

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

COCCIDIOSZTATIKUMOK VIZSGÁLAT (CCS)

TERVEZETT FELHASZNÁLÁS

— evidence —
INVESTIGATOR

Az Evidence Investigator™ Coccidiosztatikumok vizsgálat egyetlen mintából többszörös összefüggő antimikrobiális immunoassay (párhuzamosan folyó) kvantitatív kimutatására használható.

KIZÁRÓLAG ÁLLATGYÓGYÁSZATI ÉS/VAGY ÉLELMISZER ANALITIKAI HASZNÁLATRA. Nem használható diagnosztikai eljárásként. A pozitív eredményeket más módszerrel kell megerősíteni.

Cat no. EV 3772

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1. CCS CONJ (conc.)	2 x 1 ml
2. DIL CONJ	1 x 12 ml
3. CCS BIOCHIP	54 biochip
4. CCS CAL	9 x 1 ml
5. PX	1 x 10 ml
6. LUM - EV840	1 x 10 ml
7. BUF WASH (conc.)	1 x 32 ml
8. Kalibrátor lemez és vonalkódok	1

CÍMKÉZÉSI ÚTMUTATÓ

CCS	Coccidiosztatikumok módszer
CONJ (conc.)	Konjugátum koncentrátum
DIL CONJ	Konjugátum oldószer
BIOCHIP	Biochip
CCS CAL	Kalibrátor
PX	Peroxid
LUM-EV840	Luminol-EV840
BUF WASH (conc.)	Mosópuffer koncentrátum

ALAPELV

Az Evidence Investigator™ Biochip Array Technológia többszörös analitikus egyetlen mintából történő egyidejű kvantitatív kimutatására használható.

Az alaptechnológia a Randox Biochip, egy szilárdtest berendezés, amely különálló array területekből áll, melyek Coccidiosztatikumokra specifikus lekötött antitesteket tartalmaznak. Egy kompetitív kemilumineszcens immunoassay-t használnak a Coccidiosztatikumok módszerhez. Egy mintában lévő magasabb Coccidiosztatikumok 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-analitikus módszert fejlesztettek ki az Evidence Investigator™-on való használatra. Az Evidence Investigator Coccidiosztatikumok vizsgálat kvantitatív módon tesztel egyidejűleg Lasalocidra (LAS), Nicarbazinra (NZN), Imidocarbura (IMO), Toltrazurilra (TZL), Maduramicinre (MAD), Nifursol Metabolitára (NIF), Salinomycinre (SAL), Clopidolra (CPL) Monensinre (MON), Robenidinere (ROB), Decoquinatere (DEQ), Halofuginonere (HAL) and Diclazurilra (DZL).

KORLÁTOZÁSOK

- A készletek összetevői árutétel (batch) specifikusak és vonalkódhoz vannak társítva.
- Ez a készlet csak szűrésre használható, nem diagnózisra.

JAVASOLT MINTAELOKÉSZÍTÉS

Tojás

1. Mérjük ki 1g homogenizált teljes tojás mintát.
2. Adjunk hozzá 4ml hígított mosópuffert és 0.04g aszkobinsavat.
3. Vortexeljük 1 percen át.
4. Adjunk hozzá 5ml acetonitrilt.
5. Incubáljuk a mintát +50°C-on 10 percig.
6. Vortexeljük 2 percig.
7. Semlegesítse 150µl 1M-os NaOH.
8. Vortex 30 másodpercig.
9. Centrifugálja a mintát 4000 rpm-en 10 percig.
10. Távolítsa el 1 ml oldatot (oldószer és puffer keverék).
11. Szárítsa le +50°C-on.
12. Oldja fel a maradékot 0.2ml hígított mintában.
13. Az eredményt szorozzuk meg 1,8-del a tojásminta hígító hatása miatt.

BIZTONSÁGI RENDSZABÁLYOK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

- Csak szűrésre alkalmazzák. Ne pipetázzuk szájjal. Tartsuk magunkat a laboratóriumi reagensek kezeléséhez szükséges normál rendszabályokhoz.
- A tartályokat és a csöveket oly módon címkézzük, hogy az biztosítsa a megfelelő mintaazonosítást.

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. CCS CONJ (conc.)**
Torma peroxidázzal (HRP) jelölt vizsgálat specifikus konjugátumokat tartalmazó liofilizált koncentrátum.
- 2. DIL CONJ**
7.5 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- 3. CCS BIOCHIP**
Megkötött ellenanyagokból álló, különálló teszterületeket tartalmazó szilárdtest szubsztrát.
- 4. CCS CAL**
9 flakon, a teljes panelre analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.
- 5. LUM-EV840 / PX**
LUM-EV840 (1 x 10 ml) és Peroxide (1 x 10 ml), ha 1:1 arányban van keverve, akkor alkotják a működő jelreagenst.
- 6. 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.

