

## Instruction de l'étape

## Remarques, précautions

1. Allumez les appareils.



2. Numérotez les échantillons (1–8) et les placez sur le support.

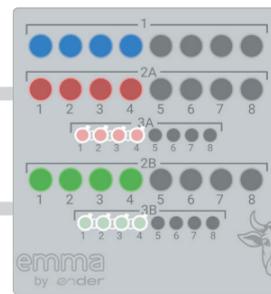


3. Lancez le logiciel « Real-time PCR system » et saisissez les données nécessaires pour l'expérience.



La longueur du champ pour le nom de l'échantillon est limitée à 35 caractères et les caractères spéciaux ne sont pas permis

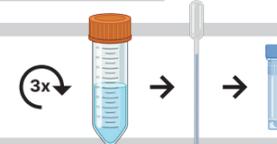
4. Préparez le nombre requis de **tubes 1**, numérotez-les et placez-les sur le bloc réfrigérant.



5. Préparez le nombre requis de tubes des composants **2A** et **2B** et placez-les sur le bloc réfrigérant.

6. Préparez le nombre requis de tubes des bandes des composants **3A** et **3B** et placez-les sur le bloc réfrigérant.

7. Inversez l'échantillon 3 fois, prélevez ~0.5 ml µl de l'échantillon dans le **tube 1** avec une nouvelle pipette Pasteur.



8. Homogénéisez les échantillons (40s, à 4350xg), puis replacez-les sur le bloc réfrigérant.



9. Prélevez 10 µl de l'échantillon du **tube 1** et ajoutez-les directement dans le tube **2A**. Mélangez en pipettant (haut-bas, au moins 20x) pour obtenir une solution homogène.

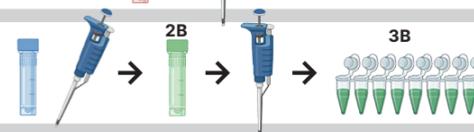


Prélevez le volume de la phase entre la graisse (à la surface du liquide) et les billes.

10. Avec la même pointe, prélevez 10 µl de ce mélange et ajoutez-les au tube **3A** sans mélanger. Fermer le couvercle du tube.



11. Répétez ces étapes avec une **nouvelle pointe de pipette** pour les composants **2B** et **3B** pour le même échantillon.



12. Répétez les étapes 9 à 11 avec **une nouvelle pointe** de pipette pour **chaque autre échantillon**.

13. Tapez doucement les bandes sur la table et vérifiez que tout le liquide est bien au fond du tube.

Vérifiez que les couvercles soient bien fermés. **IMPORTANT** : Cette étape assure que l'échantillon soit bien mélangé avec les réactifs.

14. Placez les bandes des composants **3A** et **3B** dans le thermocycleur, en suivant les marqueurs de couleur. Puis pressez le couvercle de l'appareil pour le fermer jusqu'à ce qu'il clique en place.



**ATTENTION** : L'ouverture des tubes est toujours orientée vers l'avant (voir l'image). Placez les tubes de gauche à droite.

15. Retournez à l'ordinateur portable et démarrez le programme. A la fin de l'expérience, le fichier est exporté automatiquement.

START

16. Quand l'appareil a terminé les mesures, ouvrez le logiciel d'analyse dans un navigateur internet à l'adresse [pqr.emma.vet](http://pqr.emma.vet) et identifiez-vous.

17. Importez le fichier de l'expérience depuis le dossier « lis » (du menu d'accès rapide, Quick Access) et cliquez sur « Importer et évaluer ».

18. Exportez ou imprimez les résultats selon votre besoin. Si le résultat de l'échantillon est « Invalide », il doit être à nouveau testé. Procédez ainsi, ajoutez 10µl de l'échantillon homogénéisé du tube 1 au composant 4 du kit, « Magic tube ». Ensuite retournez le tube 4 afin que l'échantillon se mélange bien. Continuez avec le tube 4 comme décrit à l'étape 9 et jusqu'à la fin du présent protocole.

19. Éteignez les appareils, rangez et nettoyez la place de travail.