



## VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 tester

För kvalitativ detektion av DNA-sekvenser på  
VisionArray Chips

4250380M008PY



Medicinteknisk produkt för in vitro diagnostik  
i enlighet med IVDR (EU) 2017/746

### 1. Avsett syfte

VisionArray Detection Kit är avsedd för användning med en VisionArray PreCise Master Mix och motsvarande VisionArray DNA Chip för kvalitativ detektion av specifika DNA-sekvenser. Den automatiserade analysen ska genomföras med VisionArray Software.

Produkten är endast avsedd för professionell användning. Alla tester där produkten används ska genomföras i ett certifierat, licensierat laboratorium av kvalificerad personal under överinseende av en patolog/humangenetiker.

### 2. Testprincip

DNA-fragment med en specifik sekvens detekteras från en pool av DNA-fragment på ett glaschip genom DNA/DNA-hybridisering, med hjälp av immobiliserade DNA-fångningssekvenser. För detta detektionssystem kan DNA-prover från formalinfixerade, paraffinbäddade vävnads- eller cellprov användas som råmaterial. Som ett första steg måste målsekvenserna i dessa prov förstärkas och biotinyleras med PCR. Därefter utförs hybridiseringen mellan de förstärkta sekvenserna och de komplementära DNA-infångningssekvenserna. Efter hybridiseringen tvättas ospecifikt bundet DNA bort i korta stringenta tvättsekvenser. De specifikt bundna biotinylerade sekvenserna märks sekundärt med ett streptavidinperoxidaskonjugat efteråt och synliggörs med tetrametylbensidin (TMB)-färgning.

### 3. Tillhandahållen reagens

Följande komponenter ingår:

Kod	Komponent	Mängd	Behållare
HY-0001-1	Hybridiseringslösning	1 ml	Reaktionskärl, rött lock
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Flaska med skruvlock (stor)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Flaska med skruvlock (liten)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Flaska med skruvlock (liten), brun
	Bruksanvisning	1	

Hybridization Solution, Detection Solution, och Blue Spot Solution räcker till 50 reaktioner. 100x Wash Buffer räcker till 50 tester med 6 färgningsburkar på 70 ml vardera.

### 4. Material som krävs, men inte tillhandahålls

#### Reagens:

- PCR-produkt skapad med en VisionArray PreCise Master Mix
- Avjoniserat eller destillerat vatten

#### Utrustning:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) eller VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Hybridiserare eller hybridiseringsugn med fuktkammare
- Objektglascentrifug
- Färgningsburkar, 50-80 ml
- Pipetter

### 5. Förvaring och hantering

Komponenterna i satsen måste förvaras vid 2...8 °C i upprätt position. Förvara Blue Spot Solution skyddat från ljus. Om dessa förvaringsvillkor följs kommer produkten att fungera, utan förlust av prestanda, åtminstone fram till det utgångsdatum som står angivet på etiketten.

Återgå till förvaringsförhållanden omedelbart efter användning. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som anges på etiketten. Produkten är stabil fram till det utgångsdatum som anges på etiketten om den hanteras i enlighet med denna.

### 6. Varningar och försiktighetsåtgärder

- Läs instruktionerna före användning!
- Använd inte produkterna efter utgångsdatumet!
- Rapportera alla allvarliga incidenter som inträffat i samband med produkten till tillverkaren och den behöriga myndigheten enligt lokala bestämmelser!
- Vissa av komponenterna i satsen innehåller ämnen (i låga koncentrationer och volymer) som är skadliga för hälsan. Undvik varje direktkontakt med reagens. Vidta lämpliga skyddsåtgärder (använd engångshandskar, skyddsglasögon och labbkläder)!
- Om reagens kommer i kontakt med huden, skölj genast huden med rikliga mängder vatten!
- Ett materialsäkerhetsdatablad finns tillgängligt för den professionella användaren på begäran.
- Återanvänd inte produkterna, såvida inte återanvändning uttryckligen tillåts!
- Undvik korskontaminering av prov eftersom detta kan leda till felaktiga resultat.
- De olika arbetsstegen med och utan DNA måste utföras i separata rum och beredningen av PCR-mastermixen får bara göras på rena bänkar. Detta för att undvika kontaminering.
- Chip ska användas i en dammfri miljö. Undvik att chipytan kontamineras av damm eller andra partiklar!
- Undvik direktkontakt mellan arrayfältet och chipytan!
- Endast den märkta sidan av objektglaset kan användas för hybridisering.

