



## VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 tests

За качествено откриване на ДНК последователности  
върху VisionArray Chips

4250380M008PY



Ин витро диагностично медицинско устройство  
в съответствие с IVDR (ЕС) 2017/746

### 1. Предвидена употреба

VisionArray Detection Kit е разработен да се използва с VisionArray PreCise Master Mix и съответния VisionArray DNA Chip качествено откриване на специфични ДНК последователности. Автоматизираният анализ трябва да се извърши с VisionArray Analysis Package.

Продуктът е предназначен само за професионална употреба. Всички тестове, при които се използва продуктът, трябва да се извършват в сертифицирана, лицензирана анатомична патологоанатомична лаборатория под наблюдението на патолог/ генетик квалифициран за съответната дейност.

### 2. Принцип на изпитване

ДНК-фрагменти със специфична последователност се откриват от пул от ДНК-фрагменти върху стъклен чип с помощта на имобилизирани ДНК улавящи последователности чрез ДНК/ДНК-хибридизация. За тази система за откриване като суровина могат да се използват ДНК-проби от фиксирани във формалин, вградени в парафин тъкани или клетъчни проби. Като първа стъпка целевите последователности в тези проби трябва да бъдат амплифицирани и биотинилирани чрез PCR. Хибридизацията между амплифицираните секвенции и комплементарните секвенции за улавяне на ДНК се извършва впоследствие. След хибридизацията неспецифично свързаната ДНК се отмива чрез кратки стриктни стъпки на промиване. Специфично свързаните биотинилирани последователности се маркират вторично със стрептавидин-пероксидаза-конюгат и се визуализират чрез оцветяване с тетраметилбензидин (TMB).

### 3. Предоставени реактиви

Включени са следните компоненти:

Код	Компоненти	Сума	Контейнер
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Реакционен съд, червен капак
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Бутилка с винтова капачка (голяма)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Бутилка с винтова капачка (малка)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Бутилка с винтова капачка (малка), кафява
	Инструкции за употреба	1	

Hybridization Solution, Detection Solution, и Blue Spot Solution са достатъчни за 50 реакции. 100x Wash Buffer е достатъчен за 50 теста с 6 буркана за оцветяване от по 70 ml всеки.

### 4. Необходими материали, които не са осигурени

#### Реагенти:

- PCR продукт, създаден с VisionArray PreCise Master Mix
- Дейонизирана или дестилирана вода

#### Оборудване:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) или VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Хибризатор или хибридационна пещ с камера за влажност
- Плъзгаща се центрофуга
- Буркани за оцветяване, 50-80 ml
- Пипети

### 5. Съхранение и обработка

Компонентите на комплекта трябва да се съхраняват при температура 2...8°C в изправено положение. Съхранявайте Blue Spot Solution на защитено от светлина място. Ако се спазват тези условия на съхранение, продуктът ще функционира без загуба на ефективност поне до датата на изтичане на срока на годност, отпечатана на етикета. Върнете в условията на съхранение веднага след употреба. Не използвайте реагентите след изтичане на срока на годност, посочен на етикета. Продуктът е стабилен до датата на изтичане на срока на годност, посочена на етикета, когато се третира по подходящ начин.

### 6. Предупреждения и предпазни мерки

- Прочетете инструкциите за употреба преди да ги използвате!
- Не използвайте продуктите след изтичане на срока на годност!
- Моля, проверете дали опаковката е непокътната преди употреба, не използвайте продукта, ако опаковката е повредена.
- Докладвайте за всеки сериозен инцидент, възникнал във връзка с продукта, на производителя и на компетентния орган съгласно местните разпоредби!
- Ако реагентите попаднат върху кожата, незабавно я изплакнете с голямо количество вода!
- При поискване за професионалния потребител се предоставя информационен лист за безопасност на материала.
- Не използвайте повторно продуктите, освен ако повторната употреба не е изрично разрешена!
- Избягвайте кръстосано замърсяване на пробите, тъй като това може да доведе до грешни резултати.
- За да се избегнат замърсявания, е необходимо да се разделят работните етапи с ДНК и без ДНК, както и да се използват чисти лавици за приготвяне на PCR мастър микса.

