

# HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

## Aflatoxin M1

### gyorsteszt tejmintákhoz

Cikkszám: KIT041-V2

#### 1. Bevezetés

Az Aflasensor (KIT041) egy **kvantitatív gyorsteszt**, mely lehetővé teszi Aflatoxin M1 (AFM1) molekulák meghatározását nyers tehéntejben, valamint kecsketejben.\*\* A tesztcsík formátum nem igényel semmiféle minta előkészítést, tisztítást, vagy extrakciót. A teszt egy **3 perces +40°C**-os reagens inkubációból, valamint egy **7 perces +40°C**-os tesztcsík bemelegítéséből (futtatásból) áll (használja a Heatsensor inkubátort). Az eredmény meghatározható közvetlenül műszeres leolvasással (Readsensor2 készülékkel) mennyiségi értéket leolvasva. A meghatározhatósági határa (LoQ) az AflaSensor tesztnek nyers tehéntejben **50 ppt**, a leolvasható tartomány **30 és 150 ppt között** mozog.

A teszthez kapcsolódó minőségi bizonylat tartalmazza a cut-off értéket és az EUR MRL határértéket.

Az Aflasensor egy kompetitív teszt, mely olyan specifikus antitesteket alkalmaz, amelyek nagy affinitással kötik meg az Aflatoxin M1 molekulákat. A teszt elvégzéséhez két összetevőre van szükség. Az első összetevő a minta küvetta, mely előre meghatározott mennyiségű arany részecskéhez kötött antitestet tartalmaz. A második egy membránokból felépülő tesztcsík, melyen specifikus elfogó zónák (vonalak) vannak. Érvényes teszt esetén a második inkubációt követően a felső piros kontrol vonalnak láthatóvá kell válnia. Az első inkubációs szakaszban (3 perc 40° C) miután a reagens a küvetta feloldódik a tejmintában, a specifikus antitestek megkötik a jelenlévő analitokat (aflatoxin M1 molekulák). Amikor a második inkubációs szakaszban a tesztcsík belemerül a küvetta lévő tejbe, a minta elkezd függőlegesen felfelé futni a tesztcsíkon és áthalad az elfogó zónákon (vonalakon). Ha a minta mentes Aflatoxin M1-től a „teszt” vonal elszíneződik. Ellenkező esetben, ha Aflatoxin M1-et tartalmaz a minta a tesztcsíkon lévő „teszt” vonal nem színeződik el. A színintenzitás és a kalibrációs görbe alapján az olvasó pontosan meghatározza az Aflatoxin M1 koncentrációját a tejmintában, amennyiben a kontrol vonalunk megjelent.

*\*\* A Readsensort2 kábelhez tehéntej vizsgálathoz alkalmas protokoll van biztosítva, kérésére kecsketej vizsgálatot lefedő módszerleírást küldünk.*

#### 2. A vizsgálat menetének meghatározása

- Adjon **200 µl** tejmintát (homogén, 4-10°C közötti) egy reagenst tartalmazó küvetta és keverje meg **10-szer** a megfelelő homogenitás elérése érdekében;
- Inkubálja **3 perces +40°C-on**; nyomja meg az inkubátoron a START/STOP gombot
- Helyezzen egy tesztcsíkot minden küvetta fölé;
- Amennyiben szükséges használjon védőburát (opcionális)
- Ellenőrizze, hogy a tesztcsík beleesett a reagens küvetta a 3 perces előinkubálás után.
- Folytassa az inkubációt **7 perces +40°C-on**;

- Vegye ki a tesztcsíkot a készülékből és távolítsa el a mintafelvevő membránt leállítva ezzel a reakciót;
- Olvassa le a színintenzitásokat Readsenssor2 készülékkel azonnal (maximum 2 percen belül).

### 3. A kit tartalma

Az Aflasensor Tej kitek tartalmaznak minden szükséges eszközt 96 teszt elvégzéséhez.

- 12 darab műanyag edény mindegyikben 8 darab reagens küvetta és 8 darab tesztcsík;
- 1 darab automata pipetta, fix 200 µl;
- 1 darab használati utasítás;
- 1 darab minőségi bizonyítványt.

#### Szükséges anyagok, amelyeket nem tartalmaz a csomag:

- 1 darab Heatsensor inkubátor (+40°C inkubáció, bővebben az alkalmazott Heatsensor használati útmutatójában).
- 1 darab Readsenssor olvasó (opcionális, bővebben a Readsenssor használati útmutatójában).
- Desztillált víz
- Opcionálisan védő búra, környezeti hatások kiküszöbölésére

