



# **Gamme LoopDeetect Food Safety**

Dispositif de détection par amplification génique

## **Protocoles**

-

## **Protéinase K Centrifugation**

Version 8.1 – Juin 2026



Loop Dee Science World Wide  
100 rue Philippe LIVRY-LEVEL  
14760 Bretteville-sur-Odon (France)



## Table des matières

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Informations préalables .....                                                                                 | 3  |
| Protocoles avec PK et centrifugation .....                                                                    | 4  |
| SWA_09 - Ecouvillonnage de surface / PK / Centrifugation / Purification manuelle PFS+ .....                   | 5  |
| SWA_10 - Ecouvillonnage de surface / PK / Lyse LoopiX® / Centrifugation / PurifiX®8 .....                     | 8  |
| SWA_11 – Ecouvillonnage de surface / PK / Bloc de chauffe / Centrifugation / PurifiX®8 .....                  | 11 |
| SWA_12 – Ecouvillonnage de surface / PK / Centrifugation / PurifiX® 10 .....                                  | 14 |
| MIL_09 - Echantillon en milieu / PK / Centrifugation / Purification manuelle PFS+ .....                       | 17 |
| MIL_10 - Echantillon en milieu / PK / Lyse LoopiX® / Centrifugation / PurifiX®8 .....                         | 20 |
| MIL_11 - Echantillon en milieu / PK / Bloc de chauffe / Centrifugation / PurifiX®8 .....                      | 23 |
| MIL_12 - Echantillon en milieu / PK / Centrifugation / PurifiX®10 .....                                       | 26 |
| COL_09 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Centrifugation / Purification manuelle PFS+ .....  | 29 |
| COL_10 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Lyse LoopiX® / Centrifugation / PurifiX®8 .....    | 32 |
| COL_11 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Bloc de chauffe / Centrifugation / PurifiX®8 ..... | 35 |
| COL_12 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Centrifugation / PurifiX®10 .....                  | 38 |
| NEG_01 – Contrôle négatif .....                                                                               | 41 |
| POS_01 – Contrôle positif .....                                                                               | 41 |
| INH_01 – Contrôle d’inhibition .....                                                                          | 42 |
| Historique du document / Suivi des versions .....                                                             | 45 |

## Informations préalables

Ce document appartient à Loop Dee Science World Wide. Toute copie ou reproduction de celle-ci sans l'autorisation préalable de Loop Dee Science World Wide est interdite.

Afin d'obtenir des résultats optimaux, il est nécessaire de suivre scrupuleusement le mode opératoire et les recommandations d'utilisation. La définition du protocole à appliquer dépend notamment de la typologie des matrices, de l'utilisateur et des appareils utilisés.

Avant toute utilisation, l'utilisateur doit avoir pris connaissance et compris l'ensemble des notices d'utilisation des appareils et produits mis en œuvre dans le cadre du protocole. Les notices d'utilisation sont accessibles en ligne sur la page : [Loop Dee Science - Download](#)

Les notices spécifiques aux kits **LoopDeetect AOAC** sont également disponibles en ligne sur la page : [Loop Dee Science - Download](#)

## Protocoles avec PK et centrifugation

|                                                                     | Purification PFS+             | Purification PurifiX 8                                         | Purification PurifiX 10       |
|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Ecouvillonnage de surface</b>                                    | <a href="#"><u>SWA 09</u></a> | <a href="#"><u>SWA 10</u></a><br><a href="#"><u>SWA 11</u></a> | <a href="#"><u>SWA 12</u></a> |
| <b>Echantillon alimentaire<br/>ou<br/>environnemental en milieu</b> | <a href="#"><u>MIL 09</u></a> | <a href="#"><u>MIL 10</u></a><br><a href="#"><u>MIL 11</u></a> | <a href="#"><u>MIL 12</u></a> |
| <b>Colonie issue de culture en<br/>boite de Pétri</b>               | <a href="#"><u>COL 09</u></a> | <a href="#"><u>COL 10</u></a><br><a href="#"><u>COL 11</u></a> | <a href="#"><u>COL 12</u></a> |
| <b>Témoin négatif</b>                                               | <a href="#"><u>NEG 01</u></a> |                                                                |                               |
| <b>Témoin positif</b>                                               | <a href="#"><u>POS 01</u></a> |                                                                |                               |
| <b>Témoin d'inhibition</b>                                          | <a href="#"><u>INH 01</u></a> |                                                                |                               |

### Echantillonnage

- Humidifier l'écouvillon avec le tampon **S1**.
- Réaliser le prélèvement de surface à l'aide de l'écouvillon.
- Plonger la tête de l'écouvillon dans le tube **L1** et libérer le contenu du prélèvement en effectuant des mouvements de rotation et de va-et-vient pendant 15 secondes, puis presser l'écouvillon contre la paroi du tube pour en extraire le liquide.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.

### Purification avec le kit PFS+

- Transférer le filtrat vers le tube **B2** avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Homogénéiser avec 15 aspirations-refoulements, en vérifiant que les billes sont bien réparties sans amas.

- Attendre 1 minute puis placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.
- Ajouter le tampon **W3** et homogénéiser à nouveau.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.
- Ajouter le tampon **W4** et répéter les étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Ajouter le tampon **W5** et répéter les mêmes étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Sécher le fond du tube avec un écouvillon Lemoine ou une pipette munie d'une pointe neuve (il ne doit plus rien rester dans le fond du tube), puis jeter l'écouvillon ou la pointe.
- Laisser sécher à l'air libre pendant 5min, tube **B2** ouvert.
- A l'aide d'une pipette de 3,5mL ou d'une pipette munie d'une nouvelle pointe, ajouter le tampon **E6** et homogénéiser. Attendre 1 minute.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** du tube **B2** sans toucher les billes.

## Analyse

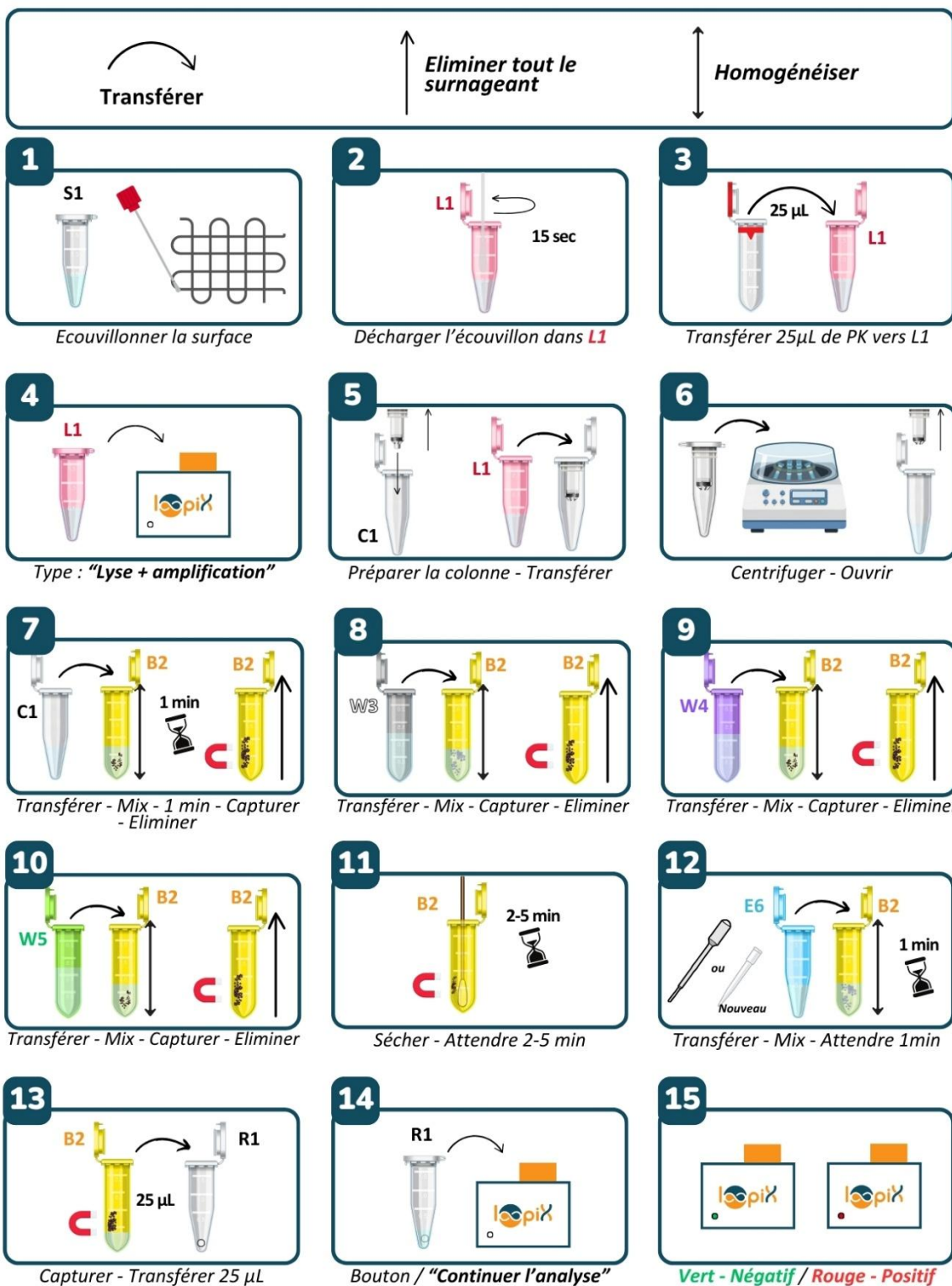
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

## Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## SWA\_09

Ecouvillonnage de surface / PK Lyse LoopiX® / Centrifugation / Purification manuelle PFS+



### Echantillonnage

- Humidifier l'écouvillon avec le tampon **S1**.
- Réaliser le prélèvement de surface à l'aide de l'écouvillon.
- Plonger la tête de l'écouvillon dans le tube **L1** et libérer le contenu du prélèvement en effectuant des mouvements de rotation et de va-et-vient pendant 15 secondes, puis presser l'écouvillon contre la paroi du tube pour en extraire le liquide.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.

- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

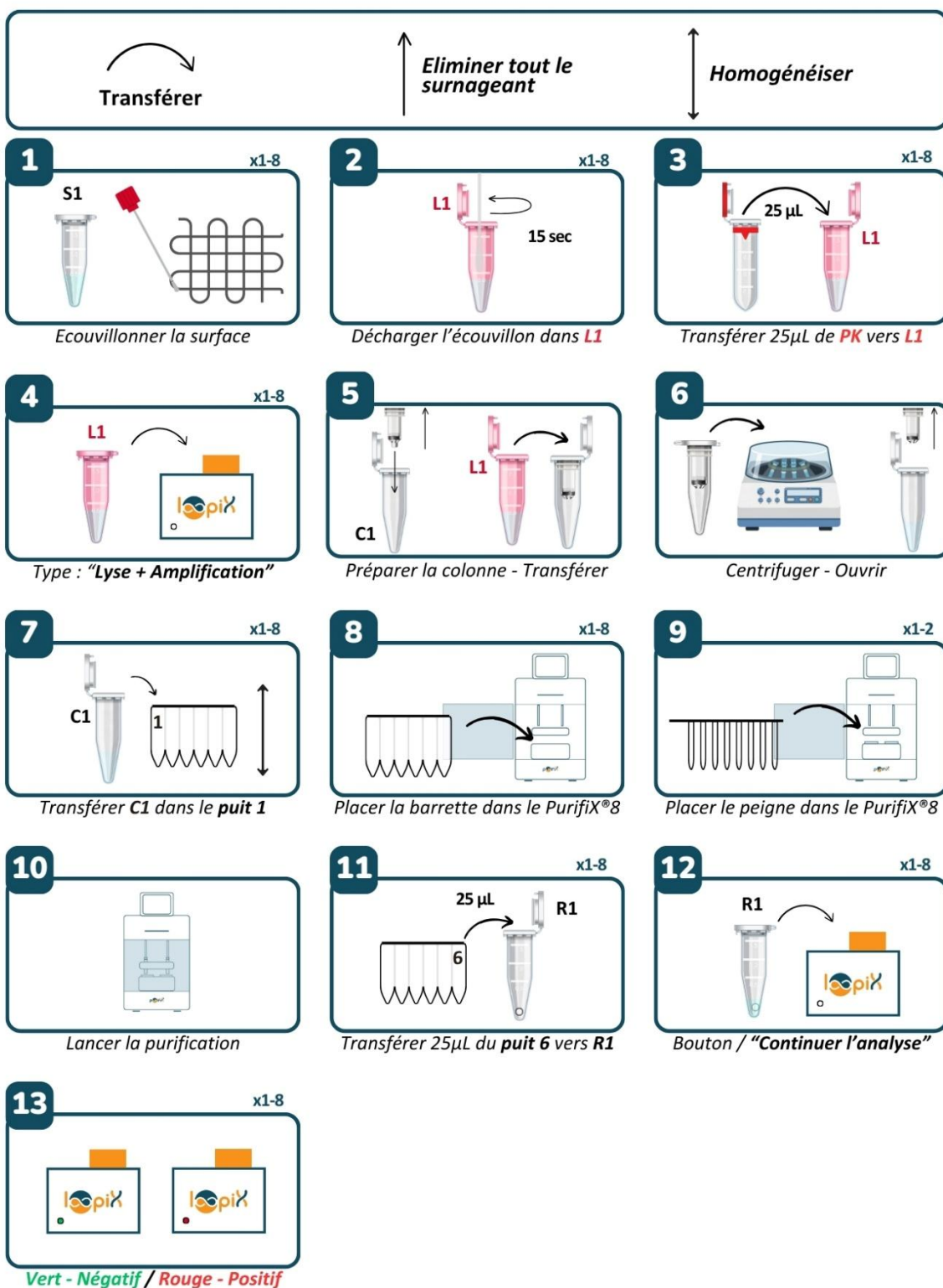
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## SWA\_10

Ecouvillonnage de surface / PK Lyse LoopiX® / Centrifugation / PurifiX®8



### Echantillonnage

- Humidifier l'écouvillon avec le tampon **S1**.
- Réaliser le prélèvement de surface à l'aide de l'écouvillon.
- Plonger la tête de l'écouvillon dans le tube **L1** et libérer le contenu du prélèvement en effectuant des mouvements de rotation et de va-et-vient pendant 15 secondes, puis presser l'écouvillon contre la paroi du tube pour en extraire le liquide.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.
- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.

- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

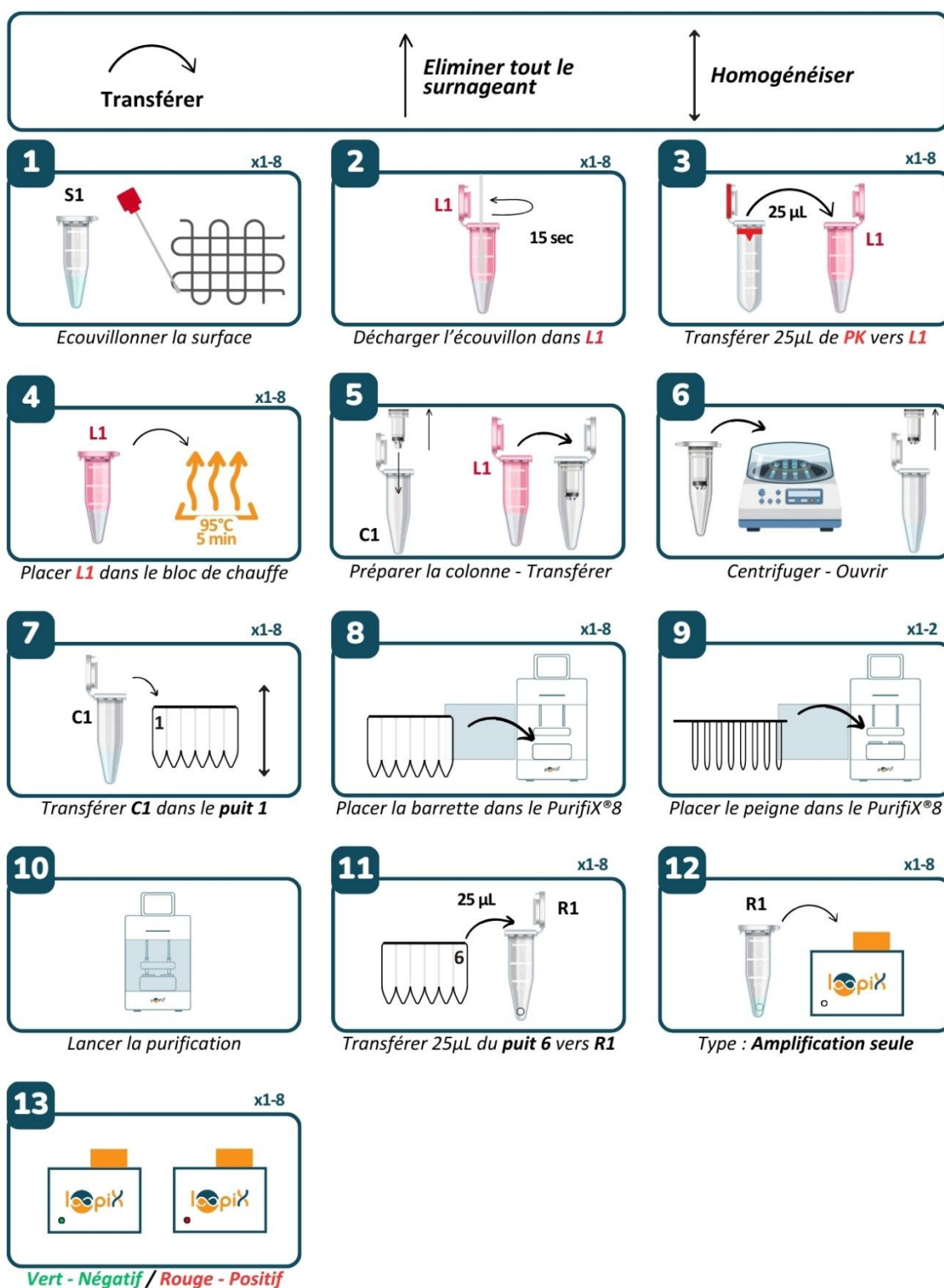
### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

# SWA\_11 Ecouvillonnage de surface / PK Bloc de chauffe / Centrifugation / PurifiX®8



### Echantillonnage

- Humidifier l'écouvillon avec le tampon **S1**.
- Réaliser le prélèvement de surface à l'aide de l'écouvillon.
- Plonger la tête de l'écouvillon dans le tube **L1** et libérer le contenu du prélèvement en effectuant des mouvements de rotation et de va-et-vient pendant 15 secondes, puis presser l'écouvillon contre la paroi du tube pour en extraire le liquide.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.

