

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

ANTIMICROBIAL ARRAY I ULTRA (AM I ULTRA)

— evidence —
INVESTIGATOR



TERVEZETT FELHASZNÁLÁS

Az Evidence Investigator™ Anti Microbial Array I ULTRA antimikrobiális immunoassay egyetlen mintából (párhuzamosan folyó) kvantitatív kimutatására használható.

ÁLLATORVOSI ÉS/VAGY ÉLELMISZEREK VIZSGÁLATÁRA HASZNÁLANDÓ!

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

Cat. No. EV 3843

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1. DIL ASY	1 x 13 ml
2. AMII PLUS CONJ (conc.)	1 x 250 ml
3. DIL CONJ	1 x 12 ml
4. AMI ULTRA BIOCHIP	54 biochips
5. AMI ULTRACAL	9 x 1 ml
6. PX	1 x 10 ml
7. LUM EV805	1 x 10 ml
8. BUF WASH (conc.)	2 x 32 ml
9. AMI ULTRA CONTROL	1 x 1 ml
10. Calibration disc and barcodes	1

CÍMKÉZÉSI ÚTMUTATÓ

AM I ULTRA	Antimicrobial Array I ULTRA
DIL ASY	Vizsgáló puffer
CONJ (conc.)	Konjugátum koncentrátum
DIL CONJ	Konjugátum oldószer
BIOCHIP	Biochip
CAL	Kalibrátor
PX	Peroxid
LUM-EV805	Luminol-EV805
BUF WASH (conc.)	Mosópuffer koncentrátum
CONTROL	Control

ALAPELV

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

Az alaptechnológia a Randox Biochip, egy szilárdtest berendezés, amely különálló array területekből áll, melyek különféle antimikrobiális szerekre (szulfonamidokra) specifikus lekötött antitesteket tartalmaznak. Egy kompetitív kemilumineszcens immunoassay-t használnak a módszerhez. Egy mintában lévő magasabb szulfonamidok szintjei a torma peroxidázzal jelölt antimikrobiális szerek (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 Antimicrobial Array I ULTRA kvantitatív módon egyidejűleg képes vizsgálni a következőket: szulfadimetoxin (SDM), szulfadiazin (SZ) szulfadoxine (SD), szulfametizol (SMZ), szulfaklorpiradzin (SCP), szulfametoxipiridazin (SMP), szulfamerazin (SM), szulfizoaxzol (SS), szulfatiazol (ST), szulfametazin (SMT), szulfakinoxalin (SMX), szulfamonometoxine (SMM), trimetoprim (TMP) és dapszon (DAPS).

KORLÁTOZÁSOK

- A készletek összetevői árutétel (batch) specifikusak és vonalkódhoz vannak társítva.

- Ez a készlet csak szűrésre használatos, nem diagnózisra.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

MÉZ

1. 1 g mézmintát mérjen ki
2. Adjon hozzá 9ml hígított +37°C-ra melegített mosópuffert,
3. helyezze roller keverőre 10 percre vagy amíg feloldódik
4. Hígítsa az így előkészített mintát azonos mennyiségű hígítópufferrel (pl.: 1ml + 1 ml).
5. A minta kész a biocshipre való felvitelre.
6. Az Evidence Investigator automatikusan megfelelő eredményt fog számítani, amennyiben a minta felvitelekor (Sample Entry) a megfelelő hígítás értéket (Dilution Factor) vittük be a szoftverbe. Amennyiben a hígítási mértékét (Dilution Factor) nem vittük be, a mért koncentrációkat retrospekív számíthatjuk.
7. A mézmintákat 1 a 20 arányban hígítjuk, ezért a minta felvitelekor (Sample Entry) 20-at kell beütni. Megjegyzés: mézmintáknál 1 ng/ml = 1 ng/g.
8. Ez a megközelítés több mintamátrix egyidejű mérését teszi lehetővé, mivel minden egyes mintára külön hígítási faktort lehet megadni.

Megjegyzés: méz esetében a kalibrátorok és a kontrolok a felvételi pufferben (BUF REC) kell hogy feloldásra kerüljenek.

