

MONOSCREEN® Quant ELISA

Notice d'utilisation
BIOK093-IFNG_NO_(FR)_V05
25/02/2026

Monoscreen QuantELISA Gamma Interferon

Référence : BIO K 093

Test ELISA pour le dosage semi-quantitatif de l'interféron gamma bovin

Monocupule, test sandwich

Usage *in vitro* et strictement vétérinaire



Echantillon	Espèce	Analyse individuelle
Plasma	Bovin (ovin, caprin)	✓

Présentation

Référence produit	BIO K 093/2	BIO K 093/30
Format	2 plaques, barrettes de 8 puits	30 plaques, barrettes de 8 puits
Réactions	192 puits	2880 puits

Composition du kit

	Matériel fourni	Type *	Code	BIO K 093/2	Code	BIO K 093/30
Microplate	Microplaque	1	D00559	2	D00559	30
Plate covers	Couvercles de plaque	-	A01301	1	A01301	6
Washing solution (20X)	Solution de lavage (20X)	A	D00695	1 x 100 mL	D00696	3 x 250 mL
Dilution solution (1X)	Solution de dilution colorée (1X)	B	D01612	1 x 125 mL	D01613	2 x 250 mL
TMB solution (1X)	Solution de TMB mono-composant (1X)	A	D01585	1 x 30 mL	D01530	2 x 200 mL
Stop solution (1X)	Solution d'arrêt (1X)	A	D00680	1 x 30 mL	D01531	2 x 200 mL
Conjugate (50X)	Conjugué (50X)	1	D01611	1 x 0,6 mL	D01528	1 x 10 mL
CTL POS	Contrôle positif (lyophilisé)	1	D01562	1	D01562	3
CTL NEG	Contrôle négatif (lyophilisé)	a	D01593	1	D01593	3
IFU	Notice d'utilisation	-	-	1	-	1
CoA	Certificat de contrôle qualité	-	-	1	-	1
Information note	Note d'information	-	-	1	-	1

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

Historique de révision

Date	Version	Modifications
16/12/2024	V01	Version initiale revue et approuvée par les autorités compétentes
25/11/2025	V02	Modification des contrôles positif et négatif en format lyophilisé
16/12/2025	V03	Ajustement de l'interchangeabilité des composants et ajout de la note d'information.
19/02/2026	V04	Changement du nombre de flacons de solution de lavage. Changement du seuil d'interprétation pour le ratio PBS.
25/02/2026	V05	Ajustement du volume des composants.

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

L'interféron gamma (IFN- γ) est sécrété principalement par les lymphocytes T activés et les cellules Natural Killer (NK) dont la synthèse est stimulée par l'interleukine-18 (IL-18). L'IFN- γ est impliqué dans la régulation des réponses immunes et inflammatoires.

B. Principe du test

Le test utilise des plaques de microtitration à 96 puits sensibilisées avec un anticorps monoclonal spécifique de l'interféron gamma bovin.

Dans chaque puits, un dépôt de 50 μ L de plasma est effectué. Après 60 minutes d'incubation et une étape de rinçage, l'opérateur ajoute le conjugué, qui est un anticorps monoclonal spécifique de l'interféron gamma bovin couplé à une peroxydase. Après incubation et lavage de la préparation, l'opérateur ajoute le chromogène tétraméthylbenzidine (TMB).

Ce chromogène à l'avantage d'être plus sensible que les autres chromogènes à la peroxydase et de ne pas être cancérigène. La lecture est réalisée à 450 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle au titre sérique de l'échantillon. Des plasmas de contrôle positifs et négatifs sont fournis avec le kit afin de pouvoir valider les résultats du test.

C. Matériel supplémentaire et équipement requis non fournis

- Eau distillée/déminéralisée.
- Pipettes électroniques mono ou multicanaux de précision (gamme 2-20 μ L, 20-200 μ L et 100-1000 μ L) et embouts à usage unique.
- Agitateur de plaques.
- Lecteur de microplaque (filtre 450nm).
- Laveur de microplaque.
- Incubateur à 22 \pm 3°C.
- Matériel de laboratoire standard : cylindre gradué, béchers, tubes, portoirs...