### Purification avec le PurifiX® 10

- Transférer le lysat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 10 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification dans le PurifiX® 10.

- Placer le peigne dans le rail en veillant à le pousser jusqu'au bout.
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le peigne et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 7** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

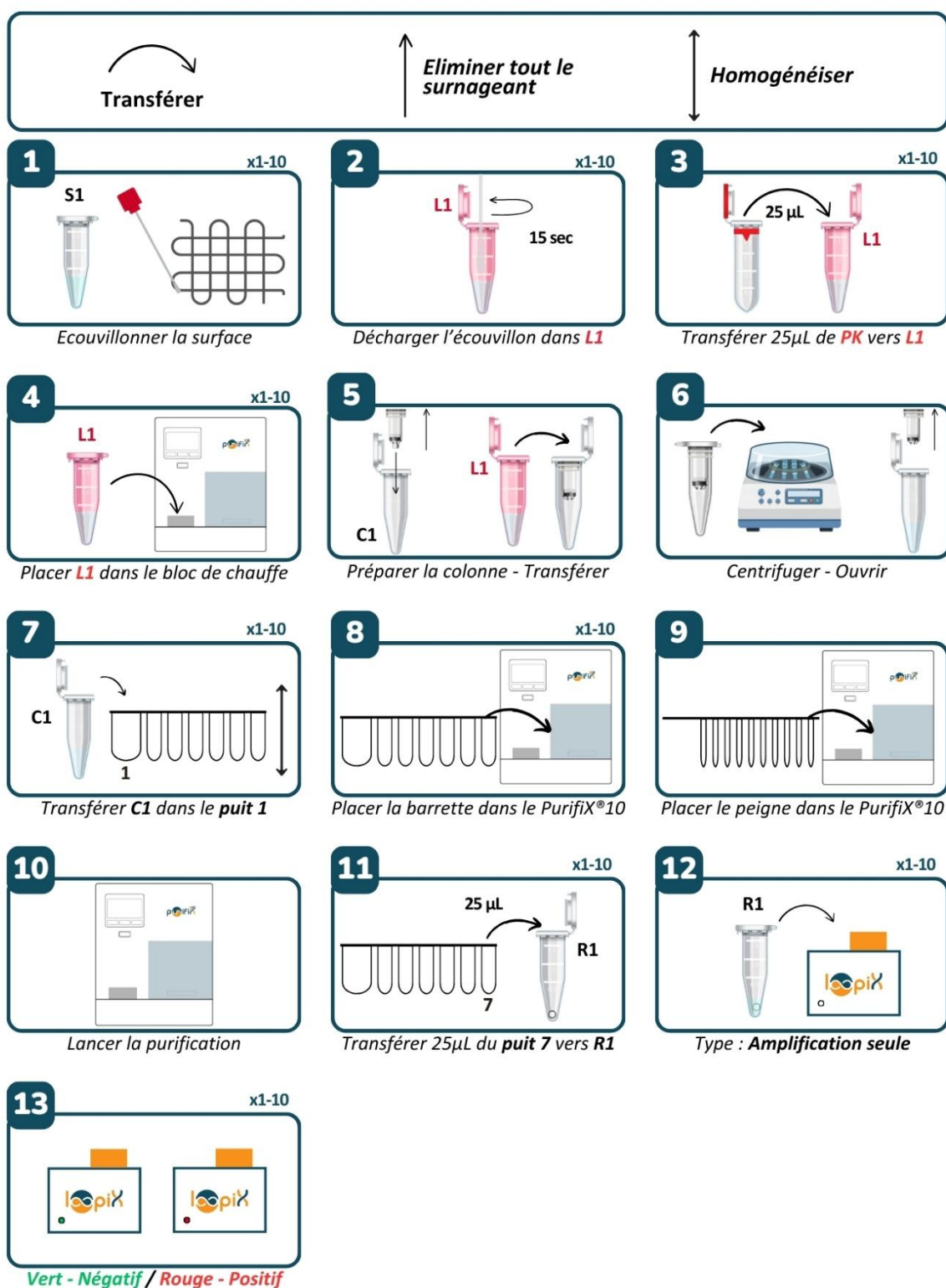
### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## SWA\_12 Ecouvillonnage de surface / PK / Centrifugation / PurifiX®10



### Echantillonnage

- Préparer l'échantillon à analyser selon les normes applicables ou les procédures internes de l'entreprise (enrichissement ou revivification si nécessaire), en privilégiant l'usage de sacs à filtre pour retenir les éléments solides.
- Homogénéiser l'échantillon, puis déposer **200 µL** dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.

### Purification avec le kit PFS+

- Transférer le filtrat vers le tube **B2** avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Homogénéiser avec 15 aspirations-refoulements, en vérifiant que les billes sont bien réparties sans amas.
- Attendre 1 minute puis placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.

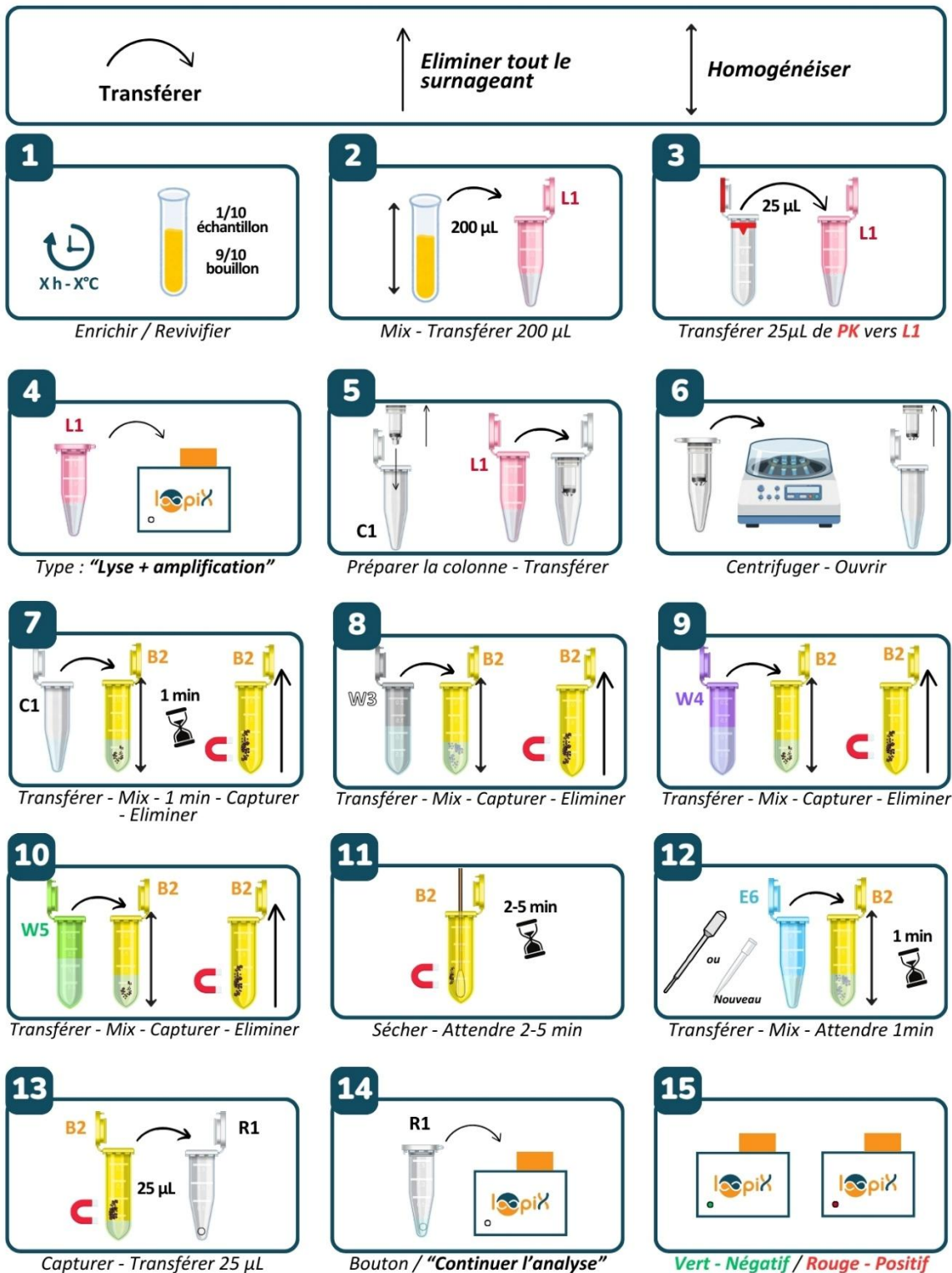
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.
- Ajouter le tampon **W3** et homogénéiser à nouveau.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.
- Ajouter le tampon **W4** et répéter les étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Ajouter le tampon **W5** et répéter les mêmes étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Sécher le fond du tube avec un écouvillon Lemoine ou une pipette munie d'une pointe neuve (il ne doit plus rien rester dans le fond du tube), puis jeter l'écouvillon ou la pointe.
- Laisser sécher à l'air libre pendant 5min, tube **B2** ouvert.
- A l'aide d'une pipette de 3,5mL ou d'une pipette munie d'une nouvelle pointe, ajouter le tampon **E6** et homogénéiser. Attendre 1 minute.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** du tube **B2** sans toucher les billes.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.