- Чиповете трябва да се използват в среда без прах. Избягвайте замърсяването на повърхността на чипа с прах или други частици!
- Избягвайте пряк контакт с полето на масива върху повърхността на чипа!
- За хибридизация може да се използва само маркираната страна на предметно стъкло.

#### Предупреждения за опасност и предпазни мерки за HY-0001:

Компонентът, определящ опасността, е формамид.



#### Опасност

H351	Предполага се, че причинява рак.
H360FD	Може да увреди оплодителната способност. Може да увреди плода.
H373	Може да причини увреждане на органите при продължителна или повтаряща се експозиция
P201	Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
P202	Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност
P260	Не вдишвайте прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли
P280	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице/предпазни средства за защита на слуха.
P308+P313	ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
P405	Да се съхранява под ключ.

#### Предупреждения за опасност и предпазни мерки за AB-0016 и WB-0012:

Компонентът, определящ опасността, е реакционна маса от: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).



#### Предупреждение

H317	Може да причини алергична кожна реакция.
P261	Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли
P272	Да не се изнася замърсено работно облекло извън работното помещение.
P280	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P302+P352	ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно с вода/...
P333+P313	При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.
P362+P364	Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.

#### 7. Ограничения

- За *in vitro* диагностична употреба.
- Само за професионална употреба.
- Само за неавтоматизирана употреба.
- Интерпретацията на резултатите трябва да бъде направена в контекста на клиничната история на пациента с оглед на допълнителни клинични и патологични данни от патолог квалифициран за съответната дейност.
- Компонентите на комплекта са добре съгласувани помежду си и замяната на един или повече компоненти може да доведе до грешки в работата.

- Важно е да се използват посочените количества от компонентите, за да се избегне нарушаване на реакционния процес.
- Многократното размразяване и замразяване на ДНК пробите може да доведе до влошаване на реакцията на откриване.
- Не работете при ламинарен поток по време на процедурата за анализ, тъй като това може да доведе до влошаване на резултатите.
- Изпълнението е валидирано с помощта на процедурите, описани в тези инструкции за употреба. Модификациите на тези процедури могат да променят характеристиките и трябва да бъдат потвърдени от потребителя. Този IVD е сертифициран като CE само когато се използва, както е описано в тази инструкция за употреба в рамките на предвидената употреба.

#### 8. Пречещи вещества

- Ниска ефективност на PCR, дължаща се на инхибитори на PCR в ДНК суровината (напр. кръв).
- Високите концентрации на EDTA в буферите за елуиране на ДНК могат да доведат до инхибиране на PCR. Използвайте само препоръчаните количества ДНК.
- Използване на PCR добавки, които могат да повлияят на хибридизацията (напр. DMSO, бетаин, карбамид).

#### 9. Подготовка на образци

Исходният материал за тази система за откриване са ДНК последователности, които са били амплифицирани и биотинилирани с VisionArray PreCise Master Mix.

#### 10. Подготвителна обработка на устройството

- Приготвяне на 1x Wash Buffer: Разредете 1 част 100x Wash Buffer с 99 части дейонизирана или дестилирана вода (в затворен контейнер разреденият 1x Wash Buffer е стабилен в продължение на един месец при RT (18...22°C))
- Доведете Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution, и 1x Wash Buffer до RT (18...22°C). Възможните утайки в разтвора за хибридизация трябва да се разтворят чрез краткотрайно загряване (макс. 37°C).
- Загрейте хибридизатора или пещта за хибридизация до 42°C преди употреба.

#### 11. Процедура за анализ

- 1 Свалете защитния капак от сините рамки на полето за масиви.
- 2 Приготвяне на hybridization mix:

20 µl Hybridization Solution  
+ 10 µl PCR product  
30 µl hybridization mix (достатъчно за един чип)

Разбъркайте добре hybridization mix, като пипетирате нагоре-надолу.