A REAGENSEK STABILITÁSA ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

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

1. CCS CONJ (conc.)

A konjugátum 100 szoros liofilizált koncentrátumként van szállítva. A liofilizált konjugátum koncentrátumot 1 ml konjugátum oldószerben (DIL CONJ) kell feloldani. Távolítsa el a gumidugót, hagyja állni 10 percig és helyezze 10 percre rollerre. Kerülje a habképződést. Ne tegye vissza a megmaradt anyagot az eredeti üvegcsébe.

Egy hordozónak (9 biochip + holtterefogat) körülbelül 1 ml 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.

Az egész kitre, 6 hordozóra:

1 Hígítás - 60 µl CCS CONJ (conc.) + 5940 µl DIL CONJ, gőrgötte keverjük 10 percig biochipen való alkalmazást megelőzően.

CCS conj (conc) a lejáratig stabil +2 – +8° C-on, **fénytől védve** tárolva. A feloldott konjugátum koncentrátum az eredeti flakonban tárolva 7 napig stabil +2 – +8° C-on, és 21 napig – 20°C-on.

A munka konjugátumot azonnal fel kell használni.

2. DIL CONJ

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

3. CCS 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 lejáratidőig, ha +2 – +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk őket.

A kinyitott biochipek 3 napig stabilak, ha zárt Evidence Investigator™ ziplock tasakban tároljuk nedvszívó anyaggal szobahőmérsékleten. A biochip irányát a küvetta alján meg kell jelölni, mielőtt eltávolítjuk a biochip hordozóból.

4. CCS CAL

Óvatosan nyissuk ki a flakont, hogy ne vesszen kárba az anyag. Oldjuk fel pontosan 1 ml dupla ioncserélt vízben. Helyezzük vissza a gumidugót, zárjuk le a flakont, hagyjuk állni 10 percig és használat előtt 15 percig görgessük rolleren. Kerülje a habképződést. Csak a kívánt mennyiséget távolítsa el az üvegből. Ne tegye vissza az anyagot az eredeti üvegcsébe.

CCS kalibrátorok a lejáratig stabilak +2 – +8°C-on. A feloldott kalibrátorok 24 órán át stabilak +2 – +8°C-on és 21 napig -20°C-on.

5. LUM-EV840 / PX

Két komponens, a Luminol-EV840 (1 x 10 ml) és a Peroxid (1 x 10 ml) van mellékelve, és ha 1:1 arányban vannak elkeverve, akkor adják a **munka jelreagenst**. Egy hordozóhoz (9 küvetta + holtterefogat) körülbelül 3 ml munka jelreagensre van szükség.

Számoljuk ki a szükséges munka jelreagens mennyiségét a 250 µl küvettánkénti térfogat alapján. Pl. 2 hordozó 6 ml munka jelreagenst igényel - 3 ml Luminol-EV840-et és 3 ml peroxidot. Mérjük ki mindkét komponens térfogatát (1:1), steril eldobható műanyag pipettákat használva, külön tiszta áttetsző üvegbe. Ügyeljünk a szennyeződések elkerülésére a reagens kezelésé közben. Keverjük össze a komponenseket, gyengéden gőrgötte használat előtt 15 percig. Az állag elérése érdekében ajánlatos a Luminol-EV840 komponens keveréskor a peroxid komponenshez adni. A Luminol-EV840 komponens és a munka reagenst **fénytől védjük**. A munka jelreagens szobahőmérsékleten 4 órán át stabil.

6. 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.

VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

MELLÉKELT ANYAGOK

1. CCS CONJ (conc.)	2 x 1ml
2. DIL CONJ	1 x 12 ml
3. CCS BIOCHIP	54 biochips
4. CCS CAL	9 x 1 ml
5. P	1 x 10 ml
6. LUM-EV840	1 x 10 ml
7. BUF WASH (conc.)	1 x 32 ml
8. Kalibrátor lemez és vonalkódo	1

1. Pipetták és pipetta csúcsok
2. Mosóüveg
3. Ioncserélt desztillált víz
4. Szőszmentes törülőkendő
5. Evidence Investigator™ Ziplock tasakok (EV3664)
6. Vortex keverő
7. Keverő roller
8. Aszkorbinsav
9. Acetonitril
10. Minta párologtató
11. 1M NaOH

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

KALIBRÁCIÓ

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

ANYAGOK

Használat előtt minden anyagot szobahőmérsékletre kell hozni.

Vegyük ki a kívánt számú biochip hordozót a csomagolásukból. Helyezzük az Investigator keverőinkubátor egységgel együtt szállított 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 képpalkotás 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 +18 - +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.

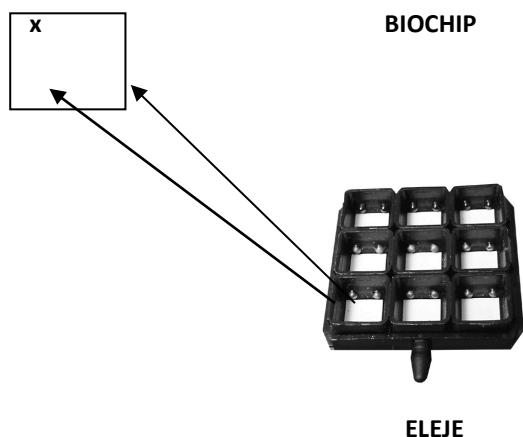
ASSAY PROTOCOL

ASSAY PROTOCOL/MÓDSZER PROTOKOLL

A kézi Evidence Investigator™ Coccidiosztatikumok vizsgálathoz 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).