### Echantillonnage

- Préparer l'échantillon à analyser selon les normes applicables ou les procédures internes de l'entreprise (enrichissement ou revivification si nécessaire), en privilégiant l'usage de sacs à filtre pour retenir les éléments solides.
- Homogénéiser l'échantillon, puis déposer **200 µL** dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.
- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.

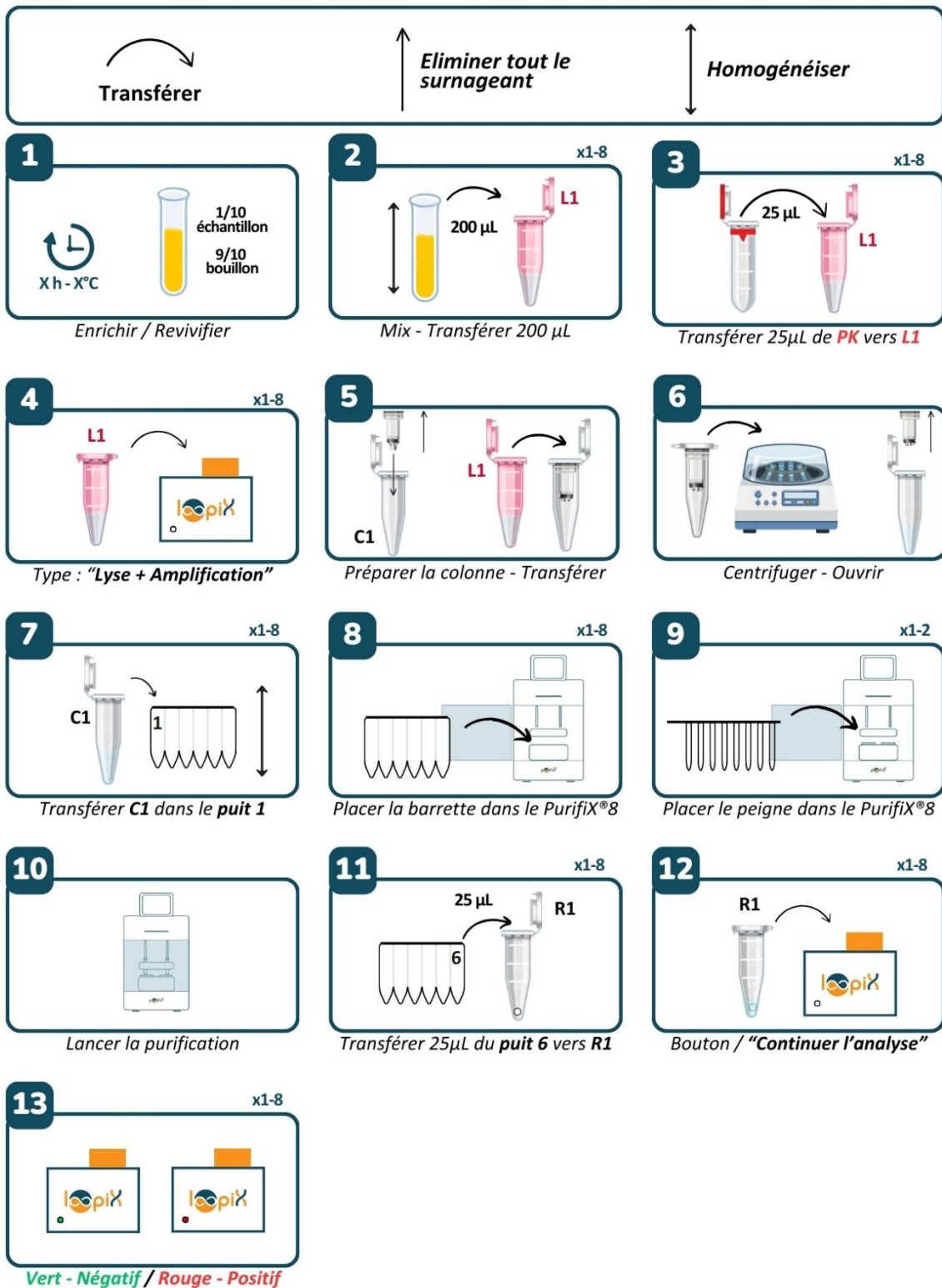
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.



### Echantillonnage

- Préparer l'échantillon à analyser selon les normes applicables ou les procédures internes de l'entreprise (enrichissement ou revivification si nécessaire), en privilégiant l'usage de sacs à filtre pour retenir les éléments solides.
- Homogénéiser l'échantillon, puis déposer **200 µL** dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.
- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.

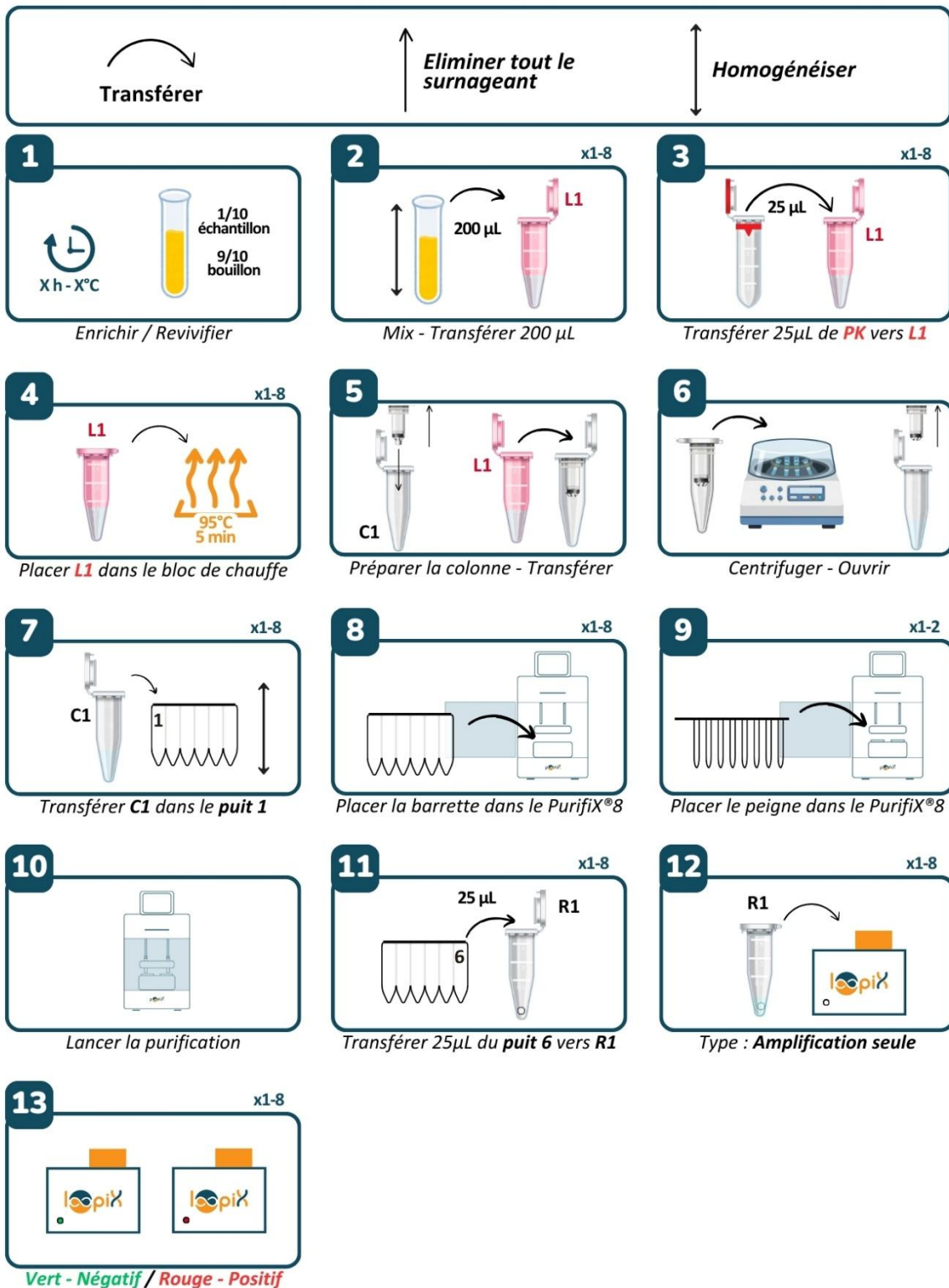
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.