- 3 Пипетирайте внимателно 30 µl от хибридизационната смес от лявата страна на полето на масива (с етикет отдясно), като избягвате уловените въздушни мехурчета. Покрийте цялото поле на масива, като внимателно покриете полето на масива от лявата към дясната страна с доставения пластмасов капак.
- 4 Прехвърлете чипа бързо в предварително загрятия хибридизатор или хибридизационна пещ с камера за влажност и инкубирайте 30 минути при 42°C (+/- 1°C).

*Забележка: Тази стъпка трябва да се извършва за всеки масив един след друг, никога паралелно. Не трябва да се допускат отклонения с повече от 1°C. Препоръчваме ви да използвате калибриран термометър.*

- 5 Междувременно пригответе 3 буркана за оцветяване с 1x Wash Buffer.

- 6 След изтичане на времето за инкубация извадете чипа от инкубатора и внимателно отстранете капачката. Отцедете внимателно the hybridization mix върху хартиена кърпичка и незабавно измийте слайда в 1x Wash Buffer. Затова разбъркайте внимателно предметно стъкло 3 пъти двупосочно в първия буркан за оцветяване. Повторете тази процедура за измиване във втория буркан за оцветяване. След това прехвърлете чипа в 3-ти буркан за оцветяване, разбъркайте 3 пъти и инкубирайте за 1 мин

*Забележка: Не използвайте повече от 6 предметни стъкла за един буркан за оцветяване. Необработените предметни стъкла трябва да останат при температура на хибридизация. Излагането на стайна температура трябва да е възможно най-кратко.*

- 7 Извадете чипа от буркана за оцветяване, отцедете го за кратко върху тъкан и го подсушете чрез центрофугиране в центрофугата за предметни стъкла за 15-30 s.

*Забележка: Използването на центрофуга за диапозитиви е абсолютно задължително, за да се предотврати образуването на капки върху масива.*

- 8 Пипетирайте внимателно 100 µl Detection Solution детекция върху сухото поле на масива, без да докосвате повърхността. Полето на масива трябва да бъде покрито равномерно и въздушните мехурчета трябва да бъдат отстранени.

- 9 Инкубирайте в продължение на 10 минути върху равна повърхност при RT (18...22°C).

- 10 Междувременно пригответе 3 буркана за оцветяване с 1x Wash Buffer.

- 11 След инкубацията измийте и подсушете, както е описано в стъпки 6 и 7. Запазете буркана за оцветяване, който е използван последно за стъпка 13.

- 12 Нанесете внимателно 100 µl Blue Spot Solution върху цялото поле на масива и инкубирайте за 5 min при RT (18...22°C). Развитието на цвета може да се наблюдава чрез визуална проверка. В случай на бързо и силно оцветяване, инкубацията може да се спре по-рано.

*Забележка: Blue Spot Solution трябва да се съхранява и инкубира на тъмно.*

- 13 Измийте Blue Spot Solution от чипа в буркана за оцветяване с 1x Wash Buffer от стъпка 10 за около 15 сек.

- 14 Отцедете за кратко чипа върху хартиена кърпичка и го подсушете чрез центрофугиране в центрофуга за стъкла за 30 s.

Чиповете вече са готови за анализ със [VisionArray Software](#).

## 12. Тълкуване на резултатите

### 12.1 Обща бележка

С помощта на VisionArray DNA Chip е възможно да се установи наличието или отсъствието на специфични ДНК последователности. Интензитетът на сигналите се влияе от честотата на целевите последователности в пробата, както и от други фактори на системата за откриване. Не е възможно да се използват абсолютните стойности на интензитета на сигнала за определяне на концентрацията на ДНК.

### 12.2 Оценка

След спазването на този протокол чипът може да бъде оценен. Положителните сигнали се виждат върху предметно стъкло като тъмносини кръгли области. Автоматичната оценка на чипа се извършва със съответния [VisionArray Software](#).

### 12.3 Софтуерно базирано оценяване

Автоматичната оценка на резултатите се извършва от съответния [VisionArray Software](#). Към софтуера е приложено изчерпателно ръководство за чип-анализ.