TEJ

- A Milk Preparation Kit (Cat. No. EV3776) tejmintaelőkészítési kit használata szükséges hozzá.
- Kérjük, nézze át az EV3776 használati utasítását a részletekért.
- Az Evidence Investigator automatikusan megfelelő eredményt fog számítani, amennyiben a minta felvitelekor (Sample Entry) a megfelelő hígítás értéket (Dilution Factor) vittük be a szoftverbe. Amennyiben a hígítási mértékét (Dilution Factor) nem vittük be, a mért koncentrációkat retrospekív számíthatjuk
- A tejmintákat 1 a 2 arányban hígítjuk, ezért a minta felvitelekor (Sample Entry) 2-t kell beütni. Megjegyzés: tejmintáknál 1 ng/ml = 1 ng/g.

Ez a megközelítés több mintamátrix egyidejű mérését teszi lehetővé, mivel minden egyes mintára külön hígítási faktort lehet megadni.

SZÖVETI MINTÁK

- Mérjen ki 1 g homogénezett szöveti mintát
- Adjon hozzá 9ml hígított mosópuffert
- Vortexelje 30 másodpercig.
- Centrifugálja 4000 rpm-en (2880 rcf) 10 percig, szobahőmérsékleten.
- Pipetázzon ki 200µl felülúszót és hígítsa 200µl hígított mosópufferrel.
- Vortexelje, mielőtt a biochipse méri.
- Az Evidence Investigator nem számol automatikusan a minta hígításával. A kapott koncentrációt manuálisan kell 20-al felszorozni, hogy megkapjuk a végső koncentrációt.
- Az Evidence Investigator automatikusan megfelelő eredményt fog számítani, amennyiben a minta felvitelekor (Sample Entry) a megfelelő hígítás értéket (Dilution Factor) vittük be a szoftverbe. Amennyiben a hígítási mértékét (Dilution Factor) nem vittük be, a mért koncentrációkat retrospekív számíthatjuk
- A szöveti mintákat 1 a 20 arányban hígítjuk, ezért a minta felvitelekor (Sample Entry) 20-at kell beütni. Megjegyzés: szöveti mintáknál 1 ng/ml = 1 ng/g.
- Ez a megközelítés több mintamátrix egyidejű mérését teszi lehetővé, mivel minden egyes mintára külön hígítási faktort lehet megadni.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNY ADATOK

ÉRZÉKENYSÉG

Az Evidence Investigator™ AM I ULTRA analitik kimutatási határa az alábbi táblázatban látható.

Analit	Méz (ppb)	Tej (ppb)	Szövet (ppb)
Sulphadiazine (SZ)	5.0	0.5	3.0
Sulphadimethoxine (SDM)	5.0*	0.6	6.5
Sulphaquinoxaline (SQ)	5.0	0.5	2.0
Sulphamethazine (SMT)	5.0	2.5	3.2
Sulphamethoxazole (SMX)	1.6	0.5	1.6
Sulphathiazole (ST)	5.0	0.5	2.0
Sulphisoxazole (SS)	5.0	0.5	2.0
Sulphapyridine (SP)	8.0	0.5	3.2
Sulphamerazine (SM)	5.0	0.5	2.0
Sulphamonomethoxine (SMM)	20.0	2.0	10.0
Sulphamethoxypyridazine (SMP)	5.0	0.5	2.0
Sulphachlorpyridazine (SCP)	5.0	0.5	2.0
Dapsone (DAPS)	3.5	0.5	3.5
Sulphadoxine (SD)	5.0	0.5	3.2
Trimethoprim (TMP)	9.0	0.5	3.0

*10 ppb-s LOD javasolt feldolgozatlan, nyers méz minták esetében.

BIZTONSÁGI RENDSZABÁLYOK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

- 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

- DIL ASY**
7.2 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot, blokkoló hatóanyagokat és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- AM I ULTRA CONJ (conc.)**
Torma peroxidázzal (HRP) jelölt vizsgálat specifikus konjugátumokat tartalmazó liofilizált puffer, 7.2 pH-jú.
- DIL CONJ**
7.5 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot és tartósítószeret tartalmazó puffer.
- AM I ULTRA BIOCHIP**
Megkötött ellenanyagokból álló, különálló teszterületeket tartalmazó szilárdtest szubsztrát.
- AM I ULTRA CAL**
9 fiola, a teljes panelre analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.
- 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.
- 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. AMII PLUS CONTROL

A teljes panelre analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.