**Faro- och skyddsangivelser för HY-0001:**

Den farobestämmande komponenten är formamid.

**Fara**

H351	Misstänks kunna orsaka cancer.
H360FD	Kan minska fertiliteten. Kan skada det födda barnet.
H373	Kan orsaka organskador genom långvarig eller upprepad exponering.
P201	Inhämta särskilda instruktioner före användning.
P202	Använd inte förrän du läst och förstått säkerhetsanvisningarna.
P260	Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
P308+P313	Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp.
P405	Förvaras inlåst.

**Faro- och skyddsangivelser för AB-0016 och WB-0012:**

Den farobestämmande komponenten är en reaktionsblandning av: 5-kloro-2-metyl-2H-isotiazolin-3-on och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

**Varning**

H317	Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
P261	Undvik att inandas damm/rök/gaser/mist/ångor/sprej.
P272	Kontaminerade arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen.
P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
P302+P352	VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
P333+P313	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
P362+P364	Kontaminerade kläder tas av och tvättas innan de används igen.

**7. Begränsningar**

- För *in vitro* diagnostisk användning.
- Endast för professionell användning.
- Endast för icke-automatiserad användning.
- Tolkning av resultat måste göras av en kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska historia med hänsyn till ytterligare kliniska och patologiska data.
- Komponenterna i satsen är noggrant anpassade till varandra och byte av en eller flera komponenter kan leda till prestandafel.
- Det är viktigt att använda de angivna mängderna av komponenterna för att undvika försämringar av reaktionsprocessen.
- Upprepad upptining och frysning av DNA-proven kan leda till en försämring av detektionsreaktionen.
- Arbeta inte under laminärt flöde under analysproceduren eftersom detta kan leda till försämring av resultaten.
- Prestandan validerades med de procedurer som beskrivs i dessa bruksanvisningar. Ändringar av dessa procedurer kan förändra effekten, och måste valideras av användaren. Denna IVD är endast certifierad som CE när den används enligt beskrivningen i denna bruksanvisning för användning inom ramen för den avsedda användningen.

**8. Störande ämnen**

- Låg PCR-effektivitet på grund av PCR-hämmare i DNA-råmaterial (t.ex. blod).
- Höga koncentrationer av EDTA i DNA-elueringsbuffertar kan leda till en hämning av PCR. Använd endast de rekommenderade mängderna DNA.
- Användning av PCR-tillsatser som kan påverka hybridiseringen (t.ex. DMSO, betain, urea).

**9. Förberedelse av specimen**

Utgångsmaterial för detta detektionssystem är DNA-sekvenser som har amplifierats och biotinylerats med en VisionArray PreCise Master Mix.

**10. Förbehandling av enheten**

- Förberedelse av 1x Wash Buffer: Späd 1 del 100x Wash Buffer med 99 delar avjoniserat eller destillerat vatten (i en sluten behållare utspädd 1x Wash Buffer är stabil i en månad vid RT (18...22 °C)).
- Försätt Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution, och 1x Wash Buffer i RT (18...22 °C). Eventuella fällningar i hybridiseringslösningen måste lösas genom en kort uppvärmning (max. 37 °C).
- Värm hybridisatorn eller hybridiseringsugnen till 42 °C före användning.

**11. Provförfarande**

- Ta bort skyddet från de blå ramarna i arrayfältet.
- Beredning av hybridiseringsblandningen:

20 µl Hybridiseringslösning  
+ 10 µl PCR product  
30 µl hybridiseringslösning (tillräckligt för ett chip)

Blanda hybridiseringsblandningen noggrant genom att pipettera upp och ner.

