



## VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 tests

Per il rilevamento qualitativo di sequenze di DNA su chip  
VisionArray

4250380M008PY



Dispositivo medico – diagnostico in vitro  
in conformità al Regolamento IVDR (EU) 2017/746

### 1. Scopo previsto

Il VisionArray Detection Kit è stato sviluppato per essere utilizzato con una VisionArray PreCise Master Mix e il corrispondente VisionArray DNA Chip per il rilevamento qualitativo di specifiche sequenze di DNA. L'analisi automatizzata deve essere eseguita con un VisionArray Software.

Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso professionale. Tutti i test che utilizzano il prodotto devono essere eseguiti da personale qualificato in un laboratorio di anatomia patologica certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo/genetista umano.

### 2. Principio del metodo

I frammenti di DNA con una sequenza specifica sono rivelati tramite un pool di frammenti di DNA su un vetrino con chip, grazie a sequenze di DNA immobilizzate per ibridazione DNA/DNA. Possono essere utilizzati, come materiale d'origine per questo sistema di rivelazione, sia campioni provenienti da tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina che da campioni cellulari. Come primo passaggio, le sequenze target di questi campioni devono essere amplificate e biotinilate tramite PCR. L'ibridazione tra le sequenze amplificate e il DNA complementare avviene in seguito. Dopo l'ibridazione, il DNA legato in modo aspecifico viene lavato via con alcuni rapidi lavaggi stringenti. Le sequenze specifiche biotinilate sono poi marcate con un complesso streptavidina-perossidasi e visualizzate con una colorazione di tetrametilbenzidina (TMB).

### 3. Reagenti forniti

Codice	Componenti	Importo	Contenitore
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Recipiente di reazione, coperchio rosso
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Flacone con tappo a vite (grande)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Flacone con tappo a vite (piccolo)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Flacone con tappo a vite (piccolo), marrone
	Istruzioni per l'uso	1	

I Hybridization Solution, Detection Solution, e Blue Spot Solution sono sufficienti per 50 reazioni. Il 100x Wash Buffer è sufficiente per 50 test con 6 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno.

### 4. Materiali richiesti ma non forniti

#### Reagenti:

- Prodotto PCR creato con una VisionArray PreCise Master Mix
- Acqua deionizzata o distillata

#### Attrezzatura:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) o VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Ibridatore o forno di ibridazione con camera di umidità
- Centrifuga a scorrimento
- Vasetti di colorazione, 50-80 ml
- Pipette

### 5. Conservazione e stoccaggio

I componenti del kit devono essere conservati a 2...8°C in posizione verticale. Conservare la Blue Spot Solution al riparo dalla luce. Se si rispettano queste condizioni di conservazione, il prodotto funzionerà, senza perdita di prestazioni, almeno fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Riportare alle condizioni di stoccaggio indicate subito dopo l'utilizzo. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata in etichetta. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata in etichetta, se correttamente conservato.

### 6. Avvertenze e precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'utilizzo.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Prima dell'uso, verificare che l'imballaggio sia intatto; non utilizzare il prodotto se l'imballaggio è danneggiato.
- Segnalare qualsiasi incidente grave relativo al prodotto al produttore e all'autorità competente in conformità alle normative locali.
- Alcuni dei componenti del set contengono sostanze (in basse concentrazioni e volumi) dannose per la salute. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Adottare misure di protezione adeguate (utilizzare guanti monouso, occhiali protettivi e indumenti da laboratorio)!
- Se il reagente dovesse entrare in contatto con la pelle, risciacquare subito abbondantemente.
- La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta per usi professionali.
- Non riutilizzare i reagenti, a meno che il riutilizzo sia esplicitamente consentito.
- Evitare la cross-contaminazione dei campioni, in quanto questo potrebbe portare a risultati sbagliati.
- Per evitare la contaminazione è necessario separare i luoghi in cui vengono eseguiti i passaggi con e senza DNA e utilizzare piani di lavoro puliti per la preparazione del master mix di PCR.
- I chip dovrebbero essere utilizzati in un ambiente pulito, privo di polvere. Evitare di contaminare la superficie del chip con polvere o altre particelle.
- Evitare il contatto diretto con la superficie del chip.
- Solo il lato marcato del vetrino può essere utilizzato per l'ibridazione.