A REAGENSEK STABILITÁSA ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

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

1. DIL ASY

A vizsgálati pufferoldat használatra kész, és +2 - +8°C-on tárolva a lejárat dátumig stabil.

2. AM I ULTRA CONJ (conc.)

A konjugátum liofilizált 50-szeres koncentrátumként biztosított. A munkakonjugátum azonnal használható. Egy hordozóhoz (9 küvetta + holtterefogat) körülbelül 500µl munka konjugátumra van szükség. (Használat előtt számítsa ki a munkakonjugátum szükségeltet küvettként 50µl-rel számolva. Pl. 2 hordozónak 1 ml munka konjugátumra van szüksége. A koncentrátum a lejárat idő végéig stabil +2 – 8°C között fénytől védeve tárolva. 6 teljes hordozóhoz 60µl koncentrátumot adjon 2940µl DIL CONJ-hoz és forgassa 15 percig használat előtt. Kerülje a habképződést és a közvetlen fényt!

3. DIL CONJ

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

4. AM I ULTRA 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 lejárat időig, ha +2 – +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk őket. A biochipeket kinyitás előtt 30 percig szobahőmérsékleten equilibrálni kell!

A kinyitott biochipek 21 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.

5. AM I ULTRA CAL

Az Antimicrobial I ULTRA kalibrátor használatra kész és stabil a lejárat időig, ha +2 - +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk.

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 + holtterefogat) körülbelül 3 ml munka jelreagensre-EV841 van szükség.

Számoljuk ki a szükséges EV805 munka jelreagens mennyiségét és osszuk el kettővel, hogy megkapjuk mennyi szükséges egy-egy komponensből. Pl. 2 hordozó 6 ml EV841 munka jelreagenst igényel - 3 ml Luminol-EV841-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 forgatva használat előtt 15 percig. Az állag elérése érdekében ajánlatos a Luminol-EV841 komponenst keveréskor a peroxid komponenshez adni. A Luminol-EV841 komponenst és munka reagens, +2 – 8°C-on tárolva a lejárat idő végéig stabil. Az EV841 munka jelreagens +15 – 25°C-on 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.

8. AMI ULTRA CONTROL

Az Antimicrobial I ULTRA Control használatra kész és stabil a lejárat időig, ha +2 - +8°C-on, fénytől védve tároljuk.

VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

MELLÉKELT ANYAGOK

EV4169/A

1. DIL ASY	1 x 13 ml
2. AM I ULTRA CONJ (conc.)	1 x 250 ml
3. DIL CONJ	1 x 12 ml
4. AM I ULTRA BIOCHIP	54 biochip
5. AM I ULTRA CAL	9 x 1 ml
6. PX	1 x 10 ml
LUM-EV805	1 x 10 ml
7. BUF WASH (conc.)	2 x 32 ml
8. AMI ULTRA CONTROL	1 x 10 ml
9. Kalibrátor lemez és vonalkódok	1

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

1. Pipetták és pipetta hegyek
2. Mosóüveg
3. Ioncserélt desztillált víz
4. Evidence Investigator™ Ziplock tasakok (EV3664)
5. Keverő roller
6. Centrifuga
7. Vortex keverő
8. Centrifuga csövek
9. Milk preparation Kit (EV3776) tej minta előkészítéshez
10. Homogenizátor
11. Mérleg

KALIBRÁCIÓ

Egy kilenc pontos kalibrációt kell végeznünk a Randox Evidence Investigator™ AMII PLUS 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 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 képalotás 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.

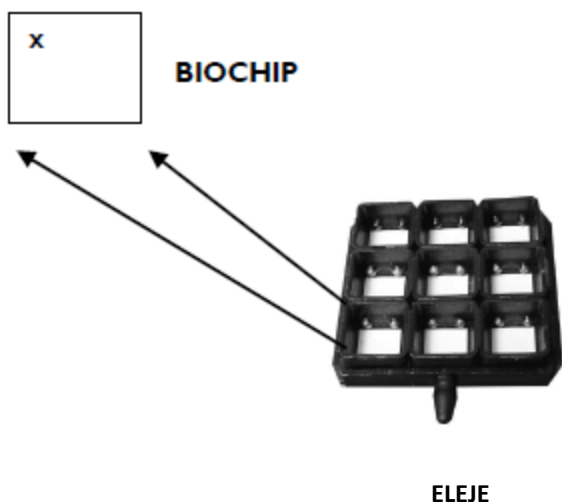
ASSAY PROTOCOL/MÓDSZER PROTOKOLL

A kézi Evidence Investigator™ AMI ULTRA 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 reagensket és mintákat a biochip hátsó része felé mutatva kell felpipettázni. Az X mutatja az optimális mintafelviteli helyet.