## MIL\_12 - Echantillon en milieu / PK / Centrifugation / PurifiX®10

### Echantillonnage

- Préparer l'échantillon à analyser selon les normes applicables ou les procédures internes de l'entreprise (enrichissement ou revivification si nécessaire), en privilégiant l'usage de sacs à filtre pour retenir les éléments solides.
- Homogénéiser l'échantillon, puis déposer **200 µL** dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 10

- Transférer le lysat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 10 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification dans le PurifiX® 10.
- Placer le peigne dans le rail en veillant à le pousser jusqu'au bout.

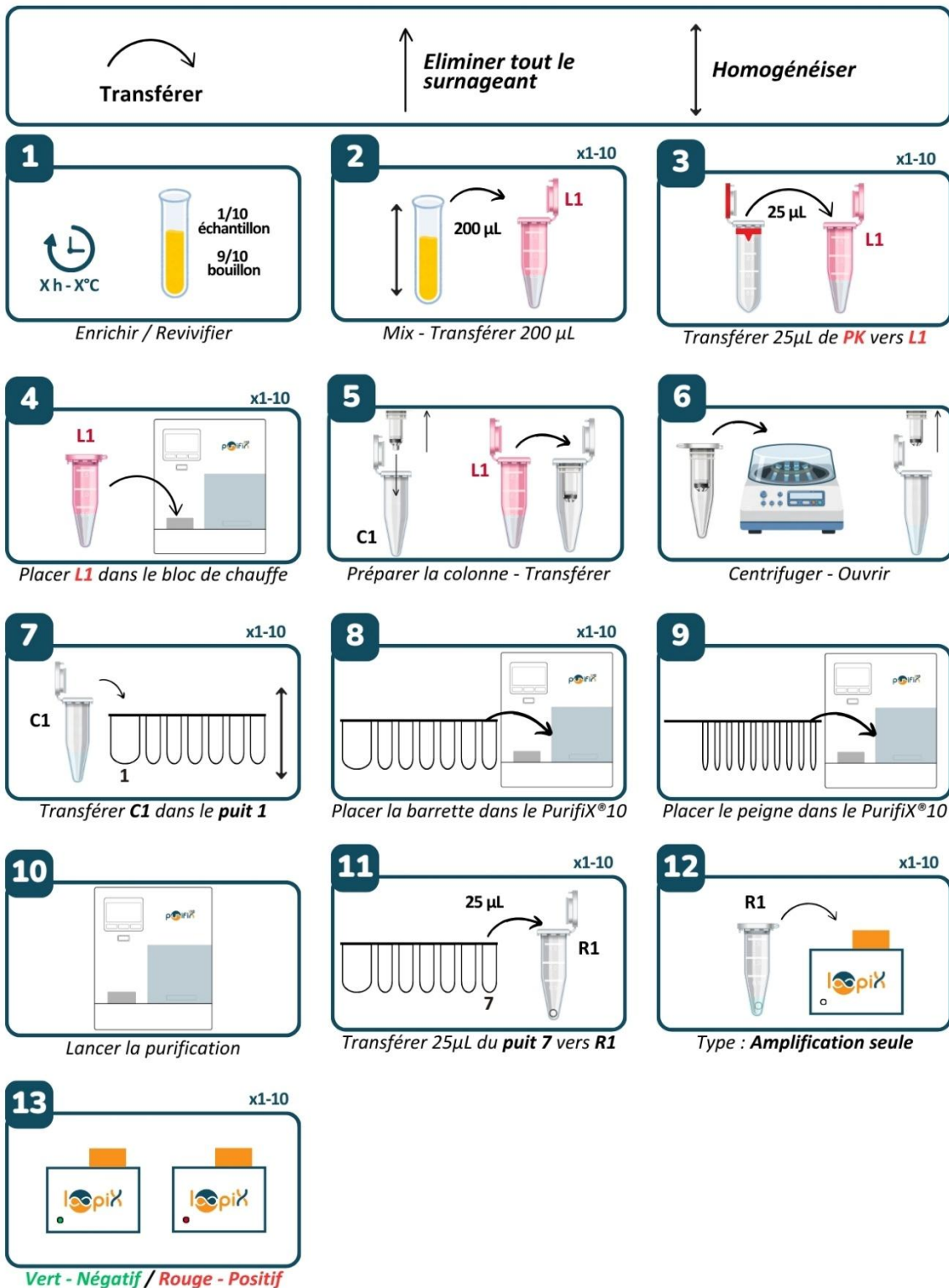
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le peigne et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 7** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.



## COL\_09 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Centrifugation / Purification manuelle PFS+

### Echantillonnage

- A l'aide d'une oese, prélever une colonie et la remettre en suspension dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Remplacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le kit PFS+

- Transférer le filtrat vers le tube **B2** avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Homogénéiser avec 15 aspirations-refoulements, en vérifiant que les billes sont bien réparties sans amas.
- Attendre 1 minute puis placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.

- Ajouter le tampon **W3** et homogénéiser à nouveau.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- Eliminer le surnageant sans toucher les billes, **B2** restant sur le portoir.
- Ajouter le tampon **W4** et répéter les étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Ajouter le tampon **W5** et répéter les mêmes étapes d'homogénéisation, de capture des billes et d'élimination du surnageant.
- Sécher le fond du tube avec un écouvillon Lemoine ou une pipette munie d'une **pointe neuve** (il ne doit plus rien rester dans le fond du tube), puis jeter l'écouvillon ou la pointe.
- Laisser sécher à l'air libre pendant 5min, tube **B2** ouvert.
- A l'aide d'une pipette de 3,5mL ou d'une pipette munie d'une nouvelle pointe, ajouter le tampon **E6** et homogénéiser. Attendre 1 minute.
- Placer le tube **B2** sur le portoir magnétique pour capturer les billes.
- A l'aide d'une pipette munie d'une **pointe neuve**, prélever **25 µL** du tube **B2** sans toucher les billes.

### Analyse

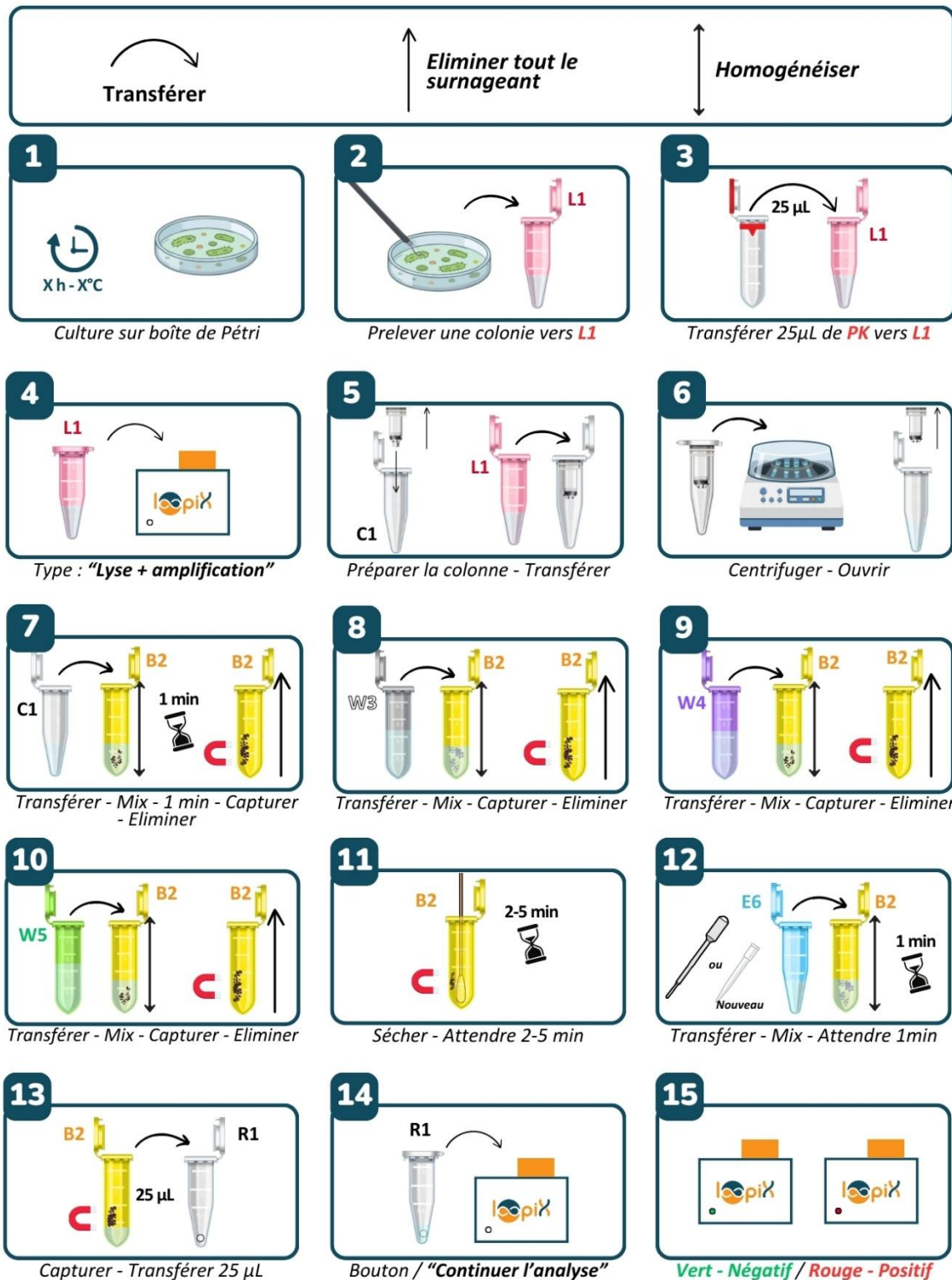
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## COL\_09

