

NOTICE

Flacon 1ml

COMPOSITION

Suspension de cellules (2.10^6 cellules/ml) infectées par la bactérie Ehrlichia canis inactivée au formol pour le titrage des anticorps anti-E. canis par technique d'immunofluorescence indirecte.

INDICATIONS

Révélation immunologique et titrage des anticorps anti-E.canis dans les sérums de chien, notamment par technique d' Immunofluorescence Indirecte (I.F.I.).

MODE D'UTILISATION : TITRAGE PAR IMMUNOFLUORESCENCE DES ANTICORPS ANTI-E. CANIS

Matériel nécessaire non fourni:

- Lames de 18 puits et lamelles
- Plaques 96 cupules
- Pipettes multicanaux 100 et 25 μ l
- Tubes micronic ou équivalent
- Sèche-cheveux
- Microscope UV (objectif 40 ou plus)
- Etuve humide à $+37^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- Conjugué (Sérum anti-Ig de chien ou Protéine A) marqué à la fluorescéine (dilution d'emploi préalablement déterminée à l'aide de sérums témoins)
- PBS sans calcium ni magnésium
- Sérum Albumine Bovine (BSA)
- Acétone
- Fluoprep

Préparation des lames :

- Ajuster la suspension cellulaire à 10^6 cellules/ml par dilution au demi en PBS sans calcium ni magnésium et contenant 0,5 % de BSA
- Déposer 10 μ l de suspension cellulaire / puits
- Sécher les lames à l'air pendant une nuit à température ambiante ($+20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$)
- Fixer les lames par immersion 15 min. en acétone à -20°C
- Conserver les lames prêtes à l'emploi à -20°C (jusqu'à 6 mois)

Réaction d'immunofluorescence

- Prédiluer les sérums à tester au 1/12,5 en PBS sans calcium ni magnésium (en tube micronic)
- Réaliser ensuite sept dilutions successives de 2 en 2, en plaque de 96 cupules:

25 _____ 50 _____ 100 _____ 200 _____ 400 _____ 800 _____ 1600

- Pour les sérums dont le titre dépasse 1600, continuer la série de dilution
- Déposer 20 µl de chaque dilution par puits
- Incuber 30 min +/- 5 min. à +37°C +/- 3°C en étuve humide
- Réaliser deux lavages par immersion 5 min en PBS sans calcium ni magnésium
- Rincer les lames à l'eau distillée et les sécher à l'air chaud
- Déposer 20 µl du conjugué préalablement dilué en PBS sans calcium ni magnésium
- Incuber 30 min +/- 5 min. à 37°C +/- 3°C en étuve humide
- Réaliser deux lavages de 5 min en PBS sans calcium ni magnésium
- Rincer les lames à l'eau distillée et les sécher à l'aide du sèche-cheveux
- Monter les lames avec le fluoprep et une lamelle
- Lire le résultat sous microscope UV (objectif 40 ou plus)
- Le titre du sérum correspond à l'inverse de la dernière dilution présentant de la fluorescence

CONSERVATION

Conserver la suspension cellulaire à + 5°C +/- 3°C jusqu'à la date de péremption.

PRESENTATION

1 flacon de 1ml.

POUR USAGE VETERINAIRE SEULEMENT / POUR USAGE IN VITRO SEULEMENT
SYNBIOTICS EUROPE - 2 rue Alexander Fleming – 69367 LYON Cedex 07 - FRANCE
Tel : +33 4.72.76.11.11 - Fax : +33 4.72.76.11.10
www.synbiotics.fr info@synbiotics.fr