

ADIAVET™ SALMO FAST TIME

**TEST POUR LA DETECTION DE *SALMONELLA ENTERICA* spp PAR
AMPLIFICATION ENZYMATIQUE DE GENE EN TEMPS REEL (TEST PCR)**

Référence :
ADI122-100 (100 réactions)



Le kit ADIAVET SALMO FAST TIME a été développé pour la détection de *Salmonella enterica* à partir d'échantillons issus d'avortement (écouvillons vaginaux et placentaires, de tissu et de liquide stomacal d'avorton issu de bovin et d'ovin).

En accord avec la législation européenne, tous les états membres ont un plan de control des salmonelles dans la chaîne alimentaire. Le laboratoire doit s'y référer pour le diagnostique des Salmonelles.

ADIAVET™ SALMO FAST TIME

I.	HISTORIQUE DES REVISIONS.....	3
II.	INFORMATIONS GENERALES	4
1.	But de l'essai.....	4
2.	<i>Salmonella</i>	4
3.	Description et principe du test.....	4
III.	MATERIEL ET REACTIFS.....	5
1.	Réactifs fournis dans le kit	5
2.	Validité et conservation	5
3.	Utilisation du « SALMO CTL+ »	5
4.	Utilisation de l' « EPC-Ext »	5
5.	Utilisation de l' « EPC-Amp » :	5
6.	Matériel nécessaire mais non fourni dans le kit	5
IV.	PRECONISATIONS AVANT L'ANALYSE DES ECHANTILLONS.....	7
1.	Précautions	7
2.	Conservation des échantillons et des extraits d'ADN	7
3.	Préparation des témoins	7
V.	EXTRACTIONS ET PURIFICATIONS	9
1.	Extraction avec le kit QIAamp® DNA Mini kit	9
2.	Extraction avec le kit NucleoSpin® Tissue	10
3.	Extraction avec le kit ADIAMAG.....	10
VI.	AMPLIFICATION.....	11
VII.	INTERPRETATION DES RESULTATS	12
1.	Définitions	12
2.	Validation et interprétation des résultats	12
a)	<i>Validation de l'essai</i>	12
b)	<i>Interprétation des résultats</i>	13
VIII.	INDEX DES SYMBOLES	14

I. 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
2021/09	NF122-02	N/A	Première publication sur les matrices avortement
2022/06	NF122-03	Technical	Ajout espèce ovine
2022/06	NF122-03	Administrative	Ajout encart p1

II. Informations générales

1. But de l'essai

Le kit ADIAVET™ SALMO FAST TIME permet de détecter *Salmonella enterica* spp par amplification enzymatique en temps réel (PCR).

Le kit PCR permet de détecter *Salmonella enterica* spp, à partir d'échantillons issus d'avortement (écouvillons vaginaux et placentaires, de tissu et de liquide stomacal d'avorton issu de bovin et d'ovin).

2. *Salmonella*

Salmonella est un bacille à gram négatif appartenant à la famille des entérobactéries. Au sein de 2 espèces, *Salmonella bongori* et *Salmonella enterica*, il a été identifié jusqu'à présent plus de 2500 sérotypes ou sérovars différents.

Presque toutes sont pathogènes pour les ruminants. *Salmonella enterica* subspps *enterica* serovars *Typhimurium*, *Dublin* et *Montevideo* sont parmi les plus fréquemment rencontrées chez les bovins. Les symptômes les plus typiques de la salmonellose sont des diarrhées parfois hémorragiques accompagnées de fièvre. La maladie touche des animaux isolés mais peut parfois prendre une forme épidémique, des avortements peuvent également survenir.

Plusieurs sérovars de salmonelles sont capables d'induire des avortements chez les ruminants. Les sérovars les plus régulièrement mis en cause sont *Salmonella enterica* subspps *enterica* *Dublin* pour les avortements bovins et *Salmonella* *Abortus-Ovis* pour les ovins.

Les avortements dus à une salmonellose ne présentant pas de caractéristiques particulières, le diagnostic passe obligatoirement par des analyses de laboratoire. *Salmonella enterica* subspps *enterica* peut être recherché à partir de liquide stomacal ou d'organe du fœtus (notamment foie, rate), de cotylédon placentaire prélevé en position intra-utérine ou d'écouvillon vaginal.

