



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 tests

Pour la détection qualitative de séquences d'ADN sur les puces *VisionArray*

4250380M008PY



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
conformément à l'IVDR (UE) 2017/746

1. Utilisation prévue

Le *VisionArray Detection Kit* a été conçu pour être utilisé avec le *VisionArray PreCise Master Mix* et *VisionArray DNA Chip* correspondante pour la détection qualitative de séquences d'ADN spécifiques. L'analyse automatisée doit être effectuée à l'aide du *VisionArray Analysis Package*.

Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement. Tous les tests utilisant le produit doivent être réalisés dans un laboratoire d'anatomie pathologique certifié et agréé, sous la supervision d'un médecin pathologiste/généticien, par du personnel qualifié.

2. Principe du test

Les fragments d'ADN avec une séquence spécifique sont détectés à partir d'un mélange de fragments d'ADN sur une puce de verre à l'aide de séquences de capture d'ADN immobilisées par hybridation ADN/ADN. Pour ce système de détection, des échantillons d'ADN provenant de tissus ou de cellules fixés au formol et inclus en paraffine peuvent être utilisés comme matériel de départ. Dans un premier temps, les séquences cibles de ces échantillons doivent être amplifiées et biotinylées par PCR. L'hybridation entre les séquences amplifiées et les séquences complémentaires de capture d'ADN est ensuite réalisée. Après l'hybridation, l'ADN non spécifiquement lié est éliminé par des étapes de lavages stringentes et courtes. Les séquences biotinylées spécifiquement liées sont marquées secondairement avec un conjugué streptavidine-peroxydase et visualisées par coloration à la tétraméthylbenzidine (TMB).

3. Réactifs fournis

Les composants suivants sont inclus:

Code	Composants	Montant	Conteneur
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Cuve à réaction, couvercle rouge
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Flacon avec bouchon à visser (grand)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Flacon avec bouchon à visser (petit)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Flacon avec bouchon à visser (petit), brun
	Mode d'emploi	1	

La solution d'hybridation, la solution de détection et la solution de tache bleue sont suffisantes pour 50 réactions. Le tampon de lavage 100x est suffisant pour 50 tests avec 6 pots de coloration de 70 ml chacun.

4. Matériel requis mais non fourni

Réactifs:

- Produit PCR créé avec *VisionArray PreCise Master Mix*
- Eau déionisée ou distillée

Équipement:

- *VisionArray SingleScan Software* (E-4301) or *VisionArray MultiScan Software* (E-4302)
- *VisionArray DNA Chips*
- Hybridateur ou four d'hybridation avec chambre d'humidité
- Centrifugeuse à glissière
- Bocaux de coloration, 50-80 ml
- Pipettes

5. Stockage et manipulation

Les composants du kit doivent être conservés à 2...8°C en position verticale. Conserver la solution Blue Spot à l'abri de la lumière. Si ces conditions de stockage sont respectées, le produit fonctionnera, sans perte de performance, au moins jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette.

Remettre dans les conditions de stockage immédiatement après utilisation. Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption indiquée sur l'étiquette. Le produit est stable jusqu'à sa date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est utilisé dans les bonnes conditions.

6. Avertissements et précautions

- Lire les instructions avant utilisation !
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption !
- Veuillez vérifier que l'emballage est intact avant d'utiliser le produit. N'utilisez pas le produit si l'emballage est endommagé.
- Signaler tout incident grave survenu en rapport avec le produit au fabricant et à l'autorité compétente, conformément à la réglementation locale!
- Certains des composants du set contiennent des substances (en faibles concentrations et volumes) qui sont nocives pour la santé. Évitez tout contact direct avec les réactifs. Prenez les mesures de protection appropriées (utilisez des gants jetables, des lunettes de protection et des vêtements de laboratoire) !
- Si les réactifs entrent en contact avec la peau, rincer immédiatement avec beaucoup d'eau.
- Une fiche signalétique de sécurité à l'usage de l'utilisateur professionnel est disponible sur demande.
- Ne pas réutiliser les réactifs, sauf si la réutilisation est explicitement autorisée!
- Éviter la contamination croisée des échantillons car cela peut entraîner des résultats erronés.
- Pour éviter les contaminations, il est nécessaire de séparer les étapes de travail avec et sans ADN et d'utiliser des espaces de travail propres pour la préparation du mélange maître PCR.
- Les puces doivent être utilisées dans un environnement exempt de poussière. Évitez la contamination de la surface de la puce par de la poussière ou d'autres particules !

