

VetMAX™ M. tuberculosis Complex Kit

Méthodes d'extraction de l'ADN optimisées pour une utilisation avec le kit (cat. n° MTBC)

Pub. n° MAN0015860 Rév. D.0

IMPORTANT ! En France, suivre l' Annexe A, "Broyer les échantillons pour une mise en culture en parallèle".

Espèces	Matrices d'échantillons	Type de test
<ul style="list-style-type: none"> • Bovins • Blaireaux • Sangliers • Cervidés 	Nœuds lymphatiques et tissus périphériques lésionés (à l'exception du caseum, de la peau et de la couche adipeuse)	Individuel

 **AVERTISSEMENT !** Lire les fiches de données de sécurité (FDS) et suivre les consignes de manipulation. Porter des lunettes de protection, des gants et des vêtements appropriés. Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse thermofisher.com/support.

 **AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE.** Lire les informations de sécurité relatives aux risques biologiques du produit disponibles sur thermofisher.com. Suivre toutes les réglementations du travail avec des échantillons biologiques locales, nationales et/ou communautaires en vigueur.

- Objectif de ce manuel 1
- Matériels requis non fournis 2
- Méthode 4
- Instructions 4
- Préparation des échantillons 4
- Extraction de l'ADN à l'aide du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (méthode automatisée) 6
- Extraction de l'ADN à l'aide du QIAamp™ DNA Mini Kit (méthode manuelle) 8
- Bonnes pratiques de laboratoire pour la PCR et la RT-PCR 9

Annexe A Broyer les échantillons pour une mise en culture en parallèle

- Broyer les échantillons et les préparer pour une mise en culture 10

Documentation et support

- Assistance à la clientèle et support technique 11
- Garantie limitée du produit 11

Objectif de ce manuel

Ce manuel décrit les méthodes automatisées et manuelles d'extraction d'ADN à partir de 2 g à 5 g de tissu. Les méthodes ont été validées et optimisées pour une utilisation en aval avec le VetMAX™ M. tuberculosis Complex Kit (Réf. MTBC).

- L'extraction automatisée de l'ADN est réalisée en utilisant le KingFisher™ mL (jusqu'à 15 échantillons) ou l'instrument KingFisher™ Flex (96 puits).
- L'extraction manuelle de l'ADN utilise des colonnes de silice.

Matériels requis non fournis

Sauf indication contraire, tous les produits sont disponibles sur thermofisher.com. « PFL » indique que le matériel est disponible sur fisherscientific.com ou auprès d'un autre principal fournisseur de laboratoire.

Les références catalogue qui s'affichent sous forme de liens ouvrent les pages Web de ces produits.

Matériels requis pour la préparation de l'échantillon et l'extraction de l'ADN

Élément	Source
Équipement	
(Facultatif, mais recommandé) Poste de sécurité microbiologique de classe II (PSMII)	PFL
Broyeur de laboratoire péristaltique, parmi les modèles suivants ou l'équivalent : <ul style="list-style-type: none"> • Stomacher™ 80 Mark 2 (Seward 0080/000/EU) • MiniMix 100 ml (Interscience P CC 011230, W CC 012230) 	Fisher Scientific 1428528 Fisher Scientific 36099502 (P CC), 36099503 (W CC)
Broyeur de tissus pour la ribolyse (avec billes), parmi les modèles suivants ou l'équivalent : <ul style="list-style-type: none"> • Broyeur Precellys™ 24 (Bertin) • Instrument FastPrep-24™ (MP Biomedical 116004500) • Mixer Mill 400 (Verder 207450001) 	Bertin EQ03119.200.RD000.0 Fisher Scientific MP116004500 Fisher Scientific 08 418 241
Centrifugeuse de paillasse	PFL
Agitateur de laboratoire (vortex ou l'équivalent)	PFL
Micropipettes de précision réglables	PFL
Blocs chauffants à 56 ± 4 °C ou à 70 ± 4 °C, ou l'équivalent	PFL
Consommables	
Consommables nécessaires pour les broyeurs	PFL
Tubes de microcentrifugation contenant 0,5 ml de billes de verre (de 0,5 mm de diamètre ou moins), compatibles avec le broyeur	PFL
Embouts de pipette résistants aux aérosols, sans nucléase	PFL
Tubes de microcentrifugation exempts de DNase/RNase <ul style="list-style-type: none"> • 1,5 ml • 2,0 ml 	PFL
Boîte de Pétri, pour le hachage des tissus	PFL
Scalpels et pinces métalliques	PFL
Réactifs	
5 - IPC MTBC	Provenant du VetMAX™ M. tuberculosis Complex Kit
Eau sans nucléase	AM12450
TE 1X	PFL
PBS 1X	PFL

