



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 ensayos

Para la detección cualitativa de secuencias de ADN en los chips VisionArray

4250380M008PY



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
conforme al Reglamento (UE) 2017/746 (IVDR)

1. Uso previsto

El producto VisionArray Detection Kit se ha desarrollado para utilizarse con VisionArray PreCise Master Mix y el producto VisionArray DNA Chip correspondiente para la detección cualitativa de secuencias de ADN específicas. El análisis automatizado debe realizarse con VisionArray Software.

El producto es para uso exclusivo profesional. Todas las pruebas que utilicen este producto debe llevarlas a cabo personal cualificado, bajo la supervisión de un anatomopatólogo/genetista humano, en un laboratorio de anatomía patológica certificado y autorizado.

2. Principio del ensayo

Se detectan fragmentos de ADN con una secuencia específica a partir de un conjunto de fragmentos de ADN en un chip de vidrio con la ayuda de secuencias de captura de ADN inmovilizadas mediante hibridación de ADN/ADN. Para este sistema de detección, como materia prima se pueden usar muestras de ADN de muestras de células o tejido fijadas en formol e incluidas en parafina. Como primer paso, se deben amplificar y biotinilar las secuencias objetivo de estas muestras mediante PCR. Posteriormente, se realiza la hibridación entre las secuencias amplificadas y las capturas de ADN complementarias. Después de la hibridación, el ADN unido de forma inespecífica se elimina mediante etapas de lavado cortas y rigurosas. Luego, las secuencias biotiniladas unidas específicamente se marcan de forma secundaria con un conjugado de estreptavidina-peroxidasa y se visualizan mediante una tinción con tetrametilbencidina (TMB).

3. Reactivos suministrados

Se incluyen los siguientes componentes:

Código	Componentes	Cantidad	Envase
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Recipiente de reacción, tapa roja
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Frasco con tapón de rosca (grande)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Frasco con tapón de rosca (pequeño)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Frasco con tapón de rosca (pequeño), marrón
	Instrucciones de uso	1	

La Hybridization Solution, la Detection Solution y la Blue Spot Solution se suministran con una cantidad suficiente para 50 reacciones. El 100x Wash Buffer se suministra con una cantidad suficiente para 50 ensayos con 6 cubetas de tinción de 70 ml cada una.

4. Material necesario no suministrado

Reactivos:

- Producto de PCR creado con VisionArray PreCise Master Mix
- Agua desionizada o destilada

Equipo:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) o VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Hibridador u horno de hibridación con cámara húmeda
- Centrífuga para portaobjetos
- Cubetas de tinción, 50-80 ml
- Pipetas

5. Almacenamiento y manipulación

Los componentes del kit deben almacenarse entre 2 y 8 °C en posición vertical. Almacenar la Blue Spot Solution protegida de la luz. Si se cumplen estas condiciones, el kit funcionará, sin pérdida de rendimiento, al menos hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Volver a guardar de inmediato en las condiciones indicadas tras su uso. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El producto es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se manipula debidamente.

6. Advertencias y precauciones

- Leer las instrucciones del producto antes del uso.
- No utilizar los chips después de la fecha de caducidad.
- Comprobar que el embalaje esté intacto antes de utilizar el producto; no utilizarlo si el embalaje está dañado.
- Notificar cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto al fabricante y a la autoridad competente, de conformidad con la normativa local.
- Si los reactivos entran en contacto con la piel, lavar inmediatamente con agua abundante.
- La ficha de datos de seguridad para el usuario profesional está disponible previa solicitud.
- No reutilizar los productos, a menos que se permita expresamente su reutilización.
- Evitar la contaminación cruzada de las muestras, ya que esto puede generar resultados erróneos.
- Para evitar contaminaciones es necesaria una separación de salas de los pasos de trabajo con y sin ADN, así como el uso de bancos limpios para la preparación de la mezcla maestra de PCR.
- Utilizar los chips en un entorno sin polvo. Evitar la contaminación de la superficie del chip con polvo u otras partículas.
- Evitar el contacto directo con el campo de matriz de la superficie del chip.
- Solo puede utilizarse el lado con etiqueta del portaobjetos para la hibridación.

