

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 19/09/2022

A RECEPTION DU COLIS :

- ☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- ☑ **Stocker** les articles du colis dans les bonnes conditions :
 - Ouvrir le carton
 - ⚡ Placer le sachet noté A au congélateur à - 20°C ⚡
 - ⚡ Placer le sachet noté M au réfrigérateur à + 4°C ⚡
 - ⚡ Placer le sachet noir au réfrigérateur à + 4°C ⚡

Attention : Ces conditions de stockage sont à respecter scrupuleusement pour permettre une conservation des produits du kit de 6 mois.

- ☑ **Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

COMPOSITION (pour 24 binômes) :

- **1 sachet noté A** contenant 3 microtubes bouchés :
 - 1 microtube à bouchon bleu contenant 50 µL d'anticorps anti-Immoglobuline de lapin couplé à la peroxydase
 - 1 microtube à bouchon rouge contenant 110 µL de sérum de lapin immunisé contre la BSA
 - 1 microtube à bouchon naturel contenant 110 µL de sérum de lapin non immunisé
- **1 sachet noir** de 24 barrettes de micro-titration avec leurs supports
(👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : pour une longue conservation, garder les plaques à l'abri de la lumière)
- **1 sachet noté M** contenant :
 - 1 tube à bouchon rouge contenant 10 ml d'eau stérile
 - 1 tube noir contenant 10 ml de TMB
(👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : le TMB doit être gardé à l'abri de la lumière)
 - 1 tube à fond conique de 12 ml de PBSx10
 - 1 tube vide à fond conique de 50 ml
 - **1 tube à fond conique de 50 ml de PBS X10**
 - **1 microtube à bouchon rose contenant 250 µL de Tween 20**

MATERIEL NECESSAIRE :

- Micropipette de 10 à 100 µL ou compte-gouttes calibré en plastique (goutte de 40 µL)
- Eau distillée
- Tubes de 50 ml
- Eprouvette de 150 ml ou de 125 ml
- Papier aluminium
- Pipettes de 2 et de 10 ml
- Poire à pipeter ou pipump
- Flacon de 250 ml

MATERIEL CONSEILLE :

Pour bloquer la réaction de révélation du test Elisa :

- Acide sulfurique ou chlorhydrique

Pour aller plus loin :

- Spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance et cuve ou
- Appareil photo numérique et logiciel gratuit MESURIM

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

OBJECTIFS COGNITIFS

L'intérêt général de la manipulation est de montrer (en une séance de TP) que l'on peut non seulement détecter mais aussi doser une protéine (ici un anticorps) dans une solution ou un sérum (un anticorps anti-HIV dans le cas du test du SIDA) grâce à la technique ELISA.

But du test ELISA que nous proposons :

Le test consiste à doser un anticorps de lapin anti-BSA à l'aide d'un support tapissé de BSA (Bovine Serum Albumin) et d'un anticorps anti-immunoglobuline de lapin couplé à la peroxydase.

Les anticorps sont généralement coûteux, les barrettes ou plaques de micro-titration permettent de travailler avec de petits volumes.

RAPPELS

DEFINITION ET VOCABULAIRE :

Le test E.L.I.S.A. (Enzym Linked ImmunoSorbent Assay) est un test immunologique classiquement utilisé pour la détection et le dosage protéique.

Note : Le dosage de protéines par ELISA concerne généralement les antigènes.

Pour les anticorps, étant donné l'hétérogénéité de la réponse anticorps, on parle plutôt de titrage (titre : inverse de la dernière dilution positive) => tests semi-quantitatifs.

CONTEXTE D'UTILISATION DU TEST ELISA :

Le test ELISA est utilisé lors du test de dépistage du virus du SIDA :

Ce test de dépistage s'effectue en deux étapes dont la première est un test E.L.I.S.A. permettant de détecter les anticorps produits par l'organisme et dirigés contre le virus. Les tests ELISA HIV permettent de déterminer la présence ou l'absence de l'Ag P24 et/ou des anticorps anti HIV1/HIV2, par comparaison à une valeur seuil (résultats qualitatifs).

La deuxième étape est un test de confirmation par immuno- transfert (Western blot).

DESCRIPTION DES ETAPES DU KIT :

- La **première étape** (réalisée par nos soins) est nommée "Coating", durant cette étape la BSA va se fixer au fond des cupules (par effet électrostatique). Nous utilisons une solution très concentrée de BSA qui va tapisser le fond des cupules et occuper tous les sites de fixation protéique. Les cupules sont ensuite lavées à l'aide d'un tampon et sont alors prêtes à l'emploi.



