



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 tester

For kvalitativ påvisning av DNA-sekvenser på
VisionArray-brikker

4250380M008PY



In vitro diagnostisk medisinsk utstyr
i henhold til IVDR (EU) 2017/746

1. Beregnet formål

VisionArray Detection Kit er beregnet for bruk med en VisionArray PreCise Master Mix og den tilsvarende VisionArray DNA Chip for kvalitativ påvisning av spesifikke DNA-sekvenser. Den automatiserte analysen må utføres med en VisionArray Software.

Produktet er kun beregnet til profesjonell bruk. Alle tester som bruker produktet skal utføres i et sertifisert, lisensiert anatomisk patologi-laboratorium av kvalifisert personell og under tilsyn av en patolog/humangenetiker.

2. Testprinsipp

DNA-fragmenter med en spesifikk sekvens påvises fra en samling DNA-fragmenter på en glassbrikke ved hjelp av immobiliserte DNA-bindingssekvenser ved bruk av DNA/DNA-hybridisering. For dette påvisningssystemet kan DNA-prøver fra formalinfiksede, parafininnstøpte vevs- eller celleprøver brukes som råmateriale. Som et første trinn må målsekvensene i disse prøvene amplifiseres og biotinyleres ved bruk av PCR. Deretter utføres hybridiseringen mellom de amplifiserte sekvensene og de komplementære DNA-bindingssekvensene. Etter hybridiseringen blir uspesifikt bundet DNA vasket bort ved hjelp av kortvarige, stringente vasketrinn. De spesifikt bundne biotinylerede sekvensene blir deretter sekundært merket med et streptavidin-peroksidase-konjugat og visualisert ved å farge med tetrametylbenzidin (TMB).

3. Reagenser som følger med

Følgende komponenter er inkludert:

Kode	Komponenter	Mengde	Beholder
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Reaksjonskar, rødt lokk
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Flaske med skruhet (stor)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Flaske med skruhet (liten)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Flaske med skruhet (liten), brun
	Bruksanvisning	1	

Hybridization Solution, Detection Solution og Blue Spot Solution er tilstrekkelig til 50 reaksjoner. 100x Wash Buffer er tilstrekkelig for 50 tester med 6 fargingsbeholdere på 70 ml hver.

4. Materialer som kreves, men som ikke medfølger

Reagenser:

- PCR-produkt laget med VisionArray PreCise Master Mix
- Avionisert eller destillert vann

Utstyr:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) eller VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Hybridiseringsenhet eller hybridiseringsovn med fuktighetskammer
- Objektglassentrifuge
- Fargingsbeholdere, 50–80 ml
- Pipetter

5. Oppbevaring og håndtering

Komponentene i settet må oppbevares ved 2–8 °C i oppreist stilling. Oppbevar Blue Spot Solution beskyttet mot lys. Hvis disse oppbevaringsforholdene overholdes, vil produktet fungere uten nedsatt ytelse minst frem til utløpsdatoen som er angitt på etiketten. Returneres til lagringsbetingelsene umiddelbart etter bruk. Ikke bruk reagenser etter utløpsdato angitt på etiketten. Produktet er stabilt til utløpsdato angitt på etiketten ved riktig håndtering.

6. Advarsler og forholdsregler

- Les bruksanvisningen før bruk!
- Ikke bruk produktene etter at utløpsdatoen er nådd!
- Rapport alle alvorlige hendelser som har forekommet i forhold til produktet til produsenten og den kompetente myndigheten i henhold til lokale forskrifter!
- Noen av settkomponentene inneholder stoffer (i lave konsentrasjoner og volum) som er helseskadelige. Unngå all direkte kontakt med reagensene. Iverksett egnede beskyttelsestiltak (bruk engangshansker, vernebriller og laboratoriekler)!
- Hvis reagenser kommer i kontakt med huden, må huden skylles umiddelbart med rikelige mengder vann!
- Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel for profesjonelle brukere.
- Ikke gjenbruk produkter, med mindre gjenbruk er uttrykkelig tillatt!
- Unngå krysskontaminering av prøver da dette kan føre til feil resultater.
- For å unngå kontaminering, må arbeidstrinn med og uten DNA utføres i separate rom, og rene arbeidsbenker må brukes til klargjøring av PCR Master Mix.
- Brikker skal brukes i et støvfritt miljø. Unngå at brikkens overflate kontamineres med støv eller andre partikler!
- Unngå direkte kontakt med matrisefeltet på brikkens overflate!
- Kun den merkede siden av objektglasset kan brukes til hybridisering.