**Fraasi di pericolo e prudenza per HY-0001:**

Il componente pericoloso è la formammide.

**Pericolo**

H351	Sospettato di provocare il cancro.
H360FD	Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.
H373	Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202	Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P260	Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P405	Conservare sotto chiave.

**Fraasi di pericolo e prudenza per AB-0016 e WB-0012:**

Il componente pericoloso è una miscela di: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).

**Attenzione**

H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.
P333+P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
P362+P364	Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

**7. Limitazioni**

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per usi professionali.
- Solo per uso non-automatico.
- L'interpretazione dei risultati deve essere condotta da un patologo qualificato, considerando il contesto della storia clinica del paziente, rispettando gli altri dati clinici e patologici.
- I componenti del kit sono perfettamente adattati l'uno all'altro e la sostituzione di uno o più componenti può comportare errori di prestazione.
- È importante utilizzare le quantità indicate dei componenti per evitare di compromettere il processo di reazione.
- Lo scongelamento e il congelamento ripetuti dei campioni di DNA possono compromettere la reazione di rilevamento.
- Non lavorare in condizioni di flusso laminare durante la procedura di analisi, poiché ciò potrebbe compromettere i risultati.
- Le prestazioni sono state convalidate utilizzando le procedure descritte in queste istruzioni per l'uso. Le modifiche a queste procedure potrebbero alterare le prestazioni e devono essere convalidate dall'utente. Questo prodotto IVD è certificato come CE solo se utilizzato come descritto in queste istruzioni nell'ambito dell'uso previsto.

**8. Sostanze interferenti**

- Bassa efficienza di PCR per inibizione di PCR da parte della materia prima del DNA (per esempio: sangue).
- Una concentrazione elevata di EDTA nei buffer di eluizione potrebbe comportare un'inibizione della PCR. Utilizzare solo il quantitativo raccomandato di DNA.
- Uso di additivi di PCR che possano influenzare l'ibridazione (e.g. DMSO, betaina, urea).

**9. Preparazione dei campioni**

Il materiale di partenza per questo sistema di rilevamento è costituito da sequenze di DNA che sono state amplificate e biotinilate con una VisionArray PreCise Master Mix.

**10. Trattamento preparatorio del prodotto**

- Preparazione del 1x Wash Buffer: Diluire 1 parte di 100x Wash Buffer con 99 parti di acqua deionizzata o distillata (in un contenitore chiuso il tampone di lavaggio 1x diluito è stabile per un mese a RT (18...22°C)).
- Portare la Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution, e 1x Wash Buffer a RT (18...22°C). Eventuali precipitati nella Hybridization Solution devono essere risolti con un breve riscaldamento (max. 37°C).
- Riscaldare l'ibridatore o il forno di ibridazione a 42°C prima dell'uso.

**11. Procedura di lavoro**

1 Rimuovere il coperchio protettivo dalle cornici blu del campo matrice.

2 Preparazione della miscela di ibridazione:

20 µl Hybridization Solution  
+ 10 µl Prodotto di PCR  
30 µl di miscela di ibridazione (sufficienti per un chip)

Mescolare accuratamente la miscela di ibridazione pipettando verso l'alto e verso il basso.

3 Pipettare con cautela 30 µl di miscela di ibridazione sul lato sinistro del campo matrice (con l'etichetta a destra) evitando bolle d'aria. Rivestire l'intero campo matrice coprendo accuratamente il campo matrice da sinistra a destra con il coperchio di plastica in dotazione.

4 Trasferire rapidamente il chip nell'ibridatore preriscaldato o nel forno di ibridazione con camera di umidità e incubare 30 minuti a 42°C (+/- 1°C).

