

PROMILAIT VACHE

Nouvelle version

**TEST RAPIDE DE DETECTION MICROBIOLOGIQUE
SUR LAITS UHT ET PRODUITS LAITIERS**

VERSION MICROPLAQUE – ANALYSEUR PROMILITE III – LOGICIEL PROSCREEN

Test destiné à mettre en évidence sélectivement la présence d'ATP microbien dans une large gamme de produits laitiers de vache, incluant les laits aromatisés, supplémentés, infantiles, les crèmes et desserts.

<u>Composition des coffrets</u>	Réf. PR317-748128	4800 tests
1-Proase-ESA réactif – lyophilisat étiquette et bouchon rouges (destruction de l'ATP non microbien)		24 flacons
2-Proase-JB diluant / 11.2 mL étiquette et bouchon rouges		24 flacons
3-Promex-DCW réactif / 250 mL étiquette et bouchon verts – prêt à l'emploi (□ libération de l'ATP microbien)		1 flacon
4-Prolux-ISA réactif – lyophilisat étiquette et bouchon jaunes (= luciférine / luciférase)		24 flacons
5-Prolux-S diluant / 11.2 mL étiquette et bouchon jaunes		24 flacons
6-Microplaques 96 puits		50
7-Coffret « Cleaning » (nettoyage du système d'injection)		1
8-Cônes pipette 200 µL sans ATP / 10 x 96		5

Durée de vie : 18 mois après fabrication, en respectant le stockage à 4 +/-1°C
(transport possible à T° ambiante).

Reconstitution des réactifs - Conservation

Ouvrir tous les flacons avec précautions afin d'éviter toute contamination par l'ATP des mains



1- Proase : 1 flacon de diluant JB pour reconstituer 1 flacon de Proase ESA
Stable 7 jours à +4°C – ne pas congeler

2- Prolux : 1 flacon de diluant S pour reconstituer 1 flacon de Prolux ISA
Stable 7 jours à +4°C – ne pas congeler.

**Jeter le bouchon en caoutchouc, Agiter très doucement. Dater sur le flacon.
Attendre 20 minutes à T° labo avant utilisation**

Précautions d'emploi

- Avant d'effectuer les tests quotidiens, vérifier les performances des réactifs et du lecteur (cf.§ Contrôle qualité)
- Utiliser les réactifs seulement après retour à température comprise entre 18 et 23°C (réactifs froids = résultats faibles non conformes)
- Utiliser des cônes « sans ATP »
- Eviter de travailler sous lumière intense ou UV (fluorescence rémanente de certains plastiques).

Réf. Document : FT Promilait Vache New V1
Date de création : 10/2018
Date de révision :
Motif de la révision : Nouveaux réactifs

Préparation de l'échantillon

La période optimale d'incubation est définie par l'utilisateur selon le produit et les critères internes.


Exemples : à 28/32° : Laits blancs = 24 à 48 h – Laits chocolatés = 72 à 96 h

Agiter énergiquement l'emballage avant le prélèvement.

Procédure du test


1-Mise en route de l'analyseur

- Relier l'analyseur
 - * à l'alimentation électrique (cordon d'alimentation)
 - * à l'ordinateur incluant le logiciel Proscreen (câble USB ou RS232)
- Allumer l'analyseur (interrupteur face arrière, au-dessus de l'alimentation électrique)
- Ouvrir le logiciel Proscreen (raccourci sur le bureau de l'ordinateur)

- Sélectionner Promilite Visualisation Promilite : l'analyseur est automatiquement connecté
-  Témoin vert et message CONNECTE
- (Si témoin rouge – l'analyseur a été allumé après le logiciel – cliquer sur INITIALISER)
- Sélectionner les 3 injecteurs en cliquant sur la case correspondante - Sélectionner

Démarrage : suivre les indications en positionnant 1 flacon par injecteur – 2 mL par cycle

Amorçage :

- * positionner
 - en 1 **ROUGE** = Proase étiquette **ROUGE**
 - en 2 **JAUNE** = Prolux étiquette **JAUNE**
 - en 3 **VERT** = Promex étiquette **VERTE**
- * mise à jour : Le volume du flacon reste en mémoire
Le volume de réactif restant est affiché
Entrer le volume ajouté et cliquer sur AJOUTER puis MISE A JOUR
A faire pour chaque réactif concerné
- * cliquer sur AMORCAGE : les injecteurs fonctionnent – 50 µL x 20
les boutons témoins de la colonne Amorcé passent de **rouge** à **vert** 

2-Contrôles qualité

A réaliser en début de session

- But* Cette procédure vérifie la conformité des 3 fonctions basiques de l'analyse
- Bruit de fond de l'instrument :
Il doit toujours être < **100 RLU** pour valider l'étanchéité du système à la lumière.
 - Blanc réactif : Il doit être < **200 RLU** et valide que les réactifs et le système d'injection ne sont pas contaminés.
 - Contrôle positif : > **1000 RLU** il confirme que l'instrument et les réactifs fonctionnent bien.
Ces validations garantissent l'exactitude de l'interprétation de la mesure des échantillons.

