



VisionArray MYCO Chip 2.0

REF	VA-0005-10	Σ	10 test
REF	VA-0005-50	Σ	50 test

VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0 yardımıyla üretilmiş Mycobacterium cinsinin ve klinik olarak önemli bir takım mikobakteri türlerinin spesifik tespiti için



Vücut dışında kullanılan (*in vitro*) tıbbi tanı cihazı
98/79/EC AB Yönetmeliğine göre

1. Kullanım amacı

VisionArray MYCO Chip 2.0, Mycobacterium, Mycobacteroides, Mycolicibacillus, Mycolicibacter ve Mycolicibacterium cinslerine ve de klinik olarak önemli bir takım mikobakteri türlerine ait VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0 yardımıyla üretilmiş PCR amplifikasyon ürünlerinin kalitatif tespiti ve identifikasyonu için bir VisionArray Analysis Package ile birlikte kullanılır.

Mycobacterium cinsi yakın zamanda Gupta et al. (2018) tarafından ileri sürülmesi ve Validation List No. 181'de yayınlanan (Oren and Garrity 2018) doğrulama üzerine Mycobacterium, Mycobacteroides, Mycolicibacillus, Mycolicibacter ve Mycolicibacterium olarak 5 ayrı cins ayrılmıştır. Bununla birlikte, anlaşılabilirlik ve tutarlılık sağlamak amacıyla bu kullanma kılavuzunun bölümlerinde ilk tek Mycobacterium cinsi kullanılmaya devam edecektir.

Bu ürün vücut dışında kullanılan tıbbi tanı cihazı olarak tasarlanmıştır (98/79/EC AB Yönetmeliğine göre). Sonuçların yorumlanması hastanın diğer klinik ve patolojik verileri dikkate alınarak hastanın klinik geçmişi kapsamında yetkin bir patolog tarafından yapılmalıdır.

2. Klinik bağlantısı

Yeniden düzenlenmiş mikobakteri cinsleri 140 türden oluşur. Bunlar tanı ve tedavi amacıyla üç kategori halinde gruplandırılmıştır: M. tuberculosis kompleksi (MTC), M. leprae ve tüberküloz yapmayan mikobakteriler (NTM). Patojenlik, virülens ve ilaçlara yanıt bakımından farklılıkları nedeniyle bu patojenlerin klinik olarak tüberküloz şüphesi olan hastaların klinik örneklerinde tespit edilmesi ve ayırt edilmesi çok önemlidir.

VisionArray MYCO Chip 2.0, Bölüm 4 "Sağlanan reaktifler" altında gösterilen mikobakteri türlerinin tespiti için tasarlanmıştır.

3. Test prensibi

Bir cam çip üzerindeki DNA fragmentleri havuzunda belli bir diziyi sahip DNA fragmentleri immobilize DNA yakalama dizilerinin yardımı ve DNA-DNA hibridizasyonu yoluyla tespit edilir. Bu tespit sisteminde başlangıç materyali olarak formalin-fikse, parafine gömülü doku veya hücre örnekleri kullanılabilir. İlk adım olarak bu örneklerde bulunan hedef diziler PCR ile amplifiye edilmeli ve biyotinlenmelidir. Daha sonra, amplifiye edilmiş diziler ile onlara karşılık gelen (komplementer) yakalayıcı DNA arasında hibridizasyon gerçekleştirilir. Hibridizasyondan sonra, spesifik olmayan DNA bağlanmaları kısa güçlü yıkama adımları ile yıkanır. Bundan sonra, spesifik bağlanma yapan biyotinli diziler Streptavidin-Peroksidaz-Konjugat ile ikincil olarak işaretlenir ve tetrametilbenzidin (TMB) boyaması ile görüntülenir.

4. Sağlanan reaktifler

Aşağıdaki bileşenler sağlanmaktadır:

Kod	Bileşem	Miktar	
		10	50
VA-0005	VisionArray MYCO Chip 2.0	10	5x10
	Kullanma kılavuzu	1	1

Çipin tanımı:

Yakalama dizilerinin çip üzerindeki konumları şöyledir:

GD										GD
		+	1	2	3	4	5	6		
			7	8	9	10	11	12		
			13	14	15	16	17	18		
			6	5	4	3	2	1	+	
			12	11	10	9	8	7		
			18	17	16	15	14	13		
GD										

GD	Kılavuz nokta	9	M. gordonae
+	PCR pozitif kontrolü	10	M. haemophilum
1	M. tuberculosis kompleksi (ITS Bölgesi)	11	M. kansasii
2	M. tuberculosis kompleksi (IS6110 Bölgesi)	12	M. malmoense
3	M. abscessus	13	M. marinum / M. ulcerans
4	M. avium / M. intracellulare kompleksi	14	M. scrofulaceum / M. parascrofulaceum
5	M. chelonae	15	M. simiae
6	M. chimaera	16	M. smegmatis
7	M. fortuitum	17	M. szulgai
8	M. genavense	18	M. xenopi

M. tuberculosis kompleksi noktası şunları içerir: M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum, M. caprae, M. microti, ve M. pinnipedii.