La *Salmonella enterica* est recherchée par bactériologie ou PCR. La bactériologie consiste à mettre en culture puis éventuellement identifier le sérovar mis en cause, cette méthode nécessite un temps d'analyse de 4 à 7 jours. L'utilisation de la PCR permet, elle, de mettre en évidence la présence de *Salmonella* en quelques heures.

3. Description et principe du test

Ce test repose sur l'amplification enzymatique de gène ou technique PCR.

Les produits amplifiés sont détectés en temps réel grâce au marquage spécifique de sondes d'hydrolyse (technologie 5'-exonucléase).

Le kit ADIAVET™ SALMO FAST TIME peut détecter simultanément

- *Salmonella* spp (sonde marquée en FAM)
- Un contrôle interne exogène « EPC-Amp » ajouté lors de l'amplification ou « EPC-Ext » ajouté lors de l'extraction qui permet de valider les étapes d'extraction et d'amplification (sonde marquée avec un fluorochrome lu dans le même spectre que VIC et HEX).

Adiagène a validé ce test avec différents kits de purification d'ADN (Bio-X Diagnostics). D'autres kits de purification peuvent être utilisés s'ils sont validés par l'utilisateur.

Types de prélèvements et options d'analyse correspondantes :

Prélèvement	Analyse individuelle
Écouvillons, tissus, liquide stomacal issus d'avortements	☒

III. Matériel et réactifs

1. Réactifs fournis dans le kit

REF	ADI122-100		
A5		solution d'amplification	2 x 500 µl tubes à bouchon vert (Réactif prêt à l'emploi)
SALMO CTL+		contrôle positif <i>Salmonella enterica</i> spp	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
EPC-Amp.		Contrôle exogène non cible d'amplification	1 x 150 µl tube à bouchon incolore (Réactif prêt à l'emploi)
EPC-ext		Contrôle exogène non cible d'extraction	2 x 300 µl tubes à bouchon jaune (Réactif prêt à l'emploi)
NF-Water		Eau Nuclease free	1 x 1000 µl tube à bouchon blanc (Réactif prêt à l'emploi)

2. Validité et conservation

A réception, le kit doit être stocké à **<-15°C**.

Il est recommandé d'aliquoter le réactif « A5 » si le nombre d'analyses à effectuer nécessite plus de trois décongelations.

Ne pas décongeler plus de 3 fois.

Les réactifs temps réel sont sensibles à la lumière : les conserver à l'obscurité.

Le réactif « A5 » est prêt à être utilisé pour la réaction PCR.

Ne pas mélanger des réactifs de différents lots.

3. Utilisation du « SALMO CTL+ »

« SALMO CTL+ » est un témoin positif d'amplification.

Ajouter **200 µl «NF-Water»** au « **SALMO CTL+** » et vortexer au moins 20 secondes jusqu'à dissolution complète du culot bleu. Aliquoter cette solution par 6 ou 12 µl et conserver à **<-15°C**.

Pour chaque analyse, utiliser **5 µl** de « **SALMO CTL+** » dans un des puits.

4. Utilisation de l' « EPC-Ext »

Aliquoter et conserver cette solution à **<-15°C** en fonction de la taille des séries d'extraction.

Les aliquotes ne doivent pas subir plus de 3 décongelations.

Pour chaque extraction, ajouter **5 µl d'EPC-Ext** par échantillon.

5. Utilisation de l' « EPC-Amp » :

Aliquoter et conserver cette solution à **<-15°C** en fonction de la taille des séries d'extraction.

Les aliquotes ne doivent pas subir plus de 3 décongelations.

En cas d'amplification d'ADN non extrait avec de l'EPC-Ext, nous recommandons d'ajouter **0,5 µl d'EPC-Amp** par échantillon dans le mix.

6. Matériel nécessaire mais non fourni dans le kit

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

- Thermocycleur avec son consommable pour PCR Temps réel : tubes PCR de 0,2 ml ou plaques PCR 96 puits fermées de qualité optique
- Poste de Sécurité Microbiologique de type II
- Centrifugeuse pour microtubes
- Etuve, bain-marie ou bloc chauffant
- Vortex
- Pipettes de 1 - 10 µl, 20 - 200 µl et 200 - 1000 µl
- Embouts Nucléase-free avec filtres pour micropipettes
- Microtubes Nucléase-free de 1,5 ml et 2 ml
- Tubes stériles de 5, 10 ou 15 ml
- Gants latex ou nitrile non poudrés
- Ethanol 96-100%
- Eau Nucléase-free

