



VisionArray Detection Kit

REF

VK-0003-50



50 Reaktionen

Für den qualitativen Nachweis von DNA-Sequenzen auf
VisionArray Chips

4250380M008PY



In-vitro-Diagnostikum
gemäß IVDR (EU) 2017/746

1. Verwendungszweck

Das VisionArray Detection Kit ist zur Verwendung für den qualitativen Nachweis von spezifischen DNA-Sequenzen mit einem VisionArray PreCise Master Mix sowie einem entsprechenden VisionArray DNA Chip vorgesehen. Die automatisierte Analyse ist mit einer VisionArray Software durchzuführen.

Das Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt. Alle Tests, bei denen das Produkt verwendet wird, sollten in einem zertifizierten, zugelassenen anatomisch-pathologischen Labor unter der Aufsicht eines Pathologen/Humangenetiklers von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

2. Prinzip der Methode

DNA-Fragmente mit einer spezifischen Sequenz werden aus einem Pool von DNA-Fragmenten auf einem Glas-Chip mit Hilfe von immobilisierten DNA-Fangsequenzen durch DNA/DNA-Hybridisierung nachgewiesen. Für dieses Nachweissystem können DNA-Proben aus formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebe- oder Zellproben als Ausgangsmaterial verwendet werden. In einem ersten Schritt müssen die Zielsequenzen in diesen Proben durch PCR amplifiziert und biotinyliert werden. Die Hybridisierung zwischen den amplifizierten Sequenzen und den komplementären DNA-Fangsequenzen wird anschließend durchgeführt. Nach der Hybridisierung wird die unspezifisch gebundene DNA durch kurze stringente Waschschriffe gewaschen. Die spezifisch gebundenen biotinylierten Sequenzen werden anschließend mit einem Streptavidin-Peroxidase-Konjugat sekundärmarkiert und durch Tetramethylbenzidin (TMB)-Färbung sichtbar gemacht.

3. Enthaltene Reagenzien

Die folgenden Komponenten sind enthalten:

Code	Komponente	Tests	Gefäß
HY-0001-1	Hybridization Solution	1 ml	Reaktionsgefäß, roter Deckel
WB-0012-250	100x Wash Buffer	250 ml	Schraubverschlussflasche (groß)
AB-0016-5	Detection Solution	5 ml	Schraubverschlussflasche (klein)
SB-0009-5	Blue Spot Solution	5 ml	Schraubverschlussflasche (klein), braun
	Gebrauchsanweisung	1	

Die Hybridization Solution, Detection Solution sowie die Blue Spot Solution sind ausreichend für 50 Reaktionen. Der 100x Wash Buffer ist ausreichend für 50 Reaktionen mit 6 Küvetten à 70 ml.

4. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

Reagenzien:

- PCR-Produkt, hergestellt mit einem VisionArray PreCise Master Mix
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser

Ausstattung:

- VisionArray SingleScan Software (E-4301) oder VisionArray MultiScan Software (E-4302)
- VisionArray DNA Chips
- Hybridizer oder Feuchtekammer im Hybridisierungssofen
- Zentrifuge für Objektträger
- Küvetten, 50-80 ml
- Pipetten

5. Lagerung und Handhabung

Die Komponenten des Kits bei 2...8°C in einer aufrechten Position lagern. Die Blue Spot Solution lichtgeschützt aufbewahren. Wird das Kit unter diesen Lagerbedingungen aufbewahrt, ist das Kit ohne Leistungsverlust mindestens bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum funktionsfähig.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder unter Lagerbedingungen aufbewahren. Keine Reagenzien nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwenden. Das Produkt ist bei sachgemäßer Handhabung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

6. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Gebrauchsanweisung vor der Verwendung lesen!
- Produkt nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden!
- Bitte prüfen Sie vor dem Gebrauch, ob die Verpackung intakt ist. Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn die Verpackung beschädigt ist.
- Schwerwiegende Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften dem Hersteller sowie den zuständigen Behörden melden!
- Sollten Reagenzien mit der Haut in Kontakt kommen, die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abspülen!
- Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage für den beruflichen Anwender verfügbar.
- Die Reagenzien nicht wiederverwenden.
- Kreuzkontaminationen der Präparate vermeiden, da diese zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine räumliche Trennung der Arbeitsschritte mit und ohne DNA sowie die Verwendung sauberer Tische für die Zubereitung des PCR-Mastermixes ist notwendig, um Kontaminationen zu vermeiden.
- Die Chips sollten in einer staubfreien Umgebung verwendet werden. Vermeiden Sie die Verunreinigung der Spanoberfläche mit Staub oder anderen Partikeln!
- Vermeiden Sie den direkten Kontakt mit dem Array-Feld auf der Chip-Oberfläche!
- Nur die beschriftete Seite des Objektträgers kann für die Hybridisierung verwendet werden.