Fare- og sikkerhetssetninger for HY-0001:

Den farebestemmende komponenten er formamid.

**Fare**

H351	Mistenkes for å kunne forårsake kreft.
H360FD	Kan skade forplantningsevnen. Kan gi fosterskader.
H373	Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering.
P201	Innhent særskilt instruks før bruk.
P202	Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
P260	Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
P308+P313	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
P405	Oppbevares innelåst.

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

Den farebestemmende komponenten er en reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-2H-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

**Advarsel**

H317	Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
P261	Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
P272	Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen.
P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
P302+P352	VED HUDKONTAKT: Vask med mye vann.
P333+P313	Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.
P362+P364	Tilsølte klær må fjernes og vaskes før bruk.

7. Begrensninger

- Til *in vitro* diagnostisk bruk.
- Kun til profesjonell bruk.
- Kun til ikke-automatisert bruk.
- Resultatene må tolkes i sammenheng med pasientens anamnese med hensyn til ytterligere kliniske og patologiske data, av en kvalifisert patolog.
- Settkomponentene er nøye tilpasset hverandre, og utskiftning av en eller flere komponenter kan føre til ytelsesfeil.
- Det er viktig å bruke de angitte mengdene av komponentene for å unngå nedsatt reaksjonsprosess.
- Gjentatt tining og frysing av DNA-prøver kan føre til nedsatt påvisningsreaksjon.
- Ikke arbeid under laminær strømming under analyseprosedyren, siden dette kan føre til nedsatte resultater.
- Ytelsen ble validert ved å bruke prosedyrene beskrevet i denne bruksanvisningen. Endringer i disse prosedyrene kan endre ytelsen og må valideres av brukeren. Denne IVDen er kun sertifisert som CE når den brukes som beskrevet i denne bruksanvisningen innenfor rammen av beregnet bruk.

8. Forstyrrende stoffer

- Lav PCR-effekt grunnet PCR-hemmere i DNA-råmaterialet (f.eks. blod).
- Høye konsentrasjoner av EDTA i DNA-elueringsbuffer kan føre til PCR-hemming. Bruk kun de anbefalte mengdene av DNA.
- Bruk av PCR-tilsetningsstoffer som kan påvirke hybridiseringen (f.eks. DMSO, betain, urea).

9. Klargjøring av prøver

Utgangsmaterialet for dette påvisningssystemet er DNA-sekvenser som er amplifisert og biotinyler med en VisionArray PreCise Master Mix.

10. Forberedende behandling av enheten

- Klargjøring av 1x Wash Buffer: Fortynn 1 del 100x Wash Buffer med 99 deler avionisert eller destillert vann (i en lukket beholder er fortynnet 1x Wash Buffer stabil i én måned ved romtemperatur (18–22 °C)).
- Bring Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution og 1x Wash Buffer til romtemperatur (18–22 °C). Eventuelt bunnfall i Hybridization Solution må løses opp ved hjelp av kortvarig oppvarming (maks. 37 °C).
- Varm opp hybridiseringsenheten eller hybridiseringsovnen til 42 °C før bruk.

11. Analyseprosedyre

1 Fjern beskyttelsesdekselet fra de blå rammene i matrisefeltet.

2 Klargjøring av hybridiseringsblandingen:

20 µl Hybridization Solution
+ 10 µl PCR product
30 µl hybridiseringsblanding (tilstrekkelig til én brikke)

Bland hybridiseringsblandingen grundig ved å pipettere opp og ned.

