

Инструкция использования теста 4sensor (Форсенсор)

4sensor(Форсенсор).

Экспресс-метод для определения β -лактамов, тетрациклина, стрептомицина и левомицетина в пробе молока.

Включен в ГОСТ 32219-2013 "Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков" (тест - набор №7)

Инструкция по применению

I. Введение.

Форсенсор -это экспрессный метод,который позволяет одновременно выявлять присутствиемолекул антибиотиков β -лактама, тетрациклина, стрептомицина и левомицетина в пробе молока.



Внешний вид



- Внутри находится 12 белых пластиковых сосудов, каждый из которых содержит 1 стрип с 8 реагентными микролунками и 8-ю тест-полосками.

II. Краткое изложение протокола:

- Добавить **200 µl** молока в одну микролунку с реагентами и перемешивать дозатором до получения гомогенизированного образца.

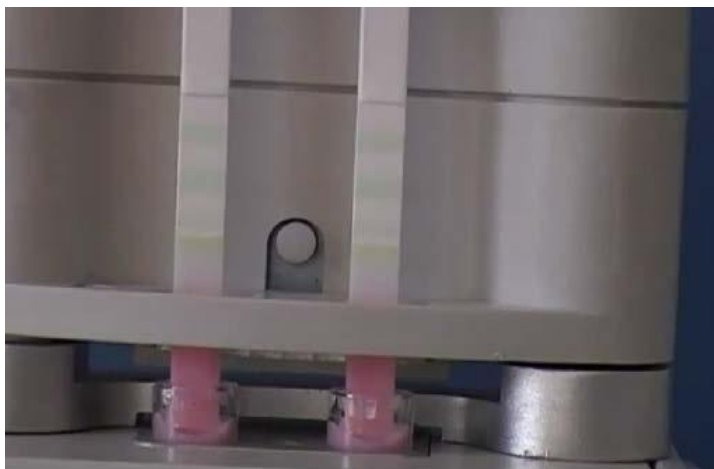


Примечание: на фото при демонстрации анализа используется инкубатор полуавтомат на 2 лунки

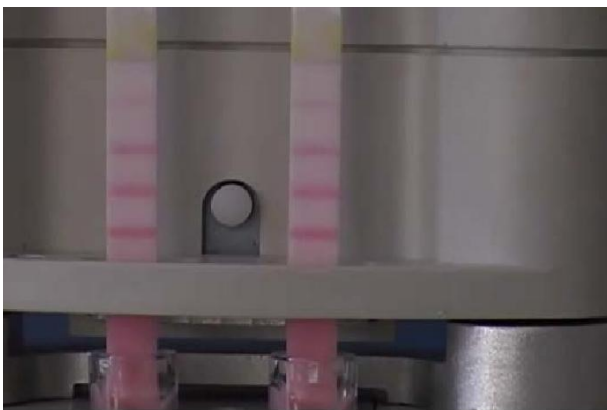
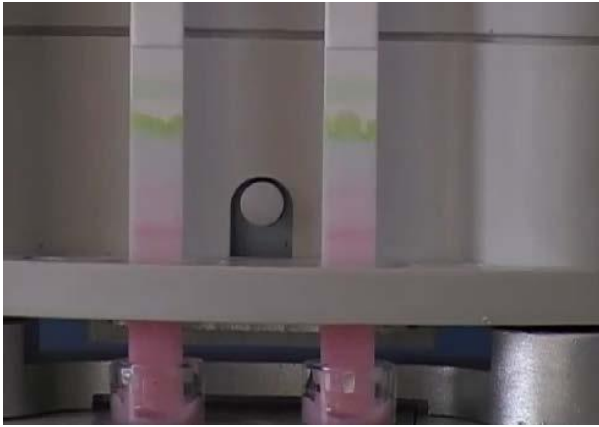
- Инкубировать **5 мин при температуре 40°C.**
- Погрузить по одной тест-полоске в каждую микролунку.



