

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

MYCO 10 (MYCO 10)

— evidence —
INVESTIGATOR

JAVASOLT FELHASZNÁLÁS

Az Evidence Investigator™ Myco 10 vizsgálat egyetlen mintából egyidejűleg való, különböző mikotoxinok kvantitatív kimutatására használható.

KIZÁRÓLAG ÁLLATGYÓGYÁSZATI ÉS/VAGY TAKARMÁNYOK ANALITIKAI HASZNÁLATÁRA.

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

Cikkszám: EV 3941A

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1. MYCO 10 CONJ (conc.)	2 x 1 ml
2. DIL CONJ (conc.)	1 x 12 ml
3. MYCO 10 BIOCHIP	54 biochip
4. MYCO 10 CAL	9 x 1 ml
5. MYCO 10 CONTROL	2 x 1 ml
6. PX	1x10ml
LUM – EV841	1 x 10 ml
7. BUF WASH (conc.)	1 x 32 ml
8. Calibrator disc and barcodes	1

Cikkszám: EV 3941B

A következő alkotóelemeket tartalmazza:

1. MYCO 10 CAL	9 x 1 ml
----------------	----------

JELÖLÉSI ÚTMUTATÓ

MYCO 10	Mikotoxin vizsgálat
CONJ (conc.)	Konjugátum koncentrátum
DIL CONJ	Konjugátum oldószer
BIOCHIP	Biochip
CAL	Kalibrátor
LUM – EV841	Luminol - EV841
PX	Peroxide
BUF WASH (conc.)	Mosópuffer koncentrátum
CONTROL	Kontrol

ALAPELV

Az Evidence Investigator™ Biochip Array Technológia többféle analit egyetlen mintából történő egyidejű kvantitatív kimutatására használatos. Az alaptechnológia a Randox Biochip, egy szilárdtest berendezés, amely különálló vizsgálati területekből áll, amelyek rögzített, különböző mikotoxinokra specifikus antitesteket tartalmaznak. Egy kompetitív kemilumineszcens immunoassay-t használnak a Myco 10 szűrése során.

Egy mintában lévő mikotoxin analit emelt szintje a torma peroxidázzal (HPR) jelölt antitest alacsonyabb szintű megkötéséhez vezet, így a kibocsátott kemilumineszcencia csökkenése mutatkozik. A biochip egyes teszterületeiről kibocsátott fényjelet digitális képalkotási technológiával mutatjuk ki, és egy tárolt kalibrációs görbével hasonlítjuk össze. A mintában jelenlévő analit koncentrációját a kalibrációs görbéből számolható ki. Számos különböző immunoassay alapú multi-analit módszert fejlesztettek ki az Evidence Investigator™-on való használatra. Az Evidence Investigator Myco 10 vizsgálat kvantitatív módon tesztel mikotoxinokra egyidejűleg.

KORLÁTOZÁSOK

- A készletek összetevői árutétel specifikusak és vonalkódhoz vannak társítva. Ne keverje a különböző lot számokhoz tartozó elemeket.
- Ez a készlet diagnózisra nem használható.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

Gabonákra és különböző gabona alapú takarmányokra

- Vegyen 5g homogenizált (darált) takarmány mintát.
- Adjon hozzá 25ml oldószert (acetonitril:metanol:desztillált víz 50:40:10, v/v/v).
- Vortexelje 60 másodpercig és helyezze keverőrollerre 10 percre.
- Centrifugálja további 10 percen át 3000 rpm-en. Hígítsa a hígított mosópuffer oldattal:
 - a „sensitive” detektáláshoz 4-szeres (hígítási faktor=20) pl. 50µl minta + 150 µl **hígított mosópuffer oldat**;
 - a „monitory” detektáláshoz 50-szeres (hígítási faktor=250) pl. 50 minta + 2450µl **hígított mosópuffer oldat**.

