

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

ANTIMICROBIAL ARRAY III

CHLORAMPHENICOL ONLY

(AM III CAP ONLY)

TERVEZETT FELHASZNÁLÁS

— evidence —
INVESTIGATOR

Az Evidence Investigator™ Antimicrobial Array III csak Kloramfenikol vizsgálat csak Kloramfenikol egyetlen mintából való szemi-quantitatív meghatározását teszi lehetővé.

ÁLLATORVOSI ÉS/VAGY ÉLELMISZEREK VIZSGÁLATÁRA HASZNÁLANDÓ!

Nem használható diagnosztikai eljárásokra. A pozitív eredményeket más módszerrel kell megerősíteni.

Cat. No. EV 3738

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1.	ASSAY DIL	1 x 13 ml
2.	AM III CONJ (konc.)	1 x 1 ml
3.	CONJ DIL	1 x 12 ml
4.	AM III BIOCHIP	54 biochips
5.	AM III CAL	9 x 1 ml
6.	PX	1 x 10 ml
	LUM-EV805	1 x 10 ml
7.	BUF WASH (konc.)	1 x 32 ml
8.	AM III DIL SPE	1 x 30 ml
9.	Kalibrációs lemez és vonalkódok	1
10.	Szövetextrakciós puffer (konc.)	1 vial

AM III	Anti Microbial Array III
CAP ONLY	Csak kloramfenikol
ASSAY DIL	Assay puffer
CONJ (conc.)	Konjugátum koncentrátum
CONJ DIL	Konjugátum oldószer
BIOCHIP	Biochip
CAL	Kalibrátor
PX	Peroxid
LUM-EV805	Luminol-EV805
BUF WASH (conc.)	Mosópuffer koncentrátum
DIL SPE	Mintahígító

CÍMKÉZÉSI ÚTMUTATÓ

ALAPELV

Az Evidence Investigator™ Biochip Array Technológia többszörös analitik egyetlen mintából történő egyidejű kvantitatív kimutatására használatos.

Az alaptechnológia a Randox Biochip, egy szilárdtest berendezés, amely különálló array területekből áll. Egy kompetitív kemilumineszcens immunoassay-t használnak az Anti mikrobial Array III csak Kloramfenikol szűrése során. Egy mintában lévő magasabb Kloramfenikol szintek a torma peroxidázzal jelölt antimikrobák (HPR) alacsonyabb szintű megkötéséhez vezet, így a kibocsátott kemilumineszcencia csökkenése mutatkozik.

A biochip egyes teszterületeiről kibocsátott fényjelet digitális képalkotási technológiával mutatják ki, és egy tárolt kalibrációs görbével hasonlítják össze. A mintában jelenlévő analit koncentrációját a kalibrációs görbéből számítják ki.

Számos különböző immunoassay alapú multi-analit módszert fejlesztettek ki az Evidence Investigator™-on való használatra. Az Evidence Investigator Anti Microbial Array III csak kloramfenikol vizsgálat szemi-quantitatív módon teszlet kloramfenikolra (CAP).

KORLÁTOZÁSOK

- A készletek összetevői árutétel (batch) specifikusak és vonalkódhoz vannak társítva. Ne keverje a különböző lotok elemeit.
- Ez a készlet csak szűrésre használatos, nem diagnózisra.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

MÉZMINTA EXTRAKCIÓ

- Mérjen ki 1 g of mézmintát (egy centrifuga csőbe).
- Adjon hozzá 4 ml +37°C-ra melegített desztillált vizet és helyezze rollerre 10 percre, vagy amíg feloldódik.
- Adjon 15 ml Etil-acetátot a méz minta feloldására, használjon üvegpipettát.
- Vortexelje 2 percig, helyezze rollerre 10 percre, majd centrifugálja 4500 rcf-en 10 percig.
- Vegyen ki 6 ml a felülúszóból egy üvegpipettával és tegyük egy tiszta kémcsőbe.
- Szárítsd le a mintát az evaporátoron (körülbelül 20 percig +60°C-on, 15 psi nyomáson).
- Újraszuspendáljuk 400 µl mintahígítóval és vortexeljünk 2 percig.
- A minta készen áll a bichipre való alkalmazásra.
- Megjegyzés: a mintát használja fel azonnal.
- Nem kell hígító tényezőt alkalmazni a mérés során.
- Jegyezze meg mézre: 1 ppb = 1 ng/g.

