

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

ANTI MICROBIAL ARRAY IV (AM IV)

—evidence—
INVESTIGATOR

TERVEZETT FELHASZNÁLÁS

Az Evidence Investigator™ Antimicrobial Array IV egyetlen mintából többféle analit kvantitatív meghatározását teszi lehetővé.

ÁLLATORVOSI ÉS/VAGY ÉLELMISZEREK VIZSGÁLATÁRA HASZNÁLANDÓ! Nem használható diagnosztikai eljárásokra. A pozitív eredményeket más módszerrel kell megerősíteni.

Cat. No. EV 3878

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1.	ASSAY DIL	1 x 13 ml
2.	AM IV CONJ (konc.)	2 x 1 ml
3.	AM IV BIOCHIP	54 biochips
4.	AM IV CAL	9 x 1 ml
5.	PX	1 x 10 ml
	LUM-EV841	1 x 10 ml
6.	BUF WASH (konc.)	1 x 32 ml
7.	AM IV DIL REC	1 x 30 ml
8.	AMIV CONTROL	2 x 1 ml
9.	Kalibrációs lemez és vonalkódok	1

CÍMKÉZÉSI ÚTMUTATÓ

AM IV	Anti Microbial Array IV
DIL ASY	Assay puffer
CONJ (conc.)	Konjugátum koncentrátum
BIOCHIP	Biochip
CAL	Kalibrátor
PX	Peroxid
LUM-EV841	Luminol-EV841
BUF WASH (conc.)	Mosópuffer koncentrátum
BUF REC	Fellevő/oldó puffer
CONTROL	Kontrol

Cat No. 3878B

1.	AM IV CAL	9 x 1 ml
2.	Kalibrációs lemez és vonalkódok	1

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. Egy kompetitív kemilumineszcens immunoassay-t használnak a 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 IV az alábbi analitok kvantitativ mérésére alkalmas: spiramicin (SPR), apramicin (APA), bacitracin (BCT), neomycin (NEO), tobramycin (TOB), tilozin B (TYB), Spektinomycin (SPT), amikacin (AMK), linkozamidok (LIN), eritromicin (ERY), streptomycin (STR) és virginiamicin (VIR).

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.
- Adjon hozzá 9 ml K₂HPO₄ (pH 8.0) puffert (*lásd a módszert alább).
- adjon hozzá 10 ml hígított mosópuffert..
- Vortexelje 1 percig, vagy oldódásig.
- A minta készen áll a bichipre való alkalmazásra.

Megjegyzés: az alkalmazott hígítás mézmintáknál 20-szoros.

Megjegyzés: méz előkészítésekor a kalibrátort és a kontrollt az biztosított felvevő pufferben kell oldani (BUF REC).

**40mM-os K₂HPO₄ puffer készítése (pH 8.0)*

Mérjen 6,8 g ($\pm 0,02$) K₂HPO₄-et egy 1 L-es üvegbe. Hígítsa HPLC tisztaságú vízzel és 1M-os HCL-lel vagy NaOH-val állítsa a pH-ját 8.0-ra (pH mérő használatával).

Az oldat 2 hónapig stabil, szobahőmérsékleten.

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

1. ASSAY DIL

7.2 pH-jú, fehérjét, felületaktív anyagot, blokkoló hatóanyagokat és tartósítószeret tartalmazó puffer.

2. AM IV CONJ (conc.)

7.2 pH-jú, torma peroxidazzal (HRP) jelölt vizsgálat specifikus konjugátumokat tartalmazó liofilizált puffer.

3. AM IV BIOCHIP

Megkötött ellenanyagokból álló, különálló teszterületeket tartalmazó szilárdtest szubsztrát.

4. AM IV CAL

9 flakon, a teljes panelre analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.

5. LUM-EV841 / PX

Luminol-EV841 (1 x 10ml) és Peroxid (1 x 10ml) van biztosítva, és ha 1:1 arányban vannak 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.

7. AM IV BUF REC

Kalibrátor felvevő / oldó puffer, tartósítószeret tartalmaz..

8. AM IV CONTROL

A teljes panelre analitokat tartalmazó liofilizált alapanyag.

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 IV CONJ (conc.)