### 4. Általános megjegyzések

- A kitet száraz helyen, alacsony hőmérsékleten +2 és +8 °C között ellenőrzött hűtőszekrényben tárolják.
- A tesztek ismételt hőingadozástól és erős fénytől és nedvességtől óvjuk.
- Ne keverjük a különböző gyártási sarzsba tartozó reagenseket.
- Ne használjunk lejárt tesztet.
- Ne érintsük meg a teszt membrán területét.
- A minta adagolás és a keverés lépésénél kerüljük a reagens kiömlését.
- Üritsen ki egy műanyag tubust, mielőtt egy újat nyitna ki.
- Szorosan zárja le a tubust használat után.
- Ne használja az Aflasensor tesztet alvadt (romlott) tejhez, a tejminta nem lehet 2 napnál régebbi, nem tartalmazhat csomókat és szétváló fázisokat;
- Az optimális hőmérséklete a tejmintának 4-10 °C között van;
- A teszt elvégzéséhez az optimális hőmérséklet **+40°C ± 1°C**. Használja a Heatsensor inkubátort. Más típusú inkubátorok nem alkalmazhatók az Aflasensor vizsgálathoz. (A megfelelő hőmérséklet és időzítés beállításáról bővebben a Heatsensor használati utasításban olvashat);
- A megadott idők betartása 3+7 perc befolyásolja a teszt mérési teljesítményét. Ezekről eltérni nem szabad.
- A második inkubációt követően azonnal vegye ki az inkubátorból és olvassa le az eredményt 2 percen belül. **Ne próbálja meg leolvasni az eredményt 2 percet követően;**
- Száradás közben a csíkok színintenzitása élesebb lesz;
- Pozitív eredmény esetén, a kapott eredményt meg kell erősíteni további két méréssel;

- Annak érdekében, hogy az elvárt mérési pontosságot kapja, kövesse lépésről-lépésre a vizsgálati protokollt és használja az Unisensor készülékeit.

#### **Használati korlátozás**

- A teszt csík bemelegítése után, a futtatási időszakban kerülje az erős légmozgást (légkondicionáló, nyitott ablak), szükség esetén használjon védőburát.
- Ne használja a tesztet, ha a normál környezeti értékeknek nem felel meg a páratartalom, hőmérséklet (20-80% 20°C-on; 18-25°C);
- Ne hagyja kint a tesz csíkot hosszabb ideig a mérés előtt.

## **5. Használati utasítás**

### Mérés előtt

- ✓ Olvassa el a használati utasítást figyelmesen;
- ✓ Válasszon egy tiszta és száraz helyet a vizsgálathoz. Mossa és szárítsa meg a kezét, mielőtt elkezdi a vizsgálatot;
- ✓ Győződjön meg a készülékek és a védőbúra tisztaságáról;
- ✓ Mielőtt kinyitná a reagenst, vegye ki a kivet a hűtőből és hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (ürítsen ki egy tubust, mielőtt újat bont);
- ✓ Csatlakoztassa a Heatsensor inkubátort (bővebben a Heatsensor használati utasításban; 40°C, 3+7 perc inkubáció) és várjon, míg a hőmérséklet stabilizálódik +40°C-on;
- ✓ Kapcsolja be a Readsensort2 leolvasó készüléket és győződjön meg arról, hogy az ellenőrzés/kalibráció a használati utasítás szerint megtörtént. Töltse fel a méréshez szükséges LOT specifikus kalibrációs fájlokat.

### Mérés

- ✓ Határozza meg a vizsgálandó minták számát és lássa el mindet azonosító számmal;
- ✓ Nyisson ki egy műanyag edényt és vegyen ki annyi küvettát, ahány mintát szeretne vizsgálni.
  - Egy műanyag edény kinyitásához először távolítsa el a biztonsági gyűrűt annak lefelé nyomásával, majd vegye le a fedelet;
  - A tesztcsík és a reagens kivételét követően zárja be megfelelően a műanyag edényt;
  - Mindig használja el az összes tesztet és küvettát az adott műanyag edényből, mielőtt újat bontana ki;
  - Figyelem, ha nem használja el mind a 8 küvettát a műanyag edényből, ne tépje le a már elhasznált küvettákat lezáró kupakokat. Ne próbálja a küvettákat szétszedni különálló darabokra, hanem a használat után azonnal tegye vissza a műanyag edénybe anélkül, hogy megsértené velük a tesztcsíkokat, majd zárja le, és győződjön meg, hogy megfelelően lezárt a kupak.
  - Helyezze a küvettá(ka)t a 40 °C-os inkubátorba;
- ✓ Tegyen új hegyet a mikropipettába és pipettázon 200 µl tejet minden küvettába, keverje meg alaposan a pipetta segítségével 10-szer a mintát;
- ✓ **Figyelem: amint a reagens és a tej érintkezik egymással, a reakció elkezdődik. Keverje össze gyorsan és AZONNAL nyomja meg a START (RUN) gombot. A 3 perces szakasz elindul;**
- ✓ *Az első inkubációs szakasz alatt a receptorok felderítik, hogy van-e szennyeződés a tejben. A reakció teljes lejátszódásához 3 percre van szükség.*