Colonie issue de culture sur boîte de Pétri / PK Lyse LoopiX® /  
Centrifugation / Purification manuelle PFS+



## COL\_10 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Lyse LoopiX® / Centrifugation / PurifiX®8

### Echantillonnage

- A l'aide d'une oese, prélever une colonie et la remettre en suspension dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK liquide** dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le LoopiX®.
- À l'aide de l'interface de pilotage, lancer une analyse de type « **PK et amplification** ». Le voyant clignote en rouge pendant toute la durée de la lyse.
- A la fin de la lyse, le voyant clignote en bleu. Sortir le tube **L1** du LoopiX®.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Remplacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.
- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.

- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

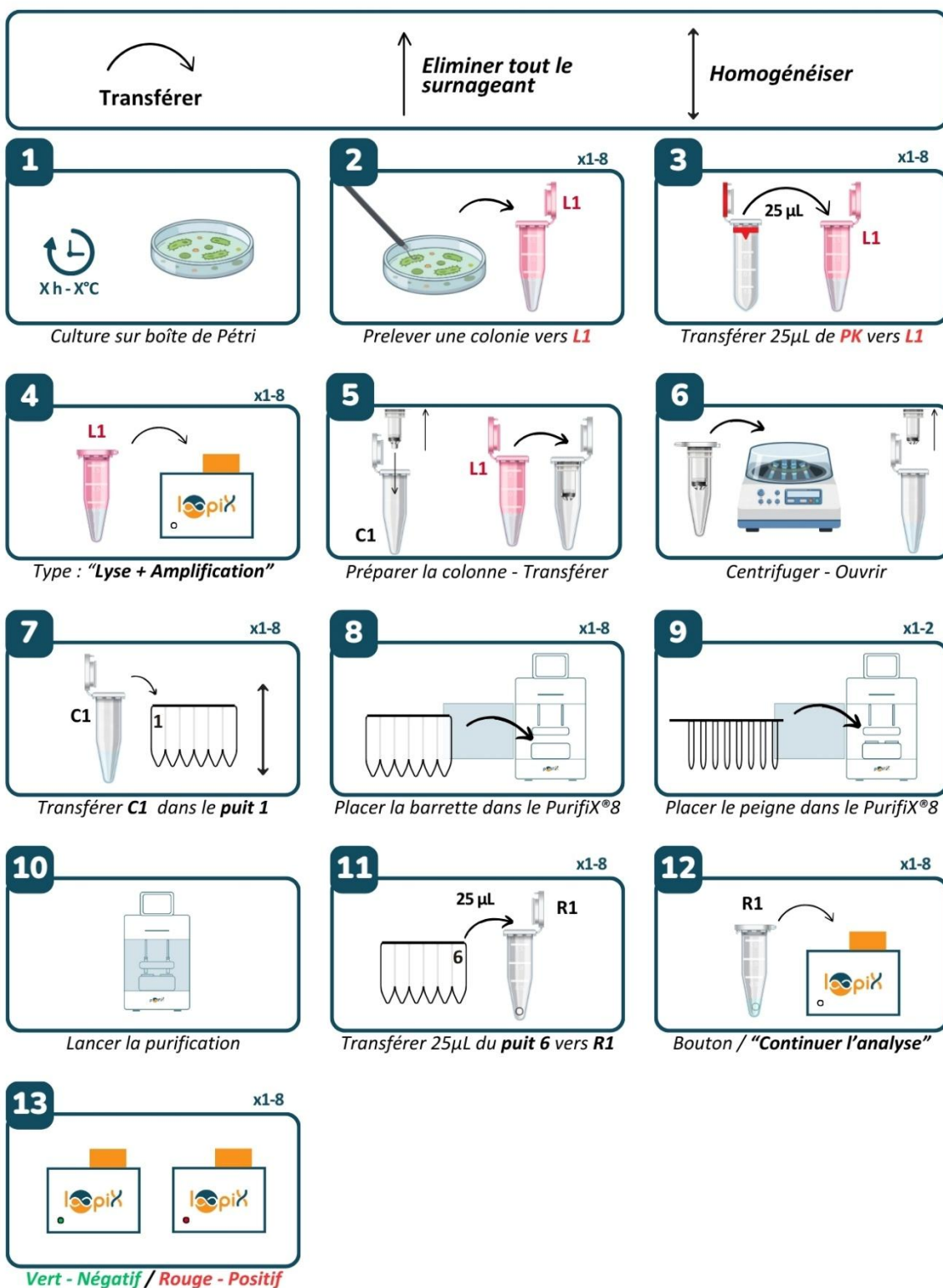
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## COL\_10

Colonie issue de culture sur boîte de Pétri / PK Lyse LoopiX® /  
Centrifugation / PurifiX®8



## COL\_11 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Bloc de chauffe / Centrifugation / PurifiX®8

### Echantillonnage

- A l'aide d'une oese, prélever une colonie et la remettre en suspension dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 8

- Transférer le filtrat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 8 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification sur le support dans le PurifiX® 8.
- Placer le(s) peigne(s) dans l'appareil en veillant à le(s) pousser jusqu'au bout.
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le(s) peigne(s) et sortir la barrette de purification.

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 6** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

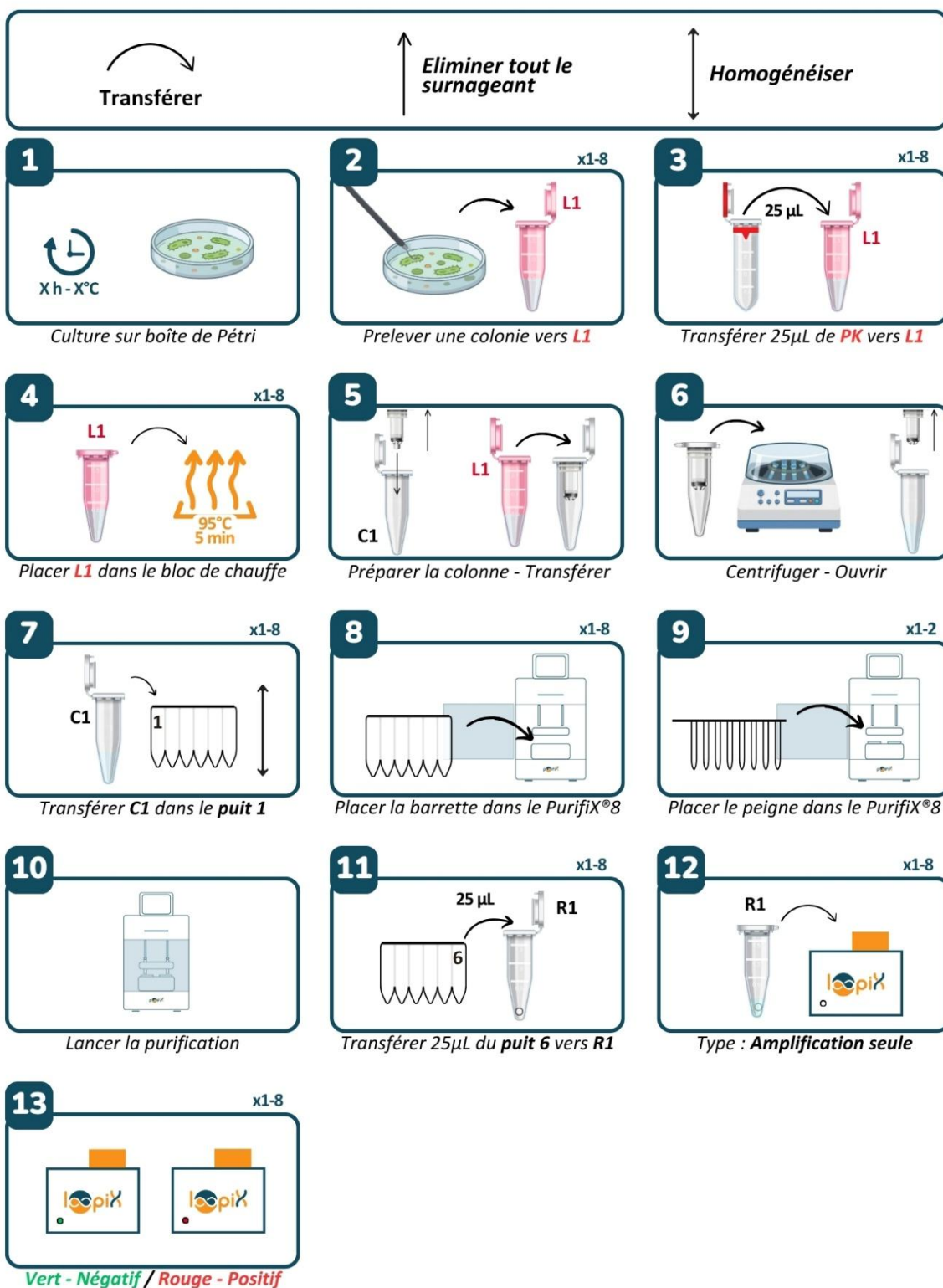
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## COL\_11