A konjugátum liofilizált 100-szeres koncentrátumként biztosított. A munkakonjugátum azonnal felhasználandó. A konjugátumot (conc.) először 1 ml munkaerősségű mosópufferben fel kell oldani. Tegyük vissza a dugót és forgassuk a fiolát 15 percig. Kerülje a habképződést. Amint feloldódott a konjugátum Amint feloldott konjugátum (conc) azonnal hígítandó. Felhasználás után el kell dobni. Egy hordozóra (9 küvetta + holtterfogot) hozzávetőlegesen 1 ml munkakonjugátum szükséges. Számítsa ki a szükséges mennyisége, figyelembe véve, hogy 100 µl kell egy küvetta. Pl: 2 hordozóra 2 ml munkakonjugátum szükséges.

Egy teljes kitre (6 hordozó):

1. hígítás - 60µl AM IV Conj (conc) + 5940 µl mosópuffer

A koncentrátum +2-8°C-on, fénytől védve tárolva a lejárat idő végéig stabil. A feloldott koncentrátum az eredeti fiolában 48 óráig stabil +2-8°C-on, fénytől védve tárolva. -20°C-on 2 hétig. Csak a szükséges mennyiséget vegye ki. A munkakoncentrátumot azonnal fel kell használni.

3. AM IV 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 lejárat időig, ha +2 – +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk őket.

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.

4. AM IV CAL

Óvatosan nyissuk ki a fiolát, hogy ne vesszen kárba az anyag.

Ha a kalibrátorokat mézminták vizsgálatára használják pontosan 1ml AM IV felvevő pufferben kell oldani. Helyezzük vissza a gumidugót, zárjuk le a flakont és használat előtt 30 percig forgassuk rolleren. Kerülje a habképződést.

A feloldott kalibrátorok az eredeti fiolában 8 órán keresztül 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.

5. LUM EV841 / PX

Két komponens, a Luminol-EV841 (1 x 10ml) és a Peroxid (1 x 10ml) van mellékelve, és ha 1:1 arányban vannak elkeverve, akkor adják a **munka jelreagens- EV841**-öt. Egy hordozóhoz (9 küvetta + holtterfogot) körülbelül 3 ml munka jelreagensre-EV841 van szükség.

Számoljuk ki a szükséges EV841 munka jelreagens mennyiségét a 250 µl küvetta alatti térfogat alapján. Pl. 2 hordozó 6 ml EV841 munka jelreagenst igényel - 3 ml Luminol-EV841-et 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-EV841 komponenst keveréskor a peroxid komponenshez adni. A Luminol-EV841 komponenst és munka reagenst **fénytől védjük**. Az EV841 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.

7. AM IV DIL REC

A kalibrátor felvevő puffer használatra kész és stabil a lejáratú időig, ha +2 - +8°C-on, **fénytől védve** tároljuk. Ezt a felvevő puffert csak a mézminták esetén kell használni a kalibrátor feloldására.

8. AM IV CONTROL

Óvatosan nyissa ki a fiolát, hogy elkerülje az anyagvesztést. Ha a kalibrátorokat mézminták vizsgálatára használják pontosan 1ml AM IV felvevő pufferben kell oldani. Helyezzük vissza a gumidugót, zárjuk le a flakont és használat előtt 30 percig forgassuk rolleren. Kerülje a habképződést. A feloldott kalibrátor az eredeti fiolában 8 óráig stabilakv+2 – +8°C-on és legfeljebb 1 hétig -20°C-on tárolva. Csak a szükséges anyagmennyiséget vegyük ki. Az anyagot ne tegyük vissza az eredeti flakonba

VIZSGÁLATI ELJÁRÁS**MELLÉKELT ANYAGOK**

1. ASSAY DIL	1 x 13 ml
2. AM IV CONJ (conc.)	2 x 1 ml
3. AM IV CONTROL	2 x 1 ml
4. AM IV BIOCHIP	54 biochips
5. AM IV CAL	9 x 1 ml
6. PX	1 x 10 ml
7. LUM-EV841	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

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

1. Pipetta és pipetta hegyek
2. Mosóüveg
3. Ioncsereált desztillált víz
4. Evidence Investigator™ Ziplock tasakok (EV3664)
5. 40 mM K₂HPO₄, pl Sigma Cat N. P8281
6. Keverőoller
7. Inkubátor/vízfürdő (37°C)
8. Mérleg

KALIBRÁCIÓ

Egy kilenc pontos kalibrációt kell végeznünk a Randox Evidence Investigator™ AMIV only 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 kezelőtálca segítségével végzünk el, és a hordozókat csak az eljárás végső jelzőanyag hozzáadás és képalkotás 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