- ✓ Eközben nyissa ki ugyanazt a műanyag edényt és vegyen ki annyi tesztcsíkot, ahány vizsgálatot végez, majd zárja be az edényt. Fektesse a tesztcsíkokat egy száraz lapra és írja rájuk a minta azonosítókat; Helyezze a HeatSensor teszt tartójának megfelelő pozíciójába.
- ✓ Az első 3 perc leteltét, a tesztcsíkok automatikusan beleesnek a reagens küvettába és folytatódik a további 7 perces inkubálás
- ✓ Az első 3 perc leteltét, a tesztcsíkok automatikusan beleesnek a reagens küvettába és folytatódik a további 7 perces inkubálás
- ✓ Folytassa a vizsgálatot a ReadSensor2 olvasóval történő kiértékeléssel azonnal (legfeljebb 2 percen belül)
- ✓ Ha nem végez több Aflatoxin vizsgálatot aznap, tegyen vissza mindent a dobozba és tárolja +2 – +8 °C között.

## 6. Kontroll előkészítése

Negatív kontrollt nem tartalmaz a kitt. Használjon aflatoxin mentes tehéntejet negatív kontrollként.

Pozitív kontroll található a dobozban, ami egy fagyasztva szárított AFLA M1 toxin, pontos értékét a teszthez tartozó minőségi bizonyítvány tartalmazza. Használjon aflatoxin mentes nyers tejet a pozitív kontroll feloldásához.

Aflatoxin mentes tejnek az 5 ppt alatti AFLA M1 tartalmú tejet tekintjük.

- Hagyja a kontrollt tartalmazó üvegcsét felmelegedni szobahőmérsékletűre (18-25°C) 15 ± 5 perc alatt.
- Bizonyosodjon meg arról, hogy aflatoxin mentes tejet használ (5ppt alatti AFLA M1 tartalom)
- Ha a tejünk nem megfelelő ne végezzük el a kontrollmérést;
- Adjon 1 ml-nyi tejet a pozitív kontrollhoz;
- Keverje meg alaposan (vortex használata javasolt) 10-30 másodpercig, míg teljesen fel nem oldódik.
- Tegyen 200 µl-nyit a tesztküvettánkba (ideális a párhuzamos mérés)

## 7. Eredmény kiértékelés

Az eredmények közvetlen kiértékelése Readsenssor2 olvasóval a mérés befejezését követő **2 percen belül**.

- A Readsenssor2-t a vizsgálat előtt be kell kapcsolni és be kell állítani a megfelelő programot (KIT041\_Kit batch azonosító)\*. Figyeljen arra, hogy a megfelelő tételszámú kithez tartozó módszert/kalibrációs fájlt válassza ki, mivel minden egyes batch azonosítónak saját kalibrációs görbéje és mérési módozata van.
- Távolítsa el a minta szivacsot a tesztcsíkról, majd helyezze a tesztcsíkot a Readsenssor-ba és nyomja meg a TEST\* gombot.
- A műszer a TEST vonal és a CTRL vonal színintenzitásait hasonlítja össze (T/C), és átalakítja ezt az arányszámot a tejmintában jelen lévő ppt-ben (ng/kg) kifejezett koncentrációs értéké.

Abban az esetben, ha mérésünk VALID 4 lehetséges eset fordulhat elő, melynek mindegyike kvalitatív és kvantitatív eredményeket biztosít:

AFM1 szennyeződés	Kvalitatív eredmény	Kvantitatív eredmény	Megjegyzés
NO AFM1 vagy kisebb, mint 20 ppt	NO_AFLA<LoB (negatív eredmény EU MRL-hez képest)	NaN (not available number) vagy AFM1 koncentráció ppt-ben kifejezve.	Az eredmény nem értelmezhető valóságnak. Az LoB érték (Limit of Blank) 20 ppt
Szignifikáns AFM1 szint 20 ppt-től a cutt-off értékig *	NEG<LoQ (negatív eredmény EU MRL-hez képest)	AFM1 koncentráció ppt-ben kifejezve (ng/kg)	kvantitatív eredmény ppt-ben. Az eredmény az LoQ (limit of Quantification) alatt van; %CV nagyobb, mint 20%
Szignifikáns AFM1 a cutt-off értéktől 50 ppt-ig	POS<LoQ (potencionálisan pozitív érték ez EU MRL-hez viszonyítva)	AFM1 koncentráció ppt-ben kifejezve (ng/kg)	kvantitatív eredmény ppt-ben. Az eredmény az LoQ (limit of Quantification) alatt van; %CV nagyobb, mint 20%
Szignifikáns AFM1 50 ppt-től	POS>LoQ (pozitív érték ez EU MRL-hez viszonyítva)	AFM1 koncentráció ppt-ben kifejezve (ng/kg)	kvantitatív eredmény ppt-ben. Az eredmény az LoQ (limit of Quantification) felett van; %CV alacsonyabb, mint 20%

**\*\* cutt-off érték a teszt minőségi bizonyítványán található**