



VisionArray HPV Chip 1.0

| | | | |
|-----|------------|---|-----------|
| REF | VA-0001-10 | Σ | 10 testów |
| REF | VA-0001-50 | Σ | 50 testów |

Do specyficznej detekcji 41 typów wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV), które zostały wyprodukowane przy pomocy VisionArray HPV PreCise Master Mix.



Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*
zgodnie z dyrektywą 98/79/WE

1. Przeznaczenie

VisionArray HPV Chip 1.0 jest przeznaczony do stosowania z VisionArray Analysis Package do jako ciowego wykrywania amplifikatów reakcji PCR 41 istotnych klinicznie genotypów wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV), które zostały wyprodukowane przy pomocy VisionArray HPV PreCise Master Mix.

Produkt jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro* (zgodnie z dyrektywą UE 98/79/EC). Interpretacja wyników musi być dokonana przez wykwalifikowanego patologa w kontekście historii klinicznej pacjenta, w odniesieniu do dalszych danych klinicznych i patologicznych pacjenta.

2. Znaczenie kliniczne

Zakażenia HPV są powszechne i stanowią główny czynnik ryzyka rozwoju np. raka szyjki macicy. Obecnie opisano ponad 150 różnych typów HPV. W zależności od ryzyka wywołania raka są one podzielone na typy niskiego ryzyka (LR), prawdopodobnie wysokiego ryzyka i wysokiego ryzyka (HR).

VisionArray HPV Chip 1.0 został zaprojektowany do wykrywania następujących 41 genotypów:

Klasyfikacja 41 genotypów HPV w VisionArray HPV Chip 1.0

| Wysokiego Ryzyka (HR) | Prawdopodobnie Wysokiego Ryzyka | Niskiego Ryzyka (LR) |
|--|---|---|
| 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 | 26, 34, 53, 66, 67, 68a, 68b, 69, 70, 73, 82IS39, 82MM4 | 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 57, 61, 62, 72, 81CP8304, 83MM7, 84MM8, 90, 91 |

Typy HPV zostały sklasyfikowane zgodnie z aktualną literaturą naukową.

3. Zasada testu

Fragmety DNA o określonej sekwencji są wykrywane z puli fragmentów DNA na szklanej macierzy za pomocą unieruchomionych sekwencji wychwytyjących DNA przez hybryzację DNA / DNA. Do tego systemu wykrywania można stosować materiał wyjściowy z próbek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie lub komórek. W pierwszym etapie sekwencje docelowe w tych próbkach muszą być amplifikowane i biotynylowane w reakcji PCR. Hybrydzacja między amplifikowanymi sekwencjami i komplementarnymi wychwytyjącymi fragmentami DNA jest przeprowadzana później. Po hybrydzacji niespecyficznie związany DNA jest wyłukiwany przez krótkie i ostre etapy przemywania. Specyficznie związane biotynylowane sekwencje są następnie znakowane wtórnie za pomocą koniugatu streptawidyna-peroksydaza i wizualizowane przez barwienie tetrametylobenzydyną (TMB).

4. Dostarczone odczynniki

Następujące składniki są zawarte:

| Nr. kat. | Składniki | Liczba testów | |
|----------|--------------------------|---------------|------|
| | | 10 | 50 |
| VA-0001 | VisionArray HPV Chip 1.0 | 10 | 5x10 |
| | Instrukcja użycia | 1 | 1 |

Opis macierzy:

Położenie sekwencji wychwytyjących na macierzy:

| | | | | | | | | | |
|-----|----|----|----|---------|--------|--------|---------|-----|----|
| GD | | + | 6 | 11 | 16 | 18 | 26 | | GD |
| | | 31 | 33 | 34 | 35 | 39 | 40 | | |
| 42 | 43 | 44 | 45 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 |
| 57 | 58 | 59 | 61 | 62 | 66 | 67 | 68a | 68b | 69 |
| 70 | 72 | 73 | 81 | 82 IS39 | 82 MM4 | 83 | 84 | 90 | 91 |
| 35 | 34 | 33 | 31 | 26 | 18 | 16 | 11 | 6 | + |
| 54 | 53 | 52 | 51 | 45 | 44 | 43 | 42 | 40 | 39 |
| 68a | 67 | 66 | 62 | 61 | 59 | 58 | 57 | 56 | 55 |
| | | 81 | 73 | 72 | 70 | 69 | 68b | | |
| GD | | 91 | 90 | 84 | 83 | 82 MM4 | 82 IS39 | | |

■ High Risk HPV-Type
 ■ Probably High Risk HPV-Type
 ■ Low Risk HPV-Type
 ■ Guide Dots (GD)/Positive Control (+)

*HPV 55 jest klasyfikowany obecnie jako podtyp HPV 44, ale ze względu na spójność jest nadal oznaczony jako HPV 55.

