



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 test

VisionArray Çipleri üzerinde DNA dizilerinin kalitatif tespiti için

4250380M008PY



In vitro diagnostik tıbbi cihaz

IVDR (AB) 2017/746'ya göre

1. Hedeflenen amaç

VisionArray Detection Kit, belirli DNA dizilerinin kalitatif tespiti için VisionArray PreCise Master Mix ve ilgili VisionArray DNA Chip ile kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Otomatik analiz bir VisionArray Software ile gerçekleştirilmelidir.

Ürün sadece profesyonel kullanım için tasarlanmıştır. Ürünün kullanıldığı tüm testler sertifikalı, lisanslı bir anatomik patoloji laboratuvarında bir patolog/insan genetikçisinin gözetimi altında kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmelidir.

2. Test prensibi

Belirli bir sekansa sahip DNA parçaları, DNA/DNA hibridizasyonu ile immobilize edilmiş DNA yakalama sekansları yardımıyla bir cam çip üzerindeki DNA parçaları havuzundan tespit edilir. Bu tespit sistemi için formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku veya hücre örneklerinden alınan DNA örnekleri hammadde olarak kullanılabilir. İlk adım olarak, bu örneklerdeki hedef dizilerin PCR ile çoğaltılması ve biyotininlenmesi gerekir. Çoğaltılmış diziler ile tamamlayıcı DNA yakalama dizileri arasındaki hibridizasyon daha sonra gerçekleştirilir. Hibridizasyondan sonra, spesifik olarak bağlanmamış DNA kısa ve sıkı yıkama adımlarıyla yıkanır. Spesifik olarak bağlanmış biyotininlenmiş diziler daha sonra bir streptavidin-peroksidaz-konjugat ile ikincil olarak etiketlenir ve tetrametilbenzidin (TMB) boyama ile görselleştirilir.

3. Sağlanan reaktifler

Aşağıdaki bileşenler dahildir:

Kod	Bileşen	Miktar	Ambalaj
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Reaksiyon kabı, kırmızı kapak
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Vidalı kapaklı şişe (büyük)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Vidalı kapaklı şişe (küçük)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Vidalı kapaklı şişe (küçük), kahverengi
	Kullanma kılavuzu	1	

Hybridization Solution, Detection Solution ve Blue Spot Solution 50 reaksiyon için yeterlidir. 100x Wash Buffer, her biri 70 ml'lik 6 boyama kavanozu ile 50 test için yeterlidir.

4. Gerekli ancak sağlanmayan malzemeler

Reaktifler:

- PCR product created with a VisionArray PreCise Master Mix
- Deionized or distilled water

Araçlar:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) veya VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Nem hazneli hibridizatör veya hibridizasyon fırını
- Slayt santrifüjü
- Boyama kavanozları, 50-80 ml
- Pipetler

5. Depolama ve taşıma

Kitin bileşenleri 2...8°C'de dik konumda saklanmalıdır. Blue Spot Solution ışıktan koruyarak saklayın. Saklama koşullarına uyulduğu takdirde ürün, en azından etiketi üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar performans kaybı olmadan kullanılabilir. Kullandıktan hemen sonra saklama koşullarına geri döndürün. Etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra reaktifleri kullanmayın. Ürün, uygun şekilde kullanıldığında etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

6. Uyarılar ve önlemler

- Kullanmadan önce kullanım talimatlarını okuyun!
- Ürünleri son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanmayın!
- Lütfen kullanmadan önce ambalajın sağlam olup olmadığını kontrol edin, ambalaj hasarlıysa ürünü kullanmayın.
- Ürünle ilgili olarak meydana gelen her türlü ciddi olayı yerel yönetmeliklere uygun olarak üreticiye ve yetkili makama bildirin!
- Reaktifler ciltle temas ederse, cildi derhal bol miktarda suyla yıkayın!
- Profesyonel kullanıcılar için talep üzerine bir malzeme güvenlik bilgi formu temin edilebilir.
- Tekrar kullanıma açıkça izin verilmediği sürece ürünleri tekrar kullanmayın!
- Hatalı sonuçlara yol açabileceğinden numunelerin çapraz kontaminasyonundan kaçının.
- Kontaminasyonları önlemek için DNA'lı ve DNA'sız çalışma adımlarının odadan ayrılması ve PCR ana karışımının hazırlanması için temiz tezgahların kullanılması gereklidir.
- Çipler tozsuz bir ortamda kullanılmalıdır. Talaş yüzeyinin toz veya diğer partiküllerle kirlenmesini önleyin!
- Çip yüzeyindeki dizi alanı ile doğrudan temastan kaçının!
- Hibridizasyon için lamın sadece etiketli tarafı kullanılabilir.

