



ADIAPURE™ PARATB MILK

Kit pour l'extraction et la purification de l'ADN dans le lait



Références

ADIADP04M1-100 (100 tests)

Version française – Juillet 2016

NF04M1-05

ADIAPURE™ PARATB MILK

PRINCIPALE MODIFICATION PAR RAPPORT A LA VERSION PRECEDENTE.....	3
I. INFORMATIONS GENERALES	4
ADIAPURE™ PARATB MILK.....	4
Description et principe du test.....	4
II. MATERIEL ET REACTIFS.....	5
1. Réactifs fournis dans le kit ADIAPURE™ PARATB MILK.....	5
2. Validité et conservation	5
3. Matériel nécessaire mais non fourni	5
4. Recommandations - instructions de sécurité.....	5
III. PROTOCOLE	7
1. Capture des mycobactéries	7
2. Broyage avec le Mixer Mill (Werder)	7
3. Broyage avec le Fast Prep (MP Biomedical)	7
IV. TABLE DES SYMBOLES	8

Principale modification par rapport à la version précédente

- **Tout le document** : Administratif → Modification des logos

I. Informations générales

ADIAPURE™ PARATB MILK

Le kit ADIAPURE™ PARATB MILK fournit une méthode simple et rapide pour la purification de l'ADN total dans le lait et permet d'augmenter la fiabilité des analyses PCR* avec les kits ADIAVET™.

Ce kit a été adapté pour extraire l'ADN de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* à partir de lait bovin.

La purification ne requiert ni phénol/chloroforme, ni précipitation à l'alcool. L'ADN est prêt pour une réaction PCR classique ou temps réel directe ou peut être conservé à une température inférieure à –15°C pendant plusieurs mois. L'ADN obtenu est purifié des protéines, nucléases et inhibiteurs de la PCR*.

Description et principe du test

Ce test repose sur deux techniques : tout d'abord la capture des *M. avium* subsp. *paratuberculosis* sur des billes magnétiques, puis leur lyse par broyage pour détruire la paroi cellulaire, très résistante chez les mycobactéries.

Le seuil de sensibilité de l'extraction ADIAPURE™ PARATB MILK sur lait bovin est compris entre 6 et 60 bactéries/ml de lait.

* La technologie PCR est protégée par les brevets U.S. 4,683,195 et 4,683,202 (et équivalents internationaux) détenus par la société Hoffmann-La Roche, Inc.

II. Matériel et réactifs

1. Réactifs fournis dans le kit ADIAPURE™ PARATB MILK

Désignation	Réactifs	Conservation	ADIADP04M1-100
L0	Lysis buffer L0	+2/8°C	1 x flacon 110 ml
L1	Lysis buffer L1	+2/25°C	1 x flacon 65 ml
L2	Lysis buffer L2	+2/8°C	2 x tubes 1,1 ml
Mb	Magnet beads	+2/8°C	1 x flacon 2,5 ml

2. Validité et conservation

Dès réception du kit, les réactifs L0, L2 et les Magnet beads Mb (billes magnétiques) doivent être placés à +2/8°C. Le réactif L1 doit être placé à température ambiante. Dans ces conditions, l'ensemble des réactifs est stable au moins un an. Le réactif L1 peut former un précipité, dans ce cas, le réchauffer jusqu'à dissolution complète du précipité avant utilisation.

Bien remettre les billes magnétiques Mb en suspension avant leur utilisation, en les vortexant.

Ne pas mélanger les réactifs de kits de lots différents.

Ne pas congeler.

3. Matériel nécessaire mais non fourni

- Tubes de 15 ml
- Microtubes de 1,5 ml
- Pipettes 100-1000 µl, 1-20 µl, 20-200 µl
- Pointes de pipettes à filtre
- un agitateur rotatif
- un aimant pour tubes de 15 ml
- Gants en latex
- Vortex
- Un vibro-broyeur à billes :

Mixer Mill de Werder avec Glass Beads (Bio-X Diagnostics, 192 extractions : réf. ADIADPBIA-192 ou 480 extractions : réf. ADIADPBIA-480)

Ou

Fast Prep de MP Biomedical avec tubes Lysing Matrix B (MP Biomedical, 100 extractions : réf. 116911.100)

- Centrifugeuse pour microtubes
- 2 blocs chauffants, incubateurs ou bains-maries
- Pipettes stériles de 10 et de 2 ml

4. Recommandations - instructions de sécurité

Lors de l'utilisation de produits chimiques, toujours travailler avec une blouse et des gants.

« Lysis Buffer L0 » contient du Tris (tris hydroxy amino methane) (1-10%)

Mention d'avertissement : **ATTENTION**



H315, H319, H335
P280, P305+P351+P338

Mention du danger :

H315 provoque une irritation cutanée
H319 provoque une sévère irritation des yeux
H335 peut irriter les voies respiratoires

Conseils de prudence :

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer

P337 + P313 : Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin

P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau

« Lysis Buffer L2 » contient une substance à une concentration considérée dangereuse : Proteinase K , 1,00%
Mention d'avertissement : **DANGER**



H334

P261 / P280 / P342 + P311

Mention du danger :

H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation : Sensibilisation respiratoire Catégorie 1

Conseil de prudence :

P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols..

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P342+P311 : En cas de symptômes respiratoires: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité.

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 du résultat dépend du respect scrupuleux des bonnes pratiques de laboratoire.

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.**

Il est recommandé de travailler avec du lait le plus « frais » possible. Les congélations et décongélations diminuent le seuil de sensibilité de l'extraction.

III. Protocole

1. Capture des mycobactéries

- a- Placer **10 ml** de lait cru dans un tube de 15 ml et ajouter **1 ml** de tampon L0. Mélanger à l'aide d'un vortex.
- b- Ajouter **25 µl** de suspension de billes magnétiques Mb et agiter doucement pour favoriser la capture pendant 30 minutes (par exemple sur la roue d'un agitateur rotatif à 10 rpm).
- c- Utiliser un aimant durant 10 minutes pour capturer les billes sur un côté du tube. Eliminer délicatement la phase liquide à l'aide d'une pipette.
- d- Retirer l'aimant et resuspendre les billes magnétiques dans **600 µl** de tampon de lyse L1.

2. Broyage avec le Mixer Mill (Werder)

- a- Transférer le mélange dans un microtube contenant **300 mg** de billes de verre.
- b- Broyer 10 minutes à 30 Hz. Centrifuger 5 minutes à 7 500 g.
- c- Transférer **300 µl** du surnageant dans un nouveau microtube de 1,5 ml et ajouter **20 µl** de tampon L2.
- d- Incuber 10 minutes à +70°C puis 15 minutes à +95°C.

La solution d'ADN alors obtenue peut se conserver 24 heures à +2/8°C ou plusieurs mois à -20 °C +/- 5°C.

3. Broyage avec le Fast Prep (MP Biomedical)

- a- Transférer la totalité du mélange dans un tube Lysing Matrix B contenant des billes de broyage.
- b- Broyer 3 x 45 secondes à 4 m/sec. Centrifuger 5 minutes à 7 500 g.
- c- Transférer **300 µl** du surnageant dans un nouveau microtube de 1,5 ml et ajouter **20 µl** de tampon L2.
- d- Incuber 10 minutes à +70°C puis 15 minutes à +95°C.

La solution d'ADN alors obtenue peut se conserver 24 heures à +2/8°C ou plusieurs mois à -20 °C +/- 5°C.

Vous pouvez maintenant effectuer la recherche d'ADN de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* par PCR Temps réel avec le kit ADIAVET™ PARATB REAL TIME.

IV. Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	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.



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

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