Matériels requis supplémentaires pour l'extraction automatisée de l'ADN (MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit)

Élément	Source
Instrument	
L'un des instruments suivants : <ul style="list-style-type: none"> KingFisher™ Flex Purification System KingFisher™ mL Purification System KingFisher™ Duo Prime Purification System 	5400630 5400050 5400110
Équipement et consommables	
Micropipettes multicanales	PFL
Réservoir de réactifs	PFL
Consommables pour le KingFisher™ Flex Purification System	
Plaques Deep Well, parmi les suivantes : <ul style="list-style-type: none"> KingFisher™ Flex Microtiter Deep-Well 96 plate, stérile KingFisher™ Flex Microtiter Deep-Well 96 plate, à fond en V 	95040460 95040450
KingFisher™ 96 KF microplate (plaques à puits standard)	97002540
KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets (peignes)	97002534 ou 97002820
Consommables pour le KingFisher™ mL Purification System	
Tubes et peignes	97002141
Consommables pour le KingFisher™ Duo Prime Purification System	
KingFisher™ Duo Pack Combi pour plaque Microtiter 96 Deepwell (peignes, plaques et barrettes d'éluion pour 96 échantillons)	97003530
KingFisher™ Duo Elution Strip (40 pièces) ^[1]	97003520
KingFisher™ Duo Peigne à 12 pointes pour plaque Microtiter 96 Deepwell (50 pièces) ^[1]	97003500
KingFisher™ Flex Microtiter Deep-Well 96 plates ^[1]	95040460
Kits	
MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit	A32700 ou A32702

^[1] Inclus dans le pack KingFisher™ Duo Combi (cat. n° 97003530).

Matériels supplémentaires nécessaires pour l'extraction manuelle de l'ADN (QIAamp™ DNA Mini Kit)

Article	Source
QIAamp™ DNA Mini Kit	Qiagen 51304
Éthanol à 96-100 %	PFL

Méthode

Préparation des échantillons (page 4)



Broyage des échantillons (page 4)



Agiter les échantillons à analyser et les témoins broyés (page 5)



Extraire l'ADN à l'aide de la méthode appropriée pour votre laboratoire :

Méthode automatisée

Extraire l'ADN à l'aide du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (page 6)

Méthode manuelle

Extraire l'ADN à l'aide du QIAamp™ DNA Mini Kit (page 8)

Instructions

- Pour une qualité optimale de l'échantillon, conserver les échantillons collectés avant l'extraction de l'ADN comme indiqué.
 - Stocker les échantillons entre $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant un maximum de 24 heures.
 - Stocker les échantillons en dessous de -16°C pendant un maximum de 1 an.
 - Stocker les échantillons en dessous de -70°C ou moins pour une conservation à plus long terme.
- Utiliser le 5 - IPC MTBC fourni dans le VetMAX™ M. tuberculosis Complex Kit. Ne pas utiliser le composant IPC d'autres kits ou d'autres lots MTBC.
- Effectuer toutes les étapes à température ambiante ($21 \pm 5^{\circ}\text{C}$) sauf indication contraire.
- Lors du mélange des échantillons par aspiration-refoulement, éviter la production de bulles.
- Après avoir décongelé les réactifs, mélanger soigneusement le contenu de chaque tube en le vortexant, puis centrifuger brièvement avant utilisation.
- Pour éviter les faux positifs et la contamination des échantillons testés par des produits de PCR, respecter les "Bonnes pratiques de laboratoire pour la PCR et la RT-PCR" en page 9.

Préparation des échantillons

1. Retirer le caséum, la peau et la couche adipeuse de chaque échantillon de tissu, en s'assurant de récupérer 2 g à 5 g d'échantillon préparé.
2. Hacher finement l'échantillon dans une boîte de Petri à l'aide de scalpels et de pinces.
3. Transférer l'échantillon haché dans le sac du broyeur péristaltique.
4. Démarrer l'homogénéisation.

Broyage des échantillons

Remarque : En France, suivre l'Annexe A, "Broyer les échantillons pour une mise en culture en parallèle".