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



1. Pipettázzunk **200 µl vizsgálati puffert (DIL ASY)** küvettánként. Pipettázzunk **50 µl kalibrátort/előkészített mintát** küvettánként. Gyengéden ütögessük meg a kezelőtálca mindegyik szélét a reagens elkeveréséhez.
2. Rögzítsük a kezelőtálcát a keverőinkubátor alaplapjához. Inkubáljuk 30 percig +25°C-on és 370 rpm-en.
3. Pipettázzunk **50 µl munka konjugátumot** küvettánként. Inkubáljuk további 60 percig +25°C-on és 370 rpm-en.
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 szöszmentes 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.

KÉPALKOTÁS

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

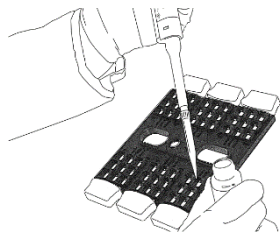
- A hordozókat egyenként dolgozzuk fel. Azokat, amelyek a képalkotásra várnak, óvnunk kell a fénytől.
- Vegyük ki az első képalkotásra váró hordozót a kezelő tálcáról. Közvetlenül a jelző reagens hozzáadása előtt távolítsuk el a mosópuffert egy gyors, billentő mozdulattal, és ütögessük ki a hordozót egy szőszmentes törülőkendőre az összes maradék mosópuffer eltávolítása érdekében.
- Adjunk 250 µl munka EV805 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 képalkotás a megfelelő időben történjen.
- A képek készítése automatikusan indul, ahogyan a társított szoftver által meg van határozva. (Lásd a Szoftver Kézikönyvet/Software Manual).

EREDMÉNYFELDOLGOZÁS

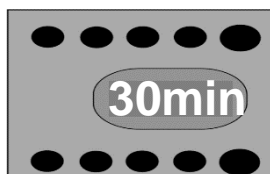
Az eredmények automatikusan kerülnek felhasználásra a társított szoftver használatával.

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

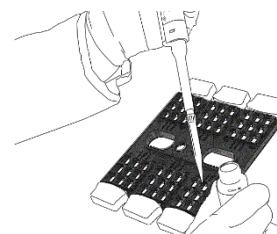
AM I ULTRA vizsgálati eljárás összefoglalója (Kérjük, figyelmesen olvassa el a teljes protokoll leírást!)



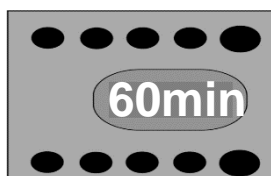
- 1 Készítse elő a mintákat.**
- Adjunk 200 µl vizsgálati puffert mindegyik hordozó küvettába, majd 50 µl kalibrátort/előkészített mintát



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



- Adjunk hozzá 50 µl munka konjugátumot

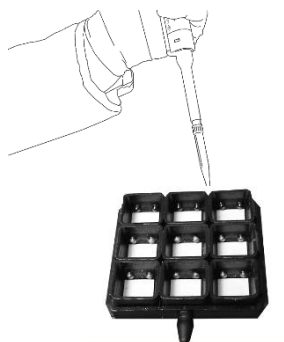


- Inkubáljuk a hordozót +25°C-on 60 percig 370 rpm-en.

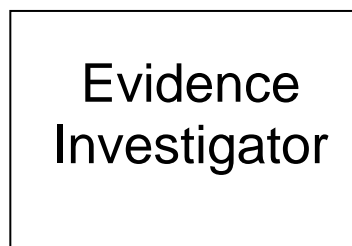
Megjegyzés: ne felejtse el, hogy a munka jelreagenst 15 perccel a képkalkotás előtt kell elkészíteni.



- 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 szálmentes papírra. Keverjünk luminol-EV805 és peroxidot (1:1). Adjunk 250 µl EV805 jelreagens-keveréket mindegyik küvettába. Inkubáljuk 2 percig és óvjuk a fénytől.



- Alkossunk képet mindegyik hordozóról az Investigatoron.