SZARVASMARHA/HAL/GARNÉLA/KISMÉRETŰ RÁK IZOM EXTRAKCIÓ

- Tegyen 3 g szövetet 6 ml Etil-acetát.
- Vortexelje 1 percig.
- Centrifugálja 2000 rpm-en 15 percig.
- Vegyen le 4 ml-t a felül úszóból és szárítsa le +70°C-on.
- A beszárított anyagot oldjuk fel 2 ml izooktán/kloroform (2:3) elegyben, vortexeljünk 1 percig.
- Adjon hozzá 0.5 ml hígított Húsextrakciós puffer és vortexelje 2 percig.
- Centrifugálja 2000 rpm-en 15 percig.
- A felülúszó most készen áll a biochipre való alkalmazásra.
- Az izomminták konvertálásához ng/ml-ből ng/ml-be 0,25-tel kell szorozni.
- Izomszövet esetén 1bbb = 1 ng/g.

TEJ

A Milk Preparation Kit (Cat. No. EV3776) tejmintaelőkészítési kit használata szükséges hozzá. Kérjük, nézze át az EV3776 használati utasítását a részletekért.

TAKARMÁNY

A Feed Preparation Kit (Cat. No. EV3724) takarmány mintaelőkészítési kit használata szükséges hozzá. **Kérjük, nézze át az EV3724 használati utasítását a részletekért.**

VIZELET MINTA

- Centrifugálja a vizeletet 4000RPM-en, 10 percig, szobahőmérsékleten.
- Pipettázzon ki 50µl felülúszót és hígítsa 450µl hígított mosópufferrel.
- Vortexelje, mielőtt a biochipre méri.
- Az Evidence Investigator nem számol automatikusan a minta hígításával. A kapott koncentrációt manuálisan kell 10-el felszorozni, hogy megkapjuk a végső koncentrációt.

BIZTONSÁGI RENDSZABÁLYOK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

- Ne pipettázzuk szájjal. Tartsuk magunkat a laboratóriumi reagensek kezeléséhez szükséges normál rendszabályokhoz.
- A tartályokat és a csöveket oly módon címkézzük, hogy az biztosítsa a megfelelő mintazonosítást.
- Jel reagens EV841: Kerülje a szennyeződést és ne tegye ki közvetlen napfénynek.

Az Egészségügyi és Biztonsági Adatlap kérésre beszerezhető.

A reagenseket csak a rendeltetésnek megfelelően kell használni megfelelően képzett laboratóriumi személyzettel, megfelelő laboratóriumi körülmények között.

REAGENS ÖSSZETÉTEL

- 1. ASSAY DIL**
7.2 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot, blokkoló hatóanyagokat és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- 2. AM III CONJ (conc.)**
5.5 pH-jú, torma peroxidázzal (HRP) jelölt vizsgálat specifikus konjugátumokat tartalmazó liofilizált puffer.
- 3. CONJ DIL**
7.5 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- 4. AM III BIOCHIP**
Megkötött ellenanyagokból álló, különálló teszterületeket tartalmazó szilárdtest szubsztrát.
- 5. AM III CAL**
9 flakon, a teljes panelre kloramfenikol analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.
- 6. LUM-EV805 / PX**
Luminol-EV805 (1 x 10ml) és Peroxid (1 x 10ml) van biztosítva, és ha 1:1 arányban vannak keverve, akkor alkotják a működő jelreagenst.
- 7. BUF WASH (conc.)**
7.4 pH-jú, felületaktív anyagokat és tartósítószeret tartalmazó 20mM Tris pufferolt sóoldat. Ne használjuk, ha a puffer kocsonyás vagy kristályos. További tanácsért forduljon a Randox technikai tanácsadáshoz.
- 8. AM III DIL SPE**
7.2 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- 9. 9.TISSUE EXTRACTION BUFFER (Húsextrakciós puffer)**
Felületaktív anyagok alkohol bázisú oldatban feloldva.

A REAGENSEK STABILITÁSA ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

Jegyezzük meg, hogy minden reagenst szobahőmérsékletre kell hozni felhasználás előtt.