Inclure un contrôle d'extraction à l'étape 5 et continuer à traiter ce contrôle avec les échantillons à analyser.

1. Ajouter du PBS 1X au tissu haché jusqu'à ce que le tissu soit juste recouvert.
2. Broyer l'échantillon dans un mélangeur de laboratoire péristaltique (ou l'équivalent) à 260 rpm pendant 3 minutes.
3. Laisser les particules se déposer (pendant 5 à 20 secondes au maximum).
4. Transférer deux aliquotes de 1,8 ml du surnageant dans des tubes de microcentrifugation exempts de DNase/RNase de 2 ml, puis conserver l'une des aliquotes à une température inférieure à -16°C dans l'éventualité où d'autres tests seraient nécessaires.

En France, broyer les échantillons selon l'Annexe A.

5. Centrifuger l'autre aliquote à $12\ 000 \times g$ pendant 2 minutes.

Centrifuger également l'aliquote du témoin broyé.

6. Éliminer le surnageant.

Agiter les échantillons à analyser et les témoins broyés

1. Remettre en suspension le culot dans 600 μ l de PBS 1X ou de TE 1X.

2. Transférer le culot remis en suspension dans un tube exempt de DNase/RNase contenant les billes de verre appropriées.

3. Agiter l'échantillon avec les billes.

Option	Réglages
Broyeur Precellys™ 24	6 800 rpm ; 3 \times 30 secondes
Instrument FastPrep-24™	6 m/s ; 45 secondes
Mixer Mill MM 400	30 Hz ; 2 \times 5 minutes

4. Centrifuger à $6\ 000 \times g$ pendant 3 minutes.

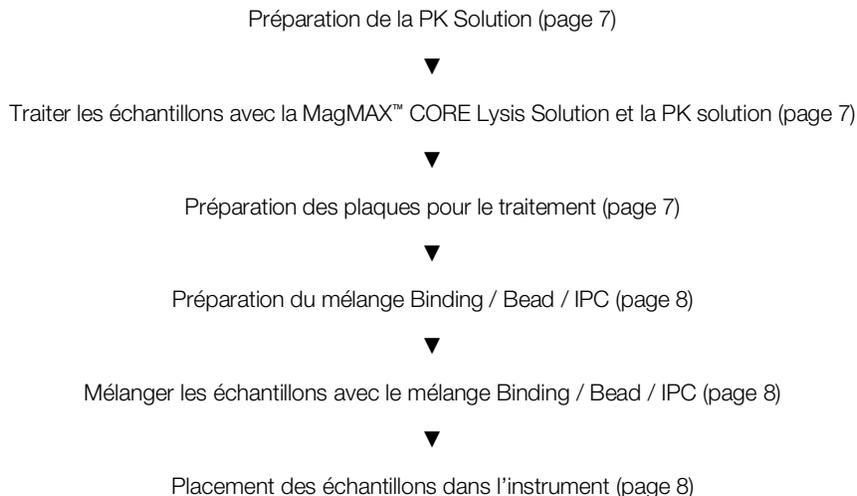
5. Procéder à l'extraction de l'ADN avec 200 μ l de surnageant.

- "Extraction de l'ADN à l'aide du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (méthode automatisée)" en page 6
- "Extraction de l'ADN à l'aide du QIAamp™ DNA Mini Kit (méthode manuelle)" en page 8

Transférer le surnageant restant dans un nouveau tube, et stocker en dessous de -16°C .

Extraction de l'ADN à l'aide du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit (méthode automatisée)

Méthode



Instructions

- Avant utilisation, retourner les bouteilles de solutions et de tampons pour bien les mélanger.
- Pour éviter toute contamination croisée :
 - Couvrir la plaque ou la barrette de tubes pendant les étapes d'incubation et d'agitation, pour éviter tout débordement.
 - Pipetter avec précaution les réactifs et les échantillons pour éviter les éclaboussures.
- Pour éviter toute contamination par les nucléases :
 - Porter des gants de laboratoire pendant les manipulations. Les gants vous protègent des réactifs, et ils protègent l'acide nucléique des nucléases présentes sur la peau.
 - Utiliser des pointes de pipettes exemptes d'acide nucléique pour manipuler les réactifs, et éviter de mettre des pointes utilisées dans les récipients de réactifs.
 - Décontaminer les paillasses de laboratoire et les pipettes avant de commencer.

Avant la première utilisation du kit

Téléchargement du script

Le script adapté au MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit doit être installé sur l'instrument avant sa première utilisation.