*Nota: questa fase deve essere eseguita per ogni matrice una dopo l'altra, mai in parallelo. Si devono evitare scostamenti di oltre 1°C. Si consiglia di utilizzare un termometro calibrato.*

5 Preparare nel frattempo 3 vasi di colorazione con 1x Wash Buffer.

6 Al termine del tempo di incubazione, togliere il chip dall'incubatore e rimuovere con cautela il coperchio. Scolare accuratamente la miscela di ibridazione su un fazzoletto di carta e lavare immediatamente il vetrino con il 1x Wash Buffer. Agitare quindi delicatamente il vetrino per 3 volte in senso bidirezionale nel primo barattolo di colorazione. Ripetere questa procedura di lavaggio nel secondo barattolo di colorazione. Successivamente, trasferire il chip nel terzo barattolo di colorazione, agitare 3 volte e incubare per 1 minuto.

*Nota: non utilizzare più di 6 vetrini per barattolo di colorazione. I vetrini non manipolati devono rimanere alla temperatura di ibridazione. L'esposizione a temperatura ambiente deve essere il più breve possibile.*

7 Estrarre il chip dal barattolo di colorazione, scolarlo brevemente su un tessuto e asciugarlo mediante centrifugazione nella centrifuga per vetrini per 15-30 s.

*Nota: l'uso di una centrifuga per vetrini è assolutamente obbligatorio per evitare che rimangano gocce sulla matrice.*

8 Pipettare con cautela 100 µl di Detection Solution sul campo matrice asciutto senza toccare la superficie. Il campo matrice deve essere coperto in modo uniforme e le bolle d'aria devono essere rimosse.

9 Incubare per 10 minuti su una superficie uniforme a RT (18...22°C).

10 Nel frattempo, preparare 3 vasi di colorazione con 1x Wash Buffer.

- 11 Dopo l'incubazione, lavare e asciugare come descritto nelle fasi 6 e 7. Conservare il barattolo di colorazione utilizzato per ultimo per il passaggio 13.
- 12 Applicare accuratamente 100 µl di Blue Spot Solution sull'intero campo array e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18...22°C). Lo sviluppo del colore può essere osservato con un controllo visivo. Nel caso di una colorazione rapida e pesante, l'incubazione può essere interrotta prima.
- Nota: la Blue Spot Solution deve essere conservata e incubata al buio.*
- 13 Lavare la Blue Spot Solution sul chip con il barattolo del 1x Wash Buffer del punto 10 per circa 15 secondi.
- 14 Scolare brevemente il chip su un fazzoletto di carta e asciugarlo mediante centrifugazione nella centrifuga per vetrini per 30 s.

I chip sono ora pronti per l'analisi con il VisionArray Software.

## 12. Interpretazione dei risultati

### 12.1 Nota generale

Con l'ausilio del VisionArray DNA Chip è possibile fare una dichiarazione sulla presenza o sull'assenza di specifiche sequenze di DNA. L'intensità dei segnali è influenzata dalla frequenza delle sequenze target nel campione e da altri fattori del sistema di rilevamento. Non è possibile utilizzare i valori assoluti dell'intensità del segnale per determinare la concentrazione di DNA.

### 12.2 Valutazione

Dopo aver seguito questo protocollo, il chip può essere valutato. I segnali positivi sono visibili sul vetrino come aree circolari blu scuro. La valutazione automatica del chip viene eseguita con il relativo VisionArray Software.

### 12.3 Valutazione basata sul software

La valutazione automatica dei risultati viene eseguita dal rispettivo VisionArray Software. Al software è allegato un manuale completo per l'analisi dei chip.

## 13. Procedure di Controllo qualità raccomandate s

Per monitorare le prestazioni corrette dei campioni trattati e dei reagenti del test, ogni analisi deve essere accompagnata da campioni di controllo positivi e negativi esterni convalidati. Se i controlli interni e/o esterni non dimostrano una colorazione adeguata, i risultati ottenuti con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

## 14. Caratteristiche di performance

Fare riferimento alle caratteristiche di prestazione del rispettivo VisionArray DNA Chip.