- Продлить инкубацию на **5 мин при температуре 40°C.**



После погружения тест-полоски в пробу молока, жидкость начинает мигрировать вверх по тест-полоске и проходит через зоны поглощения



- Считать интенсивность цвета.
ниже контрольной линии:
Линия для **тетрациклина**
линия **левомицетина**
линия стрептомицина линия **β -**
лактама(пенициллин и цефалоспорин).

III. Механизм реакции.

Форсенсор - это конкурентный метод тестирования с участием специфичных рецепторов и воспроизведенных моноклональных антител в одношаговом действии. Методика требует использования двух компонентов. Первый компонент представляет собой микролунку, содержащую заранее установленное количество как рецепторов, так и антител, связанных с частицами золота. Второй компонент - это тест-полоска, состоящая из набора мембран со специфичными линиями связывания. Если тест годен к использованию, то верхняя зеленая контрольная линия должна быть видна после первой инкубации (смотрите рисунок А).

Четыре других компонента – специфичные тестовые линии, расположенные ниже контрольной линии. Линия для **тетрациклина**, затем линия **левомицетина**, **стрептомицина** и линия **β-лактама (пенициллин и цефалоспорин)**. Когда реагент из микролунки повторно суспензируется с пробой молока, рецепторы и моноклональные антитела связываются с соответствующими анализируемыми веществами, если таковые присутствуют, в течение первой 5-минутной инкубации при температуре 40°C. После погружения тест-полоски в пробу молока, жидкость начинает мигрировать вверх по тест-полоске и проходит через зоны поглощения. Если проба не содержит антибиотиков, на тестовой линии проявляется цветное окрашивание, указывающее на отсутствие анализируемых веществ в пробе молока. И наоборот, наличие антибиотиков в пробе не приведет к появлению цветного окрашивания на тестовых линиях.

IV. Состав набора.

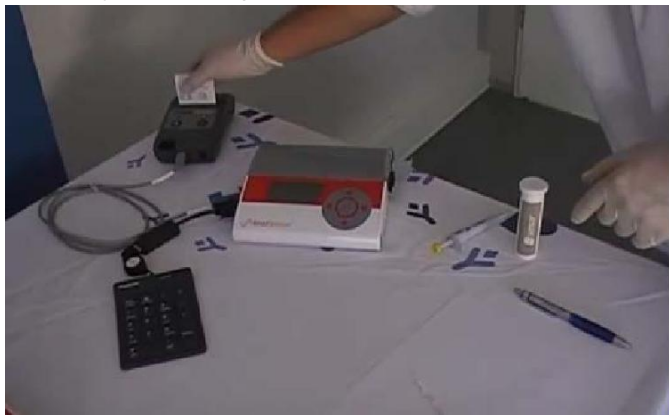
Тест-набор для молока **Форсенсор** содержит всё необходимое для выполнения 96 тестирований:

- 12 белых пластиковых сосудов, каждый из которых содержит 1 стрип с 8 реагентными микролунками и 8-ю тест-полосками.
- 1 одноканальный дозатор 200 μл.
- «Положительный контроль» - содержит сухое молоко для восстановления «положительного контроля» в виде сырого молока, содержащего пенициллин, стрептомицин, окситетрациклин и левомицетин. Для более простого считывания, «положительный контроль» заранее окрашен в светло-красный цвет.
- «Отрицательный контроль» содержит сухое молоко для восстановления «отрицательного контроля» в виде сырого молока. Для более простого считывания, «положительный контроль» заранее окрашен в светло-зеленый цвет.
- Одна инструкционная карта с кратким изложением протокола.

V. Дополнительное оборудование, необходимое для проведения тестирования

1 инкубатор (Heatsensor) – инкубация при температуре 40°C, (смотреть руководство по эксплуатации Heatsensor).

1 Считывающее устройство (Readsensor) – (смотреть руководство по эксплуатации).



VI. Общие замечания.

1. При использовании считывающего устройства (Readsensor) для считывания результатов, прибор Readsensur должен быть включен до начала исследования (смотреть руководство по эксплуатации).