5. Materiały wymagane, ale nie dostarczane

- VisionArray Analysis Package SingleScan (E-4060) lub VisionArray Analysis Package MultiScan (E-4070)
- VisionArray HPV PreCise Master Mix (ES-0007)
- VisionArray Detection Kit (VK-0003)

VisionArray Analysis Packages do prawidłowego skanowania musi zawierać pliki VisionArray HPV Chip File 1.0 (E-4201).

6. Przechowywanie i obsługa

Macierze muszą być przechowywane w nienaruszonym oryginalnym opakowaniu w temperaturze -16...-22°C. Jeśli te warunki przechowywania są przestrzegane, macierze są stabilne bez utraty wydajności przynajmniej do daty ważności wydrukowanej na etykiecie.

Po otwarciu oryginalnego opakowania przechowywać w temperaturze -16...-22°C i zużyć produkt w ciągu dwóch miesięcy.

7. Ostrzeżenie i środki ostrożności

- Przeczytaj instrukcję użytkowania przed użyciem!
- Nie stosować macierzy po przekroczeniu daty ważności!
- Macierze należy stosować w warunkach bezpyłowych. Należy unikać zanieczyszczenia powierzchni macierzy pyłem, kurzem lub innymi cząstkami!
- Należy unikać bezpośredniego kontaktu z polem na powierzchni macierzy!
- Tylko oznaczona strona szkiełka może być użyta do hybrydyzacji.
- Należy unikać krzyżowego zanieczyszczenia próbki, które może prowadzić do błędnych wyników.

8. Ograniczenia

- Do zastosowań w diagnostyce *in vitro*.
- Tylko do użytku profesjonalnego.
- Interpretacja wyników musi być dokonana w kontekście historii klinicznej pacjenta w odniesieniu do dalszych danych klinicznych i patologicznych przez wykwalifikowanego patologa.
- Macierz powinna być używana tylko do wykrywania typów HPV opisanych w punkcie 2. „Znaczenie kliniczne”.

Ponadto następujące czynniki mogą wpływać na system wykrywania:

- Odchylenie od proponowanego protokołu detekcji (np. temperatura lub objętość odczynników).
- Zdegradowane lub o niskim stężeniu DNA materiału.
- Niewłaściwy materiał wyjściowy.
- Stosowanie nieskalibrowanego lub uszkodzonego wyposażenia.
- W przypadku silnych zakażeń HPV lub w przypadku wielu zakażeń intensywność kontroli pozytywnej PCR może być osłabiona.
- Nie pracować przy włączonym laminarze podczas przeprowadzania procedury testu, ponieważ może to prowadzić do pogorszenia wyników.

9. Substancje zakłócające

- Niska wydajność reakcji PCR spowodowana inhibitorami PCR w materiale wyjściowym (np. krwi).
- Zastosowanie dodatków PCR, które mogłyby wpłynąć na hybrydyzację (np. DMSO, betaina, mocznik).

10. Przygotowanie próbek

Materiałem wyjściowym dla tego systemu wykrywania są produkty amplifikacji PCR, które zostały wyprodukowane przy użyciu VisionArray HPV PreCise Master Mix.

Hybrydyzacja i detekcja na macierzy musi być wykonana za pomocą zestawu VisionArray Detection Kit zgodnie z instrukcją użytkowania.

11. Obróbka wstępna produktu

Przed użyciem przenieść szkiełka z matrycą do temperatury pokojowej (18...25°C).

12. Procedura testu

Wykonać skanowanie zgodnie z instrukcjami użytkowania odpowiedniego zestawu do analizy VisionArray Analysis Package.

13. Interpretacja wyników

Z pomocą VisionArray HPV Chip 1.0, możliwe jest uzyskanie jakościowego stwierdzenia obecności lub braku jednego lub więcej z 41 typów HPV w badanej próbce.

Na intensywność sygnałów wpływa dominacja sekwencji docelowych w próbce, a także różne czynniki systemu detekcji. Bez względu na liczbę intensywności sygnału nie można użyć do kwantyfikacji stężenia DNA.

Ocena oparta na oprogramowaniu

Zautomatyzowaną ocenę wyników wykonuje odpowiednie oprogramowanie VisionArray Analyzer Software. Obszerny podręcznik do analizy macierzy jest dołączony do oprogramowania.

14. Rekomendowane procedury kontroli jakości

Wewnętrzne kontrole:

- Punkty nawigacyjne / Kontrola hybrydyzacji (GD): Te punkty są używane przez odpowiednie oprogramowanie VisionArray Analyzer Software do pozycjonowania siatki. Dodatkowo, barwienie kropek prowadzących jest dowodem na pomyślną reakcję hybrydyzacji, znakowania i reakcji barwienia oraz jest wykorzystywane do obliczania względnej intensywności sygnałów.
- Pozytywna kontrola/kontrola PCR (+): Kontrole te są wykorzystywane do oceny reakcji PCR i jakości matrycy PCR.
- Wszystkie sekwencje wychwytyjące na macierzy i kontrola pozytywna są ustawione na siatce jako duplikaty, a kropki nawigacyjne jako triplet. Sygnały są widoczne na macierzy jako kołowe sygnały hybrydyzacji.