- 1. ASSAY DIL**
A vizsgálati pufferoldat használatra kész, és +2 - +8°C-on tárolva a lejárat dátumig stabil.
- 2. AM III CONJ (conc.)**
A konjugátum liofilizált 50-szeres koncentrátumként van szállítva. A liofilizált konjugátum koncentrátumot 1 ml konjugátum oldószerben (CONJ DIL) kell feloldani, és használat előtt 30 percig görgessük a munka konjugátum előkészítéséhez. A **munka konjugátumot** azonnal fel kell használni. Egy hordozónak (9 biochip + holtterfogot) körülbelül 1ml munka konjugátumra van szüksége. A szükséges munka konjugátum mennyiségét a 100 µl küvettánkénti térfogat alapján számoljuk ki. Pl. 2 hordozónak 2 ml munka konjugátumra van szüksége. A liofilizált konjugátum +2-+8°C-on **fénytől védve** tárolva a lejárat dátumig stabil. Egy 6 hordozót tartalmazó teljes készletre 120 µl feloldott konjugátum koncentrátumot kell 5.88 ml konjugátum oldószerhez adni használat előtt.
A feloldott konjugátum koncentrátum az eredeti flakonban tárolva 14 napig stabil +2 – +8° C-on, és 4 hétig – 20°C-on, **fénvtől védve** tárolva. Csak a szükséges anyag mennyiséget vegyük ki. Az anyagot ne tegyük vissza az eredeti flakonba.

3. CONJ DIL

A konjugátum oldószer használatra kész és stabil a lejárati időig, ha +2 - +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk.

4. AM III CAL BIOCHIP

A biochipek használatra készek. Mindegyik hordozó 9 biochipet tartalmaz, és egy fogantyúval van ellátva a kezelés megkönnyítése érdekében. A hordozók egyedileg fóliába vannak csomagolva. A biochipek stabilak a lejárati időig, ha +2 – +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk őket.

5. AM III CAL

Óvatosan nyissuk ki a fiolát, hogy ne vesszen kárba az anyag. Oldjuk fel pontosan 1 ml duplán ioncserélt vízben. Helyezzük vissza a gumidugót, zárjuk le a flakont és használat előtt 30 percig forgassuk rolleren. Kerülje a habképződést.

A feloldott kalibrátorok az eredeti fiolában 28 napig stabilak, +2 – +8°C-on és legfeljebb 1 hétig -20°C-on. Csak a szükséges anyagmennyiséget vegyük ki. Az anyagot ne tegyük vissza az eredeti flakonba.

6. LUM EV805 / PX

Két komponens, a Luminol-EV805 (1 x 10ml) és a Peroxid (1 x 10ml) van mellékelve, és ha 1:1 arányban vannak elkeverve, akkor adják a **munka jelreagens- EV805**-öt. Egy hordozóhoz (9 küvetta + holtterfogot) körülbelül 3 ml munka jelreagensre-EV805 van szükség.

Számoljuk ki a szükséges EV805 munka jelreagens mennyiségét a 250 µl küvettánkénti térfogat alapján. Pl. 2 hordozó 6 ml EV805 munka jelreagenst igényel - 3 ml Luminol-EV805-öt és 3 ml peroxidot. Mérjük ki mindkét komponens térfogatát (1:1), steril eldobható műanyag pipettákat használva, külön tiszta áttetsző flakonokba. Ügyeljünk a szennyeződések elkerülésére a reagensek kezelése közben. Keverjük össze a komponenseket, gyengéden görgetve használat előtt 15 percig. Az állag elérése érdekében ajánlatos a Luminol-EV805 komponenst keveréskor a peroxid komponenshez adni. A Luminol-EV805 komponenst és munka reagenst **fénytől védjük**. Az EV805 munka jelreagens szobahőmérsékleten 4 órán át stabil.

7. BUF WASH (conc.)

A mosópuffer koncentrátumként van mellékelve, amely használat előtt hígítást igényel. A hígítási tényező 31.25, vagyis 32 ml koncentrátumot kell 968 ml vízhez adni, és forgatással keverni. A hígított mosópuffer 30 napig stabil, ha +2°C - +8°C-on tároljuk.

8. AM III DIL SPE (Sample diluent/Mintahígító)

A mintahígító használatra kész és stabil a lejárati időig, ha +2 - +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk.