M. avium / M. intracellulare kompleksi noktası şunları içerir:

M. avium, M. chimaera, M. arosiense, M. timonense, M. yongonense, M. lepraenurium, M. intracellulare, M. colombiense, M. bouchardurhonense, M. marseillense, ve M. paraintracellulare.

5. Gerekli diğer malzemeler

- [VisionArray Analysis Package SingleScan](#) (E-4060) veya [VisionArray Analysis Package MultiScan](#) (E-4070)
- [VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0](#) (ES-0008)
- [VisionArray Detection Kit](#) (VK-0003)

Taramanın başarılı olması için [VisionArray Analysis Packages](#) içinde bir [VisionArray MYCO Chip File 2.0](#) (E-4205) bulunması gerekir.

6. Saklama ve kullanma koşulları

Çipler sağlam orijinal ambalajında -16...-22°C arasında saklanmalıdır. Saklama koşullarına uyulduğu takdirde çipler en azından etiketi üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar performans kaybı olmadan kullanılabilir.

Orijinal ambalajını açtıktan sonra çipleri -16...-22°C arasında saklayın ve iki ay içinde kullanın.

7. Uyarılar ve önlemler

- Kullanmadan önce kullanma kılavuzunu okuyun!
- Son kullanma tarihi geçen çipleri kullanmayın!
- Çipler tozsuz bir ortamda kullanılmalıdır. Çip yüzeyine toz veya başka partiküllerin bulaşmasından sakının!
- Çip yüzeyinin test alanına doğrudan dokunmaktan sakının!
- Hibridizasyon için camın yalnızca etiketli yüzü kullanılabilir.
- Örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından sakının, aksi halde hatalı sonuçlar alınabilir.

8. Sınırlamalar

- Yalnızca vücut dışı (in vitro) tıbbi tanı amaçlı kullanım içindir.
- Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
- Sonuçların yorumlanması hastanın diğer klinik ve patolojik verileri dikkate alınarak hastanın klinik geçmişi kapsamında yetkin bir patolog tarafından yapılmalıdır.
- Çip yalnızca 2. "Klinik bağlantı" kısmında belirtilen mikobakteri türlerinin tespiti için kullanılmalıdır.

Ayrıca, şu etkenler de tespit sistemi üzerinde olumsuz etki gösterebilir:

- Önerilen tespit protokolünden sapmak (mesela, sıcaklık veya reaktif hacimlerine uymamak).
- Degrade veya düşük konsantrasyonlu DNA materyali.
- Uygun olmayan başlangıç materyali.
- Kalibre edilmemiş veya arızalı cihazların kullanılması.
- Güçlü mikobakteri enfeksiyonlarında veya çoklu enfeksiyon durumlarında PCR pozitif kontrolünün yoğunluğu düşebilir.
- Test prosedürünü laminar akım kabini içinde çalışmayın çünkü bu, sonuçların hatalı olmasına yol açabilir.

9. Etkileşimli maddeler

- DNA başlangıç materyalindeki PCR inhibitörü (mesela, kan) nedeniyle düşük PCR etkinliği.
- Hibridizasyona olumsuz etki edebilecek PCR katkılarının (mesela, DMSO, betaine, üre) kullanılması.

10. Örneklerin hazırlanması

Bu tespit sistemi için başlangıç materyali [VisionArray MYCO PreCise Master Mix 2.0](#) ile üretilmiş PCR amplifikasyon ürünleridir.

Çipler üzerindeki hibridizasyon ve tespit işlemleri [VisionArray Detection Kit](#) ile kullanma talimatlarına göre yapılmalıdır.

11. Ürünün kullanıma hazırlanması

Çipleri kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) ulaştırın.

12. Çalışma prosedürü

Taramayı ilgili [VisionArray Analysis Package](#) kullanma talimatlarına göre yapın.

13. Sonuçların yorumlanması

[VisionArray MYCO Chip 2.0](#) sayesinde, test edilen örnekte mikobakteri türlerinden birinin veya daha fazlasının bulunup bulunmadığına dair bir kalitatif tespit yapılabilir.