1. Sur la page produit du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit sur internet (sur [thermofisher.com](https://www.thermofisher.com), effectuer une recherche à partir de la référence catalogue), faire défiler jusqu'à la section **Product Literature (Documentation produit)**.
2. Faire un clic droit sur le fichier approprié pour télécharger la dernière version du script MagMAX_CORE pour votre instrument.
 - KingFisher™ Flex : **MagMAX_CORE_Flex_Express**
 - KingFisher™ mL : **MagMAX_CORE_mL_Express**
 - KingFisher™ Duo Prime : **MagMAX_CORE_Duo_Express**
3. Consulter le guide de l'utilisateur de votre instrument ou contacter le support technique pour obtenir les instructions d'installation du script.

Préparation de la PK Solution

Préparer la PK Solution immédiatement avant utilisation.

1. Préparation de la PK Solution : mélanger les composants suivants pour le nombre requis d'échantillons plus 10 % d'excédent.

Composant	Volume par échantillon
PBS 1X	200 µl
MagMAX™ CORE Proteinase K	10 µl
PK Solution totale	210 µl

2. Vortexer pour mélanger, puis centrifuger brièvement.

Traiter les échantillons avec la MagMAX™ CORE Lysis Solution et la PK solution

1. Ajouter 200 µl de MagMAX™ CORE Lysis Solution dans un nouveau tube.
2. Ajouter 200 µl du surnageant de l'échantillon, puis homogénéiser par aspiration-refoulement.
3. Ajouter 210 µl de PK solution, puis vortexer soigneusement.
4. Centrifuger brièvement pour rassembler le contenu au fond du tube.
5. Incuber l'échantillon sans agitation. Utiliser l'une des options suivantes :
 - Lyse rapide : Incuber pendant 30 minutes à 70 ± 4°C.
 - Lyse longue : Incuber pendant 16 à 24 heures à 56 ± 4°C.
6. Centrifuger brièvement pour rassembler le contenu au fond du tube.

Préparation des plaques pour le traitement

1. Ajouter les MagMAX™ CORE Wash Solutions et MagMAX™ CORE Elution Buffer aux positions indiquées, selon votre instrument.

Tableau 1 Configuration de la plaque : Instrument KingFisher™ Flex

ID de plaque	Position de la plaque ^[1]	Type de plaque	Réactif	Volume par puits
Plaque de lavage 1	2	Deep Well	MagMAX™ CORE Wash Solution 1	500 µl
Plaque de lavage 2	3	Deep Well	MagMAX™ CORE Wash Solution 2	500 µl
Élution	4	Standard	MagMAX™ CORE Elution Buffer	90 µl
Peigne	5	Standard	Placer un peigne protecteur dans la plaque.	

^[1] Position sur l'instrument.

Tableau 2 Configuration de la barrette de tubes : Instrument KingFisher™ mL

ID de la position	Position de la barrette de tubes	Tube	Réactif	Volume par puits
Lavage 1	B	Barrette de tubes	MagMAX™ CORE Wash Solution 1	500 µl
Lavage 2	C		MagMAX™ CORE Wash Solution 2	500 µl
Élution	D		MagMAX™ CORE Elution Buffer	90 µl
Peigne	N/A	N/A	Glisser le peigne dans le support pour peigne.	

Tableau 3 Configuration de la plaque : Instrument KingFisher™ Duo Prime

ID de la ligne	Ligne sur la plaque	Type de plaque	Réactif	Volume par puits
Lavage 1	B	Deep Well	MagMAX™ CORE Wash Solution 1	500 µl
Lavage 2	C	Deep Well	MagMAX™ CORE Wash Solution 2	500 µl
Élution ^[1]	Barrette de tubes séparée ^[2]	Barrette d'élution	MagMAX™ CORE Elution Buffer	90 µl
Peigne	H	Deep Well	Placer un peigne protecteur dans la plaque.	

^[1] S'assurer que la barrette d'élution est placée dans le bon sens dans le bloc d'élution.

^[2] Placée sur l'élément chauffant

2. (*Facultatif*) En cas d'utilisation de l'instrument KingFisher™ Flex, couvrir les plaques de traitement préparées avec une feuille adhésive jusqu'à ce qu'elles soient chargées dans l'instrument.

Préparation du mélange Binding / Bead / IPC

Nous vous recommandons de préparer un nouveau mélange Binding / Bead / IPC à chaque test.