- Kit d'extraction d'ADN en colonne de silice individuelle

- QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen, 50 tests : réf. 51304 ou 250 tests : réf. 51306)
- NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel, 50 tests : réf. 740952.50 ou 250 tests : réf. 740952.250)

- Kit d'extraction d'ARN/ADN en billes magnétiques sur automate

- ADIAMAG (Bio-X Diagnostics ; 200 extractions : réf. NADI003 ; 800 extractions : réf. NADI003-XL)

- Kits complémentaires disponibles pour l'adoption de méthode et de PCR (AFNOR NF U47-600) :

- ADIAVET™ SALMO Extraction Positive Control (Réf. : ADI122-631-8) : Matériel de référence fournisseur pour adoption de méthode pouvant également être utilisé comme sentinelle.
- ADIAVET™ LD_{PCR} Positive Control – SALMO (réf. : ADI122-LD) : Confirmation des performances – LD_{PCR} du kit ADIAVET™ SALMO FAST TIME.

IV. Préconisations avant l'analyse des échantillons

Avant de commencer l'essai, lire l'ensemble du protocole et le respecter scrupuleusement.

1. Précautions

Adiagène a validé ce test avec les kits d'extraction d'ADN de la société Bio-X Diagnostics. D'autres kits d'extraction peuvent être utilisés avec une validation préalable.

Respecter les recommandations des fabricants pour la conservation, la préparation et l'utilisation des réactifs contenus dans les kits d'extraction.

Certains kits contiennent et/ou nécessitent l'utilisation de composés toxiques. Ces produits doivent être manipulés avec des gants et sous hotte chimique.

Nous conseillons vivement que cet essai soit réalisé par des personnes ayant reçu une formation appropriée. Vérifier l'exactitude et la précision 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 bien séparer la zone d'analyse des produits amplifiés de la zone où sont manipulés les échantillons à analyser et 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 faire des fractions aliquotées d'eau déminéralisée et d'eau physiologique, de les autoclaver (25 minutes à +120°C) et de changer de tube d'eau lors de chaque manipulation afin d'éviter toute contamination.

2. Conservation des échantillons et des extraits d'ADN

Les échantillons se conservent un ou deux jours à +2/8°C. Au-delà de 2 jours, il est conseillé de les conserver à <-15°C.

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

L'emploi de témoins permet de contrôler la fiabilité des résultats.

Les témoins sont à inclure par série d'analyse. Une série est définie comme un ensemble d'échantillons pour lesquels chaque étape a été réalisée dans les mêmes conditions.

L'étape d'amplification, quelles que soient les matrices, est validée grâce à la combinaison des témoins inclus dans le kit Adiagène.

- Le contrôle interne vérifie les phases d'extraction et d'amplification de chaque échantillon.
- Le témoin « SALMO CTL+ » valide l'amplification de la cible.

D'autres témoins doivent ou peuvent être ajoutés selon le processus du laboratoire :

- **Témoin négatif d'extraction**

Intégrer au moins un témoin négatif dans chaque série d'extraction pour s'assurer de l'absence d'inter-contamination. Ce témoin pourra être réalisé avec une matrice négative ou du tampon de dilution (par exemple de l'eau physiologique ou du PBS 1X).

- **Témoin positif « cible » d'extraction**

Un témoin positif « cible » peut être introduit par série d'extraction. Il s'agit d'un échantillon contenant *Salmonella enterica* spp. Celui-ci pourra être obtenu à partir d'un prélèvement positif disponible au laboratoire, ou d'un prélèvement négatif dopé par une solution de *Salmonella enterica* spp. Ce témoin positif cible (parfois nommé sentinelle) devra être proche de la LD_{METHODE}. Il permet d'établir un suivi, sous forme de carte de contrôle, renseignant sur la fidélité des résultats obtenus.

ADIAGENE peut fournir un témoin positif cible d'extraction constitué d'une culture bactérienne inactivée et lyophilisée, calibrée entre 1 et 100xLD méthode. (ADIAVET™ SALMO Extraction Positive Control, réf. : ADI122-631-8).

Ce témoin, ajouté à une matrice négative peut être utilisé comme **sentinelle** ou après dilution, comme **NED fournisseur pour adopter la méthode**.

V. Extractions et purifications

1. Extraction avec le kit QIAamp® DNA Mini kit

Toutes les centrifugations sont réalisées à température ambiante.