Sinyallerin yoğunluğu örnek içindeki hedef dizilerin prevalansından ve de tespit sisteminin çeşitli faktörlerinden etkilenir. Sinyal yoğunluğunun mutlak sayıları DNA konsantrasyonunun kantifikasyonu için kullanılamaz.

Yazılım Tabanlı Değerlendirme

Sonuçlar ilgili [VisionArray Analyzer Software](#) tarafından otomatik olarak değerlendirilir. Yazılımda çip analizine dair kapsamlı bir kılavuz bulunmaktadır.

14. Önerilen kalite kontrol prosedürleri

İç kontroller:

- Kılavuz noktalar/Hibridizasyon kontrolü (GD): Bu noktalar ilgili [VisionArray Analyzer Software](#) tarafından test alanını konumlandırmak için kullanılır. Buna ek olarak, kılavuz çizgilerinin boyanması hibridizasyon, işaretleme ve boyama reaksiyonlarının başarılı olduğunun kanıtıdır ve sinyallerin bağıl yoğunluğunun hesaplanmasında kullanılır.
- Pozitif kontrol / PCR kontrolü (+): Bu kontroller PCR reaksiyonunun ve PCR şablonunun kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılır.
- Tüm yakalama dizileri ve pozitif kontrol çip üzerinde çift kopya, kılavuz noktaları ise üç kopya halinde yerleştirilmiştir. Sinyaller çip üzerinde yuvarlak hibridizasyon sinyalleri şeklinde görülür.

Dış kontroller:

İşlenen örneklerin ve test reaktiflerinin doğru performans gösterdiklerini takip etmek için bir teste doğrulanmış pozitif ve negatif kontrol örnekleri eklenmelidir. İç ve/veya dış kontrollerden herhangi biri uygun boyanma göstermezse hasta sonuçları ile elde edilen sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

15. Performans özellikleri

15.1 Analitik performans:

[VisionArray MYCO Chip 2.0](#)'ın analitik özgüllüğü ve duyarlılığı çip üzerindeki her bir mikobakteri türü için ayrı ayrı test edilmiştir. Bunun için 5-500.000 genom dengi (GEQ) konsantrasyonunda olan dizisi doğrulanmış plazmidler test edildi.

Mikobakteri türleri için özgüllük ve tespit sınırı

Mycobacterium	Özgüllük [%]	Tespit Sınırı(GEQ)
M. tuberculosis kompleksi (ITS)	100	50
M. tuberculosis kompleksi (IS6110)	100	5
M. abscessus	100	500
M. avium / M. intracellulare kompleksi	100	50
M. chelonae	100	1000
M. chimaera	100	50
M. fortuitum	100	50
M. genavense	100	50
M. gordonae	100	50
M. haemophilum	100	50
M. kansasii	100	50
M. malmoense	100	50
M. marinum / M. ulcerans	100	50
M. scrofulaceum / M. parascrofulaceum	100	50
M. simiae	100	50
M. smegmatis	100	50
M. szulgai	100	50
M. xenopi	100	50

Duyarlılık PCR döngülerinin sayısına ve etkinliğine ve DNA yakalama dizilerinin afinitesine bağlıdır.

Belirlenen duyarlılık tek bir hedef dizinin tespiti demektir. Bir çoklu enfeksiyonunun tespiti, özellikle de büyük konsantrasyon farkı olan karışık örneklerde PCR reaksiyonu sırasındaki rekabet sebebiyle bazı mikobakteri türlerinin duyarlılığında azalmaya yol açabilir.

Performans bu kullanma kılavuzunda verilen prosedürler kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu prosedürler üzerinde oynama yapmak performansı değiştirebilir ve kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

15.2 Çapraz hibridizasyonlar:

500,000 GEQ konsantrasyona kadar yapılan testlerde çapraz hibridizasyon gözlenmedi.

15.3 Cutoff

Sonuçların değerlendirilmesi için nokta büyüklüğü 50'ye ayarlanmıştır.

Bu nokta büyüklüğünün gri tonlamalı görüntüsü için eşik (cutoff) 25'e ayarlanmıştır. Bu değer için altındaki bir sinyal ilgili VisonArray Analyzer Software tarafından zemin boyanması olarak kabul edilir.

16. Atık bertarafı

Atıkların bertarafı yerel düzenlemelere uygun olarak yapılmalıdır.

17. Sorun giderme

Çalışma talimatlarına uyulmaması hatalı sonuçların alınmasına veya sonuç alınmamasına sebep olabilir.