1. Bien vortexer les MagMAX™ CORE Magnetic Beads afin que toutes les billes soient remises en suspension.
2. Préparation du mélange de Binding / Bead / IPC : mélanger les composants suivants pour le nombre requis d'échantillons plus 10 % d'excédent.

Composant	Volume par échantillon
MagMAX™ CORE Binding Solution	400 µl
MagMAX™ CORE Magnetic Beads	20 µl
5 - IPC MTBC	5 µl
Mélange Binding / Bead / IPC total	425 µl

(*Facultatif*) Conserver le mélange Binding / Bead / IPC à température ambiante pendant 24 heures au maximum.

Mélanger les échantillons avec le mélange Binding / Bead / IPC

1. Transférer chaque échantillon traité dans les puits appropriés sur la plaque (position 1) ou dans la barrette de tubes (position A).
2. Retourner le tube contenant le mélange Binding / Bead / IPC au moins 10 fois pour remettre les billes en suspension, puis ajouter 425 µl de mélange Binding / Bead / IPC à chaque échantillon.
3. Procéder immédiatement au traitement des échantillons dans l'instrument (section suivante).

Placement des échantillons dans l'instrument

1. Sélectionner le script approprié sur l'instrument.
 - KingFisher™ Flex : **MagMAX_CORE_Flex_Express**
 - KingFisher™ mL : **MagMAX_CORE_mL_Express**
 - KingFisher™ Duo Prime : **MagMAX_CORE_Duo_Express**
2. Démarrer le test, puis charger les plaques préparées dans leurs positions lorsque l'instrument invite l'utilisateur à le faire.

Conserver l'acide nucléique purifié sur de la glace pour une utilisation immédiate, à -20°C pendant 1 mois au maximum ou à -80°C pour une conservation à long terme.

Extraction de l'ADN à l'aide du QIAamp™ DNA Mini Kit (méthode manuelle)

Avant la première utilisation du kit

Préparer le tampon AW1 et le tampon AW2 selon les recommandations du fabricant.

Traiter le broyat avec de la protéinase K

1. Pour chaque échantillon, mélanger les réactifs suivants comme indiqué.

IMPORTANT ! Ajouter les réactifs dans l'ordre indiqué au moment de l'utilisation, ne pas mélanger les réactifs à l'avance.

- a. Combiner le tampon AL avec le 5 - IPC MTBC, puis mélanger soigneusement.

Composant	Volume par échantillon de test	Volume par échantillon témoin purifié
AL Buffer	200 µl	200 µl
5 - IPC MTBC	5 µl	5 µl

- b. Ajouter les réactifs suivants *dans l'ordre indiqué*, puis homogénéiser l'échantillon.

Composant	Volume par échantillon de test	Volume par échantillon témoin purifié
Surnageant d'échantillon finement broyé	200 µl	—
PBS 1X ou TE 1X	—	200 µl
Protéinase K	20 µl	20 µl

2. Incuber à 56 ± 4 °C pendant 16 à 24 heures.

Adsorber l'ADN sur la colonne

1. Une fois l'incubation à 56 °C terminée, centrifuger les échantillons brièvement pour éviter les aérosols des condensas.
2. Ajouter 200 µl d'éthanol à 96 – 100 % à chaque échantillon (volume total ~625 µl), vortexer immédiatement 15 secondes, puis centrifuger brièvement.
3. Insérer une mini colonne de centrifugation QIAamp™ dans un tube collecteur, puis transférer la totalité de l'échantillon dans la colonne de centrifugation.
4. Boucher la colonne, puis centrifuger l'ensemble à $15\,000 \times g$ pendant 1 minute.
5. Jeter le tube collecteur puis positionner la colonne de centrifugation sur un nouveau tube collecteur.

Laver et éluer l'ADN

1. Ajouter 500 µl de tampon AW1 à chaque colonne de centrifugation puis centrifuger à $15\,000 \times g$ pendant 1 minute.
2. Jeter le tube collecteur puis positionner la colonne sur un nouveau tube collecteur.
3. Recommencer les étape 1 et étape 2 avec 500 µl de tampon AW2.
4. Centrifuger à $15\,000 \times g$ pendant 3 minutes pour sécher la membrane.
5. Positionner la colonne sur un nouveau tube de microcentrifugeuse et ajouter 100 µl de tampon AE.
6. Incuber pendant 1 minute à température ambiante, centrifuger à $15\,000 \times g$ pendant 1 minute, puis éliminer la colonne.
L'ADN purifié se trouve dans le microtube.