Zewnętrzne kontrole:

Aby monitorować prawidłowe działanie przygotowanych próbek i odczynników testowych, każdemu testowi powinny towarzyszyć zewnętrzne kontrolne próbki kontroli pozytywnej i negatywnej. Jeśli jakkolwiek kontrola wewnętrzna i / lub zewnętrzna nie wykaże odpowiedniego barwienia, wyniki z próbkami pacjenta należy uznać za nieważne.

15. Charakterystyka wydajności

15.1 Wydajność i analityczność

Analityczność i czułość VisionArray HPV Chip 1.0 była testowana na każdym z 41 typów HPV osobno. W tym celu przetestowano sekwencje plazmidów o stężeniu 50-500000 równoważników genomu (GEQ). W dodatkowym eksperymencie do oceny HPV 16 i HPV 18. Zastosowano standardy zatwierdzone przez WHO. Wyniki testów z rozcieńczeniami plazmidów i testów z normami zatwierdzonymi przez WHO były spójne.

Specyficzność i granica wykrywalności dla wszystkich typów HPV:

| Typ HPV | Specyficzność [%] | Granica wykrywalności (GEQ) |
|----------|-------------------|-----------------------------|
| 6 | 100 | 50 |
| 11 | 100 | 50 |
| 16 (HR) | 100 | 50 |
| 18 (HR) | 100 | 50 |
| 26 | 100 | 500 |
| 31 (HR) | 100 | 500 |
| 33 (HR) | 100 | 50 |
| 34 | 100 | 50 |
| 35 (HR) | 100 | 50 |
| 39 (HR) | 100 | 50 |
| 40 | 99.2 | 50 |
| 42 | 100 | 500 |
| 43 | 100 | 500 |
| 44 | 100 | 500 |
| 45 (HR) | 100 | 50 |
| 51 (HR) | 100 | 50 |
| 52 (HR) | 100 | 500 |
| 53 | 100 | 500 |
| 54 | 100 | 50 |
| 55 | 100 | 5,000 |
| 56 (HR) | 100 | 50 |
| 57 | 100 | 500 |
| 58 (HR) | 100 | 500 |
| 59 (HR) | 100 | 5,000 |
| 61 | 100 | 500 |
| 62 | 100 | 500 |
| 66 | 100 | 500 |
| 67 | 100 | 50 |
| 68a | 100 | 5,000 |
| 68b | 97.6 | 500 |
| 69 | 100 | 500 |
| 70 | 100 | 50 |
| 72 | 100 | 5,000 |
| 73 | 100 | 5,000 |
| 81CP8304 | 98.4 | 50 |
| 82IS39 | 100 | 50 |
| 82MM4 | 100 | 500 |
| 83MM7 | 100 | 500 |
| 84MM8 | 100 | 5,000 |
| 90 | 100 | 500 |
| 91 | 100 | 500 |

Czułość zależy od ilości i wydajności cykli PCR oraz powinowactwa do elementu wychwytyjącego.

Określoną czułość dotyczy wykrywania pojedynczej sekwencji docelowej. Detekcja wielokrotnego zakażenia może prowadzić do osłabienia czułości niektórych typów HPV z powodu współzawodnictwa w reakcji PCR, zwłaszcza w mieszanych próbkach z silną różnicą stężenia.

Działanie zostało zatwierdzone przy użyciu procedur opisanych w niniejszej instrukcji użytkowania. Modyfikacje tych procedur mogą zmienić wydajność i muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

15.2 Krzyżowe hybrydyzacje:

- W przypadku wysokich stężeń HPV 70 hybryduje z HPV 40 w 33% przypadków. Jednak w niższych stężeniach nie zaobserwowano hybrydyzacji krzyżowej.
- W przypadku wysokich stężeń HPV 62 hybryduje z HPV 81 w 66% przypadków. Jednak w niższych stężeniach nie zaobserwowano hybrydyzacji krzyżowej.
- W przypadku wysokich stężeń HPV 68a hybryduje z HPV 68b w 50% przypadków. W niższych stężeniach można zaobserwować brak krzyżowej hybrydyzacji. Jednak HPV 68b jest subtypem i dlatego w wysokich stężeniach nie można odróżnić od HPV 68a.

15.3 Odcięcie

Do oceny wyników rozmiar kropki jest ustawiony na 50.

Próg (odcięcie) został ustawiony na 25 dla obrazu w skali szarości tego rozmiaru kropki. Sygnał poniżej tej wartości jest uważany za tło przez odpowiednie oprogramowanie VisionArray Analyzer Software.

