



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 test

Til kvalitativ påvisning af DNA-sekvenser i
VisionArray-chips

4250380M008PY



Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
i henhold til IVDR (EU) 2017/746

1. Anvendelsesformål

VisionArray Detection Kit er beregnet til brug med VisionArray PreCise Master Mix og den tilhørende VisionArray DNA Chip til kvalitativ påvisning af bestemte DNA-sekvenser. Den automatiserede analyse skal udføres med VisionArray Software.

Produktet må kun anvendes af faguddannet personale. Alle test med produktet skal udføres af faguddannet personale på et certificeret, godkendt patolog-anatomisk laboratorium under supervision af en patolog/humangenetiker.

2. Testprincip

DNA-fragmenter med en bestemt sekvens påvises ud fra en pulje af DNA-fragmenter på en glaschip med hjælp fra immobiliserede DNA-registreringssekvenser via DNA/DNA-hybridisering. Til dette påvisningssystem kan DNA-prøver fra formalinfikserede, paraffinindstøbte vævs- eller celleprøver bruges som råmateriale. Første trin er, at målsekvenserne i disse prøver skal forstørres og biotinyleres med PCR. Hybridiseringen mellem de forstørrede sekvenser og de supplerende DNA-registreringssekvenser udføres efterfølgende. Efter hybridiseringen bortvaskes det uspecifikke bundne DNA i korte strenge vasketrin. De specifikt bundne biotinylerede sekvenser mærkes sekundært med en streptavidin-peroxidase-konjugering derefter og visualiseres via TMB-farvning (tetramethylbenzidin).

3. Leverede reagenser

Følgende komponenter medfølger:

| Kode | Komponenter | Mængde | Beholder |
|-------------|------------------------|--------|-----------------------------------|
| HY-0001-1 | Hybridization Solution | 1 ml | Reaktionsbeholder, rødt låg |
| WB-0012-250 | 100x Wash Buffer | 250 ml | Flaske med skruelåg (stor) |
| AB-0016-5 | Detection Solution | 5 ml | Flaske med skruelåg (lille) |
| SB-0009-5 | Blue Spot Solution | 5 ml | Flaske med skruelåg (lille), brun |
| | Brugsanvisning | 1 | |

Hybridization Solution, Detection Solution og Blue Spot Solution er tilstrækkelige til 50 reaktioner. 100x Wash Buffer er tilstrækkelig til 50 test med 6 farvebeholdere af 70 ml hver.

4. Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Reagenser:

- PCR-produkt med VisionArray PreCise Master Mix
- Afioniseret eller destilleret vand

Udstyr:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) eller VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Hybridizer eller hybridiseringsovn med fugtighedskammer
- Objektglascentrifuge
- Farvebeholdere, 50-80 ml
- Pipetter

5. Opbevaring og håndtering

Komponenterne i kittet skal opbevares lodret ved 2-8 °C. Opbevar Blue Spot Solution på en måde, så det er beskyttet mod lys. Hvis disse lagerforhold følges, vil produktet fungere uden tab af ydeevne og mindst indtil udløbsdatoen på etiketten.

Returneres til opbevaring umiddelbart efter brug. Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen, som er angivet på etiketten. Produktet er stabilt indtil udløbsdatoen, som er angivet på etiketten, når det behandles korrekt.

6. Advarsler og forsigtighedsregler

- Læs brugsanvisningen før brug!
- Brug ikke produkterne efter udløbsdatoen!
- Rapportér alle alvorlige hændelser i forhold til produktet til producenten og den kompetente myndighed i henhold til lokale regler!
- Nogle af komponenterne i sættet indeholder stoffer (i lave koncentrationer og små mængder), som er sundhedsskadelige. Undgå direkte kontakt med reagenserne. Tag de nødvendige forholdsregler (brug engangshandsker, sikkerhedsbriller og laboratoriekitter)!
- Hvis reagenserne kommer i kontakt med huden, skal der straks skylles med rigelige mængder vand!
- Der kan rekvireres et sikkerhedsdatablad til faguddannede brugere.
- Produkterne må ikke genbruges, medmindre det utrykkeligt er tilladt!
- Undgå krydskontaminering af prøver, da det kan føre til forkerte resultater.
- Det er nødvendigt at benytte adskilte rum til hvert arbejdsstrin med og uden DNA samt at bruge rene borde til præparering af PCR-masterblandingen for at undgå krydskontaminering.
- Chips skal bruges i støvfrie omgivelser. Undgå kontaminering af chipoverfladen med støv eller andre partikler!
- Undgå direkte kontakt med arrayfeltet på chipoverfladen!
- Det er kun den mærkede side af objektglasset, der kan bruges til hybridisering.