- Pipettera 30 µl av hybridiseringsblandningen försiktigt på vänster sida av arrayfältet (med etiketten till höger) för att undvika instängda luftbubblor. Belägg hela arrayfältet genom att försiktigt täcka det från vänster till höger sida med det medföljande plastlocket.
- Överför chipet snabbt till den förvärmade hybridisatorn eller hybridiseringsugnen med fukt-kammare och inkubera 30 minuter vid 42 °C (+/- 1 °C).

*Notera: Detta steg bör göras separat för varje array, i ordningsföljd, aldrig parallellt. Avvikelse över 1 °C bör undvikas. Vårt råd är att använda en kalibrerad termometer.*

- Förbered 3 färgningsburkar 1x Wash Buffer under tiden.
- När inkubationstiden har gått, ta ut chipet ur inkubatorn och ta bort locket försiktigt. Låt hybridiseringsblandningen försiktigt rinna av på en pappersservett och tvätta objektglaset omedelbart i 1x Wash Buffer. Rör därför försiktigt om objektglaset 3 gånger åt båda håll i den första färgningsburken. Upprepa denna tvättprocedur i den andra färgningsburken. Överför sedan chipet till den tredje färgningsburken, rör om 3 gånger och inkubera i 1 min.

*Notera: Använd inte fler än sex objektglas per färgningsburk. Ej hanterade objektglas bör hållas i hybridiseringstemperatur. Exponeringen för rumstemperatur bör vara så kort som möjligt.*

- Ta ut chipet ur färgningsburken, dränera det kort på en duk och torka det genom centrifugering i objektglascentrifugen i 15-30 s.

*Notera: Det är obligatoriskt att använda en objektglascentrifug, för att förhindra att droppar lämnas kvar på arrayen.*

- Pipettera 100 µl Detection Solution försiktigt på det torra fältet utan att vidröra ytan. Arrayfältet måste täckas jämnt och luftbubblor måste avlägsnas.
- Inkubera i 10 min på en jämn yta vid RT (18...22 °C).
- Förbered 3 färgningsburkar 1x Wash Buffer under tiden.
- Efter inkubation, tvätta och torka enligt beskrivningen i steg 6 och 7. Behåll färgningsburken som användes senast till steg 13.

- 12 Applicera 100 µl Blue Spot Solution försiktigt på hela arrayfältet och inkubera i 5 minuter vid RT (18...22 °C). Färgutvecklingen kan observeras genom visuell inspektion. Vid en snabb och kraftig färgning kan inkubationen avbrytas tidigt.

*Notera: Blue Spot Solution ska förvaras och inkuberas i mörker.*

- 13 Tvätta av Blue Spot Solution på chippet, i 1x Wash Buffer färgningsburken från steg 10, i ungefär 15 sek.
- 14 Låt chippet rinna av kort på en duk och torka det genom centrifugering i objektglascentrifugen i 30 s.

Chippen är nu redo för analys med VisionArray Software.

## 12. Tolkning av resultaten

### 12.1 Allmänna anteckningar

Med hjälp av VisionArray DNA Chip är det möjligt att göra ett uttalande om förekomsten eller frånvaron av specifika DNA-sekvenser. Signalernas intensitet påverkas av frekvensen för målsekvenserna i provet såväl som av ytterligare faktorer i detektionssystemet. Det är inte möjligt att använda de absoluta värdena för signalintensiteten för bestämning av DNA-koncentrationen.

### 12.2 Utvärdering

När protokollet följts kan chippet utvärderas. Positiva signaler är synliga på bilden som mörkblå cirkulära områden. Den automatiska utvärderingen av chippet utförs med respektive VisionArray Software.

### 12.3 Programvarubaserad utvärdering

Den automatiska utvärderingen av resultaten utförs med respektive VisionArray Software. En omfattande manual för en chipanalys bifogas programvaran.