HY-0001 için zararlılık ve önlem ifadeleri:

Tehlikeyi belirleyen bileşen formamiddir.

**Tehlike**

H351	Kansere neden olduğundan şüpheleniliyor.
H360FD	Doğurganlığa zarar verebilir. Doğmamış çocuğa zarar verebilir.
H373	Uzun süreli veya tekrarlı maruz kalma sonucu organlarda hasara neden olabilir.
P201	Kullanmadan önce özel talimatları alın.
P202	Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.
P260	Toz/duman/gaz/sis/buhar/sprey solumayın.
P280	Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.
P308+P313	Maruz kaldıysanız veya endişeliyseniz: Tıbbi tavsiye/müdahale alın.
P405	Depo kilitli.

AB-0016 ve WB-0012 için zararlılık ve önlem ifadeleri:

Zararlılık belirleyici bileşen 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] ve 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1) maddelerinin karışımıdır.

**Uyarı**

H317	Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar.
P261	Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının.
P272	Kirlenmiş kıyafetleri işyeri dışına çıkarmayın.
P280	Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P302+P352	DERİ İLE TEMAS HALİNDE İSE: Bol sabun ve su ile yıkayın.
P333+P313	Ciltte tahriş veya kaşıntı söz konusu ise: Tıbbi yardım/müdahale alın.
P362+P364	Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın.

7. Sınırlamalar

- *In vitro* diagnostik kullanım için.
- Sadece profesyonel kullanım içindir.
- Yalnızca otomatik olmayan kullanım içindir.
- Sonuçların yorumlanması, hastanın klinik geçmişi bağlamında, kalifiye bir patolog tarafından daha ileri klinik ve patolojik verilerle ilgili olarak yapılmalıdır.
- Kit bileşenleri birbirlerine tam olarak uyarlanmıştır ve bir veya daha fazla bileşenin değiştirilmesi performans hatalarına yol açabilir.
- Reaksiyon sürecinin bozulmasını önlemek için bileşenlerin belirtilen miktarlarda kullanılması önemlidir.
- DNA örneklerinin tekrar tekrar çözülmesi ve dondurulması tespit reaksiyonunun bozulmasına yol açabilir.
- Tahlil prosedürü sırasında laminar akış altında çalışmayın çünkü bu sonuçların bozulmasına yol açabilir.
- Performans, bu kullanım talimatlarında açıklanan prosedürler kullanılarak doğrulanmıştır. Bu prosedürlerde yapılacak değişiklikler performansı değiştirebilir ve kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Bu IVD, yalnızca bu kullanım talimatında açıklandığı şekilde amaçlanan kullanım kapsamında kullanıldığında CE sertifikasına sahiptir.

8. Müdahale eden maddeler

- DNA hammaddesindeki (örn. kan) PCR inhibitörleri nedeniyle düşük PCR verimliliği.
- DNA elüsyon tamponlarındaki yüksek EDTA konsantrasyonları PCR'nin engellenmesine yol açabilir. Yalnızca önerilen miktarlarda DNA kullanın.
- Hibridizasyonu etkileyebilecek PCR katkı maddelerinin kullanımı (örn. DMSO, betain, üre).

9. Numunelerin hazırlanması

Bu tespit sistemi için başlangıç materyali, VisionArray PreCise Master Mix ile çoğaltılmış ve biyotinlenmiş DNA dizileridir

10. Cihazın hazırlık işlemi

- 1x Wash Buffer hazırlanması: 1 kısım 100x Wash Buffer 99 kısım deiyonize veya distile su ile seyreltin (kapalı bir kaptaki seyreltilmiş 1x Yıkama Tamponu RT'de (18...22°C) bir ay boyunca stabildir).
- Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution ve 1x Wash Buffer RT'ye (18...22°C) getirin. Hybridization Solution olası çökeltiler kısa süreli ısıtma (maks. 37°C) ile çözölmelidir.
- Kullanmadan önce hibridizatörü veya hibridizasyon fırınına 42°C'ye ısıtın.