Colonie issue de culture sur boîte de Pétri / PK Bloc de chauffe /  
Centrifugation / PurifiX®8



## COL\_12 - Colonie issue de culture en boîte de Pétri / PK / Centrifugation / PurifiX®10

### Echantillonnage

- A l'aide d'une oese, prélever une colonie et la remettre en suspension dans le tube de lyse **L1**.

### Lyse

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, transférer **25µL** de **PK** liquide dans le tube **L1** et homogénéiser par aspirations-refoulements.
- Fermer le tube **L1** et le placer dans le bloc de chauffe préchauffé à **65°C**.
- Programmer un minuteur pour **10 minutes**.
- A la fin de la lyse, sortir le tube **L1** du bloc de chauffe et attendre 2 minutes qu'il refroidisse.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert 6mL, prélever l'intégralité du tube **L1**.

### Centrifugation

- Pendant la lyse, préparer la colonne de séparation :
  - Prendre une colonne de séparation et séparer la colonne du tube collecteur **C1**.
  - Retirer le bouchon de fermeture de la colonne.
  - Replacer la colonne dans le tube collecteur.
- Transférer l'intégralité du prélèvement du tube **L1** dans la colonne de séparation.
- Fermer la colonne et la placer dans la centrifugeuse. Equilibrer la centrifugeuse.
- Lancer la centrifugation à 2500 xg (maximum 6000 xg) pendant 2 minutes.

**NB :** Le couple temps/ vitesse peut être défini spécifiquement selon le modèle de centrifugeuse, indiquer ci-dessous les données communiquées :

| Vitesse | Durée |
|---------|-------|
|         |       |

- Après la centrifugation, retirer la colonne de séparation de son tube collecteur **C1**. Jeter la colonne.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, ou d'une pipette poire neuve de 6mL, prélever l'intégralité du filtrat se trouvant dans le tube **C1**.

**Si un culot s'est formé dans le fond du tube **C1**, veiller à ne prélever que le surnageant.**

### Purification avec le PurifiX® 10

- Transférer le lysat vers le **puits 1** de la barrette du PurifiX® 10 avec une pipette de 6mL ou d'une pipette munie d'une pointe.
- Placer la barrette de purification dans le PurifiX® 10.
- Placer le peigne dans le rail en veillant à le pousser jusqu'au bout.
- Fermer le capot de l'appareil et lancer la recette à l'aide de l'interface de pilotage.
- En fin de purification, jeter le peigne et sortir la barrette de purification.

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe neuve, prélever **25 µL** dans le **puits 7** de la barrette et poursuivre avec l'analyse.

### Analyse

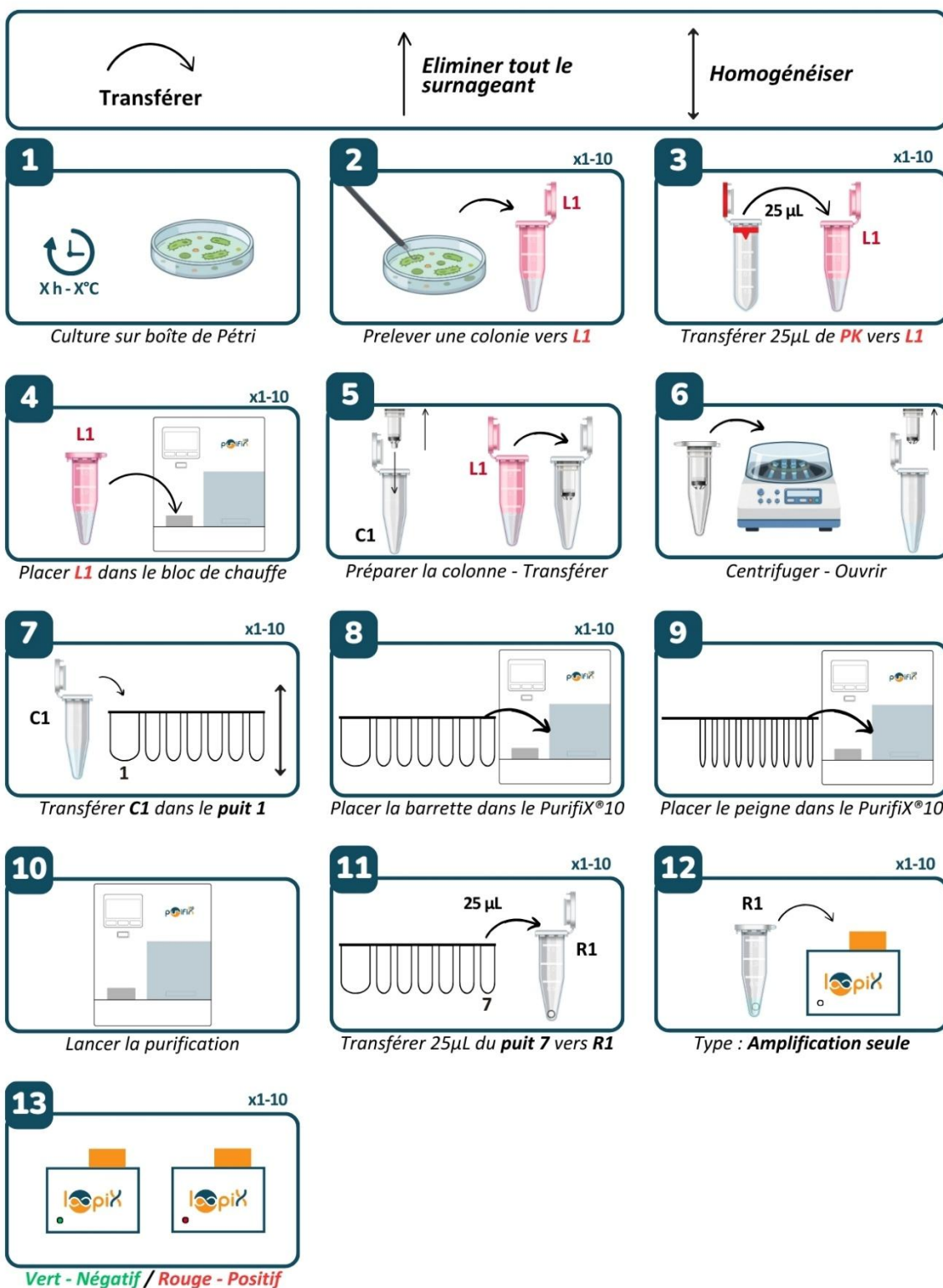
- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## COL\_12

Colonie issue de culture sur boîte de Pétri / PK / Centrifugation / PurifiX®10



## NEG\_01 – Contrôle négatif

### Préparation

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe, prélever **25µL** du tube **S1**.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## POS\_01 – Contrôle positif

### Matériel

**Attention** : Il est nécessaire d'utiliser le témoin positif spécifique du kit LoopDeetect à contrôler :

| Désignation du témoin positif                 | Contenu du kit                                                             | Kit LoopDeetect associé                      |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| LoopDeetect<br><i>Salmonella spp.</i> +       | - 1 témoin positif (tube jaune / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Salmonella spp.</i>        |
| LoopDeetect<br><i>Listeria</i> +              | - 1 témoin positif (tube jaune / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Listeria monocytogenes</i> |
|                                               |                                                                            | LoopDeetect<br><i>Listeria spp.</i>          |
| LoopDeetect<br><i>Escherichia coli</i> +      | - 1 témoin positif (tube jaune / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Escherichia coli</i>       |
| LoopDeetect<br><i>Enterococcus faecalis</i> + | - 1 témoin positif (tube jaune / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Enterococcus faecalis</i>  |

- Ouvrir le sachet contenant le témoin positif **T+** (**tube jaune**). Vérifier la présence de la pastille (coloration bleue dans le fond du tube).