Sorun	Olası sebep	Önlem
Sinyal yok	Yanlış sıcaklık	Hibridizasyon sıcaklığını kontrol edin
	Reaktiflerin kullanma tarihi geçmiş	Reaktifleri kontrol edin
Yalnızca kılavuz noktalar var, başka sinyal yok	PCR ürünüde sorun var (PCR yeterince etkili değil veya DNA şablonu degrade olmuş)	Bir pozitif kontrol ile PCR etkinliğini kontrol edin; PCR kimyasallarını ve PCR cihazı programını kontrol edin; PCR ürünüde agaroz jelde kontrol edin.
	Yanlış başlangıç materyali	Başlangıç materyallerini kontrol edin
	Yanlış çip ve örnek uygunluğu	Örnek/çip uygunluğunu kontrol edin
Yalnızca kılavuz noktalar ve PCR kontrolü var, başka sinyal yok	Hedef dizi yok	Pozitif kontrol kullanın
Yalnızca kılavuz noktaları ve MYCO sinyalleri var, pozitif kontrol yok	Güçlü Mikobakteri enfeksiyonu veya çoklu Mikobakteri enfeksiyonu	DNA örneğini seyreltin
	Mikobakteri hücre kültürü materyali, örnekte insan DNA'sı yok	-
	Örnek degrade olmuş	Yeni DNA ekstraksiyonu yapın; -16...-22°C arasında saklayın
Zemin boyanması çok fazla	Detection Solution veya Blue Spot Solution inkübasyon süreleri çok uzun; inkübasyon sıcaklığı çok yüksek	Detection Solution ve Blue Spot Solution için inkübasyon sürelerini ve sıcaklıklarını kontrol edin
	Lamlar iyice kurutulmamış	Kurutma adımını kontrol edin
Güçlü, dışa taşan sinyaller	Detection Solution veya Blue Spot Solution inkübasyon süreleri çok uzun; inkübasyon sıcaklığı çok yüksek	Detection Solution ve Blue Spot Solution için inkübasyon sürelerini ve sıcaklıklarını adım adım ayarlayın.
Zayıf sinyaller	Hibridizasyon sıcaklığı doğru değil	Sıcaklığı kontrol edin
	Hibridizasyon süresi çok kısa	Hibridizasyon süresini en fazla 30 dakikaya kadar uzatın
	Detection Solution veya Blue Spot Solution inkübasyon süreleri çok kısa	Detection Solution veya Blue Spot Solution inkübasyon sürelerini uzatın
	Zayıf PCR amplifikasyonu / düşük kaliteli DNA şablonu	DNA şablonunu kontrol edin
Çapraz hibridizasyon sinyalleri, yalancı pozitif sinyaller	PCR kimyasalları veya PCR ürünü kontamine olmuş	Kullanılan PCR kimyasallarını değiştirin
	PCR veya hibridizasyon miksinin hazırlanması sırasında kontaminasyon olmuş	Miksin hazırlanması sırasında örnek taşınmasından sakının
	Hibridizasyon sıcaklığı çok düşük	Hibridizasyon sıcaklığını kontrol edin

Sorun	Olası sebep	Önlem
	Birden fazla çip aynı yıkama solüsyonunda çok uzun süre inkübe edilmiş	Yıkama adımlarını hızlı yapın
Çift kopya yerine tek sinyaller var	İkinci sinyal mekanik olarak ortadan kalkmış, mesela pipet ucu ile temas edilmiş	Test alanına doğrudan temas etmekten sakının
	Hava kabarcıkları sebebiyle test alanı homojen bir şekilde kaplanmamış	Solüsyonları hava kabarcığı bırakmadan uygulayın
	Eşik değerinin yakınında zayıf sinyaller (1 yukarı ve 1 aşağı)	Kullanma kılavuzunda belirtilen koşulları dikkate alarak PCR ve tespit işlemlerini tekrarlayın

18. Literatür

- Griffith D.E., et al (2007) Am J Respir Crit Care Med. 175(4):367-416
- Official statement of the american thoracic society (1997), Am J Respir Crit Care Med. 156(2 Pt 2):S1-25
- Roth et al (1998) J Clin Microbiol. 36(1):139-47
- Simons S., et al (2011) Emerg Infect Dis. 17(3):343-9
- Gupta R.S., et al (2018) doi: 10.3389/fmicb.2018.00067
- Oren A. and Garrity G. (2018) Int J Syst Evol Microbiol 68:1411-1417

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamaya hazırdır. Lütfen helptech@zytovision.com adresine yazınız.



42 life sciences GmbH & Co. KG
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Germany
Telefon: +49 471 4832-500
Faks: +49 471 4832-308
www.42ls.com
E-posta: info@42ls.com

Dağıtıcı:

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

Ticari markalar:

VisionArray®, 42 life sciences GmbH & Co. KG'nin ticari markasıdır.