Az Evidence Investigator szoftver automatikusan fog generálni egy eredmény jelentési számítást a hígítási faktor alapján, ha a megfelelő hígítási faktort alkalmazta a Mintabeviteli panelen. Ha nem a megfelelő hígítási faktort alkalmazott a Mintabeviteli panelen, akkor a mentett eredmények között visszamenőlegesen módosítható és újra kalkulálható az eredmény.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNY ADATOK

ÉRZÉKENYSÉG

Az Evidence Investigator™ MYCO 10 kimutatási határa az alábbi táblázatban látható.

Mikotoxin	Gabona és gabona alapú takarmányok (ppb) sensitive detection hígítási faktor=20	Gabona és gabona alapú takarmányok (ppb) monitory level hígítási faktor=250
Paxiline (PAX)	50	625
Fumonisine B1 (FUM)	10	125
Ochratoxin A (OTA)	0.25	3.125
Aflatoxin G1 (AFG1)	0.5	6.25
Ergot alkaloidák (EA)	10	125
Diacetoxyscirpenol (DAS)	25	312.5
Deoxynivalenol (DON)	100	1250
T2 Toxin (T2)	5	62.5
Aflatoxin B1 (AFB1)	0.25	3.125
Zearalenone (ZEA)	2.5	31.25

BIZTONSÁGI RENDSZABÁLYOK ÉS FIGYELMEZTETÉSEK

A következő komponensek lehetnek veszélyesek:

DIL CONJ, MYCO 5 CAL, BUF WASH (conc.)

- Allergiás bőrreakciót okozhat.
- Bőrre kerülés esetén bő vízzel mossa le.
- Ha bőrirritáció vagy bőrkiütés jelentkezik, forduljon orvoshoz!
- Kerülje a por/füst/gáz/pára/gőz/spray belélegzését.
- A szennyezett munkaruhát nem szabad a munkavégzés helyén kívül viselni.
- Viseljen védőkesztyűt és védőruhát.

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. MYCO 10 CONJ (conc.)

Fagyasztva szárított anyag, amely torna peroxidázzal (HRP) jelölt vizsgálat specifikus konjugátumokat tartalmazó puffer.

2. MYCO 10 DIL CONJ

Fehérjét, felületaktív anyagot és tartósítószeret tartalmazó puffer.

3. MYCO 10 BIOCHIP

Megkötött ellenanyagokból álló, különálló teszterületeket tartalmazó szilárdtest szubsztrát.

4. MYCO 10 CAL

9 flakon, a teljes panelre analitokat tartalmazó fagyasztva szárított alapanyag.

5. MYCO 10 CONTROL

1 üvegcsé teljes panelre analitokat tartalmazó fagyasztva szárított anyag

6. LUM-EV841 / PX

LUM-EV841 (1 x 10 ml) és Peroxid (1 x 10 ml) van biztosítva, és ha 1:1 arányban vannak keverve, akkor alkotják a működő *jelreagenst*.

7. BUF WASH (conc.)

Felületaktív anyagokat és tartósítószeret tartalmazó pufferoldat. Ne használja, ha a puffer kocsonyás vagy kristályos. További tanácsért forduljon a Randox technikai tanácsadáshoz.

A REAGENSEK STABILITÁSA ÉS ELŐKÉSZÍTÉSE

Megjegyzés: minden reagensnek szobahőmérsékletűnek kell lenni felhasználás előtt.

1. MYCO 10 CONJ (conc.)

A konjugátum fagyasztva szárított 10-szeres koncentrátumként van szállítva, amely először egy hígítást igényel. Nyissa ki az üveget nagyon óvatosan, hogy elkerüljön bármilyen anyagvesztést. Oldja fel 1 ml +15-25°C-os dupla ioncserélt vízzel. Tegye vissza a gumidugót; zárja be az üveget és helyezze keverőrollerre 15 percre. Kerülje a habképződést.

A szükséges *munka konjugátum* mennyiségét a 100µl küvettánkénti térfogat alapján számoljuk ki. Egy hordozónak (9 biochip + holtterefogat) körülbelül 1ml munka konjugátumra van szüksége. A munka konjugátum oldatot hígítással készítjük el. A hígítási faktor 10-es, tehát pl. egy 6 tálcából álló teljes kithez 600 µl 5.4 ml **MYC DIL CONJ** koncentrátumra van szükség, helyezze keverő rollerre 15 percre. Kerülje a habképződést.

A liofilizált konjugátum koncentrátum (CONJ) stabil a lejáratí idõig, ha +2 - +8°C-on, **fénytõl védve** tároljuk. A feloldott koncentrátum eredeti üvegben eltárolva stabil 14 napon át +2 - +8°C-on vagy 14 napon át -20°C-on, **fénytõl védve**.

2. MYC DIL CONJ (konjugátum oldószer)

A **konjugátum oldószer** használatra kész és stabil a lejáratí idõig, ha +2 - +8°C-on, **fénytõl védve** tárolja.

3. MYCO 10 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 lejáratí idõig, ha +2 - +8°C-on, **fénytõl védve** tároljuk õket.

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. MYCO 10 CAL (kalibrátor)

A kalibrátorok fagyasztva szárított formában kerülnek forgalomba. Óvatosan nyissa ki a flakont, hogy ne vesszen kárba az anyag. Oldja fel pontosan 1 ml +15-+25°C-os dupla ioncserélt vízben. Helyezze vissza a gumidugót, zárja le a flakont és használat előtt 15 percig görgesse rolleren. Kerülje a habképződést. A feloldott kalibrátorokat azonnal fel kell használni elkészítés után, stabilak az eredeti üvegcsében 14 napig -20°C-on. Csak a szükséges anyagmennyiséget vegye ki. Az anyagot ne tegye vissza az eredeti flakonba.

5. MYCO 10 CONTROL

A kontrol fagyasztva szárított formában kerül forgalomba. Óvatosan nyissa ki a flakont, hogy ne vesszen kárba az anyag. Oldja fel pontosan 1 ml +15-+25°C-os dupla ioncserélt vízben. Helyezze vissza a gumidugót, zárja le a flakont és használat előtt 15 percig görgesse rolleren. Kerülje a habképződést. A kontrol most készen áll a további felhasználásra (nincs szükség további hígításra). A feloldott kontrolt azonnal fel kell használni elkészítés után, stabilak az eredeti üvegcsében 14 napig -20°C-on. Csak a szükséges anyagmennyiséget vegye ki. Az anyagot ne tegye vissza az eredeti flakonba.

6. 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 jelreagenst**. Egy hordozóhoz (9 küvetta + holtterefogat) körülbelül 3 ml **munka jelreagensre** van szükség.

Számolja ki a szükséges **munka jelreagens** mennyiségét a 250 µl küvettánkénti térfogat alapján. Pl. 2 hordozó 6 ml munka jelreagenst igényel - 3 ml Luminol-EV841-et és 3 ml peroxidot. Mérje ki mindkét komponens térfogatát (1:1) és aliquot, steril eldobható műanyag pipettákat használva, külön tiszta áttetsző flakonokba. Ügyeljen a szennyeződések elkerülésére a reagensek kezelése közben. Keverje össze a komponenseket, gyengéden görgetve használat előtt 15 percig. Az állag elérése érdekében ajánlatos a LUM-EV841 komponenst keveréskor a Peroxid komponenshez adni. A LUM-EV841 komponenst és **munka jelreagenst** védje a fénytől. A **munka jelreagens szobahőmérsékleten 4 órán át stabil**.

7. BUF WASH (conc.)

A mosópuffer koncentrátumként van mellékelve. A **hígított mosópuffer oldatot hígítással készítse el**. A hígítási tényező 31.25, vagyis 32 ml koncentrátumot kell 968 ml vízhez adni, és forgatással keverni. A **hígított mosópuffer oldat** 30 napig stabil, ha +2°C - +8°C-on tároljuk.

VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

MELLÉKELT ANYAGOK

1. MYCO 10 CONJ (conc.)	2 x 1 ml
2. DIL CONJ	1 x 12 ml
3. MYCO 10 BIOCHIP	54 biochip
4. MYCO 10 CAL	9 x 1 ml
5. MYCO 10 CONTROL	1 x 1 ml
6. PX	1 x 10 ml
LUM – EV841	1 x 10 ml
7. BUF WASH (conc.)	1 x 32 ml
8. Kalibrációs lemez és vonalkódok	1

EV3941B

1. MYCO 10 CAL	9 x 1 ml
----------------	----------

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

1. Pipetták és pipetta csúcsok
2. Mosóüveg
3. Ioncserélt desztillált víz
4. Szőszmentes papír
5. Evidence Investigator™ Ziplock tasakok (EV3664)
6. Keverő roller
7. Acetonitril
8. Metanol
9. Vortex
10. Centrifuga
11. Mérleg

KALIBRÁCIÓ

Egy kilenc pontos kalibrációt kell végezni a Randox Evidence Investigator™ Myco 10 kalibrátorok használatával, amely a vizsgálat kalibrációját lefedi. Maximum 6 biochip hordozó vizsgálható egyidejűleg, és ajánlatos mindegyik vizsgálat sorozathoz új kalibrációs görbét szerkeszteni.

ANYAGOK

Használat előtt minden anyagnak szobahőmérsékletűnek kell lenni.

Vegye ki a kívánt számú biochip hordozót a csomagolásukból. Helyezze az Investigator keverőinkubátor egységgel felszerelt kezelőtálcát a munkafelületre. Helyezze be mindegyik hordozót a kezelőtálcába, a pozícióba pattintással biztosítva, hogy vízszintesek és rögzítettek. Minden minta és reagens hozzáadást, mosást és inkubációt a kezelőtálcá segítségével végezzen el, és a hordozókat csak az eljárás végső jelzőanyag hozzáadás és képképzés fázisához távolítsa el róla. További részleteket lásd a Használati utasítást. Minden használandó hordozót címkézzon fel. Ajánlatos, hogy az első vizsgálandó hordozó kalibráció legyen, a mellékelt kilenc kalibrátor használatával.

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

Ajánlott a vizsgálatot egy laboratóriumban + 18 - +25°C közötti hőmérsékleten elvégezni. Ha olyan laboratóriumban dolgozunk, amely ezeken a hőmérsékleteken kívül esik, az kedvezőtlen hatással lehet a teljesítményre.

ELJÁRÁS

CD-ROM INSTALLÁCIÓ

- Helyezze a lemezt a CD-ROM meghajtóba.
- Az Updater program automatikusan futni fog.
- Kattintson arra a rendszerre, amelyet frissíteni akar, hogy biztosítsa: a megfelelő módszer van frissítve a szoftveren a koncentráció feltöltése előtt.
- Zárja be a feltöltés panelt és a Koncentráció Frissítése (Update Concentration) ablak fog megjelenni.
- Válaszoljon igennel (YES) a 'Biztos abban, hogy, frissíteni kívánja a koncentrációkat?' (ARE YOU SURE YOU WANT TO UPDATE CONCENTRATIONS?) kérdésre.
- A PDF megtekinthető, ha megnyitja a My Computer-t (Sajátgép) és kiválasztja 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/VIZSGÁLATI PROTOCOL

A kézi Evidence Investigator™ Mycotoxin módszerekhez a kiértékelte 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 érintse meg a pipettacsúcsokkal.

Készítsen elő minden mintát és reagenst a fenti leírások alapján.

1. Pipettázzon **150µl *hígított mosópuffert*** minden BIOCHIPRE.
2. Pipettázzon **50µl KALIBRÁTORT/MINTÁT** minden BIOCHIPRE. Gyengéden ütögesse meg a kezelőtálca mindegyik szélét a reagensek elkeveréséhez.
3. Rögzítse a kezelőtálcát a keverőinkubátor alaplapjához. Inkubáljuk **30 percig** +25°C-on és 370 rpm-en.
4. Pipettázzon **100µl *munka konjugátumot*** BIOCHIPENKÉNT. Inkubálja további **60 percig** +25°C-on és 370 rpm-en.
5. Azonnal végezzen el 2 gyors mosóciklust. ***Hígított mosópuffert*** tartalmazó mosóüveget használva (a hígítást lásd a készlet mellékletében) adjon kb. **350 µl *hígított mosópuffert*** mindegyik küvettába, gyengéden megütögetve a kezelőtálca mindegyik szélét, hogy kiszabadítsuk az összes reagenst, amely esetleg a biochip alatt be van szorulva, és öntse a hulladékba egy gyors mozdulattal. Ügyeljen rá, hogy a mosás során ne töltse túl a küvettákat annak érdekében, hogy csökkentse a küvettáról küvettára történő szennyeződés lehetőségét. Végezzen el még 4 mosóciklust; mindegyik ciklushoz gyengéden ütögesse meg a kezelőtálca mindegyik szélét körülbelül 10-15 másodpercig, majd hagyja a biochipeket ázni a mosópufferben 2 percig. A végső mosás után ütögesse ki egy szöszmentes törülőkendőre az összes maradék mosópuffer eltávolításához.
6. Az utolsó mosás után töltse fel a küvettákat a ***hígított mosópufferrel***, és hagyja ázni közvetlenül a képalkotás előttig. Egyik hordozót se hagyja tovább ázni 30 percnél.

KÉPALKOTÁS

Lásd az Evidence Investigator™ Kezelés Útmutató 4. bekezdését az általános működési eljárásra és a munkalistára vonatkozóan.

- A hordozókat egyenként dolgozza fel. Azokat, amelyek a képalkotásra várnak, óvni kell a fénytől.
- Vegye ki az első képalkotásra váró hordozót a kezelő tálcáról. Közvetlenül a jelző reagens hozzáadása előtt távolítsa el a mosópuffert egy gyors, billentő mozdulattal, és ütögesse ki a hordozót egy szöszmentes törülőkendőre az összes maradék mosópuffer eltávolítása érdekében.
- Adjon **250µl *munka jelreagenst*** mindegyik biochipe, és fedjük le, hogy megóvja a fénytől.
- Pontosan **2 perc múlva (±10 mp)** helyezze 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).

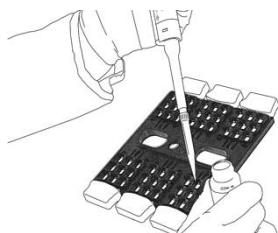
EREDMÉNYFELDOLGOZÁS

Az eredmények automatikusan kerülnek felhasználásra a társított szoftver használatával.

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

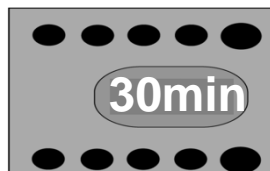
Mikotoxinok (EV3941A/B) vizsgálati eljárás összefoglalója

(Kérjük, olvassa el figyelmesen a teljes protokoll leírást!)



1. Készítse elő a mintát.

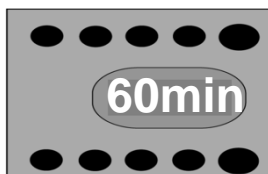
2. Adjon **150 µl** hígított mosópuffert minden egyes biochipre, majd adjon **50 µl** **mintát/kontrollt/kalibrátort** a megfelelő helyre.



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



4. Adjon hozzá **konjugátumot** egyes chipre.

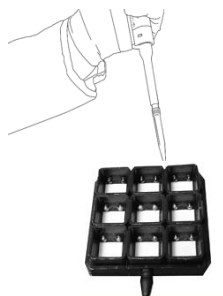


5. Inkubálja a hordozót **+25°C-on 60 percig 370 rpm-en**.

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



6. Öntse le a folyadékot és jól mossa el az összes küvétát a **hígított mosópufferrel**. Végezzen el **2 gyors mosást** és **4 kétperces áztatást**.



7. Öntse ki a folyadékot és ütögesse szöszmentes papírra. Adjon **250 µl jelreagenst** mindegyik küvétába. **Inkubálja 2 percig és óvja a fénytől**.

**Evidence
Investigator**

8. Alkosson képet mindegyik hordozó Investigatoron.