

Twin ***sensor*** **BT**

A Rapid Test for the detection of β -Lactams & Tetracyclines in Milk.
For product code : KIT020 / KIT034 – INCUBATION TEMPERATURE : 40°C

(GB)	Instructions for use	5
(FR)	Notice d'utilisation	7
(NL)	Instructies voor gebruik	9
(D)	Gebrauchsanweisung	12
(S)	Instrucciones de uso	15
(I)	Istruzioni per l'uso	18
(TR)	Kullanma Talimatı	20
(CN)	使用说明	23
(RUS)	Инструкция по применению	24
(GR)	εγχειρίδιο χρήστη	27

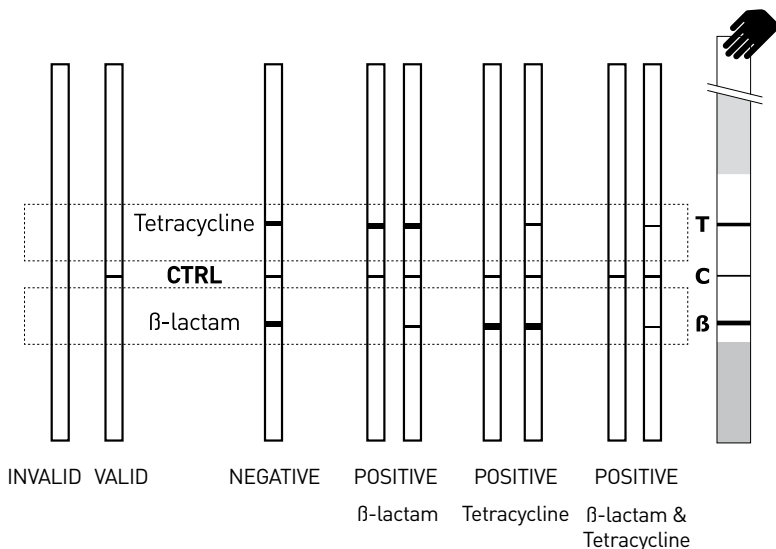
Twinsensor_KIT020 / KIT034_Kit Insert_V1.0

unisensor 

Fig. A : Limits of detection

	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 – 5	3 – 5
	Amoxicillin (4)	3 – 5	3 – 5
	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	Cefacetriple (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	12 – 15

Fig. B : Visual Interpretation



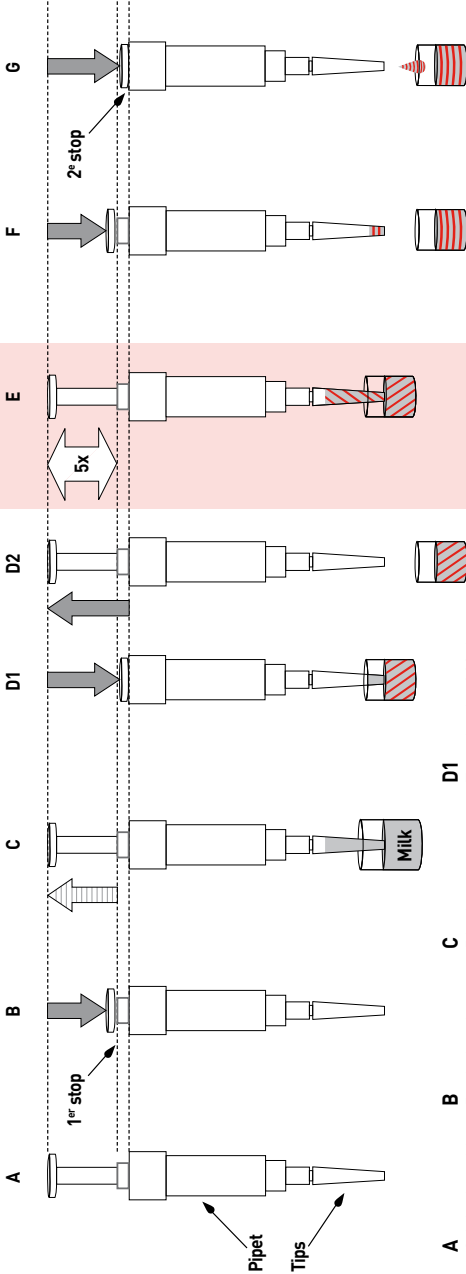
Remember this simple key :

- **T**op line : Tetracyclines
- **C**entre line : Control
- **B**ottom line : Beta Lactams

Fig. C : Positive Standard

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

Fig. D : How to correctly use the micropipette



- A** Original position of the pipet.
- B** Push the plunger to the 1st stop.
- C** Dip the end of the tip into the milk and slowly release allowing the plunger to return to its original position.
- D1** Transfer the 200 μ l of milk into the nominated reagent microwell and while pushing slowly the pipet plunger down to the 2nd position, pull the pipet out of the milk.
- D2** Release allowing the plunger to return to its original position.
- E** With the same tip on the pipet, mix rapidly the reagents and the milk by sucking up and rejecting the liquid 5 times consecutively so as to get a homogeneous solution.
- F&G** Eject the 200 μ l of mix by pushing the plunger to the 2nd position.

Twinsensor^{BT} code KIT020 / KIT034 are rapid tests that allow you to simultaneously detect the presence of both β -lactam and tetracycline molecules in a milk sample. **(fig. A)**

Summary of the protocol

- Add 200 μ l of milk into one reagent microwell and mix to homogeneity ;
- Incubate 3 min at 40°C ;
- Dip one Dipstick into each microwell ;
- Continue incubating for 3 min at 40°C ;
- Read the colour intensities.

Reaction mechanism

Twinsensor^{BT} is a competitive test involving two receptors in one single operation. The test requires the use of two components. The first component is a microwell containing predetermined amounts of both receptors and antibodies linked to gold particles. The second is a dipstick made up of a set of membranes with specific capture lines **(fig. B)**. For a valid test, the red control line has to be visible after the second incubation. The other two are the specific "test" lines placed on both sides of the control line. The line for β -lactam antibiotics (penicillins and cephalosporins) is located below the "control" while the line relating to tetracyclines is located above it. When the reagent from the microwell is re-suspended with a milk sample, both receptors will bind the corresponding analytes if present during the first 3-minute incubation at 40°C. Afterwards, when the dipstick is dipped into the milk, the liquid starts running vertically on the dipstick and passes through capture zones. When the sample is free of antibiotics, a colour development occurs at the specific capture lines, indicating the absence of the targeted analytes in the milk sample. On the contrary, the presence of antibiotics in the sample will not cause the coloured signal to appear at the specific capture lines.

Composition of kits

Kits coded « KIT020 / KIT034 » contain everything needed to perform 96 measurements.

- 12 pots each with 1 strip of 8 reagent microwells and 8 dipsticks ;
- 1 micropipette of 200 μ l and disposable tips ;
- « Positive Standard » containing powder to reconstitute "positive standard" raw milk of PenG and Oxytetracycline **(fig. C)**. For ease of recognition, the Positive Std is stained by a dye to give it a very pale red colour ;
- « Negative Standard » containing powder to reconstitute "negative standard" raw milk. The Negative Std is stained by a dye to give it a very pale green colour ;
- One instruction sheet.

