



ADILYO™ MS/MG

VET

OBJET DU TEST

Le kit ADILYO™ MS/MG permet de détecter *Mycoplasma synoviae* et *Mycoplasma gallisepticum* par amplification enzymatique en temps réel (PCR) à partir de d'écouvillon de volaille, de prélèvement environnemental, de culture bactérienne et de carte FTA.

PRINCIPE

Le test ADILYO™ MS/MG repose sur l'amplification génique de fragments d'ADN spécifiques de *Mycoplasma synoviae* et *Mycoplasma gallisepticum*. Il détecte simultanément en monoculture :

- *Mycoplasma synoviae* (sonde marquée en FAM)
- *Mycoplasma gallisepticum* (sonde marquée en CY5)
- Un contrôle interne d'amplification d'ADN exogène (sonde marquée en HEX ou équivalent)

PRESENTATION

Kits	
REF ADL01Y1-200	Coffret de 200 tests
REF ADL01Y1-1000	Coffret de 1000 tests

COMPOSITION

REF ADL01Y1-200		
A6	solution d'amplification	2 flacons lyophilisés à bouchon blanc (A reconstituer)
MS CTL+	contrôle positif <i>Mycoplasma synoviae</i>	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
MG CTL+	contrôle positif <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
Rehydration buffer	solution de réhydratation	1x 6 ml flacon (prêt à l'emploi)
NF-Water	Eau Nuclease-free	1 x 1000 µl tube à bouchon blanc (prêt à l'emploi)
REF ADL01Y1-1000		
A6	solution d'amplification	10 flacons lyophilisés à bouchon blanc (A reconstituer)
MS CTL+	contrôle positif <i>Mycoplasma synoviae</i>	2 tubes à bouchon violet (A reconstituer)
MG CTL+	contrôle positif <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	2 tubes à bouchon violet (A reconstituer)
Rehydration buffer	solution de réhydratation	2x 6 ml flacons (prêt à l'emploi)
NF-Water	Eau nuclease-free	2 x 1000 µl tubes à bouchon blanc (prêt à l'emploi)

CONDITIONS DE STOCKAGE

- **A réception, stocker le kit à +4/8°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.**

MATERIEL ET REACTIF NECESSAIRES MAIS 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 Nuclease-free avec filtres pour micropipettes
- Microtubes Nuclease-free de 1,5 ml et 2 ml
- Gants latex ou nitrile non poudrés
- Eau Nuclease-free
- Kit d'extraction des acides nucléiques

PRECAUTIONS D'UTILISATION ET DE SECURITE

- **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 ouvrir les tubes PCR après amplification.
- Ne pas mélanger des réactifs de différents lots.
- 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).

EXTRACTION DES ACIDES NUCLEIQUES

Les ADN doivent être extraits à partir des échantillons avant d'utiliser le kit. Les kits d'extraction ADN/ARN listés ci-dessous sont recommandés par Bio-X Diagnostics.

Nom du produit	Fournisseur	Technologie d' extraction	Nombre de tests et référence
ADIAMAG	Bio-X Diagnostics	Billes magnétiques	200 tests: réf. NADI003
ADIAPURE™ LYSIS FLEX	Bio-X Diagnostics	Lyse directe	500 ml: réf. ADPLF1-500
QIAamp® DNA Mini Kit	Qiagen	Colonne de silice	50 tests: réf. 51304 250 tests: réf. 51306
NucleoSpin® Tissue	Macherey-Nagel	Colonne de silice	50 tests: réf.740952.50 250 tests: réf. 740952.250

D'autres kits d'extraction peuvent être utilisés après validation par l'utilisateur.

Types de prélèvements et options d'analyse correspondantes :

Prélèvement	Analyse individuelle	Analyse en mélange*, possible jusqu'à
Ecouvillon sur animaux vivants (trachéal, fente palatine...)	<input checked="" type="checkbox"/>	6
Ecouvillon sur animaux morts (organe lésé, articulation...)	<input checked="" type="checkbox"/>	6
Prélèvement environnemental	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Culture bactérienne (solide, liquide)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Carte FTA	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

* dépend de la qualité de l'échantillon et de la situation épidémiologique

PREPARATION DES SOLUTIONS

1. PREPARATION DE LA SOLUTION D'AMPLIFICATION A6

- Ajouter 1040 µl de « Rehydratation solution » par flacon de A6
- Homogénéiser le tube à l'aide d'un agitateur de type vortex > 20 secondes
- Après reconstitution, aliquoter la solution et stocker la solution à une température inférieure à -15°C jusqu'à la date de péremption du kit. Ne pas décongeler plus de 3 fois.
- Pour l'utilisation, se reporter au paragraphe « AMPLIFICATION ».

