.



IgG2

Pour le contrôle de la néosporose, l'ELISA IgG2 apparaît comme un moyen fiable et pratique pour distinguer les veaux infectés verticalement (0-1 mois)**.

From Neosporosis: how IgG2 ELISA could contribute in the diagnosis of vertically infected calves?

EVRARD J., DELOOZ L., GREGOIRE F.

ARSIA (Regional Association for Animal Identification and Health), Ciney, Belgium.

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.

Kits complémentaires

- **Tracer Neospora IgG1 (Réf. : BDE K 451-1).** Matériau de référence interne pour la sérologie de la néosporose par ELISA.
- **Tracer Neospora IgG2 (Réf. : BDE K 451-2).** Matériau de référence interne pour la sérologie de la néosporose par ELISA.

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.
- 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 des conjugués.
- Les conjugués sont 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 incubé la plaque à $21 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant 30 ± 3 min
3. Éliminer 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.

- Ajouter **100 µL de conjugué dilué** (conjugué a-IgG1 ou a-IgG2) par puits. Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **30 ± 3 min**.

Protocole lait (dilution 1/4)

- 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.
- Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.
- 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.
- Ajouter **100 µL de conjugué dilué** (conjugué a-IgG1) par puits. Couvrir et incuber la plaque à **21 ± 3°C** pendant **60 ± 5 min**.

Protocole commun

- 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.
- Distribuer **100 µL de la solution de TMB** par puits.
- Incuber à **21 ± 3°C** pendant **10 ± 1 min** à l'abri de la lumière, sans couvrir.
- 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.
- 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 des 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 | |
| | Buvard | E/P % < 40% | Négatif | |
| | | 40 % ≤ E/P % < 70 % | Douteux | |
| IgG2 | Sérum | E/P % ≥ 70 % | Positif | |
| | | E/P % < 30 % | Négatif | |
| | Buvard | E/P % < 20 % | Négatif | |
| | | 20 % ≤ E/P % < 30 % | Douteux | |
| | | | E/P ≥ 30 % | 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 :

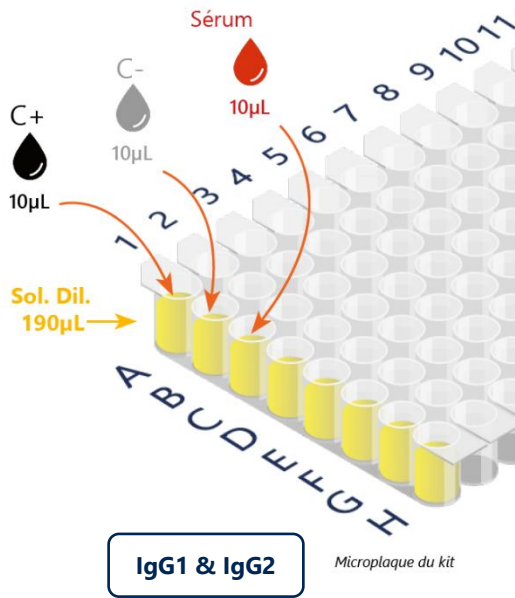
- Gratuit
- Accessible en ligne via notre site internet : <https://www.biox.com>
- Mis à jour en temps réel
- Compatible avec tous les designs de plaques Bio-X Diagnostics
- Très simple d'emploi



SCAN ME

Protocole sérum

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

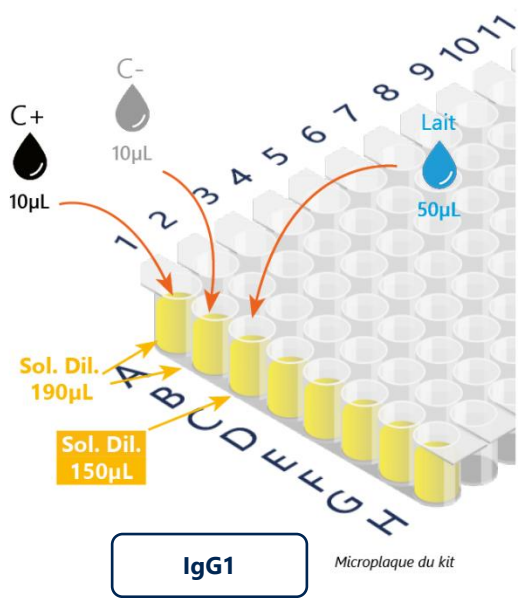


- 2 Ajouter 100 µL de conjugué



Protocole lait

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



- 2 Ajouter 100 µL de conjugué



Protocole commun

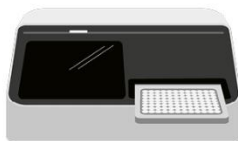
- 3 Ajouter 100 µL de TMB



- 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.