Cas particulier des placentas :

Susceptibles de contenir une très grande quantité de microorganismes, ils doivent être manipulés avec précaution.

Possibilité N°1

Inciser chaque cotylédon avec un scalpel et frotter à l'intérieur avec un écouvillon sec.

L'analyse est réalisée en suivant le protocole écouvillon.

Possibilité N°2

Suivre le protocole tissu.

	Ecouvillon	Tissu	Liquide stomacal
Préparation de l'échantillon	Vortexer l'écouvillon dans 1 ml de tampon PBS 1X . Transférer 200 µl dans un microtube.	Peser 20 à 30 mg de tissu dans un microtube	Transférer 200 µl dans un microtube*
Lyse	Ajouter 180 µl de tampon ATL et 20 µl de protéinase K (+ 5 µl EPC-Ext)** . Vortexer. Incuber 30 minutes à +70°C (ou 1 nuit à +56°C).		
	Ajouter 200 µl de tampon AL . Vortexer. Incuber 10 minutes à +70°C .		
Préparation de la fixation	Ajouter 200 µl d' éthanol 100% . Homogénéiser par flux et reflux à la pipette (~10 fois) ou au vortex (~15 secondes).		
Transfert sur colonnes et fixation à la membrane	Identifier les colonnes, déposer la totalité de chaque échantillon sur une colonne. Centrifuger 1 minute à 10 000 g. <i>Si la totalité du mélange n'a pas pu être déposé en une seule fois sur la colonne, déposer le volume restant sur la colonne et centrifuger 1 minute à 10 000 g.</i>		
1^{er} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon AW1 . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
2^{ème} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon AW2 . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
Séchage de la colonne	Changer le tube collecteur. Centrifuger 3 minutes à 10 000 g.		
Elution	Transférer la colonne sur un microtube. Déposer 200 µl de tampon AE . Incuber ~1 minute à température ambiante et centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
Conservation	Fermer les tubes, identifier et conserver à +2/8°C pendant 24 heures, puis à <-15°C .		

*s'il est difficile de prélever, plonger un écouvillon sec dans la matrice et réaliser le protocole « écouvillon »

** optionnel

2. Extraction avec le kit NucleoSpin® Tissue

Toutes les centrifugations sont réalisées à température ambiante.

Cas particulier des placentas :

Susceptibles de contenir une très grande quantité de microorganismes, ils doivent être manipulés avec précaution.

Possibilité N°1

Inciser chaque cotylédon avec un scalpel et frotter à l'intérieur avec un écouvillon sec.

L'analyse est réalisée en suivant le protocole écouvillon.

Possibilité N°2

Suivre le protocole tissu.

	Ecouvillon	Tissu	Liquide stomacal
Préparation de l'échantillon	Vortexer l'écouvillon dans 1 ml de tampon PBS 1X . Transférer 200 µl dans un microtube.	Peser 20 à 30 mg de tissu dans un microtube	Transférer 200 µl dans un microtube*
Lyse	Ajouter 180 µl de tampon T1 et 25 µl de protéinase K (+ 5 µl EPC-Ext)** . Vortexer. Incuber 30 minutes à +70°C (ou 1 nuit à +56°C).		
	Ajouter 200 µl de tampon B3 . Vortexer. Incuber 10 minutes à +70°C .		
Préparation de la fixation	Ajouter 200 µl d' éthanol 100% . Homogénéiser par flux et reflux à la pipette (~10 fois) ou au vortex (~15 secondes).		
Transfert sur colonnes et fixation à la membrane	Identifier les colonnes, déposer la totalité de chaque échantillon sur une colonne. Centrifuger 1 minute à 10 000 g. <i>Si la totalité du mélange n'a pas pu être déposé en une seule fois sur la colonne, déposer le volume restant sur la colonne et centrifuger 1 minute à 10 000 g.</i>		
1^{er} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon BW . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
2^{ème} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 600 µl de tampon B5 . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
Séchage de la colonne	Changer le tube collecteur. Centrifuger 3 minutes à 10 000 g.		
Elution	Transférer la colonne sur un microtube. Déposer 200 µl de tampon BE . Incuber ~1 minutes à température ambiante et centrifuger 1 minute à 10 000 g.		
Conservation	Fermer les tubes, identifier et conserver à +2/8°C pendant 24 heures, puis à <-15°C .		

