

ADIAPURE™ Lysis FLEX

**Kit d'extraction en lyse directe
pour la détection d'acides nucléiques
par amplification enzymatique de gène en temps réel (test PCR),
compatible avec la gamme PCR ADIALYO™**

**Référence :
ADPLF1-500**



ADIAPURE™ Lysis FLEX

HISTORIQUE DES REVISIONS	3
I. INFORMATIONS GENERALES.....	4
1. Principe du kit.....	4
2. Description du test.....	4
II. MATERIEL ET REACTIFS	5
1. Réactifs fournis dans le kit.....	5
2. Validité et conservation.....	5
3. Matériel nécessaire mais non fourni dans le kit.....	5
III. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS ET DES TEMOINS	6
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
IV. PROTOCOLE D'ANALYSE.....	7
V. INDEX DES SYMBOLES	8

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
2020/05	NFLF1-01	N/A	Première publication
2023/06	NFLF1-02	Technique	Recherche des virus Influenza et Bronchite Infectieuse à partir d'écouvillons

I. Informations générales

1. Principe du kit

Le kit d'extraction ADIAPURE™ Lysis FLEX 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 **ADIALYO™**.

2. Description du test

Adiagène a validé le kit ADIAPURE™ Lysis FLEX à partir de diverses matrices pour la détection de différents pathogènes ADN de la gamme PCR **ADIALYO™**.

Le tableau ci-dessous résume les protocoles validés.

		Ecouvillon
Maladies aviaires	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	X
	<i>Mycoplasma synoviae</i>	X
	<i>Mycoplasma meleagridis</i>	X
	<i>Mycoplasma iowae</i>	X
	Virus Influenza	X
	Virus Bronchite Infectieuse	X

Pour la taille des pools, se référer à la notice du kit ADIALYO™ concerné.

II. Matériel et réactifs

1. Réactifs fournis dans le kit

REF ADPLF1-500		
LF1	tampon de lyse	5 x 100 mL flacons (Réactif prêt à l'emploi)
L2	Enzyme	1 x 1,1 mL tube (Réactif prêt à l'emploi)
LF3	tampon de lyse	1 x 28 mL flacon (Réactif prêt à l'emploi)

2. Validité et conservation

Dès réception, le kit doit être placé à +2/8°C, à l'abri de la lumière. Pour une meilleure stabilité, il est recommandé de conserver le réactif L2 à une température inférieure à -15°C.

Dans ces conditions, l'ensemble des réactifs est stable au moins 1 an.

Ne pas mélanger les réactifs de kits de lots différents.

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

Après extraction, les acides nucléiques extraits peuvent être conservés à +2/8 °C pendant quelques heures avant utilisation. Pour une conservation plus longue, ils doivent être conservés à une température inférieure à -15 °C ou -65 °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 ADIALYO™ permet de vérifier l'extraction et l'amplification de chaque échantillon.
- Le témoin « positive control » inclus dans le kit de diagnostic ADIALYO™ 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_{METHODE} (par exemple, entre 1 et 100 X LD_{METHODE}). Il permet d'établir un suivi, sous forme de carte de contrôle, renseignant sur la fidélité des résultats obtenus.

IV. Protocole d'analyse

 Chaque tampon du kit doit être préalablement vortexé avant utilisation

Echantillons	Mycoplasmes / Virus Influenza / Virus Bronchite Infectieuse
Préparation	<p>Couper 1 à 6 écouvillons au ras du coton dans un tube à hémolyse de 5 mL.</p> <p>Ajouter 1 mL de tampon LF1 s'il s'agit d'une analyse de 1 à 3 écouvillons. ou 2 mL de tampon LF1 s'il s'agit d'une analyse de 4 à 6 écouvillons.</p> <p>Vortexer vigoureusement 10 secondes / tube.</p> <p>Transférer 50 µL du surnageant dans un microtube ou dans un puits de plaque PCR.</p>
Lyse	<p>Ajouter 50 µL de tampon LF3 et 2 µL de tampon L2*.</p> <p>Fermer et Homogénéiser.</p> <p>Incuber 5 min +65 °C puis 15 min +95 °C.</p> <p>Laisser refroidir les échantillons pour assurer l'exactitude des pipetages ultérieurs.</p> <p><i>Rem : ajouter 0,5 µL d'EPC-Ext/puits PCR lors de l'étape d'amplification pour les kits concernés.</i></p>

*Extemporément, un pré-mix contenant les 2 réactifs peut être réalisé puis être distribué pour l'amplification des acides nucléiques extraits, se reporter aux paragraphes « Protocole d'Amplification » et « Lecture et interprétation des résultats » des manuels d'instruction **ADIALYO™** du pathogène concerné.

V. Index des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limite supérieure de température
	Utiliser jusque
	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, ADIALYO™, 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.



**ADIAGENE S.A.S.**
9, rue Gabriel Calloët-Kerbrat
22440 Ploufragan - France

RCS 417 876 299
Tel. +33 (0)2 96 68 40 20
www.biox.com