16. Utylizacja

Utylizacja odczynników musi odbyć się zgodnie z lokalnymi przepisami.

17. Rozwiązywanie problemów

Wszelkie odstępstwa od instrukcji obsługi mogą prowadzić do pogorszenia reakcji wykrywania sekwencji docelowej.

| Problem | Możliwa przyczyna | Działanie |
|---|--|---|
| Brak sygnału | Zła temperatura | Sprawdź temperaturę hybrydyzacji |
| | Przetknięte odczynniki | Sprawdź odczynniki |
| Tylko sygnały nawigacyjne i żadne inne | Problemy z produktami PCR (PCR nie jest wystarczająco wydajny lub matryca DNA uległa degradacji) | Sprawdź wydajność PCR z kontrolą pozytywną; Sprawdź odczynniki do PCR i program termocyklera; Sprawdź produkt PCR w żelu agarozowym |
| | Niewłaściwy materiał wyjściowy | Sprawdź materiał wyjściowy |
| | Niewłaściwa kombinacja matrycy i próbki | Sprawdź kombinację próbki/matrycy |
| Tylko sygnały nawigacyjne i kontrole PCR obecne i żadne inne sygnały | Brak sekwencji docelowej | Zastosuj kontrolę pozytywną |
| Tylko sygnały nawigacyjne i sygnały HPV obecne i brak kontroli pozytywnej | Silna infekcja HPV lub infekcja wielokrotna HPV | Rozcieńcz próbkę DNA |
| | Zdegradowana próbka | Nowa ekstrakcja DNA; przechowywać w temperaturze -16...-22°C |
| Za duże tło | Zbyt długa inkubacja z Detection Solution lub Blue Spot Solution; zbyt wysoka temperatura w czasie inkubacji | Sprawdź czas i temperaturę inkubacji z Detection Solution i Blue Spot Solution |
| | Szkiełka nie są odpowiednio wysuszone | Sprawdź krok suszenia |
| Zbyt silne sygnały | Zbyt długa inkubacja z Detection Solution lub Blue Spot Solution; zbyt wysoka temperatura w czasie inkubacji | Stopniowa regulacja czasu inkubacji i temperatury z Detection Solution i Blue Spot Solution |
| Słabe sygnały | Niewłaściwa temperatura hybrydyzacji | Sprawdź temperaturę |

| | | |
|--|--|--|
| | Zbyt krótki czas hybrydyzacji | Wydłuż czas hybrydyzacji do maksymalnie 30 min |
| | Zbyt krótki czas inkubacji z Detection Solution lub Blue Spot Solution | Wydłuż czas inkubacji z Detection Solution lub Blue Spot Solution |
| | Słaba amplifikacja PCR/zła jakość matrycy DNA | Sprawdź matrycę DNA |
| Sygnały hybrydyzacji krzyżowej, sygnały fałszywie dodatnie | Zanieczyszczenie odczynników do PCR lub produktów reakcji PCR | Wymień odczynniki do PCR |
| | Zanieczyszczenie podczas przygotowywania do PCR lub mieszaniny hybrydyzacyjnej | Unikaj przenoszenia próbek podczas przygotowywania mieszaniny |
| | Zbyt niska temperatura hybrydyzacji | Sprawdź temperaturę hybrydyzacji |
| | Zbyt długa inkubacja kilku macierzy w tym samym buforze płuczącym | Szybkie wykonanie etapów płukania |
| Pojedyncze sygnały zamiast duplikatów | Mechaniczne usunięcie drugiego sygnału, np. podczas kontaktu z końcówką pipety | Unikaj bezpośredniego kontaktu z powierzchnią matrycy |
| | Nieregularne pokrycie pola matrycy przez pęcherzyki powietrza | Nanieś roztwory bez pęcherzy powietrza |
| | Słabe sygnały wokół progu (1 powyżej i 1 poniżej) | Powtórz PCR i detekcję z uwzględnieniem warunków wymaganych w instrukcji |

18. Literatura

- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 100, 2012; ISBN 978 92 832 1319 2
- WHO Human Papillomavirus Laboratory Manual, First edition, 2009.
- Schmitt M, et al. (2008) Journal of Clinical Microbiology 46:1050-1059.
- Schmitt M, et al. (2013) International Journal of Cancer 132:2395-2403.

Nasi eksperci są gotowi odpowiedzieć na Państwa pytania.

Prosimy o kontakt help@zytovision.com



42 life sciences GmbH & Co. KG
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Niemcy
Telefon: +49 471 4832-500
Fax: +49 471 4832-308
www.42ls.com
Email: info@42ls.com

Dystrybutor:

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

Znaki towarowe:

VisionArray® to znaki towarowe
42 life sciences GmbH & Co. KG