11. Test prosedürü

- 1 Dizi alanının mavi çerçevelerindeki koruyucu kapağı çıkarın.
- 2 Hibridizasyon karışımının hazırlanması:
20 µl • Hybridization Solution
+ 10 µl PCR ürünü
30 µl hibridizasyon karışımı (bir çip için yeterli)
Hibridizasyon karışımını yukarı ve aşağı pipetleyerek iyice karıştırın.
- 3 Hibridizasyon karışımından 30 µl'yi dizi alanının sol tarafına (etiket sağda olacak şekilde) hava kabarcıklarının sıkışmasını önleyerek dikkatlice pipetleyin. Ürünle birlikte verilen plastik kapakla dizi alanını soldan sağa doğru dikkatlice kaplayarak tüm dizi alanını kaplayın.
- 4 Çipi hızlı bir şekilde önceden ısıtılmış hibridizatöre veya nem hazneli hibridizasyon fırınına aktarın ve 42°C'de (+/- 1°C) 30 dakika inkübe edin.
Not: Bu adım her bir dizi için birbiri ardına yapılmalıdır, asla paralel olarak yapılmamalıdır. 1°C'den fazla sapmalardan kaçınılmalıdır. Kalibre edilmiş bir termometre kullanmanızı tavsiye ederiz.
- 5 Bu arada 1x Wash Buffer ile 3 boyama kavanozu hazırlayın.
- 6 İnkübasyon süresi sona erdiğinde, çipi inkübatörden çıkarın ve kapağı dikkatlice çıkarın. Hibridizasyon karışımını bir kağıt mendil üzerine dikkatlice boşaltın ve lamı hemen 1x Wash Buffer yıkayın. Bu nedenle, lamı ilk boyama kavanozunda 3 kez çift yönlü olarak hafifçe çalkalayın. Bu yıkama prosedürünü 2. boyama kavanozunda tekrarlayın. Daha sonra, çipi 3. boyama kavanozuna aktarın, 3 kez çalkalayın ve 1 dakika inkübe edin.
Not: Boyama kavanozu başına 6'dan fazla lam kullanmayın. Kullanılmayan lamlar hibridizasyon sıcaklığında kalmalıdır. Oda sıcaklığına maruz kalma süresi mümkün olduğunca kısa olmalıdır.
- 7 Çipi boyama kavanozundan çıkarın, bir doku üzerinde kısa bir süre süzün ve 15-30 saniye boyunca lam santrifüjünde santrifüj ederek kurutun.
Not: Dizi üzerinde damlacık kalmasını önlemek için bir lam santrifüjünün kullanılması kesinlikle zorunludur.
- 8 100 µl Detection Solution kuru dizi alanına yüzeye dokunmadan dikkatlice pipetleyin. Dizi alanı eşit şekilde kaplanmalı ve hava kabarcıkları giderilmelidir.
- 9 Düz bir yüzey üzerinde RT'de (18...22°C) 10 dakika inkübe edin.
- 10 Bu arada 1x Wash Buffer ile 3 boyama kavanozu hazırlayın.
- 11 İnkübasyondan sonra, adım 6 ve 7'de açıklandığı gibi yıkayın ve kurutun. En son kullanılan boyama kavanozunu adım 13 için saklayın.
- 12 100 µl Blue Spot Solution tüm dizi alanına dikkatlice uygulayın ve RT'de (18...22°C) 5 dakika inkübe edin. Renk gelişimi görsel inceleme ile gözlemlenebilir. Hızlı ve ağır bir boyama durumunda, inkübasyon erken durdurulabilir.

Not: Blue Spot Solution karanlıkta saklanmalı ve inkübe edilmelidir.

- 13 Çip üzerindeki Mavi Nokta Solüsyonunu, adım 10'daki 1x Wash Buffer boyama kavanozunda yaklaşık 15 saniye boyunca yıkayın.
- 14 Çipi bir kağıt mendil üzerinde kısa bir süre süzün ve 30 saniye boyunca lam santrifüjünde santrifüj ederek kurutun.

Çipler artık VisionArray Software ile analiz için hazırdır.

12. Sonuçların yorumlanması

12.1 Genel Not

VisionArray DNA Çipi yardımıyla belirli DNA dizilerinin varlığı veya yokluğu hakkında bir açıklama yapmak mümkündür. Sinyallerin yoğunluğu, örnekteki hedef dizilerin sıklığının yanı sıra tespit sisteminin diğer faktörlerinden de etkilenir. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi için sinyal yoğunluğunun mutlak değerlerini kullanmak mümkün değildir.

12.2 Değerlendirme

Bu protokolü takip ettikten sonra çip değerlendirilebilir. Pozitif sinyaller lam üzerinde koyu mavi dairesel alanlar olarak görülebilir. Çipin otomatik değerlendirmesi ilgili VisionArray Software ile gerçekleştirilir.

12.3 Yazılım Tabanlı Değerlendirme

Sonuçların otomatik değerlendirmesi ilgili VisionArray Software tarafından gerçekleştirilir. Yazılıma çip analizi için kapsamlı bir kılavuz eklenmiştir.