### Préparation

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe, prélever **50µL** du tube **S1**.
- Transférer le prélèvement dans le tube **T+** de la cible, sur la pastille bleue.
- Homogénéiser par une série d'aspirations-refoulements.
- A l'aide de la pipette, prélever **25µL** du tube **T+**.

### Analyse

- Transférer les **25 µL** vers le tube de réaction **R1**.
- Fermer le tube **R1** en appuyant avec le doigt jusqu'à entendre un « clic » indiquant une fermeture correcte, puis le placer dans le LoopiX®.
- Démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton en façade du LoopiX® ou via l'interface de contrôle.
- À la fin de l'analyse, lire le résultat directement sur la LED de statut et sur l'interface de contrôle :
  - **Diode rouge** : échantillon positif
  - **Diode verte** : échantillon négatif

### Fin d'analyse

- Jeter et ne JAMAIS ouvrir le tube de réaction **R1**.
- Jeter l'intégralité des consommables utilisés pour l'analyse.
  - A l'aide d'une solution à base d'alcool et d'un tissu absorbant, nettoyer l'environnement de manipulation, les outils (pipettes, supports, ...), les appareils (LoopiX®, PurifiX®, ...)
- Réaliser un cycle de stérilisation UV de 30 minutes, pour les appareils intégrant cette fonctionnalité.

## INH\_01 – Contrôle d'inhibition

Ce protocole permet de contrôler la compatibilité de la matrice avec la méthode LoopDeetect, le principe consiste à ajouter la cible sur l'échantillon après purification afin de confirmer que l'amplification est conforme et que l'échantillon ne contient pas de substances inhibitrices qui n'aurait pas été éliminées par l'étape de purification.

**Ce protocole est uniquement réalisable avec les purifications kits fournis par Loop Dee Science.**

### Matériel

**Attention** : Il est nécessaire d'utiliser le témoin positif spécifique du kit LoopDeetect à contrôler :

| Désignation du témoin positif        | Contenu du kit                                                                     | Kit LoopDeetect associé                   |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| LoopDeetect <i>Salmonella</i> spp. + | - 1 témoin positif ( <b>tube jaune</b> / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect <i>Salmonella</i> spp.        |
| LoopDeetect <i>Listeria</i> +        | - 1 témoin positif ( <b>tube jaune</b> / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect <i>Listeria monocytogenes</i> |
|                                      |                                                                                    | LoopDeetect <i>Listeria</i> spp.          |

|                                               |                                                                                    |                                             |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| LoopDeetect<br><i>Escherichia coli</i> +      | - 1 témoin positif ( <b>tube jaune</b> / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Escherichia coli</i>      |
| LoopDeetect<br><i>Enterococcus faecalis</i> + | - 1 témoin positif ( <b>tube jaune</b> / sachet rouge)<br>- 1 tube de reprise (S1) | LoopDeetect<br><i>Enterococcus faecalis</i> |

- Ouvrir le sachet contenant le témoin positif **T+** (**tube jaune**). Vérifier la présence de la pastille (coloration bleue dans le fond du tube).

#### Echantillonnage

- Réaliser l'étape **d'échantillonnage** selon le protocole de la méthode utilisée.

#### Lyse

- Réaliser l'étape de **lyse** selon le protocole de la méthode utilisée.

#### Centrifugation

- Réaliser l'étape de **centrifugation** selon le protocole de la méthode utilisée.
- Si la méthode utilisée ne réalise pas de centrifugation, passer cette étape.

#### Purification

- Réaliser l'étape de **purification** selon le protocole de la méthode utilisée.

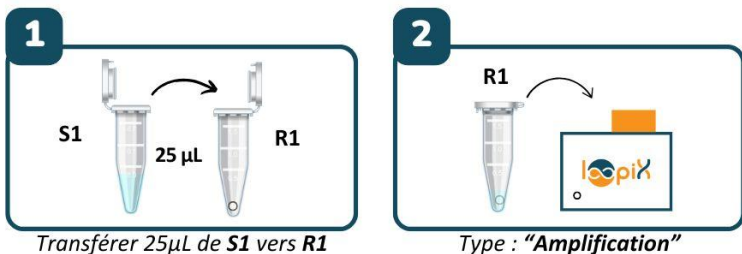
#### En fin de purification :

- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe ou d'une pipette de transfert, prélever l'intégralité de l'échantillon purifié.
- Transférer le prélèvement dans le tube **T+** de la cible, sur la pastille bleue.
- Homogénéiser par une série d'aspirations-refoulements.
- A l'aide d'une pipette munie d'une pointe, prélever **25µL** dans le tube **T+** de la cible.

## TEM\_01 Contrôles - Négatif / Positif / Inhibition

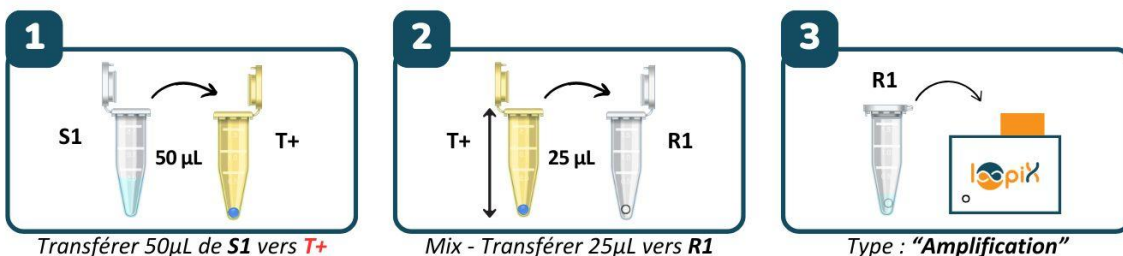


### Contrôle négatif



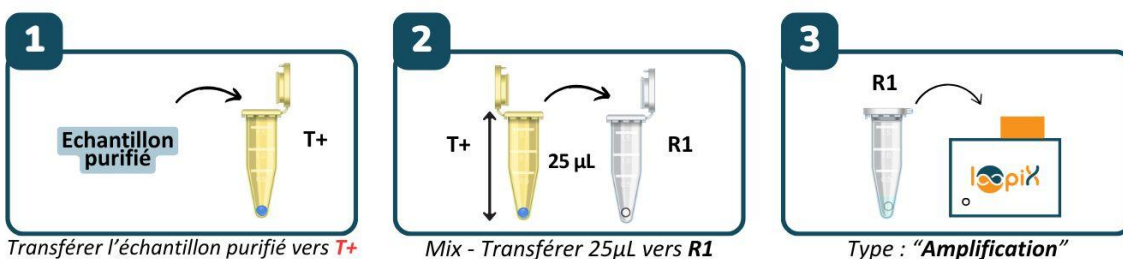
LE RÉSULTAT DOIT ÊTRE VERT - NEGATIF

### Contrôle positif



LE RÉSULTAT DOIT ÊTRE ROUGE - POSITIF

### Contrôle d'inhibition



LE RÉSULTAT DOIT ÊTRE ROUGE - POSITIF

## Historique du document / Suivi des versions

| Révision   | Quand   | Commentaires                                                                                                                                                                                             |
|------------|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1.0</b> | Jan-23  | Révision publique initiale                                                                                                                                                                               |
| <b>2.0</b> | Juin-23 | Modification des modes opératoires ; corrections orthographiques                                                                                                                                         |
| <b>2.1</b> | Nov-23  | Modification des références et conditionnement - modification du mode opératoire.                                                                                                                        |
| <b>2.2</b> | Mai-24  | Modification des liens<br>Ajout LoopiX Cloud                                                                                                                                                             |
| <b>2.3</b> | Juin-24 | Changement nomenclature tube : C devient S<br>Modification des protocoles.                                                                                                                               |
| <b>3.0</b> | Oct-24  | Fusion de toutes les notices des kits de la gamme Food safety<br>Modification des protocoles<br>Modification des nomenclatures de tubes                                                                  |
| <b>4.0</b> | Dec-24  | Fusion des notices des kits Loopdeetect SAL, LMO et LIS suite à l'intégration du MgSo4<br>Modification des protocoles<br>Modification des nomenclatures de tubes                                         |
| <b>5.0</b> | Mars-25 | Intégration des protocoles pour analyses ECO et EFA<br>Intégration du protocole PFS+                                                                                                                     |
| <b>6.0</b> | Juin-25 | Révision complète des protocoles<br>Révision complète des logigrammes<br>Corrections                                                                                                                     |
| <b>7.0</b> | Nov-25  | Mise à jour des protocoles suite à l'amélioration du kit <i>E. coli</i><br>Mise à jour des protocoles logigrammes suite à l'amélioration du kit <i>E. coli</i>                                           |
| <b>8.0</b> | Mar-26  | Mise à jour des protocoles<br>Division de la notice globale en version selon spécificités (PK, centrifugeuse, ...)<br>Mise à jour du nom des protocoles et des schémas.<br>Division protocoles et notice |
| <b>8.1</b> | Juin-26 | Correction schémas<br>Correction textes PFX10 - Purification                                                                                                                                             |