Gefahren- und Sicherheitshinweise für HY-0001:

Die gefahrbestimmende Komponente ist Formamid.

**Gefahr**

H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H373	Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.

Gefahren- und Sicherheitshinweise für AB-0016 und WB-0012:

Die gefahrbestimmende Komponente ist eine Reaktionsmasse aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazolin-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

**Warnung**

H317	Kann eine allergische Hautreaktion verursachen.
P261	Das Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung darf den Arbeitsplatz nicht verlassen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P302+P352	BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit reichlich Wasser waschen.
P333+P313	WENN Hautreizungen oder Hautausschlag auftreten: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor der Wiederverwendung waschen.

7. Einschränkungen

- Für die Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
- Nur für die professionelle Anwendung.
- Nur für den nicht-automatischen Gebrauch.
- Die Interpretation der Ergebnisse muss im Kontext mit der klinischen Anamnese des Patienten und unter Berücksichtigung weiterer klinischer und pathologischer Daten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.
- Die Bestandteile des Kits sind sorgfältig aufeinander abgestimmt und das Austauschen einzelner oder mehrerer Komponenten kann zu Leistungseinbußen führen.
- Es ist wichtig, die angegebenen Mengen der Komponenten zu verwenden, um Beeinträchtigungen in den Reaktionsabläufen zu vermeiden.
- Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der DNA-Proben kann zu einer Beeinträchtigung der Nachweisreaktion führen.
- Während der Durchführung nicht unter einer Laminar-Flow Werkbank arbeiten, da dies zu einer Beeinträchtigung der Ergebnisse führen kann.

- Die Leistung wurde unter Verwendung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren validiert. Abweichungen von diesen Verfahren können die Leistung beeinflussen und müssen vom Anwender validiert werden. Dieses IVD ist nur dann CE-zertifiziert, wenn es wie in dieser Gebrauchsanweisung beschrieben im Rahmen der bestimmungsgemäßen Verwendung eingesetzt wird.

8. Störsubstanzen

- Geringe PCR-Effizienz aufgrund von PCR-Inhibitoren im DNA-Rohmaterial (z. B. Blut).
- Hohe Konzentrationen von EDTA in DNA-Elutionspuffern können zu einer Hemmung der PCR führen. Verwenden Sie nur die empfohlenen DNA-Mengen.
- Verwendung von PCR-Zusatzstoffen, die die Hybridisierung beeinflussen könnten (z. B. DMSO, Betain, Harnstoff).

9. Vorbereitung der PräparateAusgangsmaterial für dieses Nachweissystem sind DNA-Sequenzen, die mit einem VisionArrayPreCise Master Mix amplifiziert und biotinyliert wurden.**10. Vorbereitung der Reagenzien**

- Vorbereitung von 1x Wash Buffer: 1 Teil 100x Wash Buffer mit 99 Teilen deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen (in einem geschlossenen Behälter ist der verdünnte 1x Wash Buffer für einen Monat bei RT (18...22°C) stabil).
- Hybridization Solution, Detection Solution, Blue Spot Solution sowie 1x Wash Buffer auf RT (18...22°C) bringen. Mögliche Präzipitate in der Hybridization Solution müssen durch kurzes Erwärmen (max. 37°C) gelöst werden.
- Vor Verwendung den Hybridizer oder den Hybridisierungssofen auf 42°C vorwärmen.

11. Testverfahren

- 1 Schützende Folie vom blauen Rahmen des Chips entfernen.
- 2 Vorbereiten des Hybridisierungsmix:

20 µl Hybridization Solution
+ 10 µl PCR-Produkt
30 µl Hybridisierungsmix (ausreichend für einen Chip)

- 3 Den Hybridisierungsmix durch Auf- und Abpipettieren gründlich mischen.
- 3 30 µl des Hybridisierungsmix vorsichtig auf die linke Seite des Array Feldes auftragen (mit dem Etikett auf der rechten Seite), dabei Luftbläschen vermeiden. Das gesamte Array Feld mit dem beigelegten Plastikdeckel vorsichtig von der linken zur rechten Seite abdecken.
- 4 Den Chip zügig in den vorgewärmten Hybridizer bzw. den Hybridisierungssofen mit Feuchtekommer überführen und bei 42°C (+/- 1°C) für 30 min inkubieren.