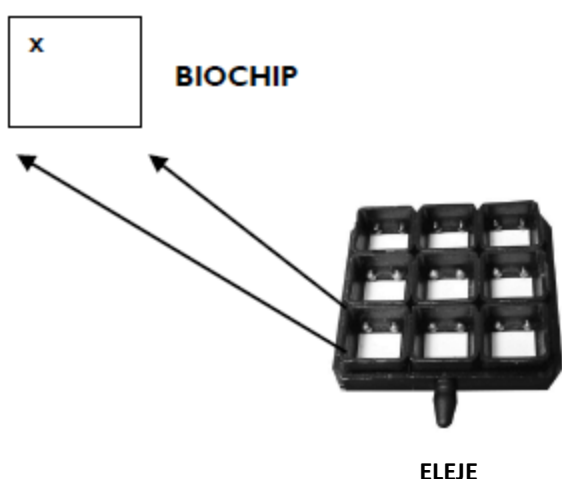
A Módszer (Array) és a Kalibrátor (Calibrator) beállítások alapvető frissítések az ön Evidence Investigator™ rendszeréhez, és a megfelelő Evidence Investigator™ kalibrátorokkal együtt történő használatra kell őket installálni.

ASSAY PROTOCOL/MÓDSZER PROTOKOLL

A kézi Evidence Investigator™ Anti Microbial Assay IV 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 reagensek 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 reagensek és minták adagolásához optimális pozíció.



1. Pipetázzunk **100 µl vizsgálati puffert** küvettánként.
Pipetázzunk **100 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. 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 törülőkendőre az összes maradék mosópuffer eltávolításához.
5. Az utolsó mosás után töltsük fel a küvettákat mosópufferrel, és hagyjuk ázni közvetlenül a képalkotás 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 EV841 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.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNY ADATOK

ÉRZÉKENYSÉG

Az Evidence Investigator™ AM IV analitikus kimutatási határa az alábbi táblázatban látható

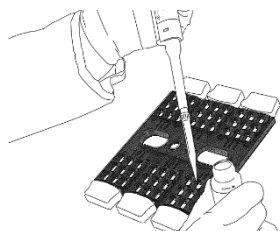
Analit	MÉZ LOD (ppb)
Spiramycin (SPR)	2.0
Apramycin (APA)	2.0
Bacitracin (BCT)	1.2
Neomycin (NEO)	1.0
Tobramycin (TOB)	4.0
Tylosin B (TYB)	1.0
Spectinomycin (SPT)	2.6
Amikacin (AMK)	6.0
Lincosamides (LIN)	8.0
Erythromycin (ERY)	2.5
Streptomycin (STR)	4.0

Virginiamycin (VIR)

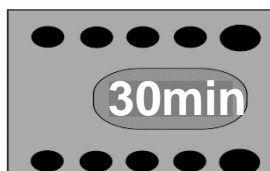
2.0

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

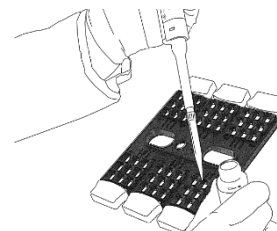
AM I ULTRA vizsgálati eljárás összefoglalója (Kérjük, figyelmesen olvassa el a teljes protokoll leírást!)



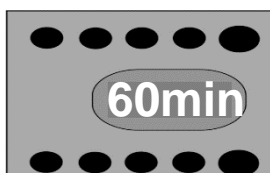
1. Adjunk 100 µl vizsgálati puffert mindegyik hordozó küvettába, majd 100 µl kalibrátort/előkészített mintát.



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



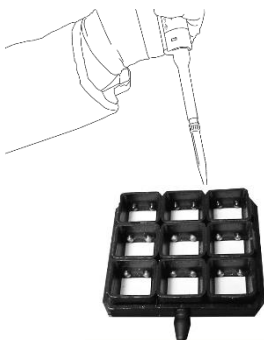
3. Adjunk hozzá 100 µl munka konjugátumot.



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



5. 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.



6. Keverjük luminol-EV841 és peroxidot (1:1). Adjunk 250 µl EV841 jelreagens-keveréket-mindegyik küvettába. Inkubáljuk 2 percig és óvjuk a fénytől.

**Evidence
Investigator**

7. Alkossunk képet mindegyik hordozóról az Investigatoron.