## 15. Smaltimento

Lo smaltimento dei reagenti deve avvenire in accordo alle regolamentazioni locali.

## 16. Risoluzione dei problemi

Qualsiasi modifica alle istruzioni d'uso può comportare un risultato diverso nella rilevazione delle sequenze target.

Problema	Possibile causa	Azione
Nessun segnale	Temperatura sbagliata	Controllare la temperatura di ibridazione
	Reagenti scaduti	Controllare i reagenti
Solo punti guida e nessun altro segnale	Problemi con il prodotto della PCR (la PCR non è sufficientemente efficiente o il template di DNA è degradato)	Verificare l'efficienza della PCR con un controllo positivo; Controllare i prodotti chimici per la PCR e il programma del termociclatore; Controllare il prodotto di PCR nel gel di agarosio
	Materia prima sbagliata	Controllare le materie prime
	Combinazione errata di chip e campione	Controllare la combinazione campione/chip

Solo punti guida e controllo PCR, ma nessun altro segnale.	Nessuna sequenza target presente	Utilizzare un controllo positivo
Solo punti guida e segnali specifici, ma nessun controllo positivo.	Campione degradato	Nuova estrazione del DNA; conservare a -16...-22°C
Troppo sfondo	Tempo di incubazione della soluzione di rivelazione o della soluzione Blue Spot troppo lungo; temperatura troppo alta durante l'incubazione	Controllare il tempo di incubazione e la temperatura della soluzione di rivelazione e della soluzione di punti blu.
	Vetrini non asciugati correttamente	Controllare la fase di asciugatura
Segnali forti e perdenti	Tempo di incubazione della soluzione di rivelazione o della soluzione Blue Spot troppo lungo o temperatura troppo alta	Regolazione graduale del tempo di incubazione e della temperatura della soluzione di rivelazione e della soluzione di punti blu.
Segnali deboli	Temperatura di ibridazione non corretta	Controllare la temperatura
	Tempo di ibridazione troppo breve	Prolungare il tempo di ibridazione fino a un massimo di 30 minuti.
	Tempo di incubazione della soluzione di rivelazione o della soluzione Blue Spot troppo breve	Prolungare il tempo di incubazione della soluzione di rivelazione e della soluzione di punti blu.
	Amplificazione PCR debole/ cattiva qualità del template di DNA	Controllare il modello di DNA
Segnali di ibridazione incrociata, falsi segnali positivi	Contaminazione delle sostanze chimiche della PCR o del prodotto della PCR	Sostituire le sostanze chimiche PCR in uso
	Contaminazione durante la preparazione della PCR o della miscela di ibridazione	Evitare il trasferimento del campione durante la preparazione della miscela.
	Temperatura di ibridazione troppo bassa	Controllare la temperatura di ibridazione
	Diversi chip incubati troppo a lungo nello stesso tampone di lavaggio	Esecuzione rapida delle fasi di lavaggio
Singolo segnale invece di duplicati	Eliminazione meccanica del secondo segnale, ad es. a causa del contatto con il puntale della pipetta	Evitare il contatto diretto con il campo matrice
	Copertura irregolare del campo array a causa di bolle d'aria	Applicare soluzioni senza bolle d'aria
	Segnali deboli intorno alla soglia (1 sopra e 1 sotto)	Ripetere la PCR e la rilevazione tenendo conto delle condizioni richieste nel manuale.

## 17. Revisione

Revisione	Descrizione della modifica
2.1.1	6. Avvertenze e precauzioni Aggiunta di una nota per la verifica dell'integrità dell'imballaggio



[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)

Fare riferimento al sito [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) per le istruzioni d'uso più recenti e per le istruzioni d'uso nelle diverse lingue.

I nostri esperti sono disponibili per rispondere alle vostre domande.  
Contattare per cortesia [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/ Germania  
Tel.: +49 471 4832-300  
Fax: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
Email: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

**Marchi registrati:**

ZytoVision® e VisionArray® sono marchi registrati da ZytoVision GmbH.