Pour mieux comprendre le Coating :

200µL d'une solution de BSA à 20g/L ont été distribués dans chacune des cupules. Les barrettes ont ensuite été incubées à 4°C durant 24 heures puis lavées pour enlever l'excès de BSA. Cette étape permet la fixation des protéines au fond des cupules.

L'anticorps à doser (anti-BSA) pourra ensuite se fixer à la BSA.

La fixation de la BSA au fond des cupules est un phénomène électrostatique propre à n'importe quel type de protéine (donc également aux anticorps). Il est primordial pour réaliser un bon dosage que la cupule soit tapissée de BSA afin d'éviter que des anticorps se fixent au fond de la cupule et non à la protéine. C'est la raison pour laquelle nous utilisons une solution très concentrée de BSA.

- La **deuxième étape** correspond à la fixation de l'anticorps à doser. On incube dans les cupules 80µL de la solution à doser durant 15 minutes. Puis les cupules sont lavées avec un tampon pour enlever les quelques anticorps non fixés.



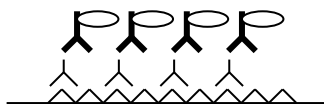
Attention nouveau protocole :



- ✓ **Nouvelles concentrations**
- ✓ **Coloration plus stable**

* **Les modifications sont surlignées en jaune**

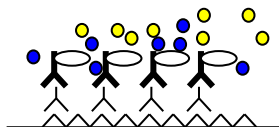
Modifiée le 02/05/2022



- Lors de la **troisième étape**, l'anticorps de détection (ou conjugué) se fixe à l'anticorps anti-BSA. Il est couplé à une enzyme : la peroxydase. Une solution d'anticorps de détection est incubée dans les cupules durant 15 minutes. Puis les cupules sont lavées pour enlever les quelques anticorps non fixés.



 Anticorps de détection couplé à la peroxydase = conjugué
 POD = Peroxydase

- La **dernière étape** est la détection des anticorps fixés. On incube dans les cupules une solution révélatrice contenant un substrat de la peroxydase : le TMB (tétra-méthyl-benzidine) qui se colore en bleu en présence de l'enzyme. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la quantité de peroxydase présente dans la cupule, donc directement proportionnelle à la concentration d'anticorps à doser.



 TMB (incolore)
 TMB oxydé (bleu)

Dans la composition de barrette proposée, nous utiliserons une gamme de concentration de l'anticorps à doser pour montrer que plus sa concentration en solution est importante, plus la coloration est visible. Nous lirons les intensités contre deux témoins.

PREPARATION

PREPARATION DU TAMPON PBSX1 :

Diluer d'un facteur 10 le contenu du tube de 12 ml noté PBSx10 provenant du sachet noté M stocké au réfrigérateur (possibilité de réaliser cette étape quelques jours à l'avance et de conserver le produit dilué à 4°C pendant 4 semaines).

- Verser le PBSx10 dans une éprouvette de 125 ml ou 150 ml
- Rincer le tube qui a contenu le PBSx10 une première fois avec un peu d'eau déminéralisée
- Récupérer cette eau de lavage dans l'éprouvette
- Renouveler l'opération plusieurs fois en veillant à ne pas dépasser un volume total de 120 ml dans l'éprouvette
- Compléter l'éprouvette avec de l'eau distillée jusqu'à 120 ml
- Transférer dans un flacon marqué PBSx1

Conserver au réfrigérateur à **+4°C** sans excéder une durée d'1 mois.

PREPARATION DE LA SOLUTION D'ANTICORPS ANTI-BSA DE CONCENTRATION C1

Diluer au PBSx1 le contenu du microtube à bouchon rouge du sachet A stocké au congélateur (possibilité de réaliser cette étape quelques jours avant le TP et conserver 24 heures à 4°C ou 4 semaines à -20°C)

👁️ **ATTENTION** 👁️ : la dilution se fait avec le PBS x1 (dilué au point 1) et non avec le PBS tween

- Ajouter 1,5 ml de tampon PBS x1 (préparé au point 1) dans le microtube à bouchon rouge du sachet noté A conservé au congélateur
- Prélever grossièrement à la pipette le mélange et le placer dans un tube propre pouvant contenir au moins 15 ml (⇒ conseil : utiliser un tube de 50 ml en plastique).
- Noter ce tube C1.
- Recommencer 4 fois l'opération d'ajout de 1,5 ml de PBSx1 dans le microtube et les opérations de prélèvement et de transfert dans le tube noté C1.
- Ajouter 7,5 ml de tampon PBSx1 dans le tube noté C1.
- On obtient 15 ml de solution de concentration C1.