## 13. Rekommenderade procedurer för kvalitetskontroll

För att övervaka korrekt prestanda för bearbetade specimen och testreagens bör varje analys åtföljas av externa validerade positiva och negativa kontrollspecimen. Om interna och/eller externa kontroller inte visar lämplig färgning, måste resultat med patientspecimen anses vara ogiltiga.

## 14. Prestandaegenskaper

Se prestandaegenskaperna för respektive VisionArray DNA Chip.

## 15. Kassering

Reagensen måste avfallshanteras enligt lokala bestämmelser.

## 16. Felsökning

En avvikelse från bruksanvisningen kan leda till försämringar av målsekvensens detektionsreaktion.

Problem	Möjlig orsak	Åtgärd
Ingen signal	Fel temperatur	Kontrollera hybridiseringstemperaturen
	Utgångna reagenser	Kontrollera reagensen
Endast guidepunkter och inga andra signaler	Problem med PCR-produkten (PCR inte tillräckligt effektiv eller DNA-mall nedbruten)	Kontrollera PCR-effektiviteten med en positiv kontroll; Kontrollera PCR-kemikalier och termalcykelprogram; Kontrollera PCR-produkten i agarosgel
	Fel råmaterial	Kontrollera råmaterialen
	Fel kombination av chip och prov	Kontrollera kombinationen prov/chip
Endast guidepunkter och PCR-kontroll, men inga andra signaler	Ingen förekomst av målsekvenser	Använd positiv kontroll

Endast guidepunkter och specifika signaler, men ingen positiv kontroll	Nedbrutet prov	Ny DNA-extraktion; förvara vid -16...-22 °C
För mycket bakgrund	För lång inkubationstid för Detection Solution eller Blue Spot Solution; för hög temperatur under inkubation	Kontrollera inkubationstiden och temperaturen för Detection Solution och Blue Spot Solution
	Objektglas inte ordentligt torkade	Kontrollera torkstegen
Starka, läcksignaler	För lång inkubationstid eller för hög temperatur för Detection Solution eller Blue Spot Solution	Stegvis justering av inkubationstiden och temperaturen för Detection Solution och Blue Spot Solution
Svaga signaler	Fel hybridiseringstemperatur	Kontrollera temperaturen
	Hybridiseringstiden är för kort	Förläng hybridiseringstiden till maximalt 30 min
	För kort inkubationstid för Detection Solution eller Blue Spot Solution	Utökad inkubationstid för Detection Solution och Blue Spot Solution
	Svag PCR-amplifiering/låg kvalitet på DNA-mall	Kontrollera DNA-mall
Korshybridiserings signaler, falskt positiva signaler	Kontaminering av PCR-kemikalier eller PCR-produkten	Byt ut PCR-kemikalier som används
	Kontaminering under förberedelsen av PCR eller hybridiseringsblandningen	Undvik överföring av prov när blandningen förbereds
	Hybridiseringstemperaturen är för låg	Kontrollera hybridiseringstemperaturen
	Flera chip har inkuberats för länge i samma tvättbuffert	Snabbt utförande av tvättstegen
Enkelsignal istället för duplikat	Mekanisk eliminering av den andra signalen, t.ex. på grund av kontakt med pipettspetsen	Undvik direktkontakt med arrayfältet
	Arrayfältet täcks oregelbundet på grund av luftbubblor	Applicera lösningar utan luftbubblor
	Svaga signaler kring tröskeln (1 över och 1 under)	Upprepa PCR och detektion med hänsyn till villkoren som krävs i bruksanvisningen

## 17. Revision



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

Se [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) för den senaste bruksanvisningen samt för bruksanvisningar på olika språk.

Våra experter finns där för att svara på dina frågor.

Kontakta [help@zytovision.com](mailto:help@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/Tyskland  
Telefonnummer: +49 471 4832-300  
Faxnummer: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
E-postadress: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

### Varumärken:

ZytoVision® och VisionArray® är varumärken som tillhör ZytoVision GmbH.