13. Önerilen kalite kontrol prosedürleri

İşlenmiş numunelerin ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için, her tahlile harici valide edilmiş pozitif ve negatif kontrol numuneleri eşlik etmelidir. Dahili ve/veya harici kontroller uygun boyamayı gösteremezse, hasta numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

14. Performans özellikleri

İlgili VisionArray HPV Chip'in performans özelliklerine bakın.

15. Bertaraf

Reaktiflerin imhası yerel yönetmeliklere uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

16. Sorun Giderme

Kullanım talimatlarından herhangi bir sapma, hedef sekansın tespit reaksiyonunun bozulmasına yol açabilir.

Sorun	Olası sebep	Önem
Sinyal yok	Yanlış sıcaklık	Hibridizasyon sıcaklığını kontrol edin
	Son kullanma tarihi geçmiş reaktifler	Reaktifleri kontrol edin
Sadece kılavuz noktalar ve başka sinyal yok	PCR ürünü ile ilgili sorunlar (PCR yeterince verimli değil veya DNA şablonu bozulmuş)	Pozitif kontrol ile PCR verimliliğini kontrol edin; PCR kimyasallarını ve termal döngüleyici programını kontrol edin; Agaroz jelde PCR ürünü kontrol edin
	Yanlış hammadde	Hammaddeyi kontrol edin
	Yanlış çip ve numune kombinasyonu	Örnek/çip kombinasyonunu kontrol edin
Sadece kılavuz noktalar ve PCR kontrolü, başka sinyal yok	Hedef sekans mevcut değil	Pozitif kontrol kullanın
Sadece kılavuz noktalar ve spesifik sinyaller, ancak pozitif kontrol yok	Bozulmuş numune	Yeni DNA ekstraksiyonu; -16...-22°C'de saklayın

Çok fazla arka plan	Tespit Solüsyonu veya Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresi çok uzun; inkübasyon sırasındaki sıcaklık çok yüksek	Tespit Solüsyonu ve Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresini ve sıcaklığını kontrol edin
	Düzgün kurutulmamış slaytlar	Kurutma adımını kontrol edin
Güçlü, sızıntı yapan sinyaller	Tespit Solüsyonu veya Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresi çok uzun veya sıcaklık çok yüksek	Tespit Solüsyonu ve Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresini ve sıcaklığının kademeli olarak ayarlanması
Zayıf sinyaller	Hibridizasyon sıcaklığı yanlış	Sıcaklığı kontrol edin
	Hibridizasyon süresi çok kısa	Hibridizasyon süresini maksimum 30 dakikaya kadar uzatın
	Tespit Solüsyonu veya Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresi çok kısa	Tespit Solüsyonu ve Mavi Nokta Solüsyonunun inkübasyon süresini uzatın
	Zayıf PCR amplifikasyonu/ DNA şablonunun kötü kalitesi	DNA şablonunu kontrol edin
Çapraz hibridizasyon sinyalleri, yanlış pozitif sinyaller	PCR kimyasallarının veya PCR ürününün kontaminasyonu	Kullanılan PCR kimyasallarını değiştirin
	PCR veya hibridizasyon karışımının hazırlanması sırasında kontaminasyon	Karışımın hazırlanması sırasında numune transferinden kaçının
	Hibridizasyon sıcaklığı çok düşük	Hibridizasyon sıcaklığını kontrol edin
	Aynı yıkama tamponunda çok uzun süre inkübe edilen birkaç çip	Yıkama adımlarının hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi
Çiftler yerine tek sinyal	İkinci sinyalin mekanik olarak ortadan kaldırılması, örneğin pipet ucuyla temas nedeniyle	Dizi alanı ile doğrudan temastan kaçın
	Hava kabarcıkları nedeniyle dizi alanının düzensiz kaplanması	Solüsyonları hava kabarcığı olmadan uygulayın
	Eşik etrafında zayıf sinyaller (1 yukarıda ve 1 aşağıda)	PCR'i tekrarlayın ve kılavuzda istenen koşulları göz önünde bulundurarak tespit yapın

17. Revizyon

Revizyon	Değişikliğin açıklaması
2.1.1	6. Uyarılar ve önlemler Ambalajın bütünlüğünü kontrol etmek için not eklendi.



www.zytovision.com

En güncel kullanım talimatları ve farklı dillerdeki kullanım talimatları için lütfen www.zytovision.com adresine bakın.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamak için hazırdır. Lütfen helptech@zytovision.com ile iletişime geçin



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

Ticari markalar:

ZytoVision® ve VisionArray®, ZytoVision GmbH'nin ticari markasıdır.