Bitte beachten: Dieser Schritt sollte für jeden Array einzeln durchgeführt werden, niemals mit mehreren Arrays parallel. Abweichungen von mehr als 1°C sollten vermieden werden. Es wird empfohlen, ein kalibriertes Thermometer zu verwenden.

- 5 In der Zwischenzeit 3 Küvetten mit 1x Wash Buffer vorbereiten.
- 6 Sobald die Inkubationszeit vorbei ist, den Chip aus dem Inkubator nehmen und vorsichtig den Plastikdeckel entfernen. Vorsichtig den Hybridisierungsmix auf einem Papiertuch abtropfen lassen und den Objektträger unmittelbar in 1x Wash Buffer waschen. Dazu den Objektträger behutsam 3x bidirektional in der ersten Küvette schwenken. Diesen Waschvorgang in der zweiten Küvette wiederholen. Anschließend den Chip in die dritte Küvette überführen, 3x schwenken und für 1 min inkubieren.

Bitte beachten: Nicht mehr als 6 Objektträger pro Küvette verwenden. Nicht behandelte Objektträger sollten auf Hybridisierungstemperatur gehalten werden. Nur so kurz wie möglich der Raumtemperatur aussetzen.

- 7 Den Chip aus der Küvette nehmen, kurz auf einem Tuch abtropfen lassen und in einer Zentrifuge für Objektträger für 15-30 s trocknen.



Bitte beachten: Die Verwendung einer Zentrifuge für Objektträger ist zwingend erforderlich, um zu verhindern, dass Tröpfchen auf dem Array zurückbleiben.

- 8 100 µl Detection Solution vorsichtig auf das getrocknete Array Feld pipettieren, ohne die Oberfläche zu berühren. Das Array Feld muss gleichmäßig bedeckt sein und Luftbläschen müssen entfernt werden.
- 9 Für 10 min auf einem ebenen Untergrund bei RT (18...22°C) inkubieren.
- 10 In der Zwischenzeit 3 Küvetten mit 1x Wash Buffer vorbereiten.
- 11 Nach der Inkubation wie in Schritt 6 und 7 beschrieben waschen und trocknen. Die zuletzt verwendete Küvette für Schritt 13 aufheben.
- 12 100 µl Blue Spot Solution vorsichtig auf das gesamte Array Feld auftragen und für 5 Minuten bei RT (18...22°C) inkubieren. Die Farbentwicklung kann durch visuelle Inspektion beobachtet werden. Im Fall einer schnellen und starken Färbung kann die Inkubationszeit frühzeitig beendet werden.
Bitte beachten: Die Blue Spot Solution sollte im Dunkeln gelagert und verwendet werden.
- 13 Die Blue Spot Solution in der Küvette mit 1x Wash Buffer aus Schritt 10 für etwa 15 s von dem Chip waschen.
- 14 Den Chip kurz auf einem Papiertuch abtropfen lassen und in einer Zentrifuge für Objektträger für 30 s trocknen.

Die Chips sind nun bereit für die Analyse durch die VisionArray Software.

12. Interpretation der Ergebnisse

12.1 Allgemeine Anmerkung

Mit Hilfe eines VisionArray DNA Chips ist es möglich, eine Aussage über das Vorhandensein oder die Abwesenheit von spezifischen DNA-Sequenzen zu treffen. Die Intensität des Signals wird durch die Häufigkeit der Zielsequenz in der Probe sowie durch weitere Faktoren des Nachweissystems beeinflusst. Es ist nicht möglich, die absoluten Werte der Signalintensität zur Bestimmung der DNA-Konzentration zu verwenden.

12.2 Auswertung

Der Chip kann nach Anwendung dieses Protokolls ausgewertet werden. Positive Signale werden als dunkelblaue runde Flächen auf dem Objektträger sichtbar. Die automatisierte Auswertung des Chips wird mit der entsprechenden VisionArray Software durchgeführt.

12.3 Software-basierte Auswertung

Die automatisierte Auswertung der Ergebnisse wird mit der entsprechenden VisionArray Software durchgeführt. Eine umfangreiche Gebrauchsanweisung zur Chip-Analyse liegt der Software bei.

13. Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

Um die korrekte Leistung der verarbeiteten Proben und Testreagenzien zu überwachen, sollte jeder Test von extern validierten positiven und negativen Kontrollproben begleitet werden. Wenn interne und/oder externe Kontrollen keine angemessene Färbung nachweisen können, sind die Ergebnisse mit Patientenproben als ungültig anzusehen.

14. Leistungsmerkmale

Die Leistungsmerkmale des jeweiligen VisionArray DNA Chip beachten.

15. Entsorgung

Die Entsorgung der Reagenzien muss in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften erfolgen.

16. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu einer Beeinträchtigung der Nachweisreaktion für die Zielsequenz führen.

Nur Guide Dots und keine weiteren Signale	Probleme mit dem PCR-Produkt (PCR ist nicht effizient genug oder die Template-DNA ist degradiert)	Mit einer Positivkontrolle die PCR-Effizienz überprüfen; PCR-Chemikalien und Thermocycler-Programm prüfen; PCR-Produkt im Agarosegel prüfen
	Falsches Ausgangsmaterial	Ausgangsmaterial prüfen
	Falsche Kombination von Chip und Probe	Kombination aus Probe/Chip prüfen
Nur Guide Dots und PCR- Kontrolle, aber keine weiteren Signale	Keine Zielsequenz vorhanden	Positivkontrolle verwenden
Nur Guide Dots und spezifische Signale, aber keine positive Kontrolle	Degradierte Probe	Neue DNA-Extraktion; bei -16...-22°C lagern
	Zu viel Hintergrundsignal	Inkubation mit Detection Solution oder Blue Spot Solution zu lang; Temperatur während der Inkubation zu hoch
Starke, auslaufende Signale	Objektträger nicht ausreichend getrocknet	Trocknungsschritt prüfen
	Inkubation mit Detection Solution oder Blue Spot Solution zu lang; Temperatur während der Inkubation zu hoch	Schrittweise Anpassung der Inkubationsdauer und -temperatur mit Detection Solution und Blue Spot Solution
Schwache Signale	Hybridisierungstemperatur inkorrekt	Temperatur prüfen
	Hybridisierungszeit zu kurz	Hybridisierungszeit bis maximal 30 min verlängern
	Inkubation mit Detection Solution oder Blue Spot Solution zu kurz	Inkubationszeit mit Detection Solution und Blue Spot Solution verlängern
	Schwache PCR-Amplifikation/ schlechte Qualität der Template-DNA	Template-DNA prüfen
Kreuzhybridisierungs-Signale, falsch positive Signale	Kontamination der PCR-Chemikalien oder des PCR-Produkts	Verwendete PCR-Chemikalien ersetzen
	Kontamination während der Vorbereitung der PCR oder des Hybridisierungsmix	Transfer der Probe während der Vorbereitung des Mix vermeiden
	Hybridisierungstemperatur zu gering	Hybridisierungstemperatur prüfen
	Mehrere Chips zu lange im gleichen Wash Buffer inkubiert	Schnelle Durchführung der Waschschrte
Einzelne Signale statt Duplikate	Mechanische Eliminierung des zweiten Signals, z.B. durch Kontakt mit der Pipettenspitze	Direkten Kontakt mit dem Array Feld vermeiden
	Unregelmäßige Abdeckung des Array Feldes aufgrund von Luftblasen	Lösungen ohne Luftblasen auftragen
	Schwache Signale um den Schwellenwert (1 drüber und 1 drunter)	PCR und Detektion unter Berücksichtigung der in der Gebrauchsanweisung beschriebenen Bedingungen wiederholen

Problem	Mögliche Ursache	Lösung
Kein Signal	Falsche Temperatur	Hybridisierungstemperatur prüfen
	Abgelaufene Reagenzien	Reagenzien prüfen

17. Revision

Revision	Beschreibung der Änderung
2.1.1	6. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen Hinweis zur Prüfung der Unversehrtheit der Verpackung hinzugefügt



www.zytovision.com

Die aktuellste Gebrauchsanweisung sowie Gebrauchsanweisungen in verschiedenen Sprachen finden Sie unter www.zytovision.com.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.
Bitte kontaktieren Sie helptech@zytovision.com



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

Warenzeichen:

ZytoVision® und VisionArray® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.