2. При получении, хранить комплект в сухом месте и при низкой температуре от +2°C до +8°C. Перед тем, как открыть упаковку, необходимо дать возможность пластиковым сосудам достичь комнатной температуры и не допускать воздействия на продукт влаги и света.

3. Стандартные растворы представлены в двух стеклянных флаконах. Растворы должны гидратироваться с 1 мл (5x200µ) чистой воды. Тщательно перемешать (рекомендуется вортекс) до получения однородной массы. Восстановленный раствор должен храниться в морозильнике при температуре -20°C. Не замораживать или оттаивать более одного раза.

4. Избегать использования свернувшегося молока вместе с Форсенсором.

5. Наилучшая температура для проведения тестирования - это **40°C ± 3°C**.

Используйте инкубатор "Heatsensur" (**или, в качестве альтернативы) водяную баню**). Любой другой вид инкубатора не подходит для использования с методом **Форсенсор**. (См. инструкцию применяемого инкубатора для установления правильной температуры и расчета времени).

5. После второй инкубации, считайте результаты в течение 5 минутного срока. Не пытайтесь расшифровывать результаты после 5 минут.

6. По мере высыхания яркость цветов линий становится более четкой.

7. В случае получения положительного результата, результаты тестирования должны быть подтверждены дополнительно.

8. Не вскрывайте новый пластиковый сосуд с тест-полосками, не используя предыдущий полностью.

VII. Смешивание.

В соответствующей пробирке смешайте 10 г сухого молока с 90 мл теплой (40°C) и дистиллированной воды. Для лучшего растворения тщательно перемешайте.

VIII. Общие инструкции (общая методика по использованию)

Данная процедура описывает процедуру тестирования либо одной пробы, либо набора из нескольких проб. Во втором случае постарайтесь выполнить тестирование последовательно и избежать задержек во время смешивания реактива и молока, а также во время погружения и удаления тест -полосок. Убедитесь в том, что время инкубации и температура одинаковы для всех проб. Вам не следует тестировать более 8 -ми проб одновременно, а в случае наличия более 3-х проб рекомендуется пользоваться многоканальным дозатором. Тестирование более чем 8 -ми проб рекомендуется проводить двум операторам, каждый из которых будет проводить тестирование в последовательности до 8 проб.

1. Выбрать чистое и сухое место для проведения испытаний, а также вымыть и высушить руки перед началом тестирования.
2. Подключить инкубатор (смотреть руководство по эксплуатации) и ждать до тех пор, пока температура стабилизируется на уровне **40°C**. - Потребуется около 10 минут для того, чтобы температура стабилизировалась на уровне **40°C**.
3. Перед тем, как открыть реактивы, необходимо вынуть комплект из холодильника и подождать до тех пор, пока температура реактивов достигнет температуры окружающей среды. Тем временем, внимательно прочитайте инструкцию по применению.
 - Два основных компонента данного теста - это тест-полоски и лиофилизированные реактивы в микролунках. Оба компонента хранятся в белых пластиковых сосудах.
4. Определить, сколько проб молока должно быть протестировано, и написать на каждой пробирки идентификационный номер.
 - Проба молока должна быть жидкой и однородной. Ни=фаз образования сгустков, ни осадков быть не должно. Идеальной для пробы молока считается температура от 4 до 20°C
5. Откройте один пластиковый сосуд и выньте столько микролунок, сколько проб молока необходимо протестировать.
 - Для того, чтобы открыть сосуд с тест-полосками, снимите защитное кольцо путем нажатия его вниз сосуда, снимите кольцо и откройте пробку.
 - Сосуд с тест-полосками должен быть всегда плотно закрыт после того как реактивы были извлечены.
 - Прежде чем открывать новый сосуд с тест-полосками, предыдущий должен быть полностью использован.
 - Будьте внимательны, если Вы не намереваетесь использовать все 8 микролунок, оставьте полоску из 8-ми крышек на неиспользованных микролунках и не отрезайте стрип из восьми крышек, а оставьте его на тех микролунках, которые не будут использованы. Не пытайтесь отделить индивидуальные крышки, а сразу же положите их обратно в белый сосуд, закройте его и убедитесь в том, что он плотно закрыт.
6. Разместите микролунки в нагревательном блоке, который показывает **40°C**.
7. Закрепите новый наконечник на одноканальном дозаторе и внесите 200 µl молока в каждую из микролунок.