2. PREPARATION DES CONTROLES (CTL+)

- Ajouter 200 µl de « NF-Water » par tube.
- Homogénéiser le tube à l'aide d'un agitateur de type vortex > 20 secondes.
- Après reconstitution, aliquoter la solution et stocker la solution à une température inférieure à -15°C jusqu'à la date de péremption du kit. Ne pas décongeler plus de 3 fois.
- Pour l'utilisation, se reporter au paragraphe « AMPLIFICATION ».

PROTOCOLE D'AMPLIFICATION

Attention :

- Avant de commencer, réhydrater ou décongeler les réactifs à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Homogénéiser tous les réactifs et échantillons avant utilisation.
- Replacer les réactifs à une température inférieure à -15°C, après distribution.
- Les acides nucléiques extraits sont conservés à +2/8°C pendant 24 heures puis à une température inférieure à -15°C.

ÉTAPE 1 : REPARTIR 10 µL REACTIFS D'AMPLIFICATION A6 PAR PUIITS

ÉTAPE 2 : REPARTIR 5 µL DES ACIDES NUCLEIQUES ET DES CONTROLES

Distribuer les acides nucléiques extraits des échantillons et les contrôles dans chaque puits dédié.
Utiliser le NF-Water pour le témoin réactif.

ÉTAPE 3 : FERMER LES PUIITS AVEC UN FILM OU BARRETTES ADAPTES

ÉTAPE 4 : LANCEZ L'ANALYSE PCR

Le programme suivant a été développé pour les appareils ABI Prism (type 7500, QS5...) d'Applied Biosystems (cocher l'option « émulation 9600 » lorsqu'elle existe), pour les MX3005P, AriaMx d'Agilent, et pour le CFX96 de Biorad.

RNA/DNA Program	
10 min. 45°C	
2 min. 95°C	
5 sec. 95°C	40 cycles
30 sec. 60°C	

Paramètres pour l'acquisition de la fluorescence

Fluorochrome	Absorbance (nm)	Emission (nm)
FAM	494	520
HEX ou équivalent	538	554
Cy5	646	662
ROX	575	602

Note : Contacter votre représentant commercial ou le service client pour tout autre modèle de thermocycleur.

LECTURE ET INTERPRETATION DES RESULTATS

Afficher l'ensemble des courbes et positionner la ligne de seuil pour chaque fluorochrome.

1. VALIDATION DE L'ESSAI

L'amplification est valide si les résultats suivants sont obtenus.

Les valeurs indicatives de Ct (Threshold Cycle) attendues pour les CTL+ sont indiquées sur le certificat d'analyse du kit.

Témoin	Amplification			Validation de
	FAM	CY5	HEX ou équivalent	
Témoin réactif	Non	Non	Oui	Absence de contamination pour l'amplification
MS CTL+	Oui	Non	Oui	Amplification de la cible <i>M. synoviae</i>
MG CTL+	Non	Oui	Oui	Amplification de la cible <i>M. gallisepticum</i>

2. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'extraction des acides nucléiques et l'amplification sont **valides** pour chacun des échantillons si au moins une courbe d'amplification caractéristique est observée en FAM, Cy5 et/ou HEX ou équivalent.

Amplification			Statut de l'échantillon	
FAM	CY5	HEX ou équivalent	<i>M. synoviae</i>	<i>M. gallisepticum</i>
Non	Non	Oui	-	-
Oui	Non	Oui/Non	+	-
Non	Oui	Oui/Non	-	+
Oui	Oui	Oui/Non	+	+
Non	Non	Non	Non déterminé	Non déterminé

« **Non déterminé** » : absence de courbe d'amplification caractéristique.

Causes possibles :

- PCR défectueuse (présence d'inhibiteurs, erreur de programme, absence d'échantillon ou échantillon trop dégradé) et/ou
- Déficience de l'extraction des acides nucléiques (perte ou destruction des acides nucléiques).

Actions conseillées :

1. refaire la PCR avec l'extrait des acides nucléiques pur et dilué au 1/10^{ème} en eau Nuclease-free ;
2. refaire l'extraction des acides nucléiques si le test n'est toujours pas valide ou redemander un autre prélèvement.

CONTROLE DE QUALITE

Le kit ADILYO™ MS/MG est conçu et développé afin de répondre aux exigences de qualité les plus strictes. Le certificat d'analyse est fourni dans le kit ou disponible sur demande.

ELIMINATION DES DECHETS

Éliminer les réactifs non utilisés comme déchets non dangereux.

Éliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Gérer les déchets et les effluents produits selon leur nature et leur dangerosité, assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

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

HISTORIQUE DE REVISION

Catégories de type de modification :

N/A	Non Applicable (première version)
Correction	Correction d'anomalies présentes dans la documentation
Modification technique	Ajout, révision et/ou retrait d'informations relatives au produit
Administratif	Modifications d'ordre non technique perceptibles par l'utilisateur

Remarque : Les modifications mineures de typographie, de grammaire et de mise en page n'apparaissent pas dans l'historique des révisions.

Date de version	Référence du document	Type de modification	Résumé de la modification
2020/05	NF01Y1-01	N/A	Première publication

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