Fare- og sikkerhedssætninger for HY-0001:

Den farebestemmende komponent er formamid.

**Fare**

| | |
|-----------|---|
| H351 | Mistænkt for at fremkalde kræft. |
| H360FD | Kan skade forplantningsevnen. Kan skade det ufødte barn. |
| H373 | Kan forårsage organskader ved længerevarende eller gentagen eksponering. |
| P201 | Indhent særlige anvisninger før brug. |
| P202 | Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået. |
| P260 | Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. |
| P280 | Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. |
| P308+P313 | VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp. |
| P405 | Opbevares under lås. |

Fare- og sikkerhedssætninger for AB-0016 og WB-0012:

Den farebestemmende komponent er en reaktionsmasse af: 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazolin-3-one og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).

**Advarsel**

| | |
|-----------|---|
| H317 | Kan forårsage allergisk hudreaktion. |
| P261 | Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. |
| P272 | Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. |
| P280 | Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. |
| P302+P352 | VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt vand. |
| P333+P313 | Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. |
| P362+P364 | Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. |

7. Begrænsninger

- Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- Må kun anvendes af faguddannet personale.
- Kun til ikke-automatisk brug.
- Fortolkning af resultaterne skal udføres med patientens kliniske historie in mente og i forhold til yderligere kliniske og patologiske data af en kvalificeret patolog.
- Komponenterne i kittet tilpasses grundigt til hinanden, og hvis en eller flere komponenter erstattes, kan det medføre fejl i ydeevnen.
- Det er vigtigt at bruge de angivne mængder af komponenterne for at undgå forringelser af reaktionsprocessen.
- Gentagen optøning og frysning af DNA-prøver kan medføre forringelser af påvisningsreaktionen.
- Undlad at arbejde under laminar strømning under analyseproceduren, da dette kan medføre en forringelse af resultaterne.
- Ydeevnen blev valideret med de procedurer, som er beskrevet i denne brugsanvisning. Ændringer i disse procedurer kan ændre ydeevnen og skal valideres af brugeren. Dette *in vitro*-diagnostiske udstyr er kun certificeret som CE, når det anvendes som beskrevet i denne brugsanvisning og inden for anvendelsesformålet.

8. Interfererende stoffer

- Lav PCR-effektivitet pga. PCR-hæmmere i DNA-råmateriale (f.eks. blod).
- Høje koncentrationer af EDTA i DNA-elueringsbuffere kan medføre hæmning af PCR. Brug kun de anbefalede DNA-mængder.
- Brug af PCR-tilsætningsstoffer kan påvirke hybridiseringen (f.eks. DMSO, betain, urinstof)

9. Præparering af prøver

Startmaterialet for dette påvisningssystem er DNA-sekvenser, der er blevet forstørret og biotinyleret med VisionArray PreCise Master Mix.

10. Forberedende behandling af produktet

- Præparering af 1x Wash Buffer: Fortynd 1 del 100x Wash Buffer med 99 dele afioniseret eller destilleret vand (i en lukket beholder er fortyndet 1x Wash Buffer stabil i én måned ved stuetemperatur (18-22 °C)).
- Bring Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution og 1x Wash Buffer til stuetemperatur (18-22 °C). Eventuelle præcipitater i Hybridization Solution skal opløses ved kort opvarmning (maks. 37 °C).
- Opvarm hybridizer eller hybridiseringsovnen til 42 °C før brug.

11. Analyseprocedure

- 1 Fjern beskyttelsescoveret fra arrayfeltets blå rammer.
- 2 Præparering af hybridiseringsblandingen:

20 µl Hybridization Solution
+ 10 µl PCR-produkt
30 µl hybridiseringsblanding (nok til én chip)

Bland hybridiseringsblandingen omhyggeligt ved at pipettere op og ned.

