MANUEL D'UTILISATION

BioLisa® kit IBR gB Ab

Kit ELISA pour la détection des anticorps dirigés contre la protéine gB du virus BHV-1

Méthode	Matrice	Espèce	Protocole
ELISA compétition	Sérum individuel	Bovin	Incubation courte Incubation longue

Cat.No. : 703083

MU/IBRGB/00002/FR
Rev 03/20

biosellal

27 Chemin des Peupliers
69570 Dardilly
FRANCE
+33 (0) 4 26 78 47 60
www.biosellal.com
contact@biosellal.com

Réservé à l'usage vétérinaire
Conforme au dossier de validation
DVC/IBRGB/00002/FR



• Informations Générales

La rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) est une maladie infectieuse respiratoire causée par l'herpèsvirus BHV-1, et qui se traduit par une rhinite, une trachéite, et de la fièvre. Plus rarement, le virus peut également provoquer des avortements, une vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IPV), et une balanoposthite. Comme pour tous les herpèsvirus, une infection par BHV-1 peut se poursuivre par une phase de portage latent, devenant une source de contamination dans le cas d'une réactivation virale.

BioLisa® kit IBR gB Ab est un test ELISA sensible et spécifique pour la détection d'anticorps dirigés contre la glycoprotéine B du BHV-1, dans le sérum individuel de bovin.

• Principe du test

Les échantillons sont déposés dans la plaque sensibilisée avec un antigène inactivé BHV-1. Les anticorps anti-BHV-1 éventuellement présents dans les échantillons se lient à l'antigène. Après une étape de lavage permettant d'éliminer les protéines non fixées, un anticorps monoclonal anti-gB conjugué HRP est ajouté. Dans le cas où les protéines gB au fond de la plaque sont libres (cas d'un échantillon négatif), cet anticorps se fixe spécifiquement. L'excès de conjugué est éliminé par lavage, et le substrat est ajouté. Celui-ci réagit au contact de l'enzyme HRP qui se traduit par l'apparition d'une couleur bleue. Après l'ajout de la solution stop, la coloration devient jaune.
La densité optique (DO) est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absence de coloration indique la présence d'un résultat positif.

• Contenu du kit

	Composant	Quantité
1	Test plate (Plaque de test) 12 barrettes sécables de 8 cupules par plaque	5
2	Sample diluent (Diluant échantillon)	1 x 30mL
3	Negative Control (Contrôle négatif)	1 x 3.5mL
4	Positive Control (Contrôle positif)	1 x 3.5mL
5	Wash buffer (Solution de lavage) 10X	3 x 125mL
6	Conjugate (Conjugué)	1 x 60mL
7	TMB Substrate (Substrat)	1 x 60mL
8	Stop Solution (Solution stop)	1 x 60mL
Certificat d'analyse		
Adhésif de plaque		

Les composants doivent être conservés à 5±3°C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Les solutions de lavage et stop peuvent être stockées à température ambiante (21±4°C)) pour éviter la cristallisation. Conserver les barrettes des plaques entamées dans le sachet en aluminium fermé avec un dessicant à 5±3°C. Les barrettes peuvent être conservées pendant au moins 6 semaines après ouverture du sachet.

• Symboles



Contient des réactifs pour <N> tests


Fabricant

Numéro de lot


A utiliser avant le


Limites de température pour le stockage



Numéro de référence



Numéro de matériel


Conserver à l'abri de la lumière


Pour les échantillons de bovins

Materiel non fourni

- Pipettes monocanales et multicanaux
- Papier aluminium ou adhésif pour couvrir les plaques
- Embouts de pipette à usage unique
- Lecteur d'absorbance pour microplaques équipé d'un filtre 450nm
- Eau distillée ou déionisée
- Réservoirs à usage unique

Précautions d'emploi

Lors de la manipulation des produits chimiques, toujours porter un équipement de protection adéquat. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées (disponibles sur demande).

- Lire attentivement les instructions et s'y conformer strictement
- Manipuler le matériel conformément aux bonnes pratiques de laboratoire
- Traiter tous les réactifs et les échantillons comme des matériaux potentiellement contaminés
- L'élimination des déchets doit être réalisée dans le respect des exigences réglementaires
- Ne pas utiliser les composants après leur date de péremption
- Ne pas mélanger les composants avec ceux d'autres lots
- Inclure les contrôles positifs et négatifs lors de chaque essai réalisé

Avant de commencer

Porter les réactifs à température ambiante (21±4°C) avant utilisation.

Solution de lavage : diluer la solution de lavage 10X au 1/10 dans de l'eau distillée/déionisée. *Exemple : pour une plaque, diluer 50mL de solution de lavage dans 450mL d'eau.*
La solution de lavage reconstituée peut être conservée un mois à 5±3°C.

Echantillons : des sérums frais, réfrigérés ou congelés peuvent être utilisés.

Protocole

1. **Dilution des échantillons au 1/2 :**
   Distribuer 50µL de Diluant échantillon dans chaque puits.
   Distribuer 50µL de contrôle positif (CP) et contrôle négatif (CN) dans les puits appropriés *(A1B1 et C1D1 par exemple).*
   Distribuer 50µL d'échantillon dans les puits suivants.

Agiter doucement et couvrir la plaque. Incuber **2h à 37**±3**°C** (incubation courte) ou **une nuit (12-18h) à température ambiante (**21±4°C**)** (incubation longue).

2. **Lavage :**
   Vider les puits et **laver 5 fois avec 300µL** de solution de lavage diluée. Lors du dernier lavage, vider la plaque et tapoter sur du papier absorbant afin d'éliminer toute trace de liquide.

Cette étape peut être réalisée manuellement ou à l'aide d'un automate de lavage.

3. **Conjugué**
   Distribuer 100µL de conjugué dans chaque puits.

Couvrir la plaque et incuber **1h**±6min **à température ambiante (**21±4°C**).**

4. **Lavage :**
   Répéter l'étape 2. Lavage

5. **Révélation :**
   Distribuer 100µL de substrat dans chaque puits.

Incuber la plaque **10**±1min **à température ambiante (**21±4°C**) à l'obscurité.**

6. **Arrêt de la réaction :**
   Arrêter la réaction en ajoutant 100µL de solution stop dans chaque puits en suivant le même ordre que lors de la distribution du substrat.

7. Lecture :

Mesurer la densité optique (DO) à l'aide d'un lecteur de plaque à **450nm** dans les 20minutes suivant l'arrêt de la réaction. S'assurer de l'absence de poussières et de bulles dans les puits.

• Critères de validation

Les résultats sont valides si les critères suivants sont remplis :

- La valeur moyenne de la DO du contrôle négatif doit être ≥0.60.
- La valeur moyenne du % inhibition du contrôle positif doit être ≥80 %.

Si l'un de ces critères n'est pas rempli, recommencer le test.

• Calculs

Calculer les valeurs moyennes des DO mesurées pour le contrôle négatif et le contrôle positif.

Le **pourcentage d'inhibition** est calculé pour chaque échantillon selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inh} = \frac{\text{Moyenne DOCN - DOéchantillon}}{\text{Moyenne DOCN}} \times 100$$

• Interprétation des résultats

Incubation courte	Incubation longue	Interprétation
% Inh < 60%	% Inh < 70%	Négatif
60% ≤ % Inh < 70%	70% ≤ % Inh < 80%	Douteux
% Inh ≥ 70%	% Inh ≥ 80%	Positif

NB : La spécificité du kit est plus élevée en incubation longue.