

Manuel du virotype[®] Tissue Lysis Reagent

Réactif de lyse tissulaire pour la lyse rapide
de divers types d'échantillons

REF 100 ml (réf. SP289992)

REF 250 ml (réf. SP289993)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Allemagne

Sommaire

Contenu du kit.....	3
Utilisation prévue	3
Symboles	4
Contrôle qualité.....	4
Stockage	5
Informations de sécurité	5
Protocole 1 : lyse d'échantillons de tissu d'oreille	6
Procédure	6
Protocole 2 : lyse d'écouvillonnages aviaires	8
Procédure	8
Historique des modifications.....	11

Contenu du kit

Réf.	SP289992	SP289993
virotype Tissue Lysis Reagent	100 ml	250 ml
Manuel	1	1

Utilisation prévue

Le virotype Tissue Lysis Reagent est un réactif d'extraction conçu pour permettre la préparation rapide de divers types d'échantillons sans procédures d'extraction des acides nucléiques.

Le virotype Tissue Lysis Reagent a été conçu et validé pour la préparation d'échantillons de tissu d'oreille de bovin frais ou séché (taille du tissu d'oreille : Ø 2-3 mm) et pour les écouvillonnages trachéaux (individuels ou en pools) de poulet et de dinde.

La lyse d'autres types d'échantillons peut s'avérer possible, mais doit être validée par le client.

Symboles



Fabricant légal



Numéro de lot



À utiliser avant le



Limites de température pour le stockage



Manuel



Numéro de référence



Référence produit

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO d'INDICAL, chaque lot de virotype Tissue Lysis Reagent est testé selon des spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

Stockage

Les composants du virotype Tissue Lysis Reagent doivent être conservés à une température comprise entre -30°C et -15°C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Congeler les composants en aliquotes s'ils sont utilisés uniquement de façon intermittente.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles auprès des représentants d'INDICAL ou sur demande par e-mail à l'adresse **compliance@indical.com**.

Tous les restes d'échantillons et les objets qui ont été en contact avec les échantillons doivent être décontaminés ou éliminés comme des substances présentant un risque d'infection.

Protocole 1 : lyse d'échantillons de tissu d'oreille

Remarque : ce protocole a été validé uniquement pour les échantillons de tissu d'oreille de bovin (d'un diamètre de 2–3 mm) et l'application en aval ultérieure utilisant le virotype BVDV RT-PCR Kit.

Procédure

1. Amener le virotype Tissue Lysis Reagent à température ambiante (18-25°C) avant utilisation. Calculer et prélever le volume nécessaire, puis congeler le tampon de lyse restant.
2. Ajouter 200 µl de virotype Tissue Lysis Reagent à chaque échantillon de tissu d'oreille (Ø 2-3 mm) directement dans le dispositif d'échantillonnage.
3. Fermer les tubes avec les bouchons correspondants ou avec un film de scellage en aluminium adapté aux incubations à chaud.
4. Incuber les échantillons comme indiqué dans le Tableau 1.

Tableau 1. Temps d'incubation

Étape	Température	Volume
1	65°C ^{1, 2}	30 min
2	98°C ¹	15 min

¹ Effectuer l'incubation dans une étuve de séchage ou de stérilisation. L'utilisation d'un bloc chauffant est recommandée uniquement pour les tubes de réaction dont la taille correspond aux emplacements du bloc.

² Le temps d'incubation peut être prolongé de 10 minutes au maximum.

5. Laisser l'échantillon refroidir pendant 5 min entre 2 et 8°C (p.ex. sur de la glace).
6. Procéder rapidement au traitement des lysats. Les lysats qui ne sont pas testés immédiatement peuvent être conservés pendant un maximum de 12 h entre 2 et 8°C ou un maximum de 6 mois entre -30°C et -15°C.

Pooling

Une fois que la lyse des échantillons de tissu d'oreille individuels est terminée, pooler des volumes de lysat égaux (au moins 10 µl) et mélanger (p.ex. pools de 20 : pooler 10 µl de 20 lysats différents [soit 200 µl de volume total d'échantillons poolés]).

RT-PCR en temps réel

Le virotype Tissue Lysis Reagent a été validé uniquement pour une utilisation en association avec le virotype BVDV RT-PCR Kit.

Cinq µl de chaque pool/lysate sont testés directement avec le virotype BVDV RT-PCR Kit. Dans de rares cas, suivant la qualité des échantillons, les tests de lysats d'échantillons individuels peuvent donner des résultats non valides à cause de l'inhibition de la PCR (pas de détection de fluorescence FAM ni de fluorescence HEX). Dans une telle situation, il est recommandé de mélanger 2,5 µl de lysate avec 2,5 µl d'eau exempte de RNase et de refaire le test.

Décongeler les lysats congelés à température ambiante et mélanger délicatement l'échantillon en l'aspirant dans une pointe de pipette et en le refoulant dans le dispositif d'échantillonnage. Répéter ce processus d'aspiration-refoulement une ou deux fois avant l'utilisation.

Protocole 2 : lyse d'écouvillonnages aviaires

Procédure

1. Amener le virotype Tissue Lysis Reagent à température ambiante (18-25°C) avant utilisation. Calculer et prélever le volume nécessaire, puis congeler le tampon de lyse restant.
2. Effectuer une dilution 1:5 du virotype Tissue Lysis Reagent dans de l'eau exempte de nucléase ou un tampon phosphate salin. Il est également possible d'utiliser le virotype Tissue Lysis Reagent non dilué.
3. Placer l'écouvillon dans un tube de réaction jetable adapté (voir Tableau 2).
4. Ajouter le virotype Tissue Lysis Reagent à chaque tube de réaction. Vérifier que tous les écouvillons sont bien recouverts de virotype Tissue Lysis Reagent (Tableau 2).

Tableau 2. Types d'écouvillons

	Échantillon individuel		Pools	
		Écouvillon fin	Écouvillon épais	
Tube de réaction	2 ml	2 ml	Tube à fond rond de 15 ml	
Écouvillons	1	2-5	2-3	4-5
Tampon de lyse	500 µl	500 µl	1 000 µl	1 500 µl

5. Fermer les tubes de réaction avec les bouchons correspondants et vortexer brièvement.
6. Incuber l'échantillon comme indiqué dans le Tableau 3.

Tableau 3. Temps d'incubation

Étape	Température	Volume
1	65°C ^{1, 2}	30 min
2	98°C ¹	15 min

1 Effectuer l'incubation dans une étuve de séchage ou de stérilisation. L'utilisation d'un bloc chauffant est recommandée uniquement pour les tubes de réaction dont la taille correspond aux emplacements du bloc.

2 Le temps d'incubation peut être prolongé de 10 minutes au maximum.

7. Laisser l'échantillon refroidir pendant 5 min entre 2 et 8°C (p.ex. sur de la glace).
8. Procéder rapidement au traitement des lysats. Les lysats qui ne sont pas testés immédiatement peuvent être conservés pendant un maximum de 5 jours entre 2 et 8°C ou un maximum de 6 mois entre -30°C et -15°C.

Pooling

Pour tester des pools contenant jusqu'à 10 écouillons, prélever des volumes de lysats égaux après la fin de la lyse et bien mélanger (prendre au moins 10 µl de chaque lysat).

PCR en temps réel

Le virotype Tissue Lysis Reagent a été validé uniquement pour une utilisation en association avec le bactotype® Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit.

Cinq µl de chaque lysat/pool sont testés directement avec le bactotype Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit. Dans de rares cas, suivant la qualité des échantillons, les tests de lysats d'échantillons individuels peuvent donner des résultats non valides à cause de l'inhibition de la PCR (pas de détection de fluorescence). Dans une telle situation, il est recommandé de mélanger 2,5 µl de lysat avec 2,5 µl d'eau exempte de nucléase et de refaire le test.

Décongeler les lysats congelés à température ambiante et vortexer les échantillons brièvement.

INDICAL propose une gamme de kits ELISA et de kits PCR et RT-PCR en temps réel pour la détection des agents pathogènes chez les animaux.

Consulter le site **www.indical.com** pour plus d'informations sur les produits bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype et virotype.

Pour les dernières informations sur les licences et les clauses limitatives de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation d'INDICAL correspondant.

Contrat de licence limitée pour le virotype Tissue Lysis Reagent

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel, et uniquement avec les composants contenus dans ce kit. INDICAL n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.indical.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs INDICAL pour des utilisateurs INDICAL. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par INDICAL. INDICAL ne saurait être tenue pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, INDICAL n'offre aucune garantie que ce kit et/ou son ou ses utilisations ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. INDICAL rejette notamment toutes autres licences, expresse ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. INDICAL est susceptible de faire appliquer les interdictions de ce contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais d'investigation et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de ce contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les conditions de licence mises à jour, consulter www.indical.com.

Marques commerciales : bactotype[®], cadon[®], cattletype[®], flocktype[®], pigtype[®], virotype[®] (INDICAL BIOSCIENCE GmbH) ; MagAttract[®], QIAamp[®], QIAcube, RNeasy (QIAGEN GmbH) ; les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

HB-1682-FR-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, tous droits réservés.

Historique des modifications

Manuel	Version	Modification
HB-1682-FR-002	Mai 2018	Style INDICAL

INDICAL
BIOSCIENCE

Pour commander : www.indical.com/contact
Assistance technique : support@indical.com
Site Web : www.indical.com