* s'il est difficile de prélever, plonger un écouvillon sec dans la matrice et réaliser le protocole « écouvillon »

** optionnel

3. Extraction avec le kit ADIAMAG

Se référer à la version de notice NFKF disponible sur le site web indiqué sur le certificat d'analyse inclus dans le kit ADIAVET™ utilisé.

VI. Amplification

a - Déterminer le nombre d'échantillons à analyser, y compris les témoins utilisés (par exemple les témoins positif et négatif d'extraction, le témoin positif d'amplification (« CTL+ ») et le témoin réactif d'amplification (NTC ou No Template Control)).

b- Décongeler le réactif « A5 » à température ambiante. Vortexer. Préparation de la solution d'amplification « A5 » :

Si ajout de l'EPC-Ext à l'extraction :

Répartir **10 µl** de réactif « A5 » dans chacun des tubes PCR ou puits de plaque PCR.

Si pas d'ajout de l'EPC-Ext à l'extraction :

Placer (n+1) x **10 µl** de réactif « A5 » dans un microtube.

Y ajouter (n+1) x **0,5 µl** d'« EPC-Amp ».

Répartir **10 µl** du mélange dans chacun des tubes PCR ou puits de plaque PCR.

c- **Replacer immédiatement le tube « A5 » à <-15°C et à l'obscurité.**

d- Pour chaque échantillon, le témoin négatif d'extraction (obligatoire) et le témoin positif d'extraction (recommandé), ajouter **5 µl** d'extrait purifié aux **10 µl** de réactif « A5 ».

Pour le CTL+, ajouter **5 µl** de la solution (§ II.3.) aux **10 µl** de réactif « A5 ».

Pour le témoin réactif d'amplification (NTC), ne rien ajouter au réactif « A5 ».

Replacer immédiatement les extraits d'ADN purifiés à +2/8°C ou <-15°C. Eliminer les bulles qui pourraient rester au fond des puits.

e- Démarrer le run rapidement après la mise en place de la plaque ou des tubes dans le cycleur.

La cible *Salmonella* est lue en FAM. Le contrôle interne est lu en VIC ou HEX. Le Quencher est non fluorescent. Le mélange contient une référence passive ROX pour les appareils ABI. La lecture de la fluorescence s'effectue pendant l'étape d'élongation (30 secondes à 60°C).

Les programmes suivants ont été développés pour les appareils **ABI Prism** (type 7500, QuantiStudio 5, Step-one...) d'**Applied Biosystems** (cocher l'option « emulation 9600 » lorsqu'elle existe), pour les MX3005P et AriaMx d'**Agilent** et pour le CFX96 de **Biorad** :

Programme standard		Programme Fast	
2 min 50°C 10 min 95°C		2 min. 95°C	
15 sec 95°C	45 cycles	5 sec 95°C	45 cycles
1 min 60°C		30 sec 60°C*	

*32 secondes pour l'ABI Prism 7500 d'**Applied Biosystems**

Roche diagnostic : LightCycler 2*, LightCycler 480*

*** NOTE :** L'utilisation de thermocycleurs LightCycler nécessite au préalable une manipulation de calibration. Nous fournissons la procédure et les réactifs nécessaires à cette calibration.

Contactez-nous si vous souhaitez utiliser d'autres appareils.

VII. Interprétation des résultats

1. Définitions

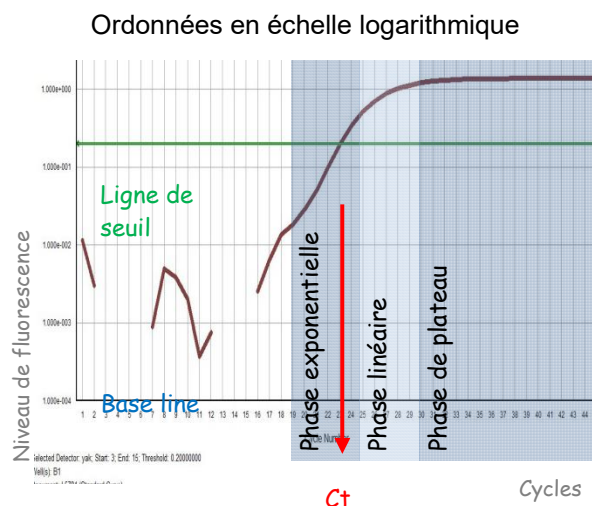
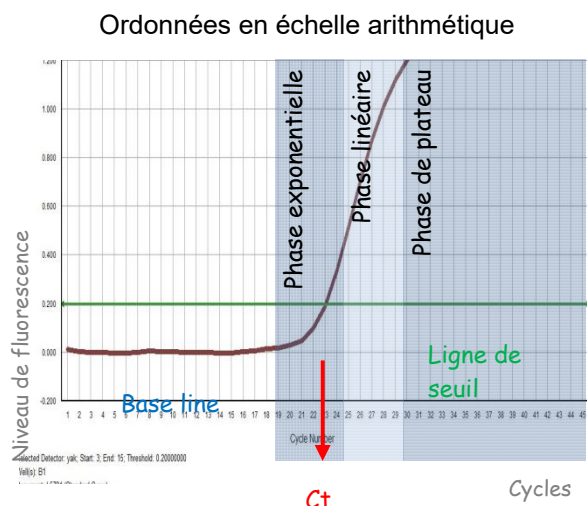
Le terme « **ligne de base** » ou « **base line** » correspond au bruit de fond de la fluorescence observé pendant les premiers cycles de l'amplification avant que la fluorescence augmente de façon significative.