Conserver l'ADN purifié :

- Entre 2 et 8°C pour une utilisation immédiate.
- En dessous de -16°C pour une conservation à long terme.

Bonnes pratiques de laboratoire pour la PCR et la RT-PCR

- Porter des gants et une blouse de laboratoire propres.
 - Ne pas porter les mêmes gants et la même blouse que ceux précédemment portés pour manipuler des produits amplifiés ou préparer des échantillons.

- Changer systématiquement de gants en cas de doute quant à leur contamination possible.
- Maintenir des zones distinctes ainsi que des équipements et des fournitures dédiés pour les étapes suivantes :
 - Préparation des échantillons et configuration de la réaction.
 - Amplification et analyse des produits.
- Ne pas introduire les produits amplifiés dans la zone pré-PCR de la réaction.
- Ouvrir et fermer tous les tubes d'échantillon avec soin. Éviter toute projection ou création d'aérosols.
- Maintenir les composants et les réactifs fermés dans la mesure du possible.
- Utiliser une pipette à piston ou des embouts de pipette résistant aux aérosols.
- Nettoyer régulièrement les paillasses et équipements de laboratoire avec une solution d'eau de Javel à 10 % ou une solution de décontamination ADN.

Annexe A Broyer les échantillons pour une mise en culture en parallèle

Cette procédure est conforme à la norme française NF U47-104.

Tableau 4 Matériels supplémentaires nécessaires

Article	Source
H ₂ SO ₄ à 4 %	PFL
NaOH à 6%	PFL
Bleu de bromothymol	PFL
Tubes coniques type Falcon™ 50 ml pour centrifugeuse	Fisher Scientific 14-432-22
(en option) Papier pH	PFL

Broyer les échantillons et les préparer pour une mise en culture

Inclure un contrôle d'extraction à l'étape 10 et continuer à traiter ce contrôle avec les échantillons à analyser.

1. Préparer une solution de H₂SO₄ à 4 % / du bleu de bromothymol à 2 %.
 - a. Ajouter 10 à 12 ml de H₂SO₄ à 4 % dans un flacon.
 - b. Ajouter de façon aseptique 2 à 3 gouttes de bleu de bromothymol à 2 %, jusqu'à ce que la solution soit jaune.
2. Ajouter de la solution de H₂SO₄ à 4 % / et du bleu de bromothymol à 2 % sur l'échantillon haché, jusqu'à ce que l'échantillon soit juste recouvert.
3. Broyer l'échantillon dans un mélangeur de laboratoire péristaltique (ou équivalent) pendant 3 minutes.
4. Transférer le mélange échantillon dans un tube conique de 50 ml pour garantir un mélange et une neutralisation complète à l'étape 7.
5. Incuber l'échantillon pendant 7 minutes (le temps total de contact avec l'acide est de 10 minutes).
6. Ajouter du NaOH à 6 % goutte à goutte en vortexant entre chaque ajout jusqu'à ce que la solution passe du jaune au vert (pH 6,0 – 8,1).

IMPORTANT ! La gamme spécifique de pH est importante pour la culture des mycobactéries. Si le pH est trop basique, les mycobactéries poussent trop lentement. Si le pH est trop acide, les contaminants et les mycobactéries à croissance rapide poussent au détriment des mycobactéries à croissance lente dont font partie les bactéries du complexe de *M. tuberculosis*.

Si nécessaire, vérifier le pH à l'aide de papier pH.

7. Laisser les particules reposer (pendant 5 à 20 secondes maximum).
8. Transférer deux aliquots de 1,8 ml du surnageant dans des tubes DNase/RNase-free de 2 ml pour centrifugeuse de paillasse, puis conserver l'un des aliquots à une température inférieure à -16 °C dans l'éventualité où d'autres tests seraient nécessaires.

9. Utiliser le reste du surnageant pour ensemer les milieux de culture appropriés selon les recommandations de la norme NF U47-104.
10. Centrifuger l'autre aliquot de 1,8 ml de surnageant à 12 000 × *g* pendant 2 minutes.
Centrifuger également l'aliquote du témoin broyé.
11. Éliminer le surnageant.
12. Ajouter 1 ml de TE 1X, puis vortexer pour remettre le culot en suspension.
13. Centrifuger à 12 000 × *g* pendant 2 minutes, puis éliminer le surnageant.
14. (*Facultatif*) Si le surnageant est trouble, recommencer le lavage (étape 13 – étape 14).