D. Précautions d'utilisation

- Conserver les réactifs à 5 \pm 3°C.
- Conserver les contrôles à une température \leq -16°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 lots.
- 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. Dissoudre les cristaux en laissant le flacon à température ambiante ou si besoin en chauffant à 37 \pm 2°C en étuve ou au bain d'eau ; bien mélanger la solution et 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 du conjugué.
- Le conjugué est à diluer 50 fois dans la solution de dilution (il ne doit jamais être vortexé, ni congelé).
- La solution d'arrêt est prête à l'emploi.
- La solution de TMB est prête à l'emploi. Elle doit être parfaitement incolore.

- Les contrôles positifs et négatifs sont lyophilisés. Ils sont à reconstituer avec de l'eau distillée, se référer à la note d'information. Pour une conservation optimale, faire des aliquots et les congeler à une température \leq -20°C en évitant les cycles de congélation/décongélation.

F. Echantillon

Les plasmas analysés par cette méthode sont issus de sang collectés sur héparine de lithium puis stimulés dans les huit heures suivant le prélèvement sanguin de l'animal par des antigènes spécifiques de mycobactéries (PPDa / PPD_b, Mix PC-EC), d'un mitogène Pokeweed (PWM) pour un contrôle d'immunocompétence de viabilité des cellules et d'un témoin blanc (PBS) afin de vérifier l'absence de production basale d'IFN γ face à un autre type d'infection active au moment de la prise de sang).

Cette étape de collecte et de stimulation des échantillons qui est agréée par l'autorité sanitaire compétente se situe en dehors du champ d'application de cette méthode de dosage et doit être réalisée selon la version en vigueur de la méthode officielle ANSES/LSAN/UZB-LNR Tub/M1.

■ Stockage des plasmas récoltés

Les échantillons de plasmas récupérés après cette étape de stimulation, peuvent être conservés à 5 \pm 3°C idéalement pendant 2-3 jours s'ils ne sont pas testés le jour du prélèvement. Pour une conservation plus longue, les échantillons doivent être conservés congelés à une température \leq -20°C.

G. Mode opératoire

1. Tous les réactifs doivent être ramenés à température ambiante avant utilisation.
2. Distribuer les contrôles en duplicats ainsi que les plasmas à tester à raison de 50 μ L par puits.
3. Couvrir chaque microplaque avec un couvercle (en cas de méthode manuelle) et incubé à 22 \pm 3°C pendant 60 \pm 5 min.
4. À l'aide d'un laveur, ou en manuel, réaliser 3 lavages successifs avec 300 μ L de solution de lavage par puits.
5. Ajouter 100 μ L par puits de conjugué fraîchement dilué. Couvrir avec un couvercle (en cas de méthode manuelle) et incubé les plaques à 22 \pm 3°C pendant 60 \pm 5 min.
6. Laver les plaques comme à l'étape précédente (cf.§4)
7. Distribuer 100 μ L de solution TMB par puits.

N.B. : Eviter la formation de bulles dans les puits. Ne pas laisser les microplaques sécher entre les lavages. Tapotez les microplaques sur du papier absorbant propre après l'étape de lavage finale pour éliminer la solution de lavage restante.

NB : Ne pas traiter simultanément plus de 6 plaques à la fois afin de respecter les 10 \pm 1 min de l'étape suivante pour tous les puits.

8. Incuber à 22 \pm 3°C pendant 10 \pm 1 min. dans l'obscurité, **sans recouvrir les plaques.**
9. Distribuez 100 μ L de solution d'arrêt par puits. La couleur doit virer du bleu au jaune.
10. Dans les 5 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt, mesurez les densités optiques (DO) à l'aide d'un spectrophotomètre à microplaque utilisant un filtre de 450 nm.

H. Validation des résultats

1. Critères de validation de la plaque

Les résultats des contrôles doivent être examinés avant que les résultats des échantillons puissent être interprétés.