- 3 Pipetter 30 µl af hybridiseringsblandingen omhyggeligt i venstre side af arrayfeltet (med etiketten til højre), mens du sikrer, at du undgår luftbobler. Belæg hele arrayfeltet ved at dække arrayfeltet omhyggeligt fra venstre til højre med det medfølgende plastlåg.
- 4 Overfør hurtigt chippen til den forvarmede hybridizer eller hybridiseringsovn med fugtigheds-kammeret, og inkuber i 30 min. ved 42 °C (+/- 1 °C).

Bemærk: Dette trin skal udføres for hvert array et efter et og aldrig parallelt. Undgå afvigelser på mere end 1 °C. Vi anbefaler, at du bruger et kalibreret termometer.

- 5 Præparer i mellemtiden tre farvebeholdere med 1x Wash Buffer.
- 6 Når inkubationstiden er ovre, skal du tage chippen ud af inkubatoren og fjerne låget forsigtigt. Afdryp hybridiseringsblandingen omhyggeligt på et stykke køkkenrulle, og vask objektglasset øjeblikkeligt i 1x Wash Buffer. Omryst derfor objektglasset varsomt 3 gange i hver retning i den første farvebeholder. Gentag denne vaskeprocedure i den anden farvebeholder. Overfør derefter chippen til den tredje farvebeholder, omryst 3 gange, og inkuber i 1 min.

Bemærk: Brug ikke mere end seks objektglas pr. farvebeholder. Ubrugte objektglas skal opbevares ved hybridiseringstemperaturen. Eksponering for stuetemperatur skal være så kort som muligt.

- 7 Tag chippen ud af farvebeholderen, afdryp den kortvarigt på et stykke køkkenrulle, og tør den ved at centrifugere den i objektglascentrifugen i 15-30 sek.
- Bemærk: Brugen af en objektglascentrifuge er absolut påkrævet for at forhindre, at der er dråber tilbage på arrayet.*
- 8 Pipetter 100 µl Detection Solution omhyggeligt på det tørre arrayfelt uden at berøre overfladen. Arrayfeltet skal være dækket ligeligt, og luftbobler skal fjernes.
- 9 Inkuber i 10 min. på en plan overflade ved stuetemperatur (18-22 °C).
- 10 Præparer i mellemtiden tre farvebeholdere med 1x Wash Buffer.
- 11 Efter inkubation skal du vaske og tørre som beskrevet i trin 6 og 7. Behold den farvebeholder, der blev brugt til sidst i trin 13.

- 12 Anvend forsigtigt 100 µl Blue Spot Solution på hele arrayfeltet, og inkuber i 5 min. ved stuetemperatur (18-22 °C). Farveudviklingen kan ses ved at inspicere den visuelt. I tilfælde af hurtigt og markant farvning skal inkubationen stoppes tidligere.

Bemærk: Blue Spot Solution skal opbevares og inkuberes i mørke.

- 13 Vask Blue Spot Solution på chippen af i 1x Wash Buffer-farvebeholderen fra trin 10 i ca. 15 sek.
- 14 Afdryp chippen kortvarigt på et stykke køkkenrulle, og tør den ved at centrifugere den i objektglascentrifugen i 30 sek.

Chippene er nu klar til analyse med VisionArray Software.

12. Fortolkning af resultater

12.1 Generel bemærkning

Ved hjælp af VisionArray DNA Chip er det muligt at komme med et udsagn om tilstedeværelsen eller fraværet af bestemte DNA-sekvenser. Intensiteten af signalerne er påvirket af frekvensen af målsekvenserne i prøven samt af yderligere faktorer i påvisningssystemet. Det er ikke muligt at bruge de absolutte værdier af signalintensiteten til at bestemme DNA-koncentrationen.

12.2 Evaluering

Efter at have fulgt denne protokol kan chippen evalueres. Positive signaler er synlige på objektglasset som mørkeblå cirkulære områder. Den automatiske evaluering af chippen udføres med den respektive VisionArray Software.

12.3 Softwarebaseret evaluering

Den automatiske evaluering af resultaterne udføres vha. den respektive VisionArray Software. En udførlig manual til chipanalyse medfølger softwaren.

