



Dynamic Test Kits for R&D
and Quality Control

QUALISPEED BOV TEST

TEST ELISA DE DETECTION QUALITATIVE
D'ADULTÉRATION PAR DU LAIT DE VACHE
DANS DES LAITS ET FROMAGES
DE CHÈVRE OU DE BREBIS

Notice technique

Référence : 250301

Version : Décembre 2011

LIBIOS s.a.r.l.
83 rue Edmond Michelet
69490 Pontcharra Sur Turdine
FRANCE

Ph: +33 (0)4 74130302
Fax: +33 (0)4 74052825
Web: www.libios.fr
Email: info@libios.fr

COMPOSITION DU KIT

Le kit QualiSpeed BOV Test de recherche d'adultération par du lait de vache des laits et fromages de brebis ou de chèvre est composé des éléments suivants :

- 8 puits coatés avec un sérum spécifique du lait de vache
 - 1 puits servira au témoin négatif
 - 1 puits servira au témoin positif
- 1 flacon de réactif Traceur (conjugué enzymatique lyophilisé, à reconstituer avec 1mL d'eau distillée) Stabilité à +4°C jusqu'à péremption du kit (28 jours à +4°C après reconstitution)
- **1 flacon du réactif d'Ellman** (à reconstituer avec 2mL d'eau distillée) : Stabilité à +4°C jusqu'à péremption du kit (4 jours à +4°C à l'abri de la lumière (sous emballage aluminium) après reconstitution)
- 1 flacon témoin positif (prêt à l'emploi) : Conservation à +4°C
- 1 flacon témoin négatif (prêt à l'emploi) : Conservation à +4°C

Remarque: Tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante *avant la réalisation du test afin d'obtenir une lecture optimisée du résultat.*

PRINCIPE

Ce test rapide ELISA est basé sur une réaction immunologique par compétition et permet de détecter qualitativement l'absence ou la présence de lait adultérant.

Les échantillons (témoin positif, témoin négatif et échantillons à tester) sont déposés dans des puits coatés aux anticorps monoclonaux, puis mis en compétition avec le conjugué « Traceur ».

En cas d'absence d'adultération dans le lait à tester, seul le conjugué est fixé au fond du puits et alors révélé par une coloration jaune lors de l'ajout du réactif d'Ellman.

I. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Echantillon de lait :

Aucun traitement de l'échantillon de lait n'est nécessaire pour réaliser le dosage.

Echantillon de fromage :

- Peser précisément 2 g de fromage
- Ajouter 2 ml d'eau à pH 4 environ (eau acidifiée avec de l'acide acétique)
- Ajouter 4 ml de chloroforme
- Homogénéiser avec un broyeur de type ULTRA-TURRAX par exemple

(Cette phase peut être changée en laissant en contact le fromage broyé *manuellement avec le chloroforme et l'eau acidifiée pendant 24 heures à température ambiante*)

- Centrifuger 3000 tours/ minute pendant 10 minutes
- Récupérer la phase aqueuse (supérieure limpide)

II. MODE OPERATOIRE

- Sortir du réfrigérateur le nombre adéquat de puits (1 puits par témoin et par échantillon)
- Reconstituer les réactifs Traceur et ELLMAN
- Laver les puits 3 fois avec 300µl d'eau distillée ou délicatement à l'aide d'une pissette. Bien éliminer l'eau au dernier rinçage en secouant fortement
- Déposer 1 goutte (50µl) par puits du témoin positif, du témoin négatif et de chaque échantillon à tester (lait ou fromage)
- Déposer 2 gouttes (100µl) du réactif Traceur dans tous les puits
- Effectuer une homogénéisation douce des puits en appliquant un mouvement circulaire de la plaque sur la paillasse
- Attendre 5 minutes au minimum. Vider le contenu des puits
- Laver les puits 3 fois avec 300µl d'eau distillée ou délicatement à l'aide d'une pissette. Bien éliminer l'eau au dernier rinçage en secouant fortement
- Déposer 4 gouttes (200µl) du réactif d'ELLMAN dans tous les puits
- Incuber à température ambiante entre 5 et 10 minutes pour les échantillons de lait (Un temps supérieur permet une lecture plus facile)
Incuber à température ambiante entre 20 et 30 minutes pour les échantillons de fromage

Remarque: Pour un protocole au seuil de 1%, nous contacter

III. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Témoin positif (présence de lait de vache) = Pas de coloration

Témoin négatif (pur lait de chèvre ou de brebis) = Coloration jaune

Couleur des puits	Adultération
Pas de coloration	Teneur en lait de vache comprise entre 0,5% et 100%
Coloration jaune – Peu intense	Teneur en lait de vache comprise entre 0,2% et 0,5%
Coloration jaune – Intense	Teneur en lait de vache < 0,2% (échantillon pur)