Indicaciones de peligro y consejos de prudencia para HY-0001:

El componente que determina el peligro es la formamida.

**Peligro**

H351	Se sospecha que provoca cáncer.
H360FD	Puede perjudicar a la fertilidad. Puede dañar al feto.
H373	Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.
P201	Solicitar instrucciones especiales antes del uso.
P202	No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.
P260	No respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P308+P313	EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico.
P405	Guardar bajo llave.

Indicaciones de peligro y consejos de prudencia para AB-0016 y WB-0012:

El componente que determina el peligro es una masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

**Atención**

H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P272	Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua..
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364	Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

7. Limitaciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional.
- Únicamente para uso no automatizado.
- Los resultados deben ser interpretados por un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y junto con otros datos clínicos y anatomopatológicos.
- Los componentes del kit están muy ajustados entre sí, por lo que la sustitución de uno o más componentes puede producir errores de rendimiento.
- Es importante utilizar las cantidades indicadas de los componentes para evitar alteraciones en el proceso de reacción.
- La congelación y descongelación repetidas de las muestras de ADN pueden alterar la reacción de detección.
- No trabajar bajo una cabina de flujo laminar durante el procedimiento de ensayo, ya que esto podría alterar los resultados.
- El rendimiento se validó utilizando los procedimientos descritos en estas instrucciones de uso. Cualquier modificación de estos procedimientos puede variar el rendimiento y debe ser validada por el usuario. Este producto sanitario para diagnóstico *in vitro* (IVD) solo está certificado con marcado CE cuando se utiliza conforme a estas instrucciones de uso en el ámbito de utilización previsto.

8. Sustancias interferentes

- Baja eficiencia de la PCR debido a la inhibición de la PCR en materia prima de ADN (por ejemplo, sangre).

- Las altas concentraciones de EDTA en tampones de elución pueden producir una inhibición de la PCR. Utilizar únicamente las cantidades de ADN recomendadas.
- Uso de aditivos para PCR que podrían influir en la hibridación (por ejemplo, DMSO, betaína, urea).

9. Preparación de muestras

El material de partida de este sistema de detección son secuencias de ADN que se han amplificado y biotinilado con VisionArray PreCise Master Mix.

10. Preparación previa del producto

- Preparación del 1x Wash Buffer: Diluir 1 parte del 100x Wash Buffer con 99 partes de agua desionizada o destilada (en un recipiente cerrado, el 1x Wash Buffer diluido es estable durante un mes a temperatura ambiente [entre 18 y 22 °C]).
- Dejar que la Hybridization Solution, la Detection Solution, la Blue Spot Solution y el 1x Wash Buffer alcancen la temperatura ambiente (entre 18 y 22 °C). Los posibles precipitados de la Hybridization Solution deben disolverse mediante un breve calentamiento (máx. 37 °C).
- Precalentar el hibridador o el horno de hibridación a 42 °C.

11. Procedimiento de ensayo

- 1 Retirar la cubierta protectora de los marcos azules del campo de matriz.
- 2 Preparación de la mezcla de hibridación:

20 µl de Hybridization Solution	+	10 µl de producto de PCR
30 µl de mezcla de hibridación (suficiente para un chip)		

Mezclar bien la mezcla de hibridación pipeteando de abajo a arriba.

- 3 Pipetear cuidadosamente 30 µl de la mezcla de hibridación en el lado izquierdo del campo de matriz (con la etiqueta a la derecha), evitando que queden burbujas de aire. Cubrir con cuidado todo el campo de matriz con la lámina de plástico suministrada, de izquierda a derecha.
- 4 Transferir el chip rápidamente al hibridador u horno de hibridación con cámara húmeda precalentado e incubar durante 30 minutos a 42 °C (± 1 °C).