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



1. Pipetázzunk **150 µl hígított mosópuffert** küvettánként.
Pipetázzunk **50 µl kalibrátort / előkészített mintát** küvettánként. Gyengéden ütögessük meg a kezelőtálca mindegyik szélét a reagens elkeveréséhez.
2. Rögzítsük a kezelőtálca 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. Vegyük ki a hordozókat tartalmazó kezelőtálca a keverőinkubátorból. Öntsük ki a reagenset a hulladékba a kezelőtálca hirtelen megbillentésével
4. 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 szőszmentes törülközőre az összes maradék mosópuffer eltávolításához.

5. Az utolsó mosás után töltsük fel a küvettákat mosópufferrel, és hagyjuk ázni közvetlenül a képkötés előtt. Semelyik hordozót ne hagyjuk tovább ázni 30 percnél.

KÉPKÖTÉS

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

- A hordozókat egyenként dolgozzuk fel. Azokat, amelyek a képkötésre várnak, óvnunk kell a fénytől.
- Vegyük ki az első képkötésre 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 törülőkendőre az összes maradék mosópuffer eltávolítása érdekében.
- Adjunk 250 ml munka 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 képkötés 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.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNY ADATOK

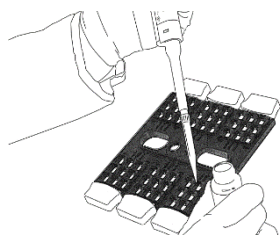
ÉRZÉKENYSÉG

Az Evidence Investigator™ Coccidiosztatikumok analitikus kimutatási határa az alábbi táblázatban látható:

Analit	Tojás (ppb)
Lasalocid (LAS)	2.00
Nicarbazin (NZN)	0.20
Imidocarb (IMO)	0.10
Toltrazuril (TZL)	1.50
Maduramicin (MAD)	0.70
Nifursol Metabolite (NIF)	10.00
Salinomycin (SAL)	0.75
Clopidol (CPL)	90.00
Monensin (MON)	0.60
Robenidine (ROB)	4.50
Decoquinate (DEQ)	10.00
Halofuginone (HAL)	1.00
Diclazuril (DZL)	1.80

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

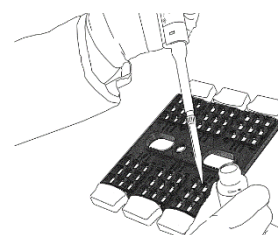
Coccidiosztatikumok (EV3772) vizsgálati eljárás összefoglalója (Kérjük, figyelmesen olvassa el a teljes protokoll leírást!)



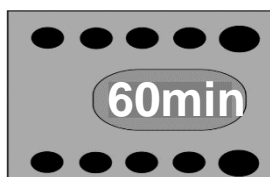
1. Készítsük elő a mintákat (lásd az 1. oldalt a mintalekőkészítés részleteiért).
2. Adjunk 150 µl hígított mosópuffert mindegyik hordozó küvettába, majd 50 µl előkészített mintát/kontroltot/standardet.



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

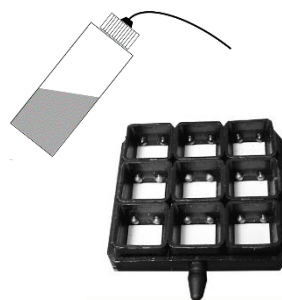


4. Adjunk hozzá **100 µl munka konjugátumot**

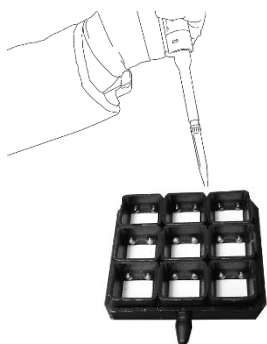


5. Inkubáljuk a hordozót +25°C-on 60 percig 370 rpm-en.

Megjegyzés: ne felejtse el, hogy a munka jelreagenst 15 perccel a képalkotás előtt kell elkészíteni.



6. Öntsük le a folyadékot és jól mossuk el az összes küvettát a hígított mosópufferrel. Végezzünk el 2 gyors mosást és 4 kétperces áztatást. Öntsük ki a folyadékot és ütögessük szőszmentes papírra.



7. Öntsük ki a folyadékot és ütögessük szőszmentes papírra. Adjunk 250 µl jelreagenst mindegyik küvettába. Inkubáljuk 2 percig és óvjuk a fénytől.

**Evidence
Investigator**

8. Alkossunk képet mindegyik hordozóról az Investigatoron.