13. Anbefalede kvalitetskontrolprocedurer

For at kunne monitorere korrekt funktion af behandlede prøver og testreagenser skal hvert array ledsages af eksternt validerede positive og negative kontrolprøver. Hvis interne og/eller eksterne kontroller ikke påviser passende farvning, skal resultater med patientprøver betragtes som ugyldige.

14. Ydeevnekarakteristika

Se ydeevnekarakteristikaene for den respektive VisionArray DNA Chip.

15. Bortskaffelse

Reagenserne skal bortskaffes i henhold til lokale regler.

16. Fejlfinding

Enhver afvigelse fra brugsanvisningen kan medføre forringelse af målsekvensens påvisningsreaktion.

| Problem | Mulig årsag | Handling |
|---|--|--|
| Intet signal | Forkert temperatur | Kontrollér hybridiseringstemperaturen |
| | Udløbne reagenser | Kontrollér reagenserne |
| Kun guidepunkter og ingen andre signaler | Problemer med PCR-produktet (PCR er ikke effektiv nok, eller DNA-skabelonen er degraderet) | Kontrollér effektiviteten af PCR med en positiv kontrol; Kontrollér PCR-kemikalierne og termocyclerprogrammet; Kontrollér PCR-produktet i agarosegel |
| | Forkert råmateriale | Kontrollér råmaterialerne |
| | Forkert kombination af chip og prøve | Kontrollér kombinationen af prøve/chip |
| Kun guidepunkter og PCR-kontrol, men ingen andre signaler | Ingen målsekvens er til stede | Brug positiv kontrol |

| | | |
|--|--|--|
| Kun guidepunkter og bestemte signaler, men ingen positiv kontrol | Degraderet prøve | Ny DNA-ekstraktion; opbevar ved -16 til -22 °C |
| For meget baggrund | Inkubationstiden for Detection Solution eller Blue Spot Solution er for lang. Temperaturen under inkubationen er for høj | Kontrollér inkubationstiden for og temperaturen af Detection Solution og Blue Spot Solution |
| | Objektglassene er ikke tørret tilstrækkeligt | Kontrollér tørretrinnene |
| Stærke lækagesignaler | Inkubationstiden for Detection Solution eller Blue Spot Solution er for lang eller temperaturen er for høj | Trinvis tilpasning af inkubationstiden for og temperaturen af Detection Solution og Blue Spot Solution |
| Svage signaler | Hybridiseringstemperaturen er forkert | Kontrollér temperaturen |
| | Hybridiseringstiden er for kort | Forlæng hybridiseringstiden til maks. 30 min. |
| | Inkubationstiden for Detection Solution eller Blue Spot Solution er for kort | Forlæng inkubationstiden for Detection Solution og Blue Spot Solution |
| | Svag PCR-forstørrelse/dårlig kvalitet af DNA-skabelonen | Kontrollér DNA-skabelonen |
| Krydshybridiseringssignaler, falske positive signaler | Kontaminering af PCR-kemikalierne eller PCR-produktet | Erstat den anvendte PCR-kemikalier |
| | Kontaminering under præpareringen af PCR eller hybridiseringsblandingen | Undgå at overføre prøven under præparering af blandingen |
| | Hybridiseringstemperaturen er for lav | Kontrollér hybridiseringstemperaturen |
| | Flere chips er inkuberet i den samme Wash Buffer i for lang tid | Hurtigt udførelse af vasketrinnene |
| Enkelt signal i stedet for dubletter | Mekanisk eliminering af det andet signal, f.eks. pga. kontakt med pipettens tud | Undgå direkte kontakt med arrayfeltet |
| | Ujævn dækning af arrayfeltet pga. luftbobler | Anvend opløsninger uden luftbobler |
| | Svage signaler omkring tærsklen (1 over og 1 under) | Gentag PCR og påvisning med hensyn til de påkrævede forhold i manualen |

17. Revision



www.zytovision.com

Se www.zytovision.com for de nyeste brugsanvisninger samt brugsanvisninger på forskellige sprog.

Vores eksperter kan besvare dine spørgsmål.
Kontakt help@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Tyskland
Telefon: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-mail: info@zytovision.com

Varemærker:

ZytoVision® og VisionArray® er varemærker tilhørende ZytoVision GmbH.