8. Внимание!: когда реактивы и молоко вступают в контакт, начинается реакция.

Смешайте быстро и **НЕЗАМЕДЛИТЕЛЬНО** нажмите кнопку **START (ЗАПУСК)**, после чего начинается обратный отсчет 5-ти минут.

- В течение первой инкубации рецепторы и моноклональные антитела выявляют наличие антибиотиков в пробе молока. Для завершения реакции необходимо 5 минут.

9. В течение этого времени откройте тот же сосуд, что и прежде, выньте столько тест-полосок, сколько происходит анализов и закройте сосуд. Положите тест-полоски на чистый лист и напишите номер, который соответствует номеру пробы молока.



10. По истечению 5-ти минут, т.е. после звукового сигнала, нажмите **START(ОСТАНОВКА)*** еще раз для того, чтобы остановить звуковой сигнал и погрузите соответствующую тест-полоску в каждую из микролунок, размещенных в инкубаторе.

- Убедитесь в том, что Вы погрузили в микролунку тест-полоску с тем же идентификационным номером, что и номер пробы молока.

11. Включите таймер для второй инкубации путем нажатия кнопки **START (ЗАПУСК)***. Начинается обратный отсчёт 5-ти минут.

12. По истечении 5-ти минут, т.е. после звукового сигнала, нажмите **START (ОСТАНОВКА)*** еще раз для того, чтобы остановить звуковой сигнал и выньте тест-полоски из микролунок для того, чтобы разместить их на листе бумаги.

13. Если Вы не планируете выполнить какие либо другие тесты с Форсенсором, убедитесь, что сосуды герметично закрыты. Положите всё обратно в коробку и храните ее в холодильнике при температуре от +2 до +8°C.

**(См.Инструкцию применяемого инкубатора—для инкубатораDUOвыполнение9 и 12 шагов упрощено)*

VIII.1. Визуальная расшифровка результатов (рисунок А)

14. В первую очередь проверьте, имеется ли в наличии верхняя контрольная линия. Если нет, то примите во внимание, что в данном случае тестирование недостоверно и не начинайте (или не продолжайте) любую расшифровку.

15. Когда контрольная линия видна, расшифруйте четыре тестовые линии следующим образом:

16. Проверяйте по одной тестовой линии за раз и **сравните** интенсивность цвета тестовой линии с интенсивностью цвета контрольной линии (начните с верхней линии тетрациклина);

• Если тестовая линия имеет более интенсивный цвет, чем контрольная линия, то результат **отрицательный**, означающий, что исходя из

чувствительности теста, проба молока не содержит антибиотики или содержит на

более низком уровне, чем указано в **таблице А**;

• Если тестовая линия отлична или светлее по цвету, чем контрольная линия, тогда результат **положительный**, который, учитывая чувствительность теста, говорит о том, что проба молока содержит антибиотики на уровне или выше указанного в **таблице А**.

17. После интерпретации одной тестовой линии, сделайте то же самое с другими линиями;

18. Если вы сомневаетесь в полученном результате, тогда считайте что результат **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ** и подтвердите вашу интерпретацию путем выполнения второго тестирования или второй интерпретации результатов в течение следующих 5-х минут.