9. TISSUE EXTRACTION BUFFER (Húsextrakciós puffer)

A húsextrakciós puffer koncentrátumként van mellékelve. Hígítsuk 1:400-ban AMIII Mintahígítóval (DIL SPE), azaz 1. hígítás 50 µl koncentrátum + 450 µl mintahígító (DIL SPE). 2. Hígítás 125 µl (1.Hígítás) + 4875 µl mintahígító (DIL SPE). Ennyi oldat elég 9 mintához. A hígított húsextrakciós puffert azonnal fel kell használni.

VIZSGÁLATI ELJÁRÁS**MELLÉKELT ANYAGOK**

1. ASSAY DIL	1 x 13 ml
2. AM III CONJ (conc.)	1 x 1 ml
3. CONJ DIL	1 x 12 ml
4. AM III BIOCHIP	54 biochips
5. AM III CAL	9 x 1 ml
6. PX	1 x 10 ml
7. LUM-EV805	1 x 10 ml
8. BUF WASH (conc.)	1 x 32 ml
9. AM III DIL SPE	1 x 30 ml
10. Kalibrátor lemezek és vonalkódok	1
11. Tissue Extraction Buffer	1 vial

(Szövetextrakciós puffer konc.)

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

1. Pipetta és pipette hegyek
2. Mosóüveg
3. Ioncserélt desztillált víz
4. Anti Microbial III Control (Cat. No. AMC5036)
5. Evidence Investigator™ Ziplock tasakok (EV3664)
6. Keverőoller
7. Etil-acetát, pl. BDH Cat No: 101086J
8. Vortex
9. Kémcsövek
10. Minta bepárló
11. Centrifuga
12. Elszívófülke
13. Mérleg
14. Osztott 10 ml üveg pipetta
15. Főzőpohár
16. Kémcsőállvány
17. Szálmentes papírtörő
18. Centrifugacsövek
19. 2, 2, 4-Trimethylpentane (Isooctane) – AnalaR Grade.
20. Chloroform – AnalaR Grade

KALIBRÁCIÓ

Egy kilenc pontos kalibrációt kell végeznünk a Randox Evidence Investigator™ AMIII Chloramphenicol only kalibrátorok használatával, amely mindegyik vizsgálat kalibrációját lefedi. Maximum 6 biochip hordozó vizsgálható egyidejűleg, és ajánlatos mindegyik vizsgálat sorozathoz új kalibrációs görbét szerkeszteni.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Anti Microbial Control (AMC5036) kontrol használata minőségellenőrzési szempontból javasolt, a megbízhatóság és a pontosság vizsgálatára. A kontrolt a felhasználó által meghatározott gyakorisággal kell vizsgálni

ANYAGOK

Használat előtt minden anyagot szobahőmérsékletre kell hozni.

Vegyük ki a kívánt számú biochip hordozót a csomagolásukból. Helyezzük az Investigator keverőinkubátor egységgel felszerelt kezelőtálcát a munkafelületre. Helyezzük be mindegyik hordozót a kezelőtálcába, a pozícióba pattintással biztosítva, hogy vízszintesek és rögzítettek. Minden minta és reagens hozzáadást, mosást és inkubációt a kezelőtálcá segítségével végzünk el, és a hordozókat csak az eljárás végső jelzőanyag hozzáadás és képkötés fázisához távolítjuk el róla. További részleteket lásd a Használati utasításban. Minden használandó hordozót címkézzünk fel. Ajánlott, hogy az első vizsgálandó hordozó kalibráció legyen, a mellékelt kilenc kalibrátor használatával.

Ajánlatos a keverőinkubátort használat előtt 30 perccel +25°C-ra melegíteni.

Ajánlott, hogy ezt a vizsgálatot egy laboratóriumban +15 - +25°C közötti hőmérsékleten végezzük el. Ha olyan laboratóriumban dolgozunk, amely ezeken a hőmérsékleteken kívül esik, az kedvezőtlen hatással lehet a teljesítményre.

ELJÁRÁS

CD-ROM INSTALLÁCIÓ

- Helyezzük a lemezt a CD-ROM meghajtóba.
- Az Updater program automatikusan futni fog.
- Kattintsunk arra a rendszerre, amelyet frissíteni akarunk, hogy biztosítsuk, hogy a megfelelő módszer van frissítve a szoftveren a koncentráció feltöltése előtt.
- Zárjuk be a feltöltés panelt és a Koncentráció Frissítése (Update Concentration) ablak fog megjelenni.
- Válaszoljunk igennel (YES) a 'Biztos abban, hogy, frissíteni kívánja a koncentrációkat?' (ARE YOU SURE YOU WANT TO UPDATE CONCENTRATIONS?) kérdésre.
- A PDF megtekinthető, ha megnyitjuk a My Computer-t (Sajátgép) és kiválasztjuk az explore-t (kutatás) a CDROM-on.
- A kalibrációs koncentrációk ehhez a panelhez most frissítve lettek. Kérjük, kalibrálja újra a társított módszert a további mintaanalízis előtt.