## 13. Препоръчителни процедури за контрол на качеството

За да се следи за правилното функциониране на обработените проби и тестовите реактиви, всеки анализ трябва да се придружава от външни валидирани положителни и отрицателни контролни проби. Ако вътрешните и/или външните контроли не демонстрират подходящо оцветяване, резултатите с проби от пациенти трябва да се считат за невалидни.

## 14. Работни характеристики

Моля, направете справка с характеристиките на работа на съответния [VisionArray DNA Chip](#).

## 15. Изхвърляне

Изхвърлянето на реагентите трябва да се извършва в съответствие с местните разпоредби.

## 16. Отстраняване на неизправности

Всяко отклонение от инструкциите за работа може да доведе до нарушаване на реакцията на откриване на целевата последователност.

Проблем	Възможна причина	Действие
Няма сигнал	Неправилна температура	Проверка на температурата на хибридизация
	Реагенти с изтекъл срок на годност	Проверка на реактивите
Само водещи точки и никакви други сигнали	Проблеми с PCR продукта (PCR не е достатъчно ефективен или ДНК шаблонът е разграден)	Проверете ефективността на PCR с положителна контрола; Проверете PCR химикалите и програмата на термоциклера; Проверка на PCR продукта в агарозен гел
	Неправилна суровина	Проверка на суровините
	Неправилна комбинация от чип и проба	Проверка на комбинацията проба/чип
Само водещи точки и PCR контрол, но без други сигнали	Няма налична целева последователност	Използване на положителен контрол
Само водещи точки и специфични сигнали, но без положителен контрол	Деградирана проба	Ново извличане на ДНК; съхранявайте при -16...-22°C
Твърде много фон	Твърде дълго време за инкубиране на разтвора за откриване или разтвора за сини петна; твърде висока температура по време на инкубацията	Проверете времето за инкубиране и температурата на разтвора за откриване и разтвора за сини петна
	Слайдове, които не са изсушени правилно	Проверка на етапа на сушене
Силни, изтичащи сигнали	Твърде дълго време за инкубиране на разтвора за откриване или разтвора за сини петна или твърде висока температура	Поетапно регулиране на времето за инкубиране и температурата на разтвора за откриване и разтвора за сини петна
Слаби сигнали	Неправилна температура на хибридизация	Проверка на температурата
	Твърде кратко време за хибридизация	Удължаване на времето за хибридизация до максимум 30 мин.

	Твърде кратко време за инкубиране на разтвора за откриване или разтвора за сини петна	Удължаване на времето за инкубация на разтвора за откриване и разтвора за сини петна
	Слаба PCR амплификация/лошо качество на ДНК матрицата	Проверка на ДНК шаблона
Сигнали за кръстосана хибридизация, фалшиво положителни сигнали	Замърсяване на PCR химикалите или PCR продукта	Замяна на използваните PCR химикали
	Замърсяване по време на подготовката на PCR или на хибридизационната смес	Избягвайте прехвърлянето на пробата по време на приготвянето на сместа
	Твърде ниска температура на хибридизация	Проверка на температурата на хибридизация
	Няколко чипа са инкубирани твърде дълго в един и същ промивен буфер	Бързо изпълнение на етапите на измиване
Един сигнал вместо дубликати	Механично елиминиране на втория сигнал, напр. поради контакт с върха на пипетата	Избягвайте пряк контакт с полето на масива
	Неправилно покритие на полето на масива поради въздушни мехурчета	Прилагане на разтвори без въздушни мехурчета
	Слаби сигнали около прага (1 над и 1 под прага)	Повтаряне на PCR и откриване при спазване на условията, изисквани в ръководството

## 17. Ревизия

Ревизия	Описание на промяната
2.1.1	6. Предупреждения и предпазни мерки Добавена забележка за проверка на целостта на опаковката



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

Моля, вижте [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) за най-новите инструкции за употреба, както и за инструкции за употреба на различни езици.

Нашите експерти са на разположение, за да отговорят на въпросите ви.

Моля, свържете се с [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/ Германия  
Телефон: +49 471 4832-300  
Факс: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
Имейл: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

### Търговски марки:

ZytoVision® и VisionArray® са търговски марки на ZytoVision GmbH.