Si le TP a lieu dans moins de 24 heures, conserver à **4°C**.

Si le TP a lieu quelques jours plus tard, conserver à **-20°C** sans excéder 4 semaines.

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

PREPARATION DE LA GAMME D'ANTICORPS ANTI-BSA A DOSER :

À partir de la solution C1, réaliser une dilution en cascade d'un facteur ½ à chaque étape (possibilité de faire cette étape quelques jours avant le TP et de conserver les dilutions à 4°C pour 24h ou à -20°C pour 4 semaines)

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : les dilutions se font avec le PBS x1 (dilué au point 1) et non avec le PBS tween

- Préparation de la concentration C2 d'anticorps anti-BSA :
 - Prélever 7,5 ml dans le tube noté C1 et les mettre dans un tube propre pouvant contenir au moins 15 ml (⇨ conseil : utiliser un tube à fond conique en plastique de 50 ml). Noter ce tube C2.
 - Ajouter 7,5 ml de tampon PBS x1 dans le tube noté C2. On obtient 15 ml de solution de concentration C2.
- Opérer de la même façon pour la préparation des concentrations C3, C4, C5, C6, C7 et C8 d'anti-BSA : dilution en cascade d'un facteur ½ à partir de la solution C1

Après avoir effectué les dilutions, il reste 7,5 ml des solutions C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 et 15 ml de la solution C8.

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 :

Si le TP a lieu dans moins de 24 heures, conserver les 8 solutions ainsi obtenues à 4°C.

Si le TP a lieu quelques jours plus tard, conserver à -20°C sans dépasser 1 mois.

PREPARATION DE LA SOLUTION D'ANTICORPS DE DETECTION :

Dilution au PBSx1 du contenu du microtube à bouchon bleu du sachet noté A stocké au congélateur (possibilité de préparer cette solution quelques jours à l'avance et conserver à 4°C pendant 24h ou à -20°C pendant 4 semaines)

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : la dilution se fait avec le PBS x1 (dilué) et non avec le PBS tween

- Ajouter 1,5 ml de tampon PBS x1 (préparé au point 1) dans le microtube à bouchon bleu du sachet noté A conservé au congélateur
- Prélever grossièrement à la pipette le mélange et le placer dans un tube propre pouvant contenir au moins 30 ml (⇨ conseil : utiliser un tube à fond conique en plastique propre de 50 ml).
- Noter ce tube « Ac détection ».
- Recommencer 4 fois l'opération d'ajout de 1,5 ml de PBSx1 dans le microtube et les opérations de prélèvement et de transfert dans le tube noté « Ac détection »
- Ajouter 22,5 ml de tampon PBSx1 dans le tube noté « Ac détection ». On obtient 30 ml de solution d'anticorps de détection.

Si le TP a lieu dans moins de 24 heures, conserver à 4°C.

Si le TP a lieu quelques jours plus tard, conserver à -20°C sans dépasser 1 mois.

PREPARATION DU PBS TWEEN :

Diluer d'un facteur 10 le contenu du tube de 50 ml noté PBSx10 provenant du sachet noté M stocké au réfrigérateur (possibilité de réaliser cette étape quelques jours à l'avance et de conserver le produit dilué à 4°C pendant 4 semaines).

- Verser le PBSx10 dans une éprouvette de 500 ml
- Rincer le tube qui a contenu le PBSx10 une première fois avec un peu d'eau déminéralisée
- Récupérer cette eau de lavage dans l'éprouvette
- Renouveler l'opération plusieurs fois en veillant à ne pas dépasser un volume total de 500 ml dans l'éprouvette
- Compléter l'éprouvette avec de l'eau distillée jusqu'à 500 ml
- A l'aide d'une micropipette prélever 500 µL de tampon PBS1 et les ajouter au microtube à bouchon rose.
- Prélever le volume du microtube à bouchon rose et l'ajouter dans l'éprouvette.
- Renouveler l'opération plusieurs fois pour récupérer la totalité du microtube.
- Transférer dans un flacon noté PBSTween

Conserver au réfrigérateur à +4°C sans excéder une durée d'1 mois

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

PREPARATION DE LA SOLUTION REVELATRICE TMB :

Diluer au ½ le contenu du tube noir de TMB stocké dans le sachet M au réfrigérateur (étape à réaliser juste avant le TP sans exposer à la lumière ni à d'éventuelles traces de détergeant)