Suivre les étapes du paragraphe “Agiter les échantillons à analyser et les témoins broyés” en page 5.

Documentation et support

Assistance à la clientèle et support technique

Visiter [thermofisher.com/support](https://www.thermofisher.com/support) pour obtenir les informations les plus récentes sur les services et le support.

- Numéros de téléphone de contact internationaux
- Informations sur le support produit
 - FAQ relatives aux produits
 - Logiciels, correctifs et mises à jour
 - Formations sur de nombreux instruments et applications
- Commandes et assistance en ligne
- Documentation produit
 - Guides de l'utilisateur, manuels et protocoles
 - Certificats d'analyse
 - Fiches de données de sécurité (FDS)

Remarque : Pour obtenir les FDS relatives aux réactifs et produits chimiques d'autres fabricants, contacter ces derniers.

Garantie limitée du produit

Life Technologies Corporation et ses filiales garantissent leurs produits selon les termes et conditions générales de ventes disponibles sur le site www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. Si vous avez des questions, vous pouvez prendre contact avec Life Technologies à l'adresse web suivante : www.thermofisher.com/support.

Les informations contenues dans ce guide sont susceptibles d'être modifiées sans préavis.

CLAUSE DE NON-RESPONSABILITÉ: DANS LA MESURE PERMISE PAR LA LOI, THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. ET/OU SA OU SES FILIALE(S) NE SAURAIENT ÊTRE TENUES POUR RESPONSABLES DE DOMMAGES SPÉCIAUX, ACCESSOIRES, INDIRECTS, PUNITIFS, MULTIPLES OU CONSÉCUTIFS LIÉS AU PRÉSENT DOCUMENT OU A SON USAGE OU EN RÉSULTANT.

Traduit de l'anglais, depuis la publication numéro MAN0015859, révision E.0.

Historique des révisions: Pub. N° MAN0015859 (anglais)

Révision	Date	Description
E.0	28 juin 2022	<ul style="list-style-type: none"> Les instructions pour le KingFisher™ Duo Prime Purification System ont été ajoutées au document. Les noms des scripts pour les instruments KingFisher™ Flex, KingFisher™ mL et KingFisher™ Duo Prime ont été mis à jour. Le protocole du MagVet™ Universal Isolation Kit a été enlevé du document. Les modifications suivantes ont été apportées à la procédure du MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit : <ul style="list-style-type: none"> Le PK Buffer a été remplacé par du PBS 1X (voir "Préparation de la PK Solution" en page 7). Le PK Buffer a été supprimé du tableau des matériels requis supplémentaires. La quantité de solution de lyse a été diminuée de 355 µl à 200 µl, et les options pour une lyse longue ou une lyse rapide ont été ajoutées (voir "Traiter les échantillons avec la MagMAX™ CORE Lysis Solution et la PK solution" en page 7). Les méthodes ont été mises à jour pour ajouter le 5 - IPC MTBC lors de la préparation du mélange Binding / Bead. Des mises à jour mineures de la terminologie ont été effectuées dans tout le document.
D.0	30 octobre 2019	<ul style="list-style-type: none"> Ajout des instructions pour la purification de l'acide nucléique avec le MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit. Ajout de la vitesse recommandée pour broyer les échantillons en utilisant un broyeur de laboratoire péristaltique.
C.0	11 septembre 2017	Modification du traitement des échantillons lors du broyage et de l'ajout de protéinase K. La vitesse de centrifugation pour l'élution de l'ADN a été augmentée de 6 000 à 15 000 × g.
B.0	27 avril 2017	Changement de la quantité de surnageant conservé après l'agitation des échantillons.
A.0	25 octobre 2016	Nouveau document.

Informations importantes sur les licences : Ces produits peuvent être couverts par une ou plusieurs licences à usage limité. En utilisant ces produits, vous acceptez les conditions générales de toutes les licences à usage limité.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques commerciales sont la propriété de Thermo Fisher Scientific et de ses filiales, sauf indication contraire. Falcon est une marque de Corning Inc. FastPrep-24 est une marque de MP Biomedicals, LLC. Precellys est une marque de Bertin Technologies. QIAamp est une marque de Qiagen GMBH Corp. Stomacher est une marque de Steward Limited Corp.