3 Pipetter 30 µl av hybridiseringsblandingen forsiktig på venstre side av matrisefeltet (med etiketten til høyre) og unngå luftbobler. Belegg hele matrisefeltet ved å dekke matrisefeltet varsomt fra venstre til høyre side med det medfølgende plastlokket.

4 Overfør brikken raskt til den forvarmede hybridiseringsenheten eller hybridiseringsovnen med fuktighetskammer og inkuber i 30 min ved 42 °C (+/- 1 °C).

Merk: Dette trinnet skal utføres ett etter ett for hver matrise, aldri parallelt. Avvik på mer enn 1 °C skal unngås. Vi anbefaler bruk av et kalibrert termometer.

5 Klargjør 3 fargingsbeholdere med 1x Wash Buffer i mellomtiden.

6 Når inkubasjonstiden er fullført, tar du brikken ut av inkubatoren og fjerner lokket forsiktig. Tøm ut hybridiseringsblandingen forsiktig på et tørkepapir og vask objektglasset umiddelbart i 1x Wash Buffer. Rist deretter objektglasset varsomt 3 ganger i begge retninger i den første fargingsbeholderen. Gjenta denne vaskeprosedyren i den andre fargingsbeholderen. Etterpå overfører du brikken til den tredje fargingsbeholderen, rister 3 ganger og inkuberer i 1 min.

Merk: Ikke bruk mer enn 6 objektglass per fargingsbeholder. Objektglass som ikke håndteres, skal bli værende ved hybridiseringstemperatur. Eksponering for romtemperatur skal være så kortvarig som mulig.

7 Ta brikken ut av fargingsbeholderen, tøm den raskt på et tørkepapir og tørk den ved å sentrifugere i objektglassentrifugen i 15–30 sek.

Merk: Bruk av en objektglassentrifuge er absolutt påbudt for å forhindre at dråper blir igjen på matrisen.

8 Pipetter 100 µl Detection Solution forsiktig på det tørre matrisefeltet uten å berøre overflaten. Matrisefeltet må være jevnt dekket, og luftbobler må fjernes.

9 Inkuber i 10 min på en jevn overflate ved romtemperatur (18–22 °C).

10 I mellomtiden klargjør du 3 fargingsbeholdere med 1x Wash Buffer.

11 Etter inkubasjon må du vaske og tørke som beskrevet i trinn 6 og 7. Behold fargingsbeholderen som ble brukt sist for trinn 13.

- 12 Påfør 100 µl Blue Spot Solution forsiktig på hele matrisefeltet og inkuber i 5 min ved romtemperatur (18–22 °C). Fargeutviklingen kan observeres med en visuell inspeksjon. Ved rask og kraftig farging kan inkubasjonen stanses tidlig.

Merk: Blue Spot Solution skal oppbevares og inkuberes i mørket.

- 13 Vask bort Blue Spot Solution fra brikken, i 1x Wash Buffer-fargingsbeholderen fra trinn 10, i ca. 15 sek.
- 14 Tøm brikken raskt på et tørkepapir og tørk den ved å sentrifugere i objektglassentrifugen i 30 sek.

Brikkene er nå klare til analysering med VisionArray Software.

12. Tolking av resultater

12.1 Generell merknad

Ved bruk av VisionArray DNA Chip kan man uttrykke tilstedeværelse eller fravær av spesifikke DNA-sekvenser. Styrken av signalene påvirkes av frekvensen av målsekvenser i prøven og av andre faktorer på påvisningssystemet. De absolutte verdiene for signalstyrken kan ikke brukes til å bestemme DNA-konsentrasjon.

12.2 Evaluering

Etter at denne protokollen er fulgt, kan brikken evalueres. Positive signaler vises på objektglasset som mørkeblå sirkelformede områder. Den automatiske evalueringen av brikken utføres med den relevante VisionArray Software.

12.3 Programvarebasert evaluering

Den automatiske evalueringen av resultatene utføres av den relevante VisionArray Software. En omfattende håndbok for brikkeanalyse følger med programvaren.