Nota: este paso debe realizarse individualmente para cada matriz, nunca en paralelo. Deben evitarse las desviaciones de más de 1 °C. Se recomienda utilizar un termómetro calibrado.

- 5 Mientras tanto, preparar 3 cubetas de tinción con 1x Wash Buffer.
- 6 Una vez finalizado el tiempo de incubación, sacar el chip de la incubadora y retirar la lámina de plástico con cuidado. Golpear suavemente para escurrir la mezcla de hibridación sobre un pañuelo de papel y lavar el portaobjetos de inmediato en el 1x Wash Buffer. Luego, agitar suavemente el portaobjetos 3 veces de derecha a izquierda en la primera cubeta de tinción. Repetir este procedimiento de lavado en la segunda cubeta de tinción. Seguidamente, transferir el chip a la tercera cubeta de tinción, agitar 3 veces e incubar durante 1 minuto.

Nota: no utilizar más de 6 portaobjetos por cubeta de tinción. Los portaobjetos no manipulados deben permanecer a temperatura de hibridación. La exposición a temperatura ambiente debe ser lo más corta posible.

- 7 Sacar el chip de la cubeta de tinción, escurrirlo brevemente en un pañuelo y secarlo por centrifugación en la centrifuga para portaobjetos durante 15-30 segundos.

Nota: el uso de una centrifuga para portaobjetos es absolutamente obligatorio para evitar que queden gotas en la matriz.

- 8 Pipetear con cuidado 100 µl de Detection Solution en el campo de matriz seco sin tocar la superficie. El campo de matriz debe quedar cubierto de manera uniforme y deben eliminarse las burbujas de aire.
- 9 Incubar durante 10 minutos en una superficie uniforme a temperatura ambiente (entre 18 y 22 °C).
- 10 Mientras tanto, preparar 3 cubetas de tinción con 1x Wash Buffer.

- 11 Tras la incubación, lavar y secar tal como se ha descrito en los pasos 6 y 7. Conservar la última cubeta de tinción utilizada para el paso 13.
- 12 Aplicar con cuidado 100 µl de Blue Spot Solution sobre todo el campo de matriz e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente (entre 18 y 22 °C). El desarrollo del color se puede observar mediante inspección visual. En el caso de una tinción rápida y fuerte, la incubación puede detenerse antes de tiempo.
Nota: la Blue Spot Solution debe almacenarse e incubarse en la oscuridad.
- 13 Escurrir y lavar la Blue Spot Solution del chip en la cubeta de tinción con 1x Wash Buffer del paso 10 durante aproximadamente 15 segundos.
- 14 Golpear suavemente para escurrir el chip en un pañuelo de papel y secarlo por centrifugación en la centrífuga para portaobjetos durante 30 segundos.

Los chips ahora están listos para el análisis con [VisionArray Softwares](#).

12. Interpretación de los resultados

12.1 Nota general

Con la ayuda del VisionArrayDNA Chip, es posible hacer una declaración sobre la presencia o ausencia de secuencias de ADN específicas. La intensidad de las señales se ve afectada por la frecuencia de las secuencias objetivo en la muestra, así como por otros factores del sistema de detección. No se pueden utilizar los valores absolutos de la intensidad de la señal para la determinación de la concentración de ADN.

12.2 Evaluación

Después de seguir este protocolo, se puede proceder a la evaluación del chip. Las señales positivas se muestran como áreas circulares de color azul oscuro en el portaobjetos. La evaluación automatizada del chip se lleva a cabo con el software [VisionArray Software](#) correspondiente.

12.3 Evaluación basada en software

La evaluación automatizada de los resultados se realiza mediante el software [VisionArray Software](#) correspondiente. El software incluye un manual completo para el análisis de chips.

13. Procedimientos de control de calidad recomendados

Para controlar el correcto rendimiento de las muestras procesadas y los reactivos analíticos, cada ensayo debe ir acompañado de muestras de control externas, positivas y negativas, validadas. Si los controles internos o externos no revelan una tinción adecuada, los resultados de las muestras del paciente deben considerarse no válidos.

14. Características de rendimiento

Consultar las características de rendimiento del correspondiente [VisionArrayDNA Chip](#).

15. Eliminación

La eliminación de los reactivos debe llevarse a cabo de acuerdo con las normativas locales.

16. Resolución de problemas

Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede alterar la reacción de detección de la secuencia objetivo.

	Combinación incorrecta de chip y muestra	Comprobar la combinación de chip y muestra
Solo aparecen los puntos guía y el control de la PCR, pero ninguna otra señal	No hay ninguna secuencia objetivo	Usar un control positivo
Solo aparecen los puntos guía y señales específicas, pero no el control positivo	Muestra dañada	Nueva extracción de ADN. Almacenar entre -16 y -22 °C
Demasiado ruido de fondo	Tiempo de incubación de la Detection Solution o la Blue Spot Solution demasiado largo. Temperatura durante la incubación demasiado alta	Comprobar el tiempo y la temperatura de incubación de la Detection Solution y la Blue Spot Solution
	Los portaobjetos no están bien secos	Comprobar la etapa de secado
Señales fuertes y con fuga	Tiempo de incubación de la Detection Solution o la Blue Spot Solution demasiado largo o temperatura demasiado alta	Ajuste gradual del tiempo y la temperatura de incubación de la Detection Solution y la Blue Spot Solution
Señales débiles	Temperatura de hibridación incorrecta	Comprobar temperatura
	Tiempo de hibridación demasiado corto	Aumentar el tiempo de hibridación hasta un máximo de 30 min
	Tiempo de incubación de la Detection Solution o la Blue Spot Solution demasiado corto	Aumentar el tiempo de incubación de la Detection Solution y la Blue Spot Solution
	Amplificación de PCR débil/mala calidad de la plantilla de ADN	Comprobar la plantilla de ADN
Señales de hibridación cruzada, señales falsas positivas	Contaminación de los productos químicos de PCR o el producto de PCR	Sustituir los productos químicos de PCR en uso
	Contaminación durante la preparación de la PCR o la mezcla de hibridación	Evitar la transferencia de la muestra durante la preparación de la mezcla
	Temperatura de hibridación demasiado baja	Comprobar la temperatura de hibridación
	Varios chips incubados demasiado tiempo en el mismo tampón de lavado	Ejecución rápida de los pasos de lavado
Señal única en lugar de duplicados	Eliminación mecánica de la segunda señal, p. ej., debido al contacto con la punta de la pipeta	Evitar el contacto directo con el campo de matriz
	Cobertura irregular del campo de matriz debido a burbujas de aire	Aplicar las soluciones evitando las burbujas de aire
	Señales débiles alrededor del umbral (1 arriba y 1 abajo)	Repetir la PCR y la detección teniendo en cuenta las condiciones requeridas en el manual

17. Revisión

Revisión	Descripción del cambio
2.1.1	6. Advertencias y precauciones Nota añadida para comprobar la integridad del envase



www.zytovision.com

Para consultar las instrucciones de uso más recientes y su versión en distintos idiomas, visite www.zytovision.com.

Problema	Posible causa	Medida
Sin señal	Temperatura incorrecta	Comprobar la temperatura de hibridación
	Reactivos caducados	Comprobar los reactivos
Solo aparecen los puntos guía, ninguna otra señal	Problemas con el producto de PCR (la PCR no es lo suficientemente eficiente o la plantilla de ADN está dañada)	Comprobar la eficiencia de la PCR con un control positivo. Verificar los productos químicos de la PCR y el programa del termociclador. Comprobar el producto de PCR en gel de agarosa
	Materia prima incorrecta	Comprobar las materias primas

Nuestros expertos están a su disposición para resolver cualquier duda.
Póngase en contacto con helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Alemania
Teléfono: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Correo electrónico: info@zytovision.com

Marcas comerciales:

ZytoVision® y VisionArray® son marcas comerciales de ZytoVision GmbH.