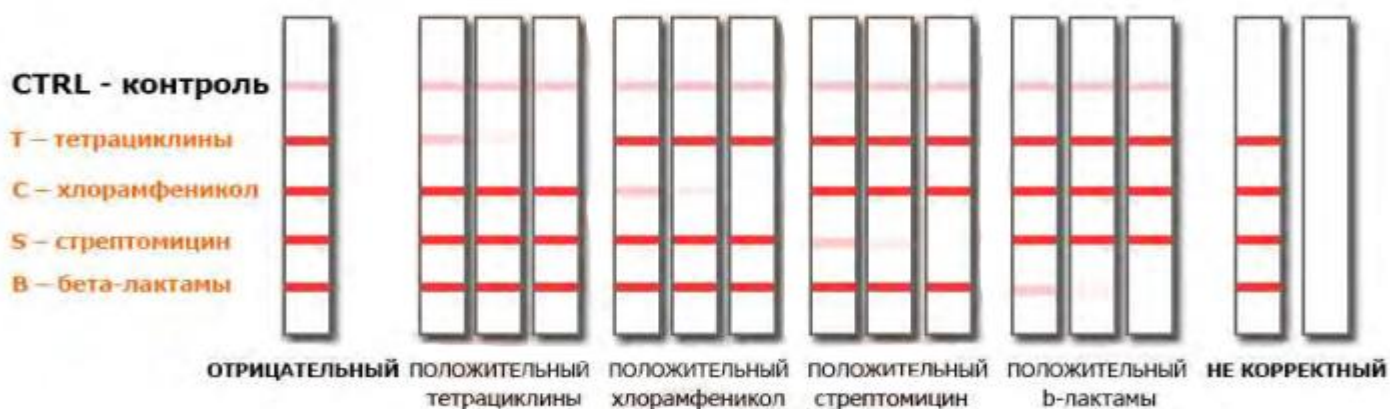
19. Напишите вашу оценку на каждой из тест-полосок.

20. В случае необходимости, тест-полоску можно заархивировать путем удаления пористой подложки, расположенной в нижней части тест-полоски, и просушивания перед архивированием.

Примечание: Интенсивность цвета линий потемнеет при просушке.

Результат положительный

- тестовая линия такая же по цвету как контрольная
- тестовая линия светлее контрольной
- тестовая линия не проявилась



Если у вас имеется считыватель Readsensar, вам следует считать результаты с тест-полоски в пределах 5-минутного срока после проведения теста. См. руководство по эксплуатации Readsensar.

X. Пределы определения (ppb – нг/мл)

Table A - Таблица А

| B-LACTAMS (ppb) β-лактамы (ppb) | | TETRACYCLINES (ppb) Тетрациклин (ppb) | | OTHERS (ppb) другие (ppb) | |
|------------------------------------|-----------|------------------------------------------|------|-------------------------------------------|-----------------------------|
| Penicillines - Пенициллины | | Tetracyclines - Тетрациклины | | Chloramphenicol - Левомецитин | |
| Penicillin G - Пенициллин | 2-3 | Tetracycline - Тетрациклин | 8-10 | Chloramphenicol - Левомецитин | 0,3 |
| Ampicillin - Ампициллин | 3-4 | Oxytetracycline - Окситетрациклин | 7-9 | (DH) Streptomycin - (Дигидро)Стрептомицин | |
| Amoxicillin - Амоксициллин | 3-4 | Chlortetracycline - Хлортетрациклин | 5-7 | Streptomycin - Стрептомицин | 150-200 |
| Oxacillin - Оксиациллин | 12-18 | Doxycycline - Доксидоксилин | 2-3 | Dihydrostreptomycin - Дигидрострептомицин | 40-60 150-200 |
| Cloxacillin - Клоксациллин | 6-8 | | | | |
| Dicloxacillin - Диклоксиациллин | 6-8 | | | | |
| Nafcillin - Нафциллин | 30-40 | | | | |
| Cephalosporines - Цефалоспорины | | | | | |
| Cefuroxime - Цефуроксим | 10-15 | | | | |
| Cefquinome - Цефкином | 30-35 | | | | |
| Cefazolin - Цефазолин | 18-22 | | | | |
| Cefarlin - Цефалин | 6-8 | | | | |
| Cefacetril - Цефакетрил | 30-40 | | | | |
| Cefoperazone - Цефоперазон | 3-4 | | | | |
| Cefalexin - Цефалексин | 1000-1200 | | | | |
| Cefalonium - Цефалониум | 3-5 | | | | |

Table A : Limits of detection of 4SENSOR Milk Assay.
Таблица А: Пределы обнаружения веществ, полученные методом Форсенсор (в ppb-нг/мл)