13. Anbefalte kvalitetskontrollprosedyrer

For å overvåke korrekt ytelse av behandlede prøver og testreagenser, bør hver analyse ledsages av eksterne validerte positive og negative kontrollprøver. Hvis interne og/eller eksterne kontroller ikke viser passende farging, må resultater med pasientprøver anses som ugyldige.

14. Ytelsesegenskaper

Se ytelsesegenskapene for den relevante VisionArray DNA Chip.

15. Avfallsbehandling

Avfallsbehandling av reagenser må utføres i henhold til lokale forskrifter.

16. Feilsøking

Ethvert avvik fra bruksanvisningen kan føre til nedsatt påvisningsreaksjon av målsekvensen.

Problem	Mulig årsak	Handling
Manglende signal	Feil temperatur	Kontroller hybridiseringstemperaturen
	Reagenser har gått ut på dato	Kontroller reagensene
Kun veiledningsprikker og ingen andre signaler	Problemer med PCR-produktet (PCR ikke effektiv nok eller forringet DNA-templat)	Kontroller PCR-effektiviteten med en positiv kontroll; Kontroller PCR-kjemikalier og termisk sykler-program; Kontroller PCR-produktet i agarosegel
	Feil råmateriale	Kontroller råmaterialene
	Feil kombinasjon av brikke og prøve	Kontroller prøve-/brikkekombinasjonen
Kun veiledningsprikker og PCR-kontroll, men ingen andre signaler	Ingen målsekvens til stede	Bruk positiv kontroll

Kun veiledningsprikker og spesifikke signaler, men ingen positiv kontroll	Forringet prøve	Ny DNA-ekstraksjon, oppbevar ved -16–22 °C
For mye bakgrunn	Inkubasjonstid for Detection Solution eller Blue Spot Solution for lang; temperatur under inkubasjon for høy	Kontroller inkubasjonstiden og -temperaturen til Detection Solution og Blue Spot Solution
	Objektglass ikke helt tørket	Kontroller tørketrinnet
Sterke, lekkende signaler	Inkubasjonstid for Detection Solution eller Blue Spot Solution for lang eller temperatur for høy	Trinnvis justering av inkubasjonstiden og -temperaturen til Detection Solution og Blue Spot Solution
Svake signaler	Feil hybridiseringstemperatur	Kontroller temperaturen
	Hybridiseringstid for kort	Forleng hybridiseringstiden til maks. 30 minutter
	Inkubasjonstid for Detection Solution eller Blue Spot Solution for kort	Forleng inkubasjonstiden for Detection Solution og Blue Spot Solution
	Svak PCR-amplifikasjon/DNA-templat med dårlig kvalitet	Kontroller DNA-templatet
Krysshybridiserings signaler, falskt positive signaler	Kontaminering av PCR-kjemikaliene eller PCR-produktet	Bytt de anvendte PCR-kjemikaliene
	Kontaminering under klargjøring av PCR eller hybridiseringsblandingen	Unngå overføring av prøven under klargjøring av blandingen
	Hybridiseringstemperatur for lav	Kontroller hybridiseringstemperaturen
	Flere brikker inkubert for lenge i samme vaskebuffer	Rask utførelse av vasketrinnene
Enkelt signal i stedet for duplikater	Mekanisk eliminering av det andre signalet, f.eks. grunnet kontakt med pipettespissen	Unngå direkte kontakt med matrisefeltet
	Uregelmessig tildekking av matrisefeltet grunnet luftbobler	Påfør løsningene uten luftbobler
	Svake signaler rundt terskelen (1 over og 1 under)	Gjenta PCR og påvisning i samsvar med betingelsene som kreves i denne håndboken

17. Revisjon



www.zytovision.com

Se www.zytovision.com for den nyeste bruksanvisningen samt for bruksanvisning på forskjellige språk.

Våre eksperter er tilgjengelige for å svare på dine spørsmål.

Kontakt help@zytovision.com



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

Varemerker:

ZytoVision® og VisionArray® er et varemerke for ZytoVision GmbH.