

## **ADIAPURE™ SLB**

**KIT D'EXTRACTION EN LYSE DIRECTE  
POUR LA DETECTION D'ACIDES NUCLEIQUES  
PAR AMPLIFICATION ENZYMATIQUE DE GENE EN TEMPS REEL (TEST PCR)**

**Références :**

ADIADP01S1-500 (500 mL)



# ADIAPURE™ SLB

<b>HISTORIQUE DES REVISIONS .....</b>	<b>3</b>
<b>I. INFORMATIONS GENERALES .....</b>	<b>4</b>
1. Principe du kit.....	4
2. Description du test.....	4
<b>II. MATERIEL ET REACTIFS .....</b>	<b>5</b>
1. Réactifs fournis dans le kit.....	5
2. Validité et conservation.....	5
3. Matériel nécessaire mais non fourni dans le kit.....	5
<b>III. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS ET DES TEMOINS .....</b>	<b>6</b>
1. Précautions.....	6
2. Conservation des extraits d'acides nucléiques .....	6
3. Préparation des témoins.....	6
A. <i>Témoin négatif d'extraction (obligatoire)</i> .....	6
B. <i>Témoin positif « cible » d'extraction (recommandé)</i> .....	6
<b>IV. EXTRACTIONS ADIAPURE™ SLB .....</b>	<b>7</b>
1. Extraction à partir d'écouvillon .....	7
2. Extraction à partir de plume .....	7
<b>V. AMPLIFICATION .....</b>	<b>8</b>
<b>VI. INDEX DES SYMBOLES .....</b>	<b>9</b>

## Historique des révisions

---

N/A	Non Applicable (première publication)
Correction	Correction des anomalies du document
Modification technique	Addition, révision et/ou suppression d'information liée au produit
Administratif	Modifications non techniques notables pour l'utilisateur

NB : toute modification mineure, typographique grammaticale et mise en page, ne figurent pas l'historique des révisions

Date d'édition	Référence	Type de révision	Révision apportée
2020/01	NF01S1-01	N/A	Première publication
2024/02	NF01S1-02	Modification technique	Précision sur la température de stockage du L2 (§II.2.) Ajout détection du virus de la maladie de Marek à partir de plume
2024/02	NF01S1-02	Administration	Suppression de la référence ADIADP01S1-100

## I. Informations générales

---

### 1. Principe du kit

Le kit d'extraction ADIAPURE™ SLB permet d'obtenir par lyse directe des extraits d'acides nucléiques. Il contient l'ensemble des tampons nécessaires à l'extraction d'ADN à partir de différentes matrices. Les acides nucléiques ainsi libérés peuvent alors être utilisés sans purification pour la détection des pathogène par les kits d'amplification ADIAVET™.

### 2. Description du test

Adiagène a validé le kit ADIAPURE SLB à partir de diverses matrices pour la détection de différents pathogènes ADN de la gamme PCR ADIAVET.

Le tableau ci-dessous résume les protocoles validés.

		Prélèvements	
		Ecouvillon	Plume
<b>Maladies aviaires</b>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	X	
	<i>Mycoplasma synoviae</i>	X	
	<i>Mycoplasma meleagridis</i>	X	
	<i>Mycoplasma iowae</i>	X	
	<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	X	
	<i>Virus de la maladie Marek</i>		X

## II. Matériel et réactifs

---

### 1. Réactifs fournis dans le kit

---

**REF** ADIADP01S1-500

L1..... tampon de lyse  
L2..... Enzyme  
L3..... tampon de lyse

5 x 100 mL flacons (Réactif prêt à l'emploi)  
1 x 1,1 mL tube (Réactif prêt à l'emploi)  
1 x 25 mL flacon (Réactif prêt à l'emploi)

---

### 2. Validité et conservation

Dès réception du kit, les tampons L2 et L3 doivent être placés à +2/8°C ou à <-15°C. Pour une meilleure stabilité, il est recommandé de conserver le réactif L2 à une température inférieure à -15°C. Le tampon L1 doit être placé à température ambiante à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, l'ensemble des réactifs est stable au moins 1 an. Le tampon L1 peut former un précipité, dans ce cas, le réchauffer jusqu'à dissolution complète du précipité avant utilisation.

**Ne pas mélanger les réactifs de kits de lots différents.**

**Ne pas congeler le L1.**



**Bien vortexer le tampon L3 avant utilisation.**

### 3. Matériel nécessaire mais non fourni dans le kit

**Attention : le consommable utilisé doit être Nuclease-free (par exemple autoclavé deux fois 25 minutes à +120°C ou une fois 60 minutes à +121°C)**

- Poste de Sécurité Microbiologique de type II
- Etuve, bain-marie ou bloc chauffant
- Appareil d'homogénéisation pour tubes de type vortex
- Pipettes de 1 - 10 µL, 20 - 200 µL et 200 - 1000 µL
- Embouts Nuclease-free avec filtres pour micropipettes
- Microtubes Nuclease-free de 1,5 mL et 2 mL
- Tubes stériles de 5, 10 ou 15 mL
- Gants latex ou nitrile non poudrés

### III. Traitement des échantillons et des témoins

---

#### 1. Précautions

**Important :**

Préparer les tampons contenus dans les kits conformément à la notice §II.2.

Les tampons peuvent contenir des substances toxiques, veuillez consulter la fiche technique de sécurité MSDS.

Les températures de stockage doivent être respectées.

Nous conseillons vivement que cet essai soit réalisé par des personnes ayant reçu une formation appropriée. Vérifier l'exactitude des micropipettes utilisées. La qualité des résultats dépend du respect scrupuleux des bonnes pratiques de laboratoire.

