



GLYPHOSATE ELISA

Format Microplaque / Référence : 1500086

Principe :

Le test GLYPHOSATE ELISA est un test immuno-enzymatique pour la détection et la quantification du glyphosate dans les eaux de surface et profondes. Les échantillons d'eau sont testés après dérivation préalable. Des bulletins d'application spécifiques sont disponibles pour les matrices sol et alimentation.

Le glyphosate dérivé présent dans l'échantillon se lie spécifiquement à un anticorps anti-glyphosate en solution. Le complexe ainsi formé est capturé par un anticorps secondaire fixé sur la plaque. Dans un second temps, un analogue du glyphosate couplé à une enzyme vient se fixer sur les sites restés disponibles. Après lavage et addition du substrat, une coloration inversement proportionnelle à la quantité d'analyte présent dans l'échantillon se développe. La réaction est stoppée et la coloration mesurée à 450 nm sur un spectrophotomètre de microplaques.

Conservation :

Le coffret Glyphosate ELISA est à conserver au réfrigérateur (2-8°C), ne pas congeler.

Les réactifs se conservent jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret, vérifier avant utilisation.

Le réactif de dérivation se conserve au maximum 8 heures lorsqu'il est reconstitué avec son diluant.

Composition du coffret :

- Plaque de microtitration en 12 barrettes de 8 puits sécables
- Anticorps anti-glyphosate : 1 flacon de 6 ml
- Conjugué enzyme-glyphosate : 1 flacon de 6 ml
- Standard négatif et 5 standards positifs à 0,075 - 0,2 - 0,5 - 1 et 4 µg/l, flacons de 2 ml.
- Contrôle positif vers 0,75 µg/l, flacon de 2 ml
- Diluant Echantillon Zéro: solution sans glyphosate pour dilution d'échantillon à teneur élevée : 1 flacon de 30 ml.
- Chromogène : 1 flacon de 16 ml
- Solution d'arrêt à manipuler avec précaution (acide sulfurique diluée) : 1 flacon de 12 ml
- Prévenir tout contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment à l'eau.
- Solution de lavage concentrée 5X : 1 flacon de 100 ml.
- Tampon Echantillon : 1 flacon de 125 ml
- Réactif de dérivation : 3 flacons de 100 µl
- Diluant de dérivation : 3 flacons de 4 ml

Ne pas utiliser de composants provenant de différents lots pour un même test

Matériel nécessaire :

- Pipettes pour distribution de 50 µl, 100 µl, 150 µl et 250 µl, 1 ml et 3,5 ml
- Pipette multicanaux ou répétitive recommandée pour distribution de 50 et 100 µl et 150 µl
- Dispositif de lavage : pissette ou laveur automatique
- Lecteur de microplaque avec filtre 450 nm
- Tubes à usage unique de 5 ml
- Parafilm ou couvercle de microplaque
- Vortex, Timer
- Eau distillée ou désionisée

Préparation du Test :

Amener les réactifs à température ambiante (20-25°C) avant réalisation du test.

Diluer la solution de lavage concentrée 5X avec de l'eau désionisée ou distillée, par exemple 100 ml dans 400 ml.

Définir un plan de plaque avec standards, contrôles et échantillons : doublets recommandés.

Prendre le nombre de barrettes nécessaires à la réalisation du test, les barrettes restantes seront remises dans le sachet avec dessiccant en veillant à bien le refermer.

Les autres composants sont prêts à l'emploi.

Procédure de Lavage :

Laveur automatique : Programmer 3 cycles de lavage avec un dépôt minimum de 250 µl de solution de lavage 1X à chaque cycle en veillant à une bonne aspiration du liquide résiduel entre chaque cycle. Taper fermement la plaque sur du papier absorbant sur la pailleuse en fin de lavage pour élimination de toute trace de tampon de lavage.

Lavage Manuel : à l'aide d'une pissette remplie de solution de lavage 1X, remplir tous les puits. Vider d'un geste ferme leur contenu par renversement. Répéter ces étapes 3 fois. En fin de lavage, taper fermement la plaque sur du papier absorbant sur la pailleuse pour élimination de toute trace de tampon de lavage.

Préparation des Echantillons :

Les échantillons troubles ou présentant des particules seront filtrés, par exemple sur Anotop 25 Whatman 0,2 µm.
Les échantillons conservés par ajout d'acide chlorhydrique seront neutralisés par de la soude avant réalisation du test.

Dérivation :

Diluer 1 réactif de dérivation avec 3,5 ml de diluant de dérivation, vortexer scrupuleusement

La solution de dérivation ainsi préparée doit être utilisée dans la journée.

Préparer une série de tubes avec 250 µl de standard, contrôle et échantillon à analyser

Ajouter 1 ml de tampon échantillon à chaque tube, vortexer

Ajouter 100 µl de solution de dérivation préparée

Vortexer immédiatement dès l'ajout du réactif jusqu'à obtention d'un mélange parfaitement homogène

Incuber 10 minutes à température ambiante

Réalisation du test ELISA :

- 1) Déposer 50 µl de solution standard, contrôle et échantillon **dérivés** dans chaque puits
- 2) Déposer 50 µl d'anticorps anti-glyphosate.
Couvrir, agiter par un mouvement circulaire sur la paillasse et incuber 30 minutes à température ambiante
- 3) Ajouter 50 µl de conjugué enzyme-glyphosate.
Couvrir, agiter par un mouvement circulaire sur la paillasse et incuber 60 minutes à température ambiante
- 4) Procéder au lavage selon procédure décrite ci-dessus.
- 5) Ajouter 150 µl de chromogène. Incuber 20 à 30 minutes à température ambiante.
- 6) Ajouter 100 µl de solution d'arrêt selon le même rythme que le chromogène.
- 7) Lire l'absorbance à 450 nm avec un lecteur de microplaque dans les 15 minutes.

Calcul et interprétation des résultats :

Les programmes automatiques des lecteurs ELISA reprendront les instructions suivantes:

- 1) Calculer la DO moyenne pour chaque doublet de standard, contrôle et échantillon.
- 2) Calculer le Ratio : DO moyenne de l'échantillon, standard, contrôle / DO moyenne du standard négatif.
- 3) Reporter les valeurs de Ratio des standards sur un graphe : X échelle logarithmique, Y échelle linéaire.
La construction de la courbe peut également être effectuée en utilisant un tableur.
- 4) Déterminer la droite de régression en mode 4 paramètres ou Log/Logit.
Calculer la concentration de chaque échantillon en reportant le Ratio sur la courbe.

Toute concentration calculée trouvée $< 0,05 \mu\text{g/l}$ sera considérée comme inférieure à la limite de détection LOD du test.
Les échantillons trouvés $> 0,05 \mu\text{g/l}$ et $< 0,075 \mu\text{g/l}$ = Limite de Quantification LOQ seront rendus positifs.
Les échantillons dont la concentration est supérieure à $4 \mu\text{g/l}$ seront dilués au $1/10^{\text{ème}}$ dans du diluant échantillon puis retestés.

Réactivité :	LOD en µg/l Ratio de 90 %	Ratio de 50% en µg/l
Glyphosate	0,05	0,5
Glyphosine	50	3000
Glufosinate	2000	70000
AMPA	35000	$> 10^6$

Aucune réaction croisée avec des pesticides d'autres classes à une concentration de 1 mg/l n'a été observée.
De nombreux composés organiques ou non trouvés communément dans les eaux ont été testés et n'ont pas interféré avec le test.
Cependant, compte tenu de la grande diversité de composés pouvant être retrouvés dans les échantillons d'eau, des interférences dues à la matrice ne peuvent être définitivement écartées.

Comme pour tout autre test, les résultats seront confirmés par une autre méthode si nécessaire.

Les informations contenues dans ce protocole résumé sont destinées à fournir des explications tant qu'à l'utilisation de la trousse Glyphosate Elisa Microplaque. Elles ne constituent en rien une garantie de résultat.

Ces données sont extraites et traduites de la notice du coffret Glyphosate Plate PN 500086 Rev. 121608.

S'y reporter pour toute précision complémentaire et mentions légales.

Rev 2 / Juin. 14

Pour tout complément, contacter :



NOVAKITS Sarl
40, Boulevard Jean INGRES
44100 NANTES
Tél. : 09 61 58 14 40
Mail : info@novakits.com
Site : www.novakits.com

Coffret fabriqué par :



ABRAXIS llc
54 Steamwhistle Drive
Warminster PA 18974 – USA
Tél. : 215 357 3911
Site Web : www.abraxiskits.com