KÜLÖNLEGES UTASÍTÁSOK

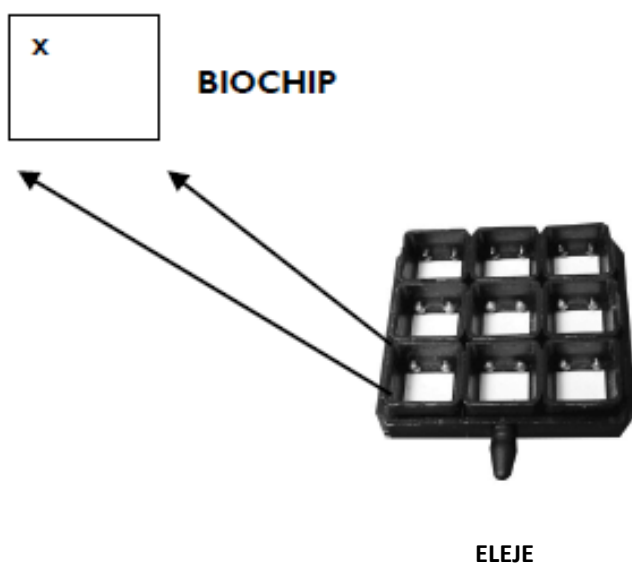
A Módszer (Array) és a Kalibrátor (Calibrator) beállítások alapvető frissítések az ön Evidence Investigator™ rendszeréhez, és a megfelelő Evidence Investigator™ kalibrátorokkal együtt történő használatra kell őket installálni.

ASSAY PROTOCOL/MÓDSZER PROTOKOLL

A kézi Evidence Investigator™ Anti Microbial Assay III CAP ONLY módszerekhez a kiértékelt hordozók maximális száma bármely adott időpontban a reagens / minta berakási időtől függ. Ajánlott, hogy ez az időtartam ne haladja meg a 10 percet.

A reagens hozzáadása pipettázással történik a biochip elejéhez, ügyelve, hogy a biochip felületét ne érintsük meg a pipettacsúcsokkal (lásd az alábbi ábrát A reagensesket és mintákat a biochip hátsó része felé mutatva kell felpipettázni. Az X mutatja az optimális mintafelviteli helyet.

I. Ábra A vizsgálati reagensek és minták adagolásához optimális pozíció.



1. Pipetázzunk **150 µl vizsgálati puffert (ASSAY DIL)** küvettánként.
Pipetázzunk **50 µl kalibrátort/előkészített mintát** küvettánként. Gyengéden ütögessük meg a kezelőtálca mindegyik szélét a reagensek elkeveréséhez.
2. Rögzítsük a kezelőtálcát a keverőinkubátor alaplapjához. Inkubáljuk 30 percig +25°C-on és 370 rpm-en.
3. Pipetázzunk **100 µl munka konjugátumot** küvettánként. Inkubáljuk további 60 percig +25°C-on és 370 rpm-en.
4. Vegyük ki a hordozókat tartalmazó kezelőtálcát a keverőinkubátorból. Öntsük ki a reagenseket a hulladékba a kezelőtálca hirtelen megbillentésével
5. Azonnal végezzünk el 2 gyors mosóciklust. Hígított mosópuffert tartalmazó mosóüveget használva (a hígítást lásd a készlet mellékletében) adjunk kb. **350 µl mosópuffert** mindegyik küvettába, gyengéden megütögetve a kezelőtálca mindegyik szélét, hogy kiszabadítsuk az összes reagenst, amely esetleg a biochip alatt be van szorulva, és öntsük a hulladékba egy gyors mozdulattal. Ügyeljünk rá, hogy a mosás során ne töltsük túl a küvettákat annak érdekében, hogy csökkentsük a küvettáról küvettára történő szennyeződés lehetőségét. Végezzünk el még 4 mosóciklust; mindegyik ciklushoz gyengéden ütögessük meg a kezelőtálca mindegyik szélét körülbelül 10-15 másodpercig, majd hagyjuk a biochipeket ázni a mosópufferben 2 percig. A végső mosás után ütögessük ki egy szöszmentes törülközőre az összes maradék mosópuffer eltávolításához.
6. Az utolsó mosás után töltsük fel a küvettákat mosópufferrel, és hagyjuk ázni közvetlenül a képkotás előtt. Semelyik hordozót ne hagyjuk tovább ázni 30 percnél.