- Évitez le contact direct de la zone où se fait l'hybridation sur la surface de la puce!
- Seul le côté étiqueté de la lame peut être utilisé pour l'hybridation.

Mentions de danger et conseils de prudence pour HY-0001:

Le composant déterminant le danger est le formamide.



Danger

H351	Susceptible de provoquer le cancer.
H360FD	Peut nuire à la fertilité. Peut nuire au fœtus.
H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.
P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
P202	Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
P260	Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols.
P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/une protection auditive.
P308+P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: Demander un avis médical/Consulter un médecin.
P405	Garder sous clef.

Mentions de danger et conseils de prudence pour AB-0016 et WB-0012:

Le composant déterminant le danger est une masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazolin-3-one et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).



Avertissement

H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
P261	Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols.
P272	Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail.
P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.
P333+P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Demander un avis médical/Consulter un médecin.
P362+P364	Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

7. Restrictions

- Destiné à une utilisation en diagnostic *in vitro*.
- Destiné à un usage professionnel uniquement.
- Pour une utilisation non automatisée uniquement.
- L'interprétation des résultats doit être faite par un pathologiste qualifié en tenant compte de l'historique clinique du patient, et des données cliniques et pathologiques supplémentaires.
- Les composants du kit sont parfaitement adaptés les uns aux autres et la substitution d'un ou plusieurs composants peut entraîner des erreurs de performance.
- Il est important d'utiliser les quantités indiquées des composants afin d'éviter d'altérer le processus de réaction.
- La décongélation et la congélation répétées des échantillons d'ADN peuvent altérer la réaction de détection.
- Ne pas travailler sous flux laminaire pendant la procédure d'essai, car cela pourrait fausser les résultats.

- Les performances ont été validées en utilisant les procédures décrites dans ce mode d'emploi. Des modifications de ces procédures peuvent altérer les performances et doivent être validées par l'utilisateur. Ce produit IVD est uniquement certifié CE lorsqu'il est utilisé comme décrit dans ce mode d'emploi dans le cadre de l'utilisation prévue.

8. Substances interférentes

- Faible efficacité de la PCR en raison de la présence d'inhibiteurs de la PCR dans le matériel de départ, échantillon d'ADN (par exemple, le sang).
- Des concentrations élevées d'EDTA dans les tampons d'éluion d'ADN peuvent entraîner une inhibition de la PCR. N'utiliser que les quantités d'ADN recommandées.
- Utilisation d'additifs pendant la réaction de PCR qui pourraient influencer l'hybridation (par ex. DMSO, bêtaïne, urée).

9. Préparation des échantillons

Le matériel de départ de ce système de détection est constitué de séquences d'ADN qui ont été amplifiées et biotinylées à l'aide d'un VisionArray PreCise Master Mix.

10. Traitement préparatoire du produit

- Préparation du 1x Wash Buffer: Diluer 1 partie de tampon 100x Wash Buffer avec 99 parties d'eau déionisée ou distillée (dans un récipient fermé, le tampon de 1x Wash Buffer dilué est stable pendant un mois à température ambiante (18...22°C)
- Amener la Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution, et 1x Wash Buffer à température ambiante (18...22°C). Les précipités éventuels dans la solution d'hybridation doivent être résolus par un bref chauffage (max. 37°C).
- Chauffer l'hybrideur ou le four d'hybridation à 42°C avant de l'utiliser.

11. Protocole

- 1 Retirez le couvercle de protection des cadres bleus du champ de stockage.
- 2 Préparation du mélange d'hybridation:

20 µl	Solution d'hybridation
+	10 µl de produit PCR
	30 µl de mélange d'hybridation (suffisant pour une puce)

Mélanger soigneusement le mélange d'hybridation en pipettant de haut en bas.
- 3 Pipeter soigneusement 30 µl du mélange d'hybridation sur le côté gauche du champ de l'array (avec l'étiquette à droite) en évitant de piéger des bulles d'air. Enduire l'ensemble du champ de l'array en couvrant soigneusement le champ de l'array de gauche à droite avec le couvercle en plastique fourni.
- 4 Transférer rapidement la puce dans l'hybrideur préchauffé ou dans le four d'hybridation avec chambre d'humidité et incubé 30 minutes à 42°C (+/- 1°C).

Note : Cette étape doit être effectuée pour chaque réseau l'un après l'autre, jamais en parallèle. Des écarts de plus de 1°C doivent être évités. Il est conseillé d'utiliser un thermomètre calibré.

- 5 Préparer entre-temps 3 pots de coloration avec 1x Wash Buffer.
- 6 Une fois le temps d'incubation écoulé, sortir la puce de l'incubateur et retirer le couvercle avec précaution. Égoutter soigneusement le mélange d'hybridation sur un papier absorbant et laver immédiatement la lame dans du tampon de lavage 1x. Pour ce faire, agiter doucement la lame 3 fois dans les deux sens dans le premier pot de coloration. Répéter cette procédure de lavage dans le deuxième bocal de coloration. Ensuite, transférer la puce dans le troisième bocal de coloration, agiter 3 fois et incubé pendant 1 minute.

Note : Ne pas utiliser plus de 6 lames par pot de coloration. Les lames non manipulées doivent rester à la température d'hybridation. L'exposition à la température ambiante doit être aussi courte que possible.

- Retirer la puce du pot de coloration, l'égoutter brièvement sur un tissu et la sécher par centrifugation dans la centrifugeuse pour diapositives pendant 15 à 30 secondes.

Note : L'utilisation d'une centrifugeuse pour lames est absolument obligatoire afin d'éviter que des gouttelettes ne soient laissées sur la matrice.

- Pipettez 100 µl de solution de détection avec précaution sur le champ d'array sec sans toucher la surface. Le champ de l'array doit être couvert uniformément et les bulles d'air doivent être éliminées.
- Incuber pendant 10 minutes sur une surface plane à température ambiante (18...22°C).
- Pendant ce temps, préparer 3 pots de coloration avec 1x Wash Buffer.
- Après incubation, laver et sécher comme décrit aux étapes 6 et 7. Conserver le pot de coloration utilisé en dernier lieu pour l'étape 13.
- Appliquer soigneusement 100 µl de Blue Spot Solution sur l'ensemble du champ du réseau et incuber pendant 5 minutes à température ambiante (18...22°C). Le développement de la couleur peut être observé par inspection visuelle. Dans le cas d'une coloration rapide et intense, l'incubation peut être interrompue plus tôt.

Remarque : la solution de tache bleue doit être conservée et incubée dans l'obscurité.

- Laver la Blue Spot Solution sur la puce, dans le pot de coloration 1x Wash Buffer de l'étape 10, pendant environ 15 secondes.
- Egouttez brièvement la puce sur un papier absorbant et séchez-la par centrifugation dans la centrifugeuse pour diapositives pendant 30 secondes.

Les puces sont maintenant prêtes à être analysées avec le [VisionArray Software](#).

12. Interprétation des résultats

12.1 Note générale

Grâce à la puce à ADN *VisionArray*, il est possible de déterminer la présence ou l'absence de séquences d'ADN spécifiques. L'intensité des signaux est influencée par la fréquence des séquences cibles dans l'échantillon ainsi que par d'autres facteurs du système de détection. Il n'est pas possible d'utiliser les valeurs absolues de l'intensité du signal pour déterminer la concentration d'ADN.

12.2 Évaluation

Après avoir suivi ce protocole, la puce peut être évaluée. Les signaux positifs sont visibles sur la lame sous forme de zones circulaires bleu foncé. L'évaluation automatisée de la puce est réalisée à l'aide du [VisionArray Software](#) correspondant.

12.3 Évaluation par logiciel

L'évaluation automatisée des résultats est effectuée par le [VisionArray Software](#) correspondant. Un manuel complet pour l'analyse des puces est joint au logiciel.

13. Procédures de contrôle qualité recommandées

Afin de contrôler le bon fonctionnement des échantillons traités et des réactifs de test, chaque essai doit être accompagné d'échantillons de contrôle positifs et négatifs externes validés. Si les contrôles internes et/ou externes ne démontrent pas une coloration appropriée, les résultats obtenus avec des échantillons de patients doivent être considérés comme non valables.

14. Caractéristiques de performances

Veuillez vous référer aux caractéristiques de performance de la [VisionArray DNA Chip](#) correspondante.

15. Élimination

L'élimination des réactifs doit être effectuée conformément à la réglementation locale.

16. Assistance

Tout écart par rapport aux instructions d'utilisation peut entraîner une altération de la réaction de détection de la séquence cible.

Problème	Cause possible	Action
Pas de signal	Température incorrecte	Vérifier la température d'hybridation
	Réactifs périmés	Vérifier les réactifs
Uniquement des points de repère et aucun autre signal	Problèmes avec le produit de la PCR (PCR pas assez efficace ou matrice d'ADN dégradée)	Vérifier l'efficacité de la PCR à l'aide d'un contrôle positif ; Vérifier les produits chimiques PCR et le programme du thermocycleur ; Vérifier le produit PCR dans un gel d'agarose
	Mauvaise matière première	Contrôler les matières premières
	Mauvaise combinaison de puce et d'échantillon	Vérifier la combinaison échantillon/puce
Uniquement des points de repère et le contrôle PCR, mais pas d'autres signaux	Absence de séquence cible	Utiliser un contrôle positif
Uniquement des points de guidage et des signaux spécifiques, mais pas de contrôle positif	Échantillon dégradé	Nouvelle extraction d'ADN ; conserver à -16...-22°C
Trop d'arrière-plan	Temps d'incubation de la solution de détection ou de la solution pour taches bleues trop long ; température trop élevée pendant l'incubation	Vérifier le temps d'incubation et la température de la solution de détection et de la solution de tache bleue.
	Diapositives mal séchées	Vérifier l'étape de séchage
Signaux forts et fuyants	Temps d'incubation de la solution de détection ou de la solution de tache bleue trop long ou température trop élevée	Ajustement progressif de la durée et de la température d'incubation de la solution de détection et de la solution de tache bleue
Signaux faibles	Température d'hybridation incorrecte	Vérifier la température
	Temps d'hybridation trop court	Prolonger le temps d'hybridation jusqu'à un maximum de 30 minutes.
	Temps d'incubation de la solution de détection ou de la solution pour taches bleues trop court	Prolonger le temps d'incubation de la solution de détection et de la solution de tache bleue
	Faible amplification de la PCR/mauvaise qualité de la matrice d'ADN	Vérifier la matrice d'ADN
Signaux d'hybridation croisée, signaux faussement positifs	Contamination des produits chimiques ou du produit de la PCR	Remplacer les produits chimiques PCR utilisés
	Contamination lors de la préparation de la PCR ou du mélange d'hybridation	Éviter le transfert de l'échantillon pendant la préparation du mélange
	Température d'hybridation trop basse	Vérifier la température d'hybridation
	Plusieurs puces incubées trop longtemps dans le même tampon de lavage	Exécution rapide des étapes de lavage
Un seul signal au lieu de deux	Élimination mécanique du second signal, par exemple en raison du contact avec la pointe de la pipette	Éviter le contact direct avec le champ de la matrice
	Couverture irrégulière du champ de la matrice en raison de bulles d'air	Appliquer des solutions sans bulles d'air
	Signaux faibles autour du seuil (1 au-dessus et 1 au-dessous)	Répéter la PCR et la détection en tenant compte des conditions requises dans le manuel

17. Revision

Revision	Description du changement
2.1.1	6. Avertissements et précautions Ajout d'une note pour vérifier l'intégrité de l'emballage



www.zytovision.com

Veillez consulter le site www.zytovision.com obtenir le mode d'emploi le plus récent ainsi que des instructions d'utilisation dans différentes langues.

Nos experts sont disponibles pour répondre à vos questions.
Merci de nous contacter à helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Allemagne
Téléphone : +49 471 4832-300
Fax : +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Courriel : info@zytovision.com

Marques déposées :

ZytoVision® et VisionArray® sont des marques déposées de ZytoVision GmbH.