Le terme « **courbe d'amplification caractéristique** » qualifie une courbe de fluorescence avec une phase exponentielle, une phase linéaire et une phase de plateau.

La « **ligne de seuil** » ou « **threshold line** » doit être placée au-dessus de la ligne de base, dans la phase exponentielle d'une courbe d'amplification caractéristique ou d'un ensemble de courbes d'amplification caractéristiques.

Le « **cycle seuil** » ou « **threshold cycle** » (**Ct**) d'un puits correspond, pour chaque fluorophore détecté, à l'abscisse du point d'intersection entre la ligne de seuil et la courbe d'amplification. La valeur de Ct exprimée par l'appareil pour chaque puits dépend ainsi de la position de la ligne seuil et de la charge d'analytes initialement présents dans le tube PCR.

Exemple d'une courbe d'amplification caractéristique :



2. Validation et interprétation des résultats

Afficher l'ensemble des courbes de la plaque en FAM et positionner la ligne de seuil selon les indications ci-dessus. Procéder de la même façon pour les courbes en VIC/HEX.

a) Validation de l'essai

L'amplification est **valide** si les résultats suivants ont été obtenus pour les témoins utilisés :

Témoins		Témoin réactif (NTC)	Témoin positif d'amplification (SALMO CTL+)	Témoin négatif d'extraction	Témoin positif d'extraction
Amplification FAM		non	oui	non	oui
Amplification HEX	Si EPC-Ext utilisé	non	non	oui	oui
	Si EPC-Amp utilisé	oui	oui	oui	oui
Validation de		Absence de contamination pour l'amplification	Amplification de la cible <i>Salmonella enterica</i> spp.	Absence de contamination pour l'extraction	Etapes d'extraction et d'amplification

Les valeurs indicatives de Ct attendues en FAM et VIC/HEX pour le témoin positif (« CTL+ ») sont indiquées sur le certificat d'analyse du kit.

b) Interprétation des résultats

L'extraction de l'ADN et l'amplification sont **valides** pour chacun des échantillons si au moins une courbe d'amplification caractéristique est observée en FAM ou en VIC/HEX.

Exemple	A	B	C	D
Amplification FAM	Non	Oui	Oui	Non
Amplification HEX	Oui	Oui	Non	Non
Résultat	Non détecté	Détecté	Détecté	Non déterminé A refaire

L'échantillon est considéré comme **non détecté** si une courbe d'amplification caractéristique est observée en VIC ou HEX sans qu'il y ait de courbe d'amplification caractéristique en FAM (exemple A).

L'échantillon est considéré comme **détecté** si une courbe d'amplification caractéristique est observée en FAM (exemple B). Le Contrôle Interne peut être co-amplifié (exemple C).

L'absence totale de courbe d'amplification caractéristique pour un échantillon (exemple D) indique une déficience de l'extraction de l'ADN (perte ou destruction de l'ADN) ou une PCR temps-réel défectueuse (présence d'inhibiteurs dans l'échantillon, erreur de programme ou absence d'échantillon). Dans ce cas, il est conseillé de refaire le test en utilisant l'extrait d'ADN pur et dilué au 1/10^{ème} dans de l'eau Nuclease-free. Dans un second temps, si le test n'est toujours pas validé, une nouvelle extraction de l'ADN total de l'échantillon est souhaitable.

VIII. 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 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.