Calculez l'absorbance (DO) moyenne des contrôles négatifs (CN) et positifs (CP). Le test est **valide** si :

- La DO moyenne du contrôle IFN- γ négatif est $<0,130$ avec un écart entre les différentes valeurs de CN $\leq 0,040$.
- La DO moyenne du contrôle IFN- γ positif est $>0,700$ avec un écart entre les différentes valeurs de CP d'une même plaque $\leq 20\%$.

Si l'un ou l'autre des critères ci-dessus n'est pas respecté, l'ELISA n'est pas validé et doit être répété.

2. Analyse des résultats des échantillons

Calculer par échantillon :

Le ratio PPD : $PPD \text{ Ech} = [(PPDb - PPDa) / (CP - CN)] \times 100$

Le ratio PPDb : $PPDb \text{ Ech} = [(PPDb - PBS) / (CP - CN)] \times 100$

Le ratio MIX : $MIX \text{ Ech} = [(MIX - PBS) / (CP - CN)] \times 100$

Le ratio PWM : $PWM \text{ Ech} = [(PWM - PBS) / (CP - CN)] \times 100$

Le ratio PBS : $PBS \text{ Ech} = [PBS / (CP - CN)] \times 100$

I. Interprétation des résultats

Les résultats sont validés ou ininterprétables selon les valeurs des seuils de ratio du PWM et du ratio du PBS.

Ratio PWM	Interprétation PWM
PWM > 30%	Validé
PWM \leq 30%	Ininterprétable












Ratio PBS	Interprétation PBS
PBS < 60%	Validé
PBS \geq 60%	Ininterprétable

Échantillon	Ratio PPD	Ratio Mix	Ratio PPDb
Négatif	PPD < 5%	MIX < 3%	PPDb \leq 70%
Positif	PPD \geq 5%	MIX \geq 3%	PPDb > 70%

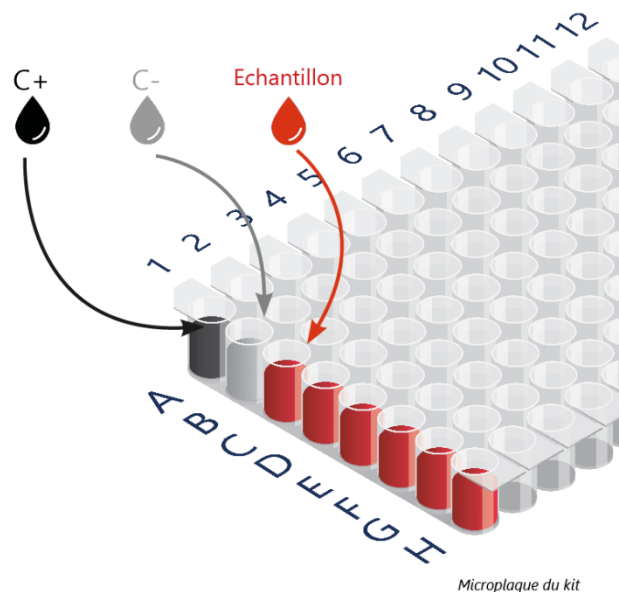
Les valeurs de ces seuils et rapports sont définies par l'autorité sanitaire compétente et peuvent évoluer : se référer à la Note de Service de l'Etat en vigueur.

Attention : L'immunosuppression provoquée par un traitement récent à la dexaméthasone ou par un vêlage peut déprimer les réponses de l'IFN- γ aux antigènes de mycobactéries. Les animaux qui ont reçu une injection de dexaméthasone dans la semaine ou qui ont vêlé dans les 4 semaines doivent être retestés afin de réduire la possibilité d'un résultat faussement négatif.

Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite de température
	Utiliser jusque
	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

- 1 Distribuer 50 μL d'échantillons et de contrôles reconstitués (contrôle positif et négatif)



Microplaque du kit

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



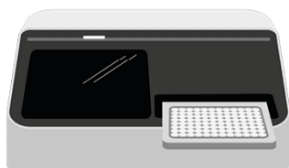
- 3 Ajouter 100 μL de TMB



- 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.