Choix du programme

- Nouvelle plaque - Id
- Protocole : System test
- Technicien

Test

- Pipeter dans une microplaque neuve un lait positif (lait cru) : 50 µL en E1 et F1
- Placer la microplaque dans l'instrument et lancer la lecture

Résultats

- les puits A1 et B1 vérifient le bruit de fonds
- les puits C1 et D1 vérifient la non contamination de Promex et Prolux
- les puits E1 et F1 vérifient la performance de Promex et Prolux

Si les résultats sont satisfaisants, ils sont affichés en vert.

Si ce n'est pas le cas, un message indique l'erreur. Voir les causes possibles dans le document spécifique.

3-Analyse

1- Distribution des échantillons

- Pipeter **50 µL** dans le premier puits disponible de la microplaque ex : A1, puis répéter pour les échantillons suivants en B1, C1, D1... en suivant une colonne.

NOTE : *Il est possible d'associer sur une même plaque des produits différents, appartenant au même groupe ou de groupes différents, à condition que leur protocole soit commun.*

- Sur l'ordinateur choisir Promilite-Visualisation-Ouvrir porte
- Placer la microplaque dans l'analyseur et fermer la porte

2- Programmation (possible avant ou après la distribution des échantillons)

- Sélectionner l'analyse à réaliser par l'intermédiaire du logiciel Proscreen :

* Nouvelle plaque

* Renseigner les rubriques :

ZONE 1 ID plaque (Identification interne ou suivant pour date et incrémentation automatiques)

Protocole : sélectionner UHT / ESL

Technicien

N° lot kit

ZONE 2 Groupe ex Laits

Produit ex Lait blanc

ZONE 3 Schéma de la microplaque :

* Positionner les échantillons : clic gauche, dessiner les puits utilisés

* Clic droit : choisir Attribuer produit

* Puis identifier chaque puits / alphanumérique sans limite

- Enregistrer si utilisation ultérieure

- En cours si la microplaque est déjà prête à tester

3- Test par l'automate

- * injection de 50 µL de Proase-ESA dans chaque puits échantillon - incubation 15 minutes
- avec 3 agitations

* injection de 50 µL de Promex-DCW dans le 1^{er} puits

* après 5 secondes, injection de 50 µL de Prolux-ISA

* mesure du signal et affichage du résultat en RLU

* cette opération est répétée pour tous les puits.

Interprétation du test

Elle est réalisée automatiquement par le logiciel PROSCREEN.

Les valeurs RLU de chaque puits sont affichées sur l'écran au fur et à mesure de la lecture et la couleur de la case visualise l'interprétation.

Une valeur « **RLU CONTROLE** » a été préalablement définie par produit en mesurant comme ci-dessus un certain nombre d'échantillons connus stériles.

Cette valeur est la base permettant de fixer les limites de l'interprétation :

- Si **RLU échantillon** est **< ou = 2 « RLU CONTROLE »** l'échantillon est **CONFORME**

- Si **RLU échantillon** est **> 2 « RLU CONTROLE »**

mais < 3 « RLU CONTROLE » l'échantillon est **SUSPECT**

A retester après prolongation de l'incubation.

- Si **RLU échantillon** est **= ou > 3 « RLU CONTROLE »** l'échantillon est **NON CONFORME**

Les résultats de la lecture sont automatiquement stockés dans la base de données.

Pour enregistrer au format Excel : Aller dans Visualisation / Plaques

Sélectionner la plaque

Exporter / Formaté par 1 feuille.

Arrêt du PROMILITE III

Sur Proscreen :

Promilite / Visualisation Promilite

Sélectionner les injecteurs à nettoyer

Cliquer sur Fermeture et suivre les indications, en vérifiant que le niveau des réactifs de chaque flacon est suffisant.

En fin des 2 cycles, laisser les tubulures dans le Proclean et éteindre le luminomètre.