- Entourer d'aluminium le tube en plastique vide de 50 ml (fourni dans le sachet M au réfrigérateur) de manière à protéger le contenu de la lumière
- Verser, dans ce tube le contenu du tube noir de TMB stocké dans le sachet M placé au réfrigérateur
- Ajouter 10 ml d'eau stérile (tube à bouchon rouge dans le sachet M stocké au réfrigérateur)
- Boucher et bien agiter

Conserver à l'abri de la lumière à **4°C** (pas plus d'une journée)

👁️ ATTENTION 👁️ : Pour éviter toute dégradation du TMB, il est nécessaire d'utiliser un tube neuf sans trace de détergeant : le tube en plastique de 50 ml fourni est à usage unique et parfaitement adapté pour la dilution du TMB.

De plus, le TMB est très sensible à la lumière : il ne faut en aucun cas le préparer dans un tube sans protection d'aluminium.

PREPARATION DU SERUM NON-IMMUNISE ; TEMOIN NEGATIF

(Possibilité de réaliser cette étape quelques jours avant le TP et conserver 24h à 4°C ou 4 semaines à -20°C) : diluer, dans 10 ml de PBS x1, le contenu du microtube à bouchon blanc stocké dans le sachet A au congélateur.

- Ajouter 1,5 ml de tampon PBS x1 (préparé au point 1) dans le microtube à bouchon blanc du sachet noté A conservé au congélateur
- Prélever grossièrement à la pipette le mélange et le placer dans un tube propre pouvant contenir au moins 10 ml (⇒ CONSEIL ⇒ : utiliser un tube à fond conique en plastique propre de 50 ml).
- Noter ce tube « sérum non immunisé »
- Recommencer 4 fois l'opération d'ajout de 1,5 ml de PBSx1 dans le microtube et les opérations de prélèvement et de transfert dans le tube noté « sérum non immunisé »
- Ajouter 2,5 ml de tampon PBSx1 dans le tube noté « sérum non immunisé ».
- On obtient 10 ml de témoin négatif.

Si le TP a lieu dans moins de 24 heures, conserver à **4°C**.

Si le TP a lieu quelques jours plus tard, conserver à **-20°C** sans dépasser 1 mois.

☐ NOTE ☐ :

Les quantités d'anticorps et de sérum sont faibles, pour vous assurer de récupérer la totalité du volume contenu dans les tubes fournis, nous vous conseillons de procéder comme il est préconisé dans la notice en rinçant plusieurs fois le tube au lieu de directement pipeter dans le tube.

PREPARATION DE LA SALLE :

- Disposer une barrette de 8 puits par binôme
- Préparer des pipettes et des poires pour les lavages au PBS tween
- Préparer des compte-gouttes (calibrés à 40 µL) ou des micropipettes pour prélever les solutions d'anticorps de concentration **C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8** la solution de **PBSTween**, la solution de sérum non immunisé, la solution d'anticorps de détection et la solution de TMB révélatrice (conservée dans le papier aluminium).

👁️ ATTENTION 👁️ : veillez à ce que les compte-gouttes de prélèvement ne se mélangent pas.

☐ NB ☐ : On peut éventuellement répartir les solutions d'anticorps de concentration **C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8** dans des tubes pour chaque binôme. A ce moment-là, le binôme peut utiliser le même compte-goutte pour faire tous les prélèvements de solution d'anticorps en commençant par prélever et déposer la solution la moins concentrée, à savoir C8 puis des solutions de plus en plus concentrées jusqu'à C1.

MANIPULATION :

Les barrettes fournies ont déjà subi l'étape de « coating », c'est-à-dire qu'elles sont prêtes à l'emploi : la BSA est fixée au fond des puits.



Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

☐NB☐ : Les barrettes de huit puits ne sont pas totalement symétriques, un coté possède une encoche ce qui permet de repérer le puits N°1 et le N°8.

Les puits 1 à 7 seront les différentes concentrations de la gamme étalon et le puits 8 sera le témoin négatif.