General remarks

1. At reception, store the kit in a dry place and at a low temperature between 2°C and 8°C. Before opening, let the plastic pots reach room temperature and avoid exposure of the product to moisture and light ;
2. The standards are presented in two formats either Glass Vials or Individual Plastic Tubes. The Standard Glass vials have to be re-hydrated with 1 ml (5 X 200 μ l) of Pure Water and the Standard Individual Plastic tubes have to be re-hydrated each with 400 μ l (2 X 200 μ l) of pure Water. Mix vigorously (vortex) to avoid clots. The reconstituted glass vial can be stored in the freezer at -20°C. Do not freeze/thaw more than once ;
3. Avoid using clotted milk with Twinsensor^{BT} ;
4. The best temperature to perform the test is 40°C \pm 3°C. Use the "Heatsensor" (or alternatively a water bath). Any other type of incubator is not appropriate to perform the Twinsensor assay. (Refer to the used Heatsensor manual for setting at right temperature and timing) ;
5. After the second incubation, read the result within a 15-minute time-frame. Do not attempt to interpret the result after 15 minutes ;
6. Instrumental readings must be done with Readsensar (see user manual) ;
7. When drying, the colour intensities of the lines will become sharper ;
8. When a positive result is recorded, the test result should be confirmed ;
9. Empty one pot before opening another pot.

Milk powder dilution

In an appropriate bottle, mix 10 g of milk powder with 90 ml of warm (40°C) and distilled water. For an optimal dilution, shake vigorously.

Directions for use

This procedure is described to easily run one single sample or a set of many samples. In that case, try to perform the test in cascade and avoid any delays when mixing reagent and milk but also when adding and removing dipsticks. Make sure you have the same incubation time and temperature for each sample. You shouldn't test more than 8 samples at a time and, if there are more than 3 samples, you should use a multipipette. With more than 8 samples we recommend to share series of maximum 8 samples.

1. Choose a clean and dry place to perform the test and wash and dry your hands before starting ;
2. Connect the Heatsensor (see user manual) and wait until the temperature has stabilised at 40°C. *It takes about 10 minutes for the temperature to stabilize at 40°C ;*
3. Before opening the reagents, take the kit out of the fridge and wait until the temperature of the reagents reaches the ambient temperature. Meanwhile, read the directions for use attentively ;
 - *There are two main components of the test which are : dipsticks and the freeze-dried reagents in microwells. Both are stored in the white plastic pots.*
4. Determine how many milk samples are to be tested and write on each tube an identification number ;
 - *The milk sample must be liquid and homogeneous. There can be neither clots nor sedimentation phases. The ideal temperature of the milk sample is between 4 and 20°C.*
5. Open one plastic pot and take out as many microwells as there are milk samples to be tested (the standard positive and negative milk included if necessary) ;
 - *To open a pot of dipsticks, take off the safety ring by pressing it down the pot, take off the ring and get the stopper off the pot with your thumb ;*
 - *The pot with dipsticks should always be well closed after reagents have been taken out ;*
 - *A pot with dipsticks should be emptied before another is opened ;*
 - *Be careful, if you do not intend to use all the 8 microwells, leave the set of 8 caps on the unused ones and do not tear off the strip of the eight caps but leave it on the microwells that will not be used. Do not try to separate individual caps and put them immediately back into the white pot without damaging the dipsticks, close and make sure it is tightly sealed.*
6. Place the microwell(s) in the heating block which shows 40°C ;
7. Place a new pipette tip on the micropipette and transfer 200 µl of milk into each of the microwells. **(fig. D)**
8. **Warning : when reagents and milk are in contact, the reaction begins. Mix quickly AND IMMEDIATELY start the timer by pressing the START (RUN)* button.** The 3-minute countdown starts ;
 - *During that first incubation, each of the receptors detects whether or not there are antibiotics in the milk sample. It takes 3 minutes for the reaction to be completed.*
9. During that time, open the same pot as before, take out as many dipsticks as there are analyses in progress and close the pot. Lay the dipsticks on a clean sheet and write down the number that matches the one of the milk sample ;
10. When the 3 minutes are over, i.e. after the sound-signal, press START (STOP)* again to stop the ringing tone and dip the corresponding dipstick into each of the microwells laid in the incubator ;
 - *Make sure you put into the corresponding microwell the dipstick with the same identification number as the one of the concerned milk sample.*
11. Start the timer for the second incubation by pressing the START (RUN)* button. The 3-minute countdown starts ;
12. When the 3 minutes are over, i.e. after the sound-signal, press START (STOP)* again to stop the ringing tone and take the dipsticks out of the microwells to lay them down on a sheet of paper ;
13. Put everything back into the box and close it hermetically. If you are not planning to perform any other test with Twinsensor within the same day, store it in a fridge at a temperature ranging from 2 to 8 °C.

**(Refer to the used Heatsensor manual – For DUO Heatsensor users, steps 9 to 12 are simplified)*

Visual interpretation of results : (fig. B)

Make visual readings as follows :

14. First check whether the central control line is present. If it is not, regard the analysis as invalid and do not start (or continue) any interpretation.
15. When the central control line can be seen, interpret the two test lines as follows :
16. Examine one test line at a time and compare the intensity of the line colour of the test line with the intensity of the line colour of the control line. (Start with the bottom line of β -lactams for example) ;
 - a. If the test line is **darker** in colour than the control line, the result is **NEGATIVE**, which means that, given the sensitivity of our test, the milk sample contains no antibiotics or antibiotics at a lower level than the value stated in the enclosed table ;
 - b. If the test line is as distinct as or lighter in colour than the control line, the result is **POSITIVE**, which means that, given the sensitivity of our test, the milk sample contains antibiotics at or above the detection value stated in the enclosed table.
17. When you have interpreted one test line, do the same for the other line (continue with the upper line of Tetracycline for example) ;
18. If you hesitate, regard the sample as **POSITIVE** and confirm your interpretation by performing a second visual reading within the next 15 minutes ;
19. Write down your assessment on each of the dipsticks ;
20. Dipsticks can be archived as a permanent record if required by removing the sample pad and allowing to dry before storage. N.B. Line colour intensity will darken on drying.

If you have a Readsensor, you should read the dipstick within 15 minutes of performing the test. See the user manual of Readsensor.

FR Introduction

Twinsensor^{BT} « KIT020 / KIT034 » sont des tests rapides qui permettent de détecter simultanément la présence des résidus de β -lactame et de tétracycline dans un échantillon de lait. **(fig. A)**

Résumé du protocole

- Ajouter 200 μ l de lait dans une microcuvette et mélanger jusqu'à homogénéité ;
- Incuber 3 min à 40°C ;
- Introduire une tigette dans la microcuvette ;
- Prolonger l'incubation pendant 3 min à 40°C ;
- Interpréter le résultat.

Mécanisme de la réaction

Twinsensor^{BT} est un test de compétition qui se base sur la reconnaissance de deux récepteurs spécifiques, l'un pour les β -lactames et l'autre pour les tétracyclines. Ce test utilise d'une part une microcuvette qui contient une certaine quantité des récepteurs et anticorps fixés à des particules d'or colloïdal et d'autre part une tigette sur laquelle se trouvent trois lignes de capture **(fig. B)**. Pour un test valide, la ligne contrôle rouge doit être visible après la seconde incubation. Les deux autres lignes, situées de part et d'autre de la ligne de contrôle, sont les lignes spécifiques de capture et elles ne seront visibles qu'en l'absence d'antibiotiques. La ligne des β -lactames (pénicillines et céphalosporines) est située en dessous de la ligne de contrôle tandis que la ligne des tétracyclines est située au-dessus de la ligne de contrôle. Lorsque l'échantillon de lait est mis en présence des réactifs, les antibiotiques éventuellement présents dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux récepteurs pendant la première incubation de 3 minutes à 40°C. Ensuite, lorsque la tigette est introduite dans le mélange réactionnel, le liquide commence à migrer verticalement pour passer au travers des 3 lignes de capture. Si l'échantillon ne contient pas d'antibiotique, le développement de couleur rouge, apparaissant à la ligne de capture respective, sera plus important que celui de la ligne de contrôle. Par contre, la présence d'antibiotique dans l'échantillon fera apparaître un signal coloré égal ou moins important que celui du contrôle.

Composition des kits

Les kits KIT020 / KIT034 contiennent les éléments nécessaires pour réaliser 96 analyses.

- 12 pots contenant chacun 8 microcuvettes de réactifs et 8 tigettes.
- 1 micropipette de 200 μ l et pointes jetables.

- 1 « Contrôle Positif » contenant une poudre pour reconstituer un lait cru positif de PenG et d'Oxytétracycline (**fig. C**). Ce contrôle contient un colorant rouge.
- 1 « Contrôle Négatif » sous forme de poudre sèche pour reconstituer un lait cru négatif reconnaissable à l'aide du colorant vert.
- 1 notice explicative.

Remarques générales

1. Dès réception, placer le kit au frigo à une température mesurée entre 2°C to 8 °C. Avant d'ouvrir les pots de réactifs, les laisser revenir à température ambiante. Dans tous les cas éviter d'exposer les microcuvettes et les tigettes à l'humidité ambiante et à la lumière ;
2. Il existe deux formes de standards : les fioles en verre ou les tubes en plastic. Reconstituer les fioles de lait contrôle en verre avec 1 ml (5 x 200µl) d'eau pure et ceux en tubes en plastique avec 400µl (2 x 200µl) d'eau pur par tube. Mélanger vigoureusement pour obtenir une solution homogène. La fiole en verre reconstituée peut se conserver à -20°C. mais elle ne doit pas être décongelée plus d'une fois ;
3. Eviter d'utiliser un lait qui contient des grumeaux ;
4. La température idéale de l'incubateur est de 40°C ± 3°C. Il est recommandé d'utiliser un 'Heatsensor' (ou éventuellement un bain marie) mais tout autre incubateur n'est pas approprié. Se référer à la notice d'utilisation pour programmer et utiliser correctement le Heatsensor ;
5. Interpréter le résultat endéans les 15 minutes qui suivent la seconde incubation. Ne plus le faire après 15 minutes ;
6. Les lectures instrumentales doivent être faites avec le Readsensur (voir manuel) ;
7. En séchant, les intensités colorées des lignes deviennent plus marquées ;
8. Si vous obtenez un résultat positif il doit être confirmé ;
9. Vider d'abord un pot avant d'en entamer un autre.

Dilution lait en poudre

Dans un bécher approprié, ajouter 10 g de lait en poudre et 90 ml d'eau distillée chaude (40°C) et mélanger vigoureusement.

Protocole d'utilisation

La procédure est décrite pour effectuer soit un seul test à la fois, soit plusieurs tests en parallèle. Dans ce cas, travailler en cascade et de manière régulière pour mélanger les réactifs au lait et pour introduire ou enlever les tigettes des microcuvettes. Respecter un temps d'incubation identique pour tous les échantillons. Si vous avez plus de 3 échantillons en même temps, utiliser une multipipette à 8 canaux et si vous avez plus de 8 échantillons, séparer en séries de maximum 8 échantillons.

1. S'installer dans un endroit propre et sec. Se laver et se sécher les mains ;
2. Allumer le Heatsensur (voir manuel d'utilisation) et attendre que la température se stabilise à 40°C. *Cela prend 10 minutes pour atteindre 40 °C ;*
3. Sortir le kit du frigo et le laisser revenir à température ambiante avant d'ouvrir un pot. Pendant ce temps lire la notice attentivement jusqu'au bout ;
 - *Les deux composants principaux du test sont : les tigettes et les réactifs lyophilisés. Ils sont tous les deux placés dans les pots hermétiques blancs.*
4. Rassembler les échantillons de lait à tester et les annoter de manière claire et distincte ;
 - *Les échantillons de lait doivent être liquides et homogènes. Ils ne doivent pas contenir de grumeaux ni sédimenter. La température idéale du lait est entre 4 et 20°C.*
5. Lorsque l'incubateur indique 40°C et que les réactifs sont à température ambiante; ouvrir un pot et prendre autant de microcuvettes qu'il y a d'échantillons de lait à tester en même temps (si nécessaire, contrôles positifs et négatifs compris) ;
 - *Pour ouvrir un pot, retirer l'anneau de sécurité en le pressant vers le bas et pousser le bouchon vers le haut à l'aide du pouce ;*
 - *Le pot de réactifs doit toujours être refermé immédiatement ;*
 - *Vider un pot usagé avant d'en ouvrir un autre ;*
 - *Soyez prudent, si vous n'avez pas l'intention d'utiliser en une fois les 8 microcuvettes d'une barrette, veillez à ne pas enlever les capuchons des cuvettes non utilisées (les 8 capuchons restent solidaires) et à les replacer immédiatement dans le pot sans endommager les tigettes. Fermer le pot et assurez-vous qu'il soit correctement fermé.*

6. Placer les microcuvettes sur le bloc chauffant qui indique 40°C ;
7. Placer une nouvelle pointe sur la micropipette et transférer 200 µl de lait dans chaque microcuvette. (fig. D)
8. **ATTENTION : dès que le lait est mélangé aux réactifs, la réaction commence. Mélanger donc rapidement et enclencher le chrono en appuyant sur START (RUN)* pour commencer la première incubation de trois (3) minutes ;**
 - Pendant la première incubation, chacun des récepteurs se lie à l'éventuel antibiotique présent dans le lait. Cela prend 3 minutes pour que la réaction soit complète.
9. Pendant cette incubation, ouvrir le pot de tigettes et prendre autant de tigettes que vous avez d'échantillons de lait et refermer le pot. Déposer les tigettes sur une surface propre et sèche et inscrire sur la partie cellulose de la tigette un numéro correspondant à l'échantillon de lait concerné ;
10. Quand le signal retentit, les 3 minutes sont terminées. Appuyer sur START (STOP) pour arrêter le chrono et introduire les tigettes dans les microcuvettes correspondantes restées sur l'incubateur ;
 - Veillez à introduire dans la microcuvette, la tigette qui porte la même identification que celle de l'échantillon de lait concerné.
11. Commencer la seconde incubation de trois (3) minutes en appuyant sur START (RUN) ;
12. Lorsque la seconde incubation de 3 minutes est terminée, appuyer sur START (STOP)* et retirer les tigettes de chaque microcuvette et déposer les sur une surface propre et sèche ;
13. Vérifiez que les réactifs non utilisés sont replacés correctement dans les pots et que ceux-ci sont hermétiquement fermés. Si vous n'avez pas l'intention de réaliser d'autres tests remplacez le kit dans le frigo réglé entre 2 et 8°C.

**(voir manuel du Heatsensor - pour les utilisateurs du Heatsensor DUO, les étapes 9 à 12 sont simplifiées)*

Analyse visuelle des résultats (fig. B)

Réaliser une analyse visuelle du résultat de la façon suivante :

14. Vérifier premièrement que la ligne centrale de contrôle est visible. Si ce n'est pas le cas, l'analyse est « invalide » et vous ne pouvez pas commencer (ou continuer) l'interprétation.
15. Lorsque la ligne centrale de contrôle est visible, interpréter les deux lignes « TEST » de la façon suivante :
16. Examiner une ligne test à la fois et comparer l'intensité colorée rouge d'une ligne «TEST» avec celle de la ligne de «CTRL». (commencer par la ligne inférieure des β-lactames par exemple) ;
 - Si une ligne «TEST», est plus foncée que la ligne «CTRL», alors l'échantillon est considéré comme étant NEGATIF pour l'antibiotique concerné et il contient une concentration d'antibiotique inférieure à ce que renseigne la table annexée.
 - Si une ligne «TEST» est de même intensité, ou bien si elle est plus claire que la ligne «CTRL», l'échantillon est considéré être POSITIF pour l'antibiotique concerné, et il contient une concentration d'antibiotique égale ou supérieure à ce que renseigne la table annexée.
17. Quand vous avez fini avec une première ligne test faites la même interprétation avec l'autre ligne test ;
18. Si vous hésitez, considérez l'échantillon POSITIF et confirmez par une seconde lecture quinze (15) minutes plus tard ;
19. Ecrire le résultat sur chaque tigette ;
20. Pour archiver définitivement les tigettes nous conseillons de retirer délicatement la membrane inférieure de la tigette. Notez que les couleurs s'intensifient en séchant.

Si vous possédez un Readsensord, vous devez lire la tigette dans les 15 minutes qui suivent la fin du Test.

NL Inleiding

Twinsensor^{BT} code KIT020 / KIT034 zijn snelle testen die u toelaten tegelijk de aanwezigheid op te sporen van zowel β-lactam- als tetracycline-moleculen in een melkstaal. (fig.A)

Overzicht van het protocol

- Giet 200 µl melk in een microwell met reagentia en meng tot u een homogene vloeistof verkrijgt ;
- Incubeer gedurende 3 min op 40°C ;

- Steek een dipstick in elke microwell ;
- Ga door met incuberen gedurende 3 min op 40°C ;
- Lees de kleurintensiteiten af.

Reactiemechanisme

Twinsensor^{BT} is een concurrerende test waarbij twee receptoren betrokken zijn in één enkele operatie. Voor de test moeten twee componenten worden gebruikt. De eerste component is een microwell die vooraf bepaalde hoeveelheden bevat van zowel receptoren als antilichamen die gekoppeld zijn aan gouddeeltjes. De tweede is een dipstick die bestaat uit een reeks membranen met specifieke opvanglijnen (**fig. B**). Om een geldige test te behalen moet de roodgedrukte controlelijn zichtbaar zijn na de 2de incubatie. De twee andere lijnen zijn de specifieke «testlijnen» die zich langs weerszijden van de controlelijn bevinden. De lijn voor β -lactam antibiotica (penicillines en cefalosporines) bevindt zich onder de «controlelijn», terwijl de lijn met betrekking tot tetracyclines zich erboven bevindt. Wanneer het reagens van de microwell opnieuw gesuspenseerd wordt in een melkstaal, kunnen beide receptoren de overeenkomstige analyten binden indien aanwezig tijdens de eerste 3 minuten durende incubatie op 40°C. Daarna, wanneer de dipstick in de melk gestopt wordt, loopt de vloeistof verticaal over de dipstick over de opvangzones. Wanneer er geen antibiotica in het staal aanwezig zijn, ontstaat er een kleurentwikkeling op de specifieke opvanglijnen, die de afwezigheid aangeven van de betrokken analyten in het melkstaal. Indien er echter wel antibiotica aanwezig zijn in het staal, zal er ter hoogte van de specifieke opvanglijnen geen verkleuring optreden.

Samenstelling van de kits

Kits met code «KIT020 / KIT034» bevatten alle benodigdheden om 96 metingen uit te voeren.

- 12 potten met elk 1 strip van 8 microwells met reagentia en 8 dipsticks ;
- 1 micropipet van 200 μ l en wegwerptips ;
- Een «Positieve Standaard» die poeder bevat om rauwe melk samen te stellen volgens de «positieve standaard» van PenG en Oxytetracycline (**fig. C**). Voor het herkenningsgemak is de Positieve Std bijgekleurd met een hele lichte rode kleurstof ;
- Een «Negatieve Standaard» die poeder bevat om rauwe melk samen te stellen volgens de «negatieve standaard». De Negatieve Std is bijgekleurd met een hele lichte groene kleurstof ;
- Eén instructieblad.

Algemene opmerkingen

1. Bewaar de kit onmiddellijk na ontvangst op een droge plaats en bij lage temperatuur tussen 2°C en 8°C. Laat de plastic potten vóór opening op kamertemperatuur komen en vermijd blootstelling van het product aan vocht en licht ;
2. De standaarden worden aangeboden in twee formaten, namelijk in glazen reactieflesjes of individuele plastic buisjes. De standaard glazen reactieflesjes moeten gerehydrateerd worden met 1 ml (5 X 200 μ l) zuiver water en de standaard individuele plastic buisjes moeten gerehydrateerd worden met elk 400 μ l (2 X 200 μ l) zuiver water. Krachtig mengen (vortex) om klonters te vermijden. Het opnieuw samengestelde glazen reactieflesje kan worden bewaard in de diepvriezer op -20°C. Niet meer dan één keer invriezen en ontdooien ;
3. Gebruik liever geen geklonterde melk met de Twinsensor^{BT} ;
4. De beste temperatuur om de test uit te voeren, is 40°C \pm 3°C. Gebruik de «Heatsensor» (warmtesensor) (of eventueel een waterbad). Elk ander type incubator is niet geschikt om de Twinsensor test uit te voeren. (Zie de gebruikte handleiding van de Heatsensor om de juiste temperatuur en timing in te stellen) ;
5. Lees de resultaten af binnen de 15 minuten na de tweede incubatie. Probeer het resultaat niet te interpreteren na 15 minuten ;
6. Instrumentele aflezing moet gebeuren met de «Readsensor» (leesensor) (zie gebruikershandleiding) ;
7. Bij het drogen zal de kleurintensiteit van de lijnen sterker worden ;
8. Wanneer een positief resultaat geregistreerd wordt, moeten de testresultaten bevestigd worden ;
9. Maak één pot leeg alvorens een andere pot te openen.

Verdunning melkpoeder

Meng in een geschikte fles 10 g melkpoeder met 90 ml warm (40°C) gedistilleerd water. Voor een optimale oplossing, hevig schudden.

Gebruiksaanwijzingen

Deze procedure wordt beschreven om gemakkelijk één enkel staal of een reeks stalen te verwerken. Probeer in dat laatste geval de test in cascade uit te voeren en vermijd vertragingen bij het mengen van reagentia en melk, maar ook bij het inbrengen en verwijderen van de dipsticks. Zorg ervoor dat u dezelfde incubatietijd en temperatuur respecteert voor elk staal. Test best niet meer dan 8 stalen tegelijk en bij meer dan 3 stalen moet u gebruik maken van een multipipet. Als er meer dan 8 stalen zijn, raden we aan om ze op te delen in reeksen van maximum 8 stalen.

1. Kies een droge en schone plaats om de test uit te voeren en was en droog uw handen af alvorens te starten ;
2. Sluit de Heatsensor aan (zie gebruikershandleiding) en wacht tot de temperatuur gestabiliseerd is op 40°C. *Het duurt ongeveer 10 minuten tot de temperatuur gestabiliseerd is op 40°C ;*
3. Neem, alvorens de reagentia te openen, de kit uit de koelkast en wacht tot de reagentia op kamertemperatuur zijn gekomen. Lees ondertussen aandachtig de gebruiksaanwijzingen ;
 - *De twee belangrijke componenten van de test zijn : dipsticks en de gevriesdroogde reagentia in microwells. Ze zitten beiden in de witte plastic potten.*
4. Bepaal hoeveel melkstalen getest moeten worden en schrijf op ieder buisje een identificatienummer ;
 - *Het melkstaal moet vloeibaar en homogeen zijn. Het mag geen klonters of sedimentatiefasen bevatten. De ideale temperatuur van het melkstaal is tussen 4 en 20 C.*
5. Open een plastic pot en neem er evenveel microwells uit als melkstalen die getest moeten worden (de standaard positieve en negatieve melk meegerekend als het noodzakelijk is) ;
 - *Om een pot met dipsticks te openen, de veiligheidsring verwijderen door deze naar beneden te duwen, de ring wegnemen en de stop van de pot afduwen met uw duim ;*
 - *De pot met dipsticks moet altijd goed gesloten worden nadat er reagentia uitgehaald werden ;*
 - *Een pot met dipsticks moet leeggemaakt worden alvorens een andere wordt geopend ;*
 - *Wees voorzichtig als u niet van plan bent om alle 8 microwells te gebruiken. Laat de set van 8 doppen op de ongebruikte microwells, trek de strip met de acht doppen er niet af, maar laat deze op de microwells die niet gebruikt zullen worden. Probeer de afzonderlijke individuele doppen niet van elkaar te scheiden en zet ze onmiddellijk terug in de witte pot zonder de dipsticks aan te tasten, doe deze dicht en zorg ervoor dat het deksel goed afgesloten is.*
6. Plaats de microwell(s) in het verwarmingsblok dat 40°C aangeeft ;
7. Plaats een nieuwe pipettip op de micropipet en giet 200 µl melk in iedere microwell. **(fig.D)**
8. **Let op : wanneer reagentia en melk met elkaar in contact komen, start de reactie. Meng snel EN start de timer op door de START (AAN)* knop te duwen.** Het aftellen van de 3 minuten begint ;
 - *Tijdens die eerste incubatie detecteert iedere receptor of er al dan niet antibiotica aanwezig zijn in het melkstaal. Het duurt 3 minuten tot de reactie voltooid is.*
9. Open in die tijd dezelfde pot zoals eerder aangegeven, neem er evenveel dipsticks uit als er analyses aan de gang zijn en doe de pot terug dicht. Leg de dipsticks op een schoon blad en schrijf het getal op dat overeenstemt met dat van het melkstaal ;
10. Druk, wanneer de 3 minuten voorbij zijn, d.w.z. na het geluidsignaal, opnieuw op START (STOP)* om de beltoon te stoppen en steek de overeenstemmende dipstick in elk van de microwells die in de incubator worden gelegd ;
 - *Zorg ervoor dat u in de overeenkomstige microwell de dipstick steekt met hetzelfde identificatienummer als dat op het betreffende melkstaal.*
11. Start de timer voor de tweede incubatie door de START (AAN)* knop in te drukken. Het aftellen van de 3 minuten begint ;
12. Druk, wanneer de 3 minuten voorbij zijn, d.w.z. na het geluidsignaal, opnieuw op START (STOP)* om de beltoon te stoppen en haal de dipsticks uit de microwells en leg ze op een blad papier ;
13. Zet alles in de doos en zorg ervoor dat de deksel goed gesloten is. Als u niet van plan bent om nog een test uit te voeren met Twinsensor binnen dezelfde dag, zet de doos in de koelkast op een temperatuur van 2 tot 8 °C.

**[Zie de gebruikte handleiding van de Heatsensor - voor DUO Heatsensor gebruikers, stappen 9 tot 12 zijn eenvoudiger]*

Visuele interpretatie van de resultaten : (fig. B)

Voer de volgende visuele aflezingen uit :

14. Controleer eerst of de centrale controlelijn aanwezig is. Zo niet, dient u de analyse als ongelukkig te beschouwen en mag u de interpretatie niet aanvatten (of voortzetten).
15. Wanneer de centrale controlelijn zichtbaar is, interpreteer de twee testlijnen dan als volgt :
16. Onderzoek één testlijn tegelijk en vergelijk de intensiteit van de lijnkleur van de testlijn met de intensiteit van de lijnkleur van de controlelijn. (Begin bijvoorbeeld met de onderste lijn van β -lactames) ;
 - a. Als de testlijn donkerder van kleur is dan de controlelijn, is het resultaat **NEGATIEF**, wat betekent dat, rekening houdend met de gevoeligheid van onze test, het melkstaal geen antibiotica of minder antibiotica bevat dan de waarde vermeld in bijgevoegde tabel ;
 - b. Als de testlijn even duidelijk of lichter van kleur is dan de controlelijn, is het resultaat **POSITIEF**, wat betekent dat, rekening houdend met de gevoeligheid van onze test, het melkstaal evenveel of meer antibiotica bevat dan de detectiewaarde vermeld in bijgevoegde tabel.
17. Wanneer u één testlijn geïnterpreteerd hebt, doet u hetzelfde voor de andere lijn (ga bijvoorbeeld door met de bovenste lijn van Tetracycline) ;
18. Als u twijfelt, beschouw het staal dan als **POSITIEF** en bevestig uw interpretatie door een tweede visuele aflezing binnen de volgende 15 minuten uit te voeren ;
19. Noteer uw beoordeling op elk van de dipsticks ;
20. Dipsticks kunnen, indien nodig, als permanente gegevens gearchiveerd worden door de sample pad te verwijderen en ze te laten drogen vóór opslag. NB De intensiteit van de lijnkleur zal donkerder worden bij het drogen.

Als u een Readsensor hebt, moet u de dipstick aflezen binnen de 15 minuten na het uitvoeren van de test. Zie de gebruikshandleiding van de Readsensor.

D Einleitung

Twinsensor^{BT} Typ KIT020 / KIT034 sind Schnelltesten, mit dem β -Lactam- und Tetrazyklin-Moleküle in Milchproben in einem Vorgang nachgewiesen werden können. **(fig. A)**

Kurzfassung des Analysevorgangs

- 200 μ l Milch in ein Mikrotiterröhrchen mit Reagenz geben und homogen vermischen ;
- 3 Minuten bei 40°C inkubieren ;
- In jede Probe in einem Mikrotiterröhrchen ein Prüfstäbchen geben ;
- Weitere 3 Minuten bei 40°C inkubieren ;
- Farbintensität auf den Prüfstäbchen ablesen.

Reaktionsmechanismus

Der Twinsensor^{BT} ist ein vergleichender Test, bei dem zwei Rezeptoren in einem Vorgang zum Einsatz kommen. Dieser Test erfordert zwei Komponenten : Zum einen ein Mikrotiterröhrchen, das eine bestimmte Menge der beiden Rezeptoren und an Goldpartikel gebundene Antikörper enthält, und zum anderen ein Prüfstäbchen mit verschiedenen Membranen, unter denen sich die spezifischen Nachweisstriche befinden **(fig. B)**. Für einen gültigen Test muss die rote Kontrollstrich nach den zweite inkubation sichtbar sein. Bei den anderen beiden Strichen handelt es sich um die spezifischen „Nachweisstriche“, die über und unter dem Kontrollstrich angeordnet sind. Der Strich für den Nachweis von β -Lactam-Antibiotika (Penicilline und Cephalosporine) befindet sich unter, jener für Tetrazykline über dem Kontrollstrich. Wird das im Mikrotiterröhrchen befindliche Reagenz in einer Milchprobe in Suspension gebracht, heften sich die beiden Rezeptoren während der ersten 3-minütigen Inkubation bei 40 C an die entsprechenden Analyten (sofern vorhanden) an. Wird anschließend das Prüfstäbchen in die Milch eingetaucht, läuft die Flüssigkeit am Prüfstäbchen entlang und dabei über die Nachweisabschnitte. Ist die Probe frei von Antibiotika, färben sich die spezifischen Nachweisstriche ein und zeigen an, dass die Milchprobe die gesuchten Analyten nicht enthält. Bleibt das Farbsignal an den spezifischen Nachweisstrichen hingegen aus bedeutet dies, dass die Probe Antibiotika enthält.

Inhalt der Sets

Sets des Typs „KIT020 / KIT034“ enthalten alles erforderliche Zubehör für insgesamt 96 Messungen.

- 12 Behälter mit jeweils 1 Streifen mit 8 Mikrotiterröhrchen sowie 8 Prüfstäbchen ;
- 1 mikropipette zu 200 µl sowie Einweg-Pipettenspitzen ;
- Einen „Positivstandard“ mit Pulver für die Herstellung einer „Positivstandard“-Rohmilch mit PenG und Oxytetracyclin (**fig. C**). Zur leichteren Erkennung ist der Positivstandard mit einem Farbstoff versetzt, so dass er leicht rötlich gefärbt ist ;
- Einen „Negativstandard“ mit etwas Pulver für die Herstellung einer „Negativstandard“-Rohmilch. Der Negativstandard ist mit einem Farbstoff versetzt, so dass er leicht grünlich gefärbt ist ;
- Eine Gebrauchsanweisung.

Allgemeine Hinweise

1. Das Set nach Anlieferung an einem trockenen und kühlen Ort zwischen 2 – 8 C lagern. Die Plastikbehälter vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen und das Produkt vor Feuchtigkeit und Lichteinwirkung geschützt halten ;
2. Die Standards sind in zwei Ausführungen erhältlich : in Glasphiolen sowie in Kunststoff-Einzelröhrchen. Glasphiolen für die Standards müssen mit 1 ml (5 X 200 µl) Reinwasser, einzelne Kunststoffröhrchen mit 400 µl (2 X 200 µl) Reinwasser befeuchtet werden. Anschließend (im Vortexer) kräftig vermischen, so dass sich keine Klümpchen bilden. Die angemischten Glasphiolen können im Gefrierschrank bei -20°C gelagert werden. Nicht öfter als einmal einfrieren/auftauen ;
3. Der Twinsensor^{BT} darf nicht für geklumpfte Milch verwendet werden ;
4. Der Test wird am besten bei einer Temperatur von 40°C ± 3 C durchgeführt. Wir empfehlen dazu den „Heatsensor“ oder alternativ ein Wasserbad. Für alle anderen Inkubatorentypen ist der Twinsensor-Test nicht geeignet. (Nähere Hinweise zum Einstellen der richtigen Temperatur und Zeit entnehmen Sie bitte dem Handbuch des verwendeten Heatsensors) ;
5. Nach der zweiten Inkubation müssen die Ergebnisse binnen 15 Minuten abgelesen werden. Nach Verstreichen von 15 Minuten sollten die Werte nicht mehr ausgewertet werden ;
6. Für Ablesungen mit einem Gerät ist der Readsensord zu verwenden (siehe Benutzerhandbuch) ;
7. Wenn die Prüfstäbchen trocknen, treten die Nachweisstriche deutlicher hervor ;
8. Positive Ergebnisse sollten mit einem zweiten Test bestätigt werden ;
9. Immer erst einen Behälter aufbrauchen, bevor der nächste geöffnet wird.

Verdünnen von Milchpulver

Mischen Sie in einer geeigneten Flasche 10 g Milchpulver mit 90 ml warmem (40 °C), destilliertem Wasser. Für eine optimale Verdünnung kräftig schütteln.

Anwendungshinweise

Der nachfolgende Abschnitt beschreibt, wie Sie eine einzelne oder mehrere Proben gleichzeitig sehr einfach testen können. Sind mehrere Proben zu testen, gehen Sie am besten in Etappen vor und vermeiden Sie Verzögerungen beim Anmischen von Reagenz und Milch wie auch beim Eintauchen und Herausnehmen der Prüfstäbchen. Achten Sie darauf, dass bei allen Proben die gleiche Inkubationszeit und die gleiche Temperatur genutzt werden. Testen Sie nicht mehr als 8 Proben gleichzeitig und verwenden Sie beim gleichzeitigen Test von mehr als 3 Proben eine Multipipette. Bei mehr als 8 Proben empfehlen wir, etappenweise jeweils maximal 8 Proben zu testen.

1. Die Tests sind an einem sauberen und trockenen Ort vorzunehmen. Vor Beginn der Tests die Hände sorgfältig waschen und trocknen ;
2. Schalten Sie den Heatsensord an (Siehe Heatsensord-Handbuch) und warten Sie, bis sich die Temperatur bei 40°C stabilisiert hat. *Dies dauert rund 10 Minuten* ;
3. Nehmen Sie das Set aus dem Kühler und lassen Sie es auf Raumtemperatur aufwärmen, bevor Sie es öffnen. Lesen Sie in der Zwischenzeit die Anwendungshinweise aufmerksam durch ;
 - *Die beiden wichtigsten Komponenten in diesem Test sind zum einen die Prüfstäbchen und zum anderen die gefriergetrockneten Reagenzien in den Mikrotiterröhrchen, die jeweils in weißen Plastikbehältern verpackt sind.*
4. Zählen Sie, wie viele Milchproben zu testen sind und beschriften Sie jedes Röhrchen mit einer eindeutigen Kennnummer ;
 - *Die Milchproben müssen flüssig und von homogener Konsistenz sein. Sie dürfen weder Klümpchen noch Sedimente enthalten. Die ideale Temperatur für Milchproben liegt zwischen 4 – 20 C.*

5. Öffnen Sie einen Plastikbehälter und entnehmen Sie diesem so viele Mikrotiterröhrchen, wie Milchproben zu testen sind (die positive und negative Standardmilch mitgerechnet, wenn dies erforderlich ist) ;
 - Um den Behälter mit Prüfstäbchen zu öffnen, drücken Sie den Sicherungsring am Behälter nach unten ab, bevor Sie den Verschluss mit dem Daumen an der Lasche nach oben abdrücken ;
 - Der Behälter mit den Prüfstäbchen muss nach Entnahme der Reagenzien stets wieder gut verschlossen werden ;
 - Brauchen Sie immer erst den angebrochenen Behälter auf, bevor Sie einen neuen Behälter mit Prüfstäbchen öffnen ;
 - Achtung, wenn Sie nicht alle 8 Mikrotiterröhrchen benötigen, belassen Sie die 8 Verschluss-kappen auf den nicht benötigten Mikrotiterröhrchen. D. h. ziehen Sie den Streifen mit den 8 Ver-schlusskappen nicht komplett ab, sondern lassen Sie diesen auf den Mikrotiterröhrchen aufgesetzt, die im Moment nicht benötigt werden. Versuchen Sie nicht, einzelne Verschluss-kappen abzuschneiden. Geben Sie die nicht benötigten Mikrotiterröhrchen mit ihrer Verschluss-kappe wieder zurück in den weißen Plastikbehälter, ohne den Prüfstäbchen zu beschädigen, und verschließen Sie diesen wieder gut.
 6. Setzen Sie die Mikrotiterröhrchen in den auf 40°C vorgewärmten Heizblock ;
 7. Setzen Sie eine neue Pipettenspitze auf die mikropipette auf und geben Sie 200 µl Milch in jedes der Mikrotiterröhrchen. (fig.D)
 8. **Warnung : Sobald Reagenz und Milch in Kontakt kommen, setzt sich die Reaktion in Gang. Vermischen Sie Milch und Reagenz schnell und drücken Sie SOFORT und drücken Sie SOFORT die Taste START (RUN)*, um den Timer zu starten.** Der Timer zählt nun die eingestellten 3 Minuten rückwärts ;
 - Während der ersten Inkubation erkennt jeder der Rezeptoren, ob Antibiotika in der Milchprobe vorhanden sind oder nicht. Die hierfür erforderliche Reaktion dauert 3 Minuten.
 9. Öffnen Sie in der Zwischenzeit nochmals den gleichen Behälter wie bereits zuvor, entnehmen Sie so viele Prüfstäbchen wie für den laufenden Testvorgang benötigt und verschließen Sie den Behälter wieder. Legen Sie die Prüfstäbchen auf eine saubere Unterlage und beschriften Sie diese mit den eindeutigen Kennnummern der Milchproben ;
 10. Sind die 3 Minuten abgelaufen, ertönt ein Signal. Drücken Sie die Taste START (STOP)*, um das Signal abzustellen und tauchen Sie die Prüfstäbchen in die entsprechenden Mikrotiterröhrchen im Inkubator ;
 - Achten Sie unbedingt darauf, dass die Kennnummer des Prüfstäbchens mit der Kennnummer der Milchprobe, in die es eingetaucht wird, übereinstimmt.
 11. Starten Sie durch Drücken der Taste START (RUN)* den Timer für die zweite Inkubation. Der Timer zählt nun die eingestellten 3 Minuten rückwärts ;
 12. Sind die 3 Minuten abgelaufen, ertönt ein Signal. Drücken Sie die Taste START (STOP)*, um das Signal abzustellen, nehmen Sie die Prüfstäbchen aus den Mikrotiterröhrchen und legen Sie diese auf ein Blatt Papier ;
 13. Sind die Plastikbehälter luftdicht zu verschließen. Geben Sie alles wieder in die Schachtel. Falls Sie keine weiteren Twinsensor-tests mehr durchführen möchten, lagern Sie diese bei einer Temperatur zwischen 2 und 8°C in einem Kühler.
- *(Siehe Heatsensor-Handbuch – aus DUO Heatsensor Anwender, Die Etappen 9 bis 12 sind vereinfacht)

Visuelle Auswertung der Ergebnisse (fig. B)

Lesen Sie das Ergebnis wie folgt ab :

14. Prüfen Sie zunächst, ob der Kontrollstrich in der Mitte zu erkennen ist. Sollte dies nicht der Fall sein, betrachten Sie die Analyse als ungültig und nehmen Sie keine Auswertung der Ergebnisse vor.
15. Ist der Kontrollstrich in der Mitte zu erkennen, lesen Sie die beiden Nachweisstriche wie folgt aus :
16. Untersuchen Sie die Nachweisstriche immer einzeln nacheinander und vergleichen Sie die Farbintensität des jeweiligen Nachweisstrichs mit der Farbintensität des Kontrollstrichs (beginnen Sie z. B. mit dem unteren Nachweisstrich für β -Lactam) ;
 - a. Ist der Nachweisstrich dunkler als der Kontrollstreifen, ist die Milchprobe NEGATIV, was bedeutet, dass die Milchprobe bezogen auf die Nachweisgrenzen des Tests keine oder weniger Antibiotika enthält, als in der obigen Tabelle angegeben ;
 - b. Ist der Nachweisstrich heller als der Kontrollstreifen oder mit diesem vergleichbar, ist die Milchprobe POSITIV, was bedeutet, dass die Milchprobe bezogen auf die Nachweisgrenzen des Tests die gleiche oder eine größere Menge Antibiotika enthält, als in der obigen Tabelle angegeben.

17. Fahren Sie nach dem Auswerten des ersten Nachweisstrichs mit dem Auswerten des zweiten Nachweisstrichs fort (z. B. dem unteren Strich für Tetrazyklin) ;
18. Sollten bei einem Ergebnis Zweifel bestehen, ist die Probe zunächst immer als POSITIV zu betrachten und das Ergebnis innerhalb der nächsten 15 Minuten mittels einer zweiten visuellen Auswertung zu bestätigen ;
19. Notieren Sie Ihr Auswertungsergebnis auf jedem einzelnen Prüfstäbchen ;
20. Prüfstäbchen können, wenn nötig, als Dauernachweis archiviert werden, indem Sie die Sample Pad entfernen und die Stäbchen vor der Aufbewahrung trocknen lassen. Achtung : Die Farbe der Striche dunkelt beim Trocknen nach.

Falls Sie einen Readsensor besitzen, müssen die Prüfstäbchen binnen 15 Minuten nach Durchführung des Tests ausgelesen werden. Beachten Sie für weitere Hinweise bitte das Readsensor-Handbuch.

S Introducción

Twinsensor^{BT} código KIT020 / KIT034 consisten en pruebas rápidas que le permiten detectar simultáneamente la presencia de Antibióticos tanto de β -lactamas como de tetraciclinas en una muestra de leche. (fig.A)

Resumen del protocolo

- Añadir 200 μ l de leche en un reactivo microwell y mezclar hasta lograr la homogeneidad ;
- Incubar 3 min. a 40°C ;
- Sumergir una tira indicadora en cada microwell ;
- Continuar incubando durante 3 min. a 40°C ;
- Leer las intensidades de color.

Mecanismo de reacción

Twinsensor^{BT} consiste en una prueba comparativamente atrayente que incluye dos receptores en una sola operación. La prueba requiere la utilización de dos componentes. El primer componente es un microwell que contiene cantidades previamente determinadas de ambos receptores y anticuerpos enlazados con partículas de oro. El Segundo componente consiste en una tira indicadora constituida por un conjunto de membranas con líneas de captura específicas (fig.B). Para que el test sea valido la línea roja de control tiene que ser visible al final de la segunda incubación. Las otras dos son las líneas de "prueba" específicas a ambos lados de la línea de control. La línea para los antibióticos β -lactamas (penicilinas y cefalosporinas) está localizada debajo del "control", mientras que la línea relativa a las tetraciclinas está localizada encima. Cuando el reactivo del microwell se vuelve a poner en suspensión con una muestra de leche, si estuvieran presentes, ambos receptores se enlazarán con los analitos correspondientes, durante los tres primeros minutos de incubación a 40°C. A continuación, cuando la tira indicadora se sumerge en la leche, el líquido comienza a correr verticalmente en la tira indicadora y pasa a través de las zonas de captura. Cuando la muestra no contiene antibióticos, se produce un revelado de color en las líneas de captura específicas, indicando la ausencia de los analitos buscados en la muestra de leche. Por el contrario, la presencia de antibióticos en la muestra no provocará el surgimiento de la señal de color en las líneas de captura específicas.

Composición de los kits analíticos

- Los kits Twinsensor^{BT} KIT020 / KIT034 contienen todo lo que se necesita para ejecutar 96 pruebas.
- 12 tubos cada uno con 1 serie de 8 reactivos microwell y 8 tiras indicadoras ;
 - 1 "micropipeta" de 200 μ l y puntas desechables ;
 - 1 Estándar Positivo (« Positive Standard ») que contiene polvo para reconstituir leche cruda con un "control positivo" de Penicilina G y de oxitetraciclina (fig. C). Para facilidad del reconocimiento, el « Positive Standard » se tiñe con una tintura para darle un color rojo muy pálido ;
 - 1 Estándar Negativo (« Negative Standard ») que contiene polvo para reconstituir "control negativo" de leche cruda. El « Negative Standard » se tiñe con una tintura para darle un color verde muy pálido ;
 - Una hoja con instrucciones.

Observaciones generales

1. A la recepción, almacene el kit en un lugar seco a baja temperatura entre 2°C. y 8°C. Antes de abrir, deje que el tubo de plástico llegue a la temperatura ambiente y no permita que el producto se exponga a la humedad ni a la luz ;
2. Los "standard" se presentan en dos formatos, sea Glass Vials o Individual Plastic Tubes. Los viales de vidrio (Glass vials) se tiene que rehidratar con 1 ml (5 X 200µl) de agua pura, mientras que los tubos plásticos individuales (Individual plastic tubes) se tiene que rehidratar cada uno con 400µl (2 X 200µl) de agua pura. Mezclar vigorosamente (vortex) para evitar grumos. El vial de vidrio reconstituido se puede almacenar en el congelador a -20°C. No congelar/descongelar más de una vez ;
3. Con el Twinsensor^{BT} hay que evitar la utilización de una muestra de leche que contenga grumos.
4. La mejor temperatura para ejecutar la prueba es 40°C ± 3°C. Utilizar el "Heatsensor" (o alternativamente) un baño de agua. Cualquier otro tipo de incubador no es apropiado para realizar la prueba Twinsensor. (Remitirse al manual del Heatsensor utilizado a fin de ajustar la temperatura y la temporización correctas) ;
5. Tras la segunda incubación, leer el resultado en un plazo de tiempo de 15 minutos. Después de 15 minutos no intente interpretar el resultado ;
6. Las lecturas instrumentales se deben efectuar con Readsensord (véase el manual del usuario) ;
7. Cuando se seca, las intensidades de color de las líneas se vuelven más pronunciadas ;
8. Cuando se registra un resultado positivo, el resultado de la prueba se tiene que confirmar ;
9. Vaciar un tubo antes de abrir otro tubo.

Dilución del polvo de leche

En una botella apropiada, mezclar 10 g de leche en polvo con 90 ml de agua caliente (40°C) y agua destilada. Para lograr una dilución óptima, agitar vigorosamente.

Instrucciones de utilización

Este procedimiento está descrito para ejecutar fácilmente una sola muestra o un conjunto de varias muestras. En ese caso, trate de realizar la prueba en cascada y evite cualquier espera cuando mezcle reactivo y leche, pero también al momento de sumergir y sacar las tiras indicadoras. Asegurarse de mantener el mismo tiempo y temperatura de incubación para cada muestra. No se debe efectuar la prueba de más de 8 muestras al mismo tiempo y, si hubiera más de 3 muestras, tendrá que utilizar una multipipeta. Con más de 8 muestras recomendamos compartir la serie de muestras del máximo 8 por vez.

1. Elegir un lugar limpio y seco para ejecutar la prueba y, antes de comenzar, hay que lavarse y secarse las manos ;
2. Conectar el Heatsensor (Ver el manual) y esperar hasta que la temperatura se establezca a 40°C. *Toma unos 10 minutos para que la temperatura se establezca a 40°C ;*
3. Antes de abrir los reactivos, sacar el juego del frigo y esperar hasta que la temperatura de los reactivos alcance la temperatura ambiente. Mientras tanto, leer las instrucciones de utilización atentamente ;
 - *Hay dos componentes principales de la prueba y estos son : Las tiras indicadoras y los reactivos congelados-secados en microwells. Ambos se guardan en los tubos blancos de plástico.*
4. Determinar cuántas pruebas de leche se van a someter a prueba y escribir en cada tubo un número de identificación ;
 - *La prueba de leche debe estar líquida y ser homogénea. No deben haber fases de grumos ni de sedimentación. La temperatura ideal de la muestra de leche estará entre 4 y 20°C.*
5. Abrir un tubo de plástico y sacar tantos microwells como muestras de leche que se van a probar (incluyendo el control de leche positivo y negativo en caso necesario) ;
 - *Para abrir un tubo de tiras indicadoras, sacar el anillo de seguridad presionando hacia abajo el tubo, sacar el anillo y quitar el tapón con su pulgar ;*
 - *El tubo con las tiras indicadoras tiene que quedar siempre bien cerrado tras haber sacado los reactivos ;*
 - *Un tubo con tiras indicadoras se tiene que vaciar antes de abrir otro ;*
 - *Ser cuidadoso si no tiene la intención de utilizar todos (8) los microwells, dejar el juego*

de 8 tapas en los no utilizados y no arrancar la tira de las 8 tapas, más bien dejarla en los microwells que no serán utilizados. No intentar separar las tapas individuales y ponerlas inmediatamente de vuelta en el tubo blanco sin dañar las tiras, cerrar y asegurarse de que esté firmemente cerrado.

6. Poner el (los) microwell(s) en el bloque de calentamiento que muestra 40°C ;
 7. Colocar una nueva punta de pipeta en el "micropipeta" y transferir 200 µl de leche en cada uno de los microwells. (fig.D)
 8. **Advertencia : Cuando los reactivos y la leche entran en contacto comienza la reacción. Mezclar rápidamente E INMEDIATAMENTE arrancar el temporizador pulsando el botón START (RUN)***. Comienza la cuenta regresiva de los 3 minutos ;
 - *Durante la primera incubación, cada uno de los receptores detecta si hay o no antibióticos en la muestra de leche. Toma 3 minutos para que la reacción sea completa.*
 9. Durante ese tiempo, abrir el mismo tubo que se abrió anteriormente y sacar tantas tiras indicadoras como los análisis que están en curso y cierre el tubo. Dejar las tiras indicadoras sobre una hoja limpia y escribir el número que corresponde al número de la muestra de leche ;
 10. Cuando hayan transcurrido los 3 minutos, es decir, tras la señal sonora, pulsar COMENZAR (STOP)* de nuevo para detener la señal sonora y sumergir la tira indicadora correspondiente en cada uno de los microwells que hay en la incubadora ;
 - *Asegurarse de poner en el microwell correspondiente la tira indicadora con el mismo número de identificación que el de la muestra de leche concernida.*
 11. Arrancar el temporizador para la segunda incubación pulsando el botón COMENZAR (RUN)* Comienza la cuenta regresiva de los 3 minutos ;
 12. Cuando hayan transcurrido los 3 minutos, vale decir tras la señal sonora, pulsar COMENZAR (STOP)* de nuevo para detener la señal sonora y retirar las tiras indicadoras de los microwells, para dejarlos sobre una hoja de papel ;
 13. Poner de nuevo todo en la caja. Si no tiene la intención de ejecutar ninguna otra prueba con el twinsensor dentro del mismo día, almacenarlo en el frigo a una temperatura entre 2 y 8 °C
- *(Remítase al manual del Heatsensor utilizado – para los usuarios del Heatsensor DUO, los puntos 9 hasta 12 están simplificados)*

Interpretación visual de los resultados : (fig.B)

Realice las lecturas (visuales) de la manera siguiente :

14. Primero verificar si la línea central de control está presente. Si no fuera así, considera el análisis como no válido y no comience (ni continúe) ninguna interpretación ;
15. Cuando se puede ver la línea central de control, interpretar las dos líneas de prueba como sigue :
16. Examinar una línea de prueba a la vez y comparar la intensidad del color de la línea de la línea de prueba con la intensidad del color de la línea de la línea de control. (Comenzar con la línea de más abajo de β-lactamas, por ejemplo) ;
 - a. Si la línea es más oscura en color que la línea de control, el resultado es NEGATIVO; lo que significa que, dada la intensidad de nuestra prueba, la muestra de leche no contiene antibióticos o contiene antibióticos a un nivel más bajo que el valor establecido en la tabla incluida ;
 - b. Si la línea es tan perceptible o más clara que la línea de control, el resultado es POSITIVO; lo que significa que, dada la intensidad de nuestra prueba, la muestra de leche contiene antibióticos al mismo o superior nivel que el valor de detección establecido en la tabla incluida ;
17. Cuando se haya interpretado una línea de prueba, hacer lo mismo con la otra línea (continuar, por ejemplo, con la línea superior de tetraciclina) ;
18. Si hubiera dudas de que sea positivo ya que se aