

## HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

### TwinSensor

Gyorsteszt  $\beta$ -laktámok és Tetraciklinek meghatározására tejben  
 Inkubációs hőmérséklet: 40°C (2 x 3 perc)

Cikkszám: KIT020 és KIT034

	Compounds (MRL-ppb)	Limits of detection ppb ( $\mu\text{g/l}$ )	Limits of detection ppb ( $\mu\text{g/l}$ )
		KIT020	KIT034
Penicillins	Penicillin-G (4)	2 – 3	2 – 3
	Ampicillin (4)	3 – 4	3 – 4
	Amoxicillin (4)	3 – 4	3 – 4
	Oxacillin (30)	12 – 18	12 – 18
	Cloxacillin (30)	6 – 8	6 – 8
	Dicloxacillin (30)	6 – 8	6 – 8
	Nafcillin (30)	30 – 50	30 – 50
Cefalosporins	Cefacetrile (125)	30 – 40	30 – 40
	Cefalexin (100)	> 750	> 750
	Cefalonium (20)	3 – 5	3 – 5
	Cefazolin (50)	18 – 22	18 – 22
	Cefoperazone (50)	3 – 4	3 – 4
	Cefquinome (20)	20 – 30	20 – 30
	Ceftiofur (100)	10 – 15	10 – 15
	Cephapirin (60)	6 – 8	6 – 8
Tetracyclines	Chlortetracycline (100)	30 – 40	5 – 7
	Doxycycline (100)	10 – 15	2 – 3
	Oxytetracycline (100)	50 – 60	7 – 9
	Tetracycline (100)	80 – 100	8 – 10

„A” ábra - Kimutatási határérték

#### 1. Bevezetés

A Twinsensor<sup>BT</sup> (KIT020) egy olyan gyorseszteszt, amely lehetővé teszi  $\beta$ -laktám és Tetraciklin molekulák jelenlétének egyidejű kimutatását tejben. (lásd „A” ábra)

## 2. A vizsgálat menetének összefoglalása

- Válassza ki a megfelelő programot az inkubátoron.
- Adjon 200 µl tejmintát egy reagenst tartalmazó küvetta-ba és keverje, amíg a minta színe rózsaszín lesz (homogén minta), helyezze az inkubátorba és nyomjon egy Start/Stop gombot;
- Inkubálja 180 másodpercig (3 percig) 40°C-on;
- Győződjön meg róla, hogy az inkubátor beleejtette a küvetta-ba a tesztcsíkot;
- Folytassa az inkubációt 180 másodpercig (3 percig) 40°C-on;
- Olvassa le a színintenzitásokat.

## 3. Reakció mechanizmus

A Twinsensor<sup>BT</sup> egy versenyképes teszt, mely két receptort használ a tejben jelenlévő két különböző molekula felismerésére. A teszthez két összetevő szükséges. Az első összetevő a küvetta, mely előre meghatározott mennyiségben tartalmazza mindkét receptort arany részecskékhez kapcsolva. A második összetevő a tesztcsík, mely membránokból készült és két speciális elfogó vonalat tartalmaz. (lásd B ábra) Érvényes vizsgálathoz a második inkubációs szakaszt követően a középső piros ellenőrző (control) vonalnak láthatóvá kell válnia. A β-laktám „teszt” vonal (penicillin és kefalosporinok) az ellenőrző vonal („control”) alatt helyezkedik el, a tetraciklineket jelző vonal pedig felette. Amikor a küvetta-ban lévő reagensek elkeverednek a tejmintában, az első 180 másodperces 40°C-os inkubációs szakasz alatt, a receptorok megkötik a benne lévő β-laktám és tetraciklin molekulákat. Ezután, mikor a tesztcsíkot behelyezzük a mintába a folyadék elkezd függőlegesen felfutni azon, áthaladva a két elfogó zónán. Ha a mintában nincs antibiotikum az elfogó zónában lévő vonal megjelenik/elszíneződik, ami jelzi a keresett analit hiányát a mintánkban.

Ellenkező esetben, ha a minta antibiotikum molekulákat tartalmaz az elfogó tartományban nem fog elszíneződni/megjelenni a vonal.

## 4. A kít tartalma

A Twinsensor<sup>BT</sup> (KIT020) kitek tartalmaznak minden szükséges eszközt 96 teszt elvégzéséhez.

- 12 darab műanyag edény mindegyikben 8 darab reagens küvetta és 8 darab tesztcsík;
- 1 darab automata pipetta, fix 200 µl;
- «Pozitív standard» por, melyet feloldva Penicillin G és Oxytetraciklin pozitív nyerstejet kapunk. (lásd C ábra) A könnyű felismerhetőség elősegítése érdekében a Pozitív standard színe halványpiros;
- «Negatív standard» por, melyet feloldva negatív standard nyerstejet kapunk. A könnyű felismerhetőség elősegítése érdekében a Negatív standard színe halványzöld;
- 1 darab használati utasítás.

## 5. Általános megjegyzések

- A tejtávtételen a kittet száraz helyen, alacsony hőmérsékleten 2 és 8 °C között tárolják. Mielőtt kinyitná, hagyja a műanyag edényeket felmelegedni szobahőmérsékletre. Óvja a tesztcsíkokat nedvességtől és fénytől.
- A standard anyagok két formátumban érhetők el: üvegedények vagy egyedi műanyag csövek. A standard üvegedények mindegyikét 1 ml (5 x 200 µl) tiszta vízzel kell rehidratálni, a standard egyedi műanyag csöveket pedig 400 µl (2 x 200 µl) tiszta vízzel. A csomósodás elkerülése érdekében erőteljesen keverjük össze (például egy vortex segítségével). Az elkészített üvegben lévő standard anyag- 20 °C-on tárolható. Csak egyszer fagyasztható!
- Ne használja a Twinsensor<sup>BT</sup> tesztet romlott/alvadt tejhez.
- A teszt elvégzéséhez az optimális hőmérséklet 40°C ± 3°C. Használja a Heatsensor inkubátort (vagy vízfürdőt). Más típusú inkubátorok nem alkalmazhatók a Twinsensor<sup>BT</sup> vizsgálathoz. (A megfelelő hőmérséklet és időzítés beállításáról bővebben a Heatsensor használati utasításban olvashat);
- A második inkubációt követően 15 percen belül olvassa le az eredményt. Ne próbálja meg leolvasni az eredményt 15 percet követően;
- A műszeres leolvasáshoz használja a Readsensort (lásd Readsensor használati útmutató).
- Száradás közben a csíkok színintenzitása élesebb lesz;
- Pozitív eredmény esetén, a kapott eredményt meg kell erősíteni;
- Használja el az összes tesztet egy műanyag tároló edényből, mielőtt újat nyitna.

## 6. Tejpor feloldása

Egy megfelelő edényben keverjen össze 10 g tejpport 90 ml langyos (40 °C) desztillált vízzel. Keverje erőteljesen a megfelelő oldódás érdekében.

## 7. Használati utasítás

*Az alább leírt eljárás egy egyedülálló, vagy egy csoport minta egyszerű vizsgálatát írja le. Próbálja a vizsgálatokat sorozatban végezni, kerülje a késlekedést a reagens és a tejminta összekeverése, valamint tesztcsík behelyezése és eltávolítása során. Győződjön meg arról, hogy az inkubációs idő és hőmérséklet megegyezik minden minta esetén. Egyszerre ne vizsgáljon nyolcnál több mintát, valamint háromnál több minta esetén, használjon multi-pipettát. Nyolcnál több minta esetén, javasoljuk a minták maximum nyolcas szériákra osztását.*

Válasszon egy tiszta és száraz helyet a vizsgálathoz. Mossa és szárítsa meg a kezét mielőtt elkezdi a vizsgálatot;

Csatlakoztassa a Heatsensor inkubátort (bővebben a Heatsensor használati utasításban) és várjon, míg a hőmérséklet stabilizálódik 40°C-on;

*Körülbelül 10 percet vesz igénybe mire a hőmérséklet stabilizálódik 40°C-on.*

Mielőtt kinyitná a reagenst, vegye ki a kivet a hűtőből és hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre. Ezalatt gondosan olvassa el a használati utasítást;

- *Két fő összetevőből áll a teszt: a tesztcsík és a küvetta a fagyasztva szárított reagenssel. Mindkettő a fehér műanyag edényben található.*

Határozza meg a vizsgálandó minták számát és lássa el a küvetákat azonosító számmal;

- A tejmintának folyékonynak és homogénnek kell lennie, nem lehetnek benne sem csomók, sem szétvált fázisok. Az ideális tejminta hőmérséklet 4 és 20 °C között van.

Nyisson ki egy műanyag edényt és vegyen ki annyi küvetát, ahány mintát szeretne vizsgálni (tartalmazza a pozitív és negatív standardokat);

- Egy műanyag edény kinyitásához először távolítsa el a biztonsági gyűrűt annak lefelé nyomásával, majd vegye le a fedelet;
- A tesztcsík és a reagens kivételét követően zárja be megfelelően a műanyag edényt;

Mindig használja el az összes tesztet és küvetát az adott műanyag edényből, mielőtt ujjat bontana ki

- Figyelem, ha nem használja el mind a 8 küvetát a műanyag edényből, ne tépje le a küvetákról a lezáró fóliát és hagyja a használatlan küvetákat a műanyag edényben. Ne próbálja a küvetákat szétszedni különálló darabokra, hanem a használat után azonnal tegye vissza a műanyag edénybe anélkül, hogy megsértené velük a tesztcsíkokat, majd zárja le, és győződjön meg, hogy megfelelően lezárt a kupak.

Helyezze a küvetá(ka)t a 40°C-os inkubátorba;

Tegyen új hegyet a mikropipettába és pipettázon 200 µl tejet minden küvetába. *(lásd D ábra)*

**Figyelem: amint a reagens és a tej érintkezik egymással, a reakció elkezdődik. Keverje össze gyorsan és AZONNAL nyomja meg a START(RUN) gombot. Az első 180 másodperces szakasz elindul;**

- Az első inkubációs szakasz alatt a receptorok felderítik, hogy van-e antibiotikum a tejben. A reakció teljes lejátszódásához 180 másodpercre van szükség.

Eközben nyissa ki ugyanazt a műanyag edényt és vegyen ki annyi tesztcsíkot, ahány vizsgálatot végez, majd zárja be az edényt. Fektesse a tesztcsíkokat egy száraz lapra és írja rájuk a minta azonosítókat. Helyezze a tesztcsíkokat az inkubátor tartó részének megfelelő pozíciójába.

- Győződjön meg arról, hogy a megfelelő pozícióba helyezte a tesztcsíkot, a mintaazonosítók megegyezzenek;
- Az első 180 másodperces inkubáció után a HeatSensor inkubátor automatikusan beleejti a tesztcsíkokat a tejminta-reagens keverékbe.

Elindul a második 180 másodperces inkubációs szakasz.

A második 180 másodperc leteltét, azaz a hangjelzést követően, nyomja meg a START (STOP) gombot újra a hangjelzés leállításához, majd vegye ki a tesztcsíkokat a küvetákból és fektesse egy papírlapra;

Helyezzen vissza mindent a dobozba és zárja le. Ha nem végez több Twinsensor vizsgálatot aznap, tegyen vissza mindent a dobozba és tárolja 2 – 8 °C között.

*\*(Bővebben az alkalmazott Heatsensor használati utasításban.)*

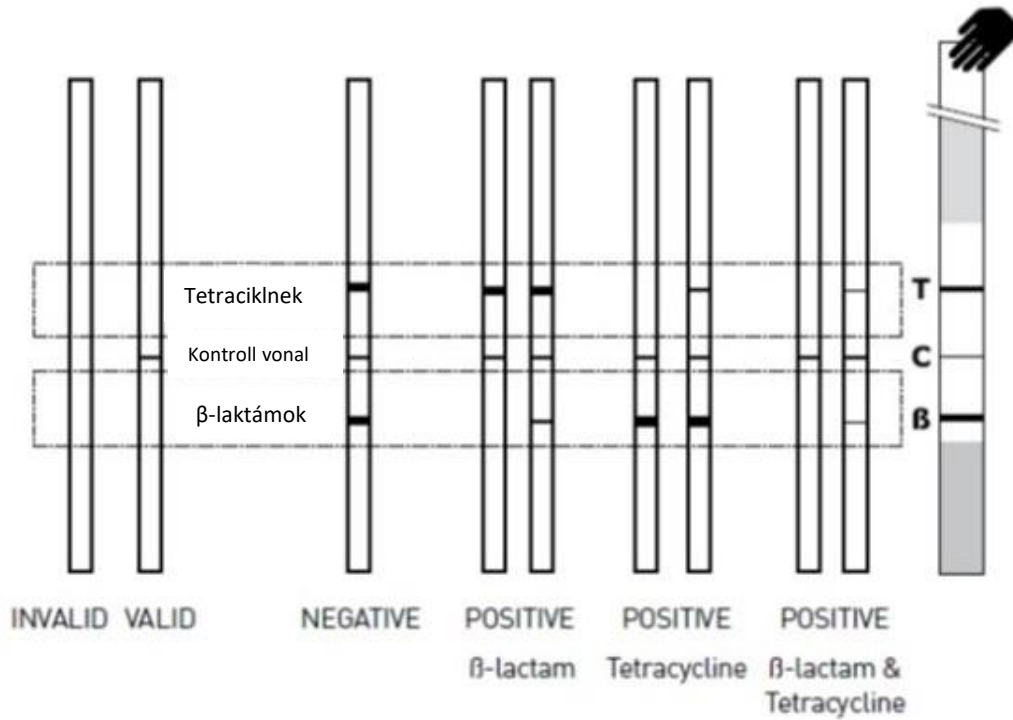
## 8. Vizuális kiértékelés

A vizuális kiértékelést a következőképpen végezze:

1. Először ellenőrizze, hogy a közepső kontrol vonal megjelent-e. Ha nem jelent meg akkor a vizsgálat érvénytelen és ne kezdje el (vagy folytassa) az eredmény kiértékelését;
2. Ha a közepső kontrol vonal látható, értékelje ki a tesztet a következők szerint:
3. Egyszerre mindig csak az egyik analit kiértékelését végezze el, úgy hogy a teszt és a kontrol vonalak színintenzitását vizsgálja meg. Kezdje az alsó vonallal, amely a  $\beta$ -laktámokat mutatja:
  - a. Ha a teszt vonal színe **sötétebb** a kontrol vonal színénél, az eredmény **NEGATÍV**, mely azt jelenti, hogy a teszt érzékenységének megfelelően, a tejminta nem tartalmaz antibiotikum molekulákat vagy csak a megadott értékeknél alacsonyabb szinten;
  - b. Ha a teszt vonal színe **megegyező, vagy világosabb**, mint a kontrol vonal színe, az eredmény **POZITÍV**, amely azt jelenti, hogy a teszt érzékenységének megfelelően, a tejminta tartalmaz antibiotikumokat vagy a mellékelt táblázat feletti értékben tartalmaz antibiotikum molekulákat.
4. Amennyiben kiértékelte az egyik tesztvonalat, tegye ugyanezt a másik vonallal is. (folytassa a felső Tetraciklint jelző vonallal).
5. Ha nem tudja eldönteni, hogy a vizsgálat eredménye pozitív-e, végezzen egy második kiértékelést 15 percen belül;
6. Írja rá a vizsgálati eredményt minden egyes tesztcsíkra;
7. A tesztcsík megőrizhető, ha szükséges. A mintaszivacska eltávolításával szárítsa ki a tesztcsíkot mielőtt tárolná. Megjegyzés: a tesztvonalak színe a száradás során intenzívebbé (sötétebbé) válik.

Readsensor használata esetén a tesztcsíkot a vizsgálatot követően 15 percen belül le kell olvasni. Bővebben a Readsensort használati útmutatójában.

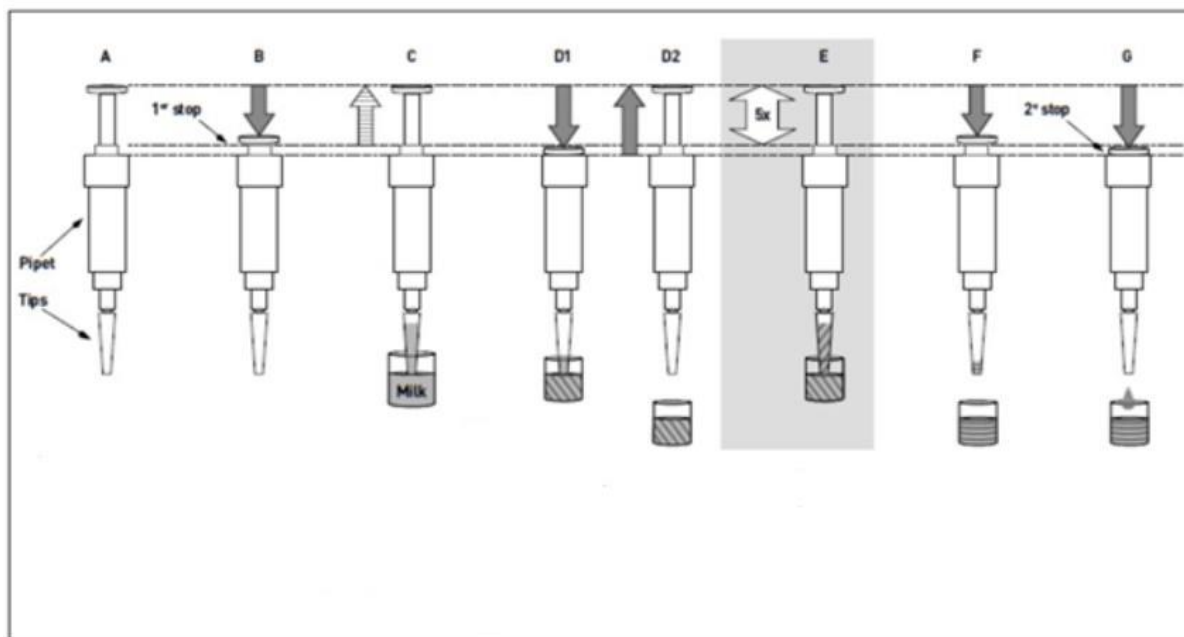
„B” ábra: Vizuális kiértékelés



„C” ábra – Pozitív standard

	KIT020	KIT034
Penicillin-G	4 ppb	4 ppb
Oxytetracycline	100 ppb	20 ppb

„D” ábra – Hogyan használja megfelelően a pipettát?



**A** – A pipetta eredeti helyzete

**B** – Nyomja a fecskendő az első ütközésig

**C** – Lassan helyezze a tip végét a tejbe úgy, hogy a fecskendő az eredeti pozíciójába kerüljön

**D1** – Helyezze a 200 µl tejet a megjelölt reagens küvettába, lassan tolja a pipettát a második ütközésig, majd húzza ki a pipettát a tejből

**D2** – Engedje, hogy a fecskendő az eredeti pozícióba kerüljön

**E** – Ugyanazzal a pipetta csúccsal gyorsan keverje össze a reagenseket és a tejet felszívva és visszaengedve a folyadékokat ötször egymás után, amíg homogén oldatot nem kap

**F&G** – Engedje ki a 200 µl keveréket a fecskendő második pozícióba történő állításával