INCUBATION DE L'ANTICORPS OU DU SERUM NON-IMMUNISE DANS LES CUPULES ET LAVAGE

REMPLISSAGE DES CUPULES :

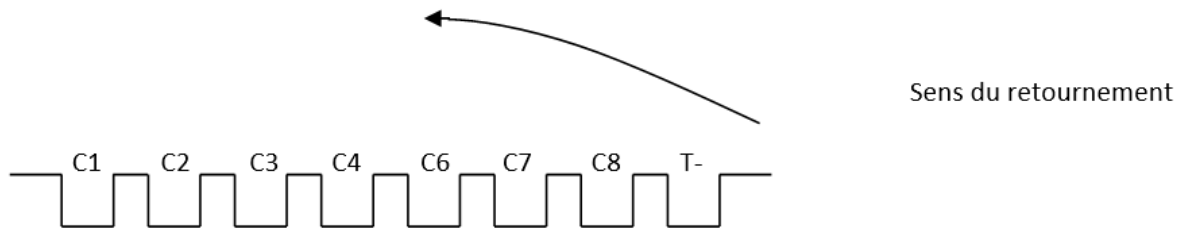
- Dans le puits 1, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C1**
- Dans le puits 2, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C2**
- Dans le puits 3, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C3**
- Dans le puits 4, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C4**
- Dans le puits 5, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C6**
- Dans le puits 6, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C7**
- Dans le puits 7, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution d'anticorps anti-BSA **C8**
- Dans le puits 8, mettre 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL avec un compte-gouttes calibré)
De la solution de **PBS1X** ou de sérum non immunisé. Ce puits sert de témoin négatif.

INCUBATION :

- Incuber 15 minutes à température ambiante

LAVAGE :

- Vider les cupules par retournement (voir schéma suivant) en prenant garde à ce que les contenus des cupules des puits 1 à 7 ne contaminent pas le contenu de la cupule du témoin négatif du puits 8.



- Laver deux fois au PBS tween en remplissant à la pipette les cupules sans les faire déborder.
- Vider les cupules par retournement en prenant à nouveau garde à ne pas contaminer le puit 8 du témoin négatif (respecter le sens de retournement)

INCUBATION DE L'ANTICORPS CONJUGUE ET LAVAGE :

- Déposer 80µL (ou 2 gouttes de 40µL) de la solution d'anticorps de détection dans toutes les cupules
- Incuber 15 minutes à température ambiante
- Vider les cupules en prenant garde à ne pas contaminer le puits 8 (voir le schéma de retournement dans le point 1 de la manipulation ci-dessus)
- Laver deux fois au PBS-tween en remplissant à la pipette les cupules sans les faire déborder.
- Vider les cupules par retournement en prenant à nouveau garde à ne pas contaminer le puit 8 du témoin négatif (respecter le sens de retournement)

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

REVELATION :

- Enlever l'aluminium protégeant le tube de TMB de la lumière pour vérifier que le TMB n'est pas bleu

DEPOT DE LA SOLUTION DE REVELATION :

- Pour les puits 1 à 8 : Déposer 80 µL (ou 2 gouttes de 40µL au compte-gouttes calibré) de la solution de TMB substrat de la peroxydase.

INCUBATION :

Incuber **5 à 10** minutes à température ambiante

INTERPRETER LES RESULTATS RAPIDEMENT :

Dès le dépôt du TMB, la réaction de révélation commence : la coloration bleue apparaît.

Vous disposez d'environ **5 à 10** minutes pour observer les colorations de tous les puits.

⇒ **Conseil** ⇒ pour quantifier l'intensité des différentes colorations : Vous pouvez prendre une photographie des barettes avec un appareil numérique en veillant à ce que les colorations des puits soient bien visibles. A l'aide du logiciel MESURIM disponible gratuitement sur le site de l'Académie d'Amiens, vous pouvez mesurer les intensités lumineuses des puits.

POSSIBILITE DE STOPPER LA REACTION DE COLORATION : (dans le cas où les résultats ne sont pas exploités tout de suite)

- Ajouter dans les puits 80 µL de 1N HCL ou 0,0625N d'acide sulfurique (l'acide bloque l'enzyme) : le TMB vire au jaune.

⇒ **CONSEILS** ⇒ pour quantifier l'intensité des différentes colorations :

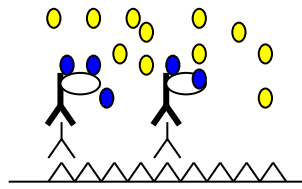
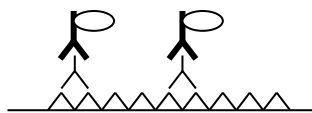
- Vous pouvez lire la mesure d'absorbance en spectrophotométrie à 450 nm. Il suffit de transvaser à la pipette, dans une cuve adaptée, le contenu de puits identiques issus de plusieurs barettes.
- Vous pouvez prendre une photographie des barettes avec un appareil numérique en veillant à ce que les colorations des puits soient bien visibles. A l'aide du logiciel MESURIM disponible gratuitement sur le site de l'Académie d'Amiens, vous pouvez mesurer les intensités lumineuses des puits.