KÉPKOTÁS

Lásd az Evidence Investigator™ Kezelői Utasítás 4. Bekezdését az általános működési eljárásra és a munkalistára vonatkozóan.

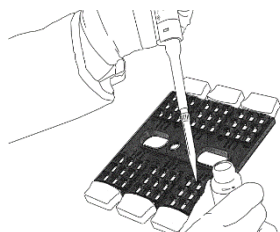
- A hordozókat egyenként dolgozzuk fel. Azokat, amelyek a képkotásra várnak, óvnunk kell a fénytől.
- Vegyük ki az első képkotásra váró hordozót a kezelő tálcáról. Közvetlenül a jelző reagens hozzáadása előtt távolítsuk el a mosópuffert egy gyors, billentő mozdulattal, és ütögessük ki a hordozót egy szöszmentes törülközőre az összes maradék mosópuffer eltávolítása érdekében.
- Adjunk 250 µl munka EV805munka jelreagenst mindegyik küvettába, és fedjük le, hogy megvédjük a fénytől.
- Pontosan 2 perc múlva (±10 mp) helyezzük a hordozót az Evidence Investigator™-be. Ajánlatos egy időzítő használata, hogy a képkotás a megfelelő időben történjen.
- A képek készítése automatikusan indul, ahogyan a társított szoftver által meg van határozva. (Lásd a Szoftver Kézikönyvet/Software Manual).

EREDMÉNYFELDOLGOZÁS

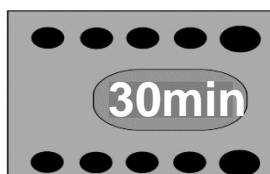
Az eredmények automatikusan kerülnek felhasználásra a társított szoftver használatával.

Az Evidence Investigator™ a Randox Laboratories Ltd. Northern Ireland védjegye.

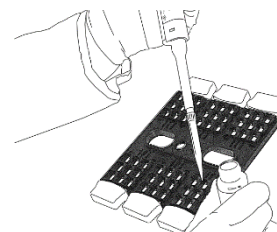
AM III CHLORAMPHENICOL ONLY vizsgálati eljárás összefoglalója (Kérjük, figyelmesen olvassa el a teljes protokoll leírást!)



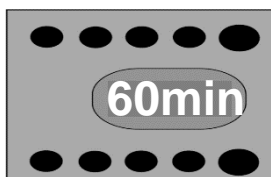
- 1. Készítse elő a mintákat.**
- Adjunk 150 µl vizsgálati puffert mindegyik hordozó küvettába, majd 50 µl kalibrátort/előkészített mintát.



- 3. Inkubáljuk a hordozót +25°C-on 30 percig 370 rpm-en.**



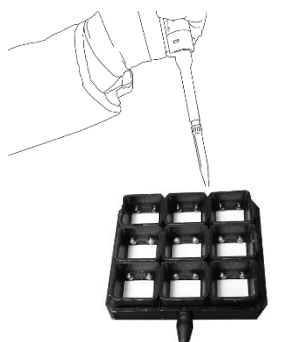
- 4. Adjunk hozzá 100 µl munka konjugátumot**



- 5. Inkubáljuk a hordozót +25°C-on 60 percig 370 rpm-en.**



- 6. Öntsük le a folyadékot és jól mossuk el az összes küvettát. Végezzünk el 2 gyors mosást és 4 kétperces áztatást. Öntsük ki a folyadékot és ütögessük szöszmentes papírra.**



- 7. Keverjük luminol-EV805 és peroxidot (1:1). Adjunk 250 µl EV805 jelreagens-keveréket mindegyik küvettába. Inkubáljuk 2 percig és óvjuk a fénytől.**

**Evidence
Investigator**

- 8. Alkossunk képet mindegyik hordozóról az Investigatoron.**