La réaction PCR génère de grandes quantités d'ADN amplifié. Quelques molécules de produits amplifiés peuvent générer des résultats positifs. Il est donc important de ne pas ouvrir les tubes après amplification.

Les échantillons à analyser doivent être manipulés et éliminés comme des déchets biologiques.

**Prendre toutes les dispositions de sécurité et de confinement requises pour la manipulation des agents biologiques concernés.**

Nous vous recommandons de lire l'ensemble du protocole avant de commencer l'essai et de le respecter scrupuleusement.

#### 2. Conservation des extraits d'acides nucléiques

Les ADN extraits sont des molécules sensibles. Les extraits d'ADN peuvent être stockés dès la fin de l'extraction à +2/8°C pendant 24 heures, puis doivent être conservés à <-15°C.

#### 3. Préparation des témoins

Plusieurs témoins devront être inclus lors de chaque série d'extraction.

La combinaison de différents témoins permet la validation de l'ensemble des étapes du processus analytique (extraction + amplification), quelles que soient les matrices.

- Le contrôle interne endogène ou exogène selon le kit ADIAVET™ permet de vérifier l'extraction et l'amplification de chaque échantillon.
- Le témoin « positive control » inclus dans le kit de diagnostic ADIAVET™ du pathogène d'intérêt permet de valider l'amplification de la cible.

D'autres témoins doivent ou peuvent être ajoutés :

##### A. Témoin négatif d'extraction (obligatoire)

Afin de s'assurer de l'absence d'inter-contamination, au moins un témoin négatif doit être intégré dans chaque série d'extraction (à titre d'exemple la norme AFNOR NF U47-600 recommande un témoin négatif de processus analytique par centrifugation de 24 colonnes ou 4 témoins négatifs de processus analytique par plaque 96 puits). Ce témoin pourra être réalisé avec une matrice négative, par exemple du tampon de dilution.

##### B. Témoin positif « cible » d'extraction (recommandé)

Un témoin positif « cible » est introduit par série d'extraction. Il s'agit d'un échantillon contenant le pathogène d'intérêt. Celui-ci pourra être obtenu à partir d'un prélèvement positif disponible au laboratoire, ou d'un prélèvement négatif dopé par une solution du pathogène d'intérêt. Ce témoin positif cible (parfois nommé sentinelle) devra être proche de la LD<sub>METHODE</sub> (par exemple, entre 1 et 100 X LD<sub>METHODE</sub>). Il permet d'établir un suivi, sous forme de carte de contrôle, renseignant sur la fidélité des résultats obtenus.

## IV. Extractions ADIAPURE™ SLB

 Chaque tampon du kit doit être préalablement vortexé avant utilisation.

### 1. Extraction à partir d'écouvillon

Echantillons	Mycoplasmes et <i>O. rhinotracheale</i>
Préparation	<p>Couper <b>1 à 6 écouvillons</b> au ras du coton dans un tube à hémolyse de 5 mL.</p> <p>Ajouter <b>1 mL de tampon L1</b> s'il s'agit d'une analyse de 1 à 3 écouvillons <b>ou 2 mL de tampon L1</b> s'il s'agit d'une analyse de 4 à 6 écouvillons. Vortexer vigoureusement 10 secondes / tube.</p> <p>Transférer <b>50 µL du surnageant</b> dans un microtube ou dans un puits de plaque PCR.</p>
Lyse	<p>Ajouter <b>50 µL de tampon L3 (préalablement vortexé)</b> et <b>2 µL de tampon L2*</b>.</p> <p><i>Le tampon L2 est optionnel mais fortement recommandé pour le traitement d'échantillons « difficiles », tels que les écouvillons cloacaux.</i></p> <p>Fermer et Homogénéiser.</p> <p>Incuber <b>5 min +65°C</b> (si utilisation du tampon L2) puis <b>15 min +95°C</b></p> <p>Laisser refroidir les échantillons pour assurer l'exactitude des pipetages ultérieurs</p>

\*Extemporément, un pré-mix contenant les 2 réactifs peut être réalisé puis être distribué pour chaque échantillon.

### 2. Extraction à partir de plume

Echantillons	Virus Marek
Préparation	<p>Couper le bulbe de la plume</p> <p>Ajouter <b>1 mL de tampon L1</b></p> <p>Vortexer vigoureusement 10 secondes / tube.</p> <p>Transférer <b>50 µL du surnageant</b> dans un microtube ou dans un puits de plaque PCR.</p>
Lyse	<p>Ajouter <b>50 µL de tampon L3 (préalablement vortexé)</b> et <b>2 µL de tampon L2*</b>.</p> <p>Fermer et Homogénéiser.</p> <p>Incuber <b>5 min +65°C</b> puis <b>15 min +95°C</b></p> <p>Laisser refroidir les échantillons pour assurer l'exactitude des pipetages ultérieurs</p>

\*Extemporément, un pré-mix contenant les 2 réactifs peut être réalisé puis être distribué pour chaque échantillon.

## V. Amplification

---

Pour l'amplification des acides nucléiques extraits, se reporter aux paragraphes « Amplification » et « Interprétation des résultats » des manuels d'instruction ADIAVET™ du pathogène concerné.

## VI. Index des symboles

---

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite supérieure de température
	Utiliser jusqu'à
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Conserver à l'abri de la lumière
	Pour usage vétérinaire in vitro uniquement – Pour usage animal uniquement

Bio-X Diagnostics, les logos, ADIAGENE, ADIAPURE™ et ADIAVET™ sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à ADIAGENE et/ou Bio-X Diagnostics ou à l'une de ses filiales, ou à une de ses sociétés. Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.