

NOTICE

Flacon 1ml de suspension parasitaire à 5 .10⁶/ml

COMPOSITION

Suspension de parasites *Leishmania infantum* forme promastigote inactivés au formol pour le titrage des anticorps anti-*Leishmania* par technique d'immunofluorescence indirecte.

INDICATIONS

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

MODE D'UTILISATION : TITRAGE PAR IMMUNOFLUORESCENCE DES ANTICORPS ANTI-LEISHMANIA INFANTUM

Matériel nécessaire non fourni:

- Lames de 18 puits et lamelles
- Plaques 96 cupules
- Pipettes multicanaux 100 et 25 µl
- Tubes micronic ou équivalent
- Sèche-cheveux
- Microscope UV (objectif 40 ou plus)
- Etuve humide à +37°C +/-3°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
- Acétone
- Solution aqueuse de Bleu Evans à 1%
- Fluoprep

Préparation des lames :

- Déposer 10 µl de suspension parasitaire / puits
- Sécher les lames à l'air pendant une nuit à température ambiante (+20°C +/-5°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'aide du sèche-cheveux
- Déposer 20 µl du conjugué préalablement dilué en PBS sans calcium ni magnésium et contenant 1/1000 de solution de Bleu Evans à 1%
- Incuber 30 min +/- 5 min. à 37°C +/- 3°C en étuve humide
- Réaliser deux lavages par immersion de 5 min en PBS sans calcium ni magnésium
- Rincer les lames à l'eau distillée et les sécher à l'air chaud
- 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 parasitaire 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