👁️ **ATTENTION** 👁️ : Les volumes sont très petits et s'évaporent rapidement (une barette laissée la nuit sur la paille est vide le lendemain). Scotcher hermétiquement les barrettes et conserver au réfrigérateur.

RESULTATS ATTENDUS ET INTERPRETATIONS

1) Dans le cas d'une faible concentration en anticorps anti-BSA

FAIBLE COLORATION



Y Anticorps à doser = Anti-BSA

Y-◯ Anticorps de détection couplé à la peroxydase = conjugué

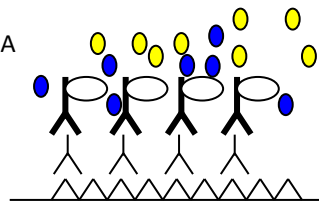
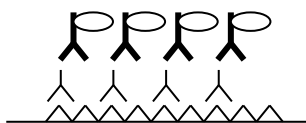
◯ TMB (incolore)

◯ POD = Peroxydase

◯ TMB oxydé (bleu)

2) Dans le cas d'une forte concentration en anticorps anti-BSA

COLORATION INTENSE



◯ TMB (incolore)

◯ TMB oxydé (bleu)

Attention nouveau protocole :

- ✓ Nouvelles concentrations
- ✓ Coloration plus stable

* Les modifications sont surlignées en jaune

Modifiée le 02/05/2022

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps à doser, plus la concentration est élevée, plus la coloration est visible.

En effet, la BSA est en excès puisqu'elle tapisse le fond de la cupule donc si on augmente la concentration d'anticorps à doser, il y aura augmentation du nombre d'anticorps fixés. Lorsque l'on ajoute le conjugué, celui-ci va reconnaître les anticorps anti-BSA fixés précédemment. Ainsi la quantité de peroxydase présente dans la cupule après lavage sera directement proportionnelle à la quantité d'anticorps à doser. Lorsque l'on ajoute le substrat de la peroxydase (le TMB) en excès, la concentration enzymatique dans la cupule déterminera la quantité de substrat transformé et, par conséquent, l'intensité de la coloration.

FICHE SECURITE

Ne pas ingérer les produits contenus dans ce kit. En cas de contact direct avec la peau ou les yeux, rincer à l'eau claire.

A cette concentration, le TMB n'est pas un produit dangereux mais le port de gants, de lunettes et d'une blouse est recommandé. Le PBS tween et les anticorps ne requièrent pas de précautions d'utilisation particulières. Cependant nous vous recommandons de les utiliser avec des gants pour éviter tout contact direct.

FICHE CONSERVATION

Le PBSx10 se conservent à +4°C pendant 3 mois environ. La solution diluée se garde à +4°C pendant 1 mois au plus. Dès qu'un précipité blanc apparaît, le PBS 10X et dilué n'est plus valable.

Le PBStween se conservent à +4°C pendant 1 mois au plus.

Le sachet A contenant 3 microtubes peut être conservé à -20°C pendant 6 mois :

- 1 microtube à bouchon rouge contenant 110µL de sérum de lapin immunisé contre la BSA -20°C
- 1 microtube à bouchon bleu contenant 50 µL d'anticorps anti-Immoglobuline de lapin couplé à la peroxydase -20°C
- 1 microtube à bouchon naturel contenant 110µL de sérum de lapin non immunisé -20°C

Les solutions diluées à partir des tubes du sachet A se conservent 24 heures à 4°C ou bien 4 semaines à -20°C.

Le tube noir contenant 10 ml de TMB peut être conservé à +4°C pendant environ 6 mois. Le TMB dilué se conserve 24 heures à 4°C.

☞ ATTENTION : le TMB doit être gardé à l'abri de la lumière. Dès que le TMB se colore, il n'est plus valable.

Le sachet noir de 24 barrettes de microtitration avec leurs supports peuvent être conservés à +4°C pendant 6 mois.

☞ ATTENTION : pour une longue conservation, garder les plaques à l'abri de la lumière.

FICHE TRI ET RECUPERATION

Le TMB, le PBS et le PBS tween peuvent être jetés à l'évier avec une grande quantité d'eau. Les barrettes de plastique peuvent être jetées dans les bacs de récupération du plastique une fois rincées. Elles sont recyclables.