



Adia^X Control

Notice d'utilisation
ADC04EPC-PTUB_NO_(FR)_V01
02/2023

Extraction Positive Control - PARATB

Référence : ADC04EPC

Témoin positif en *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* pour contrôle d'extraction.

Usage in vitro et strictement vétérinaire



Composition du kit

Matériel fourni		Kit ADC04EPC
		100 réactions
EPC PARATB	Témoin Positif d'Extraction en <i>Mycobacterium avium</i> subsp <i>paratuberculosis</i>	1 flacon lyophilisé (A réhydrater)
NF-Water	Eau Nucléase free	1 x 500 µL tube (Réactif prêt à l'emploi)

Kits PCR associé(s)

Kit(s) associé(s)	Référence(s)
ADIAVET™ PARATB REAL TIME	ADI045-100

Historique de révision

Date	Version	Modifications
02/2023	V01	Création

Note : les modifications mineures concernant la typographie, la grammaire et la mise en forme ne sont pas incluses dans l'historique des révisions.

A. Introduction

Préalablement à la mise en place « en routine » d'une méthode de diagnostic moléculaire dûment caractérisée et validée, le laboratoire doit démontrer sa capacité à mettre en œuvre l'essai concerné en vérifiant qu'il obtienne les performances annoncées par le fabricant et/ou le Laboratoire de référence. Il s'agit de la confirmation des performances ou adoption de méthode.

Ces vérifications sont effectuées à l'aide de contrôles fournis par le fabricant et/ou le Laboratoire national de référence. Le niveau d'infection de ce contrôle est fixé entre 1 et 10 fois la limite de détection de la méthode.

Lors des essais en routine, un témoin positif cible d'extraction (parfois nommé sentinelle) est introduit dans chaque série d'extraction afin de valider les étapes analytiques.

Le niveau d'infection de ce contrôle est fixé entre 1 et 100 fois la limite de détection de la méthode.

B. Principe du test

Le témoin « EPC PARATB » contient la culture de *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* inactivée. Il est calibré entre 1 à 100 x LD_{METHODE} après remise en suspension.

Ce témoin permet de confirmer les performances de la méthode et de valider les étapes analytiques lors des essais en routine avec les kits PCR Bio-X Diagnostics associés.

C. Conditions de stockage

A réception, stocker le kit à +2/8 °C et au sec.

Les réactifs reconstitués doivent être aliquotés et stockés à une température inférieure à -15 °C jusqu'à la date de péremption du kit. Stocker à l'abri de la lumière.

Ne pas décongeler plus de 3 fois.

D. Matériel supplémentaire et réactifs requis non fournis

- Thermocycleur avec son consommable pour PCR Temps réel
- Appareil d'homogénéisation pour tubes
- 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
- Gants latex ou nitrile non poudrés
- Eau Nucléase-free
- Matrices exemptes de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.
- Kit d'extraction d'acides nucléiques
- Kit(s) PCR associé(s)

E. Précautions d'utilisation et de sécurité

- Pour usage vétérinaire *in vitro* uniquement.
- Pour usage animal uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Lire l'ensemble du protocole avant de commencer et le respecter scrupuleusement.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption du kit.
- Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- Ne pas mélanger des réactifs de différents lots.
- Ne pas ouvrir les tubes PCR après amplification.
- Éliminer le matériel utilisé en respectant la législation en vigueur en matière de protection de l'environnement et de gestion des déchets biologiques.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage

relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).

F. Mode opératoire

1. Reconstitution du témoin

- Ajouter **500 µL** de « **NF Water** » dans le flacon « **EPC PARATB** ».
- Homogénéiser le flacon à l'aide d'un agitateur de type vortex > 20 secondes.
- Après reconstitution, le témoin est calibré entre **1 à 100 X LD méthode**.
- Aliquoter et stocker la solution à < -15 °C jusqu'à la date de péremption du kit. Ne pas décongeler plus de 3 fois.

2. Confirmation des performances –LD_{METHODE}

a. Préparation

Diluer extemporanément au 1/10^{ème}, l'« **EPC PARATB** » dans le NF Water = « **EPC PARATB 1/10^{ème}** ». La dilution ne doit pas être conservée après utilisation.

b. Extraction

Nombre minimal de séances	Nombre minimal d'opérateur	Nombre minimal de répétitions « EPC PARATB 1/10 ^{ème} »
2	1	2

Doper la matrice exempte de *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* selon le protocole utilisé :

■ Protocole sans système de pré-filtration :

Doper 1 mL de suspension de fèces avant l'étape de broyage avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB 1/10^{ème}** ».

■ Protocole avec le système Adiafilter :

Doper 10 mL de suspension de fèces avant l'étape de filtration avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB 1/10^{ème}** ».

■ Protocole avec le système Adiaprep :

Doper 1 mL de suspension de fèces avant l'étape de centrifugation avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB 1/10^{ème}** ».

Il est recommandé de réaliser au moins un témoin négatif d'extraction par séance afin de vérifier l'absence de contamination.

c. Amplification

Tous les acides nucléiques extraits sont amplifiés avec le(s) kit(s) PCR Bio-X Diagnostics associé(s) et selon leur(s) notice(s) d'utilisation.

d. Validation des résultats

Les 4 résultats obtenus avec le « **EPC PARATB 1/10^{ème}** » doivent être positifs pour la cible recherchée.

3. Validation des étapes analytiques - Sentinelle

a. Extraction

Doper la matrice exempte de *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* selon le protocole utilisé :

■ Protocole sans système de pré-filtration :

Doper 1 mL de suspension de fèces avant l'étape de broyage avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB** ».

■ Protocole avec le système Adiafilter :

Doper 10 mL de suspension de fèces avant l'étape de filtration avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB** ».

■ Protocole avec le système Adiaprep :

Doper 1 mL de suspension de fèces avant l'étape de centrifugation avec 5 µL de la solution « **EPC PARATB** ».

Extraire selon le kit d'extraction utilisé.

b. Amplification

Tous les acides nucléiques extraits sont amplifiés avec le(s) kit(s) PCR Bio-X Diagnostics associé(s) et selon leur(s) notice(s) d'utilisation.

c. Validation des résultats

L'ensemble des résultats obtenus avec le « EPC PARATB » permettent de constituer la carte de contrôle du processus analytique.

Table 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
	Pour usage vétérinaire <i>in vitro</i> uniquement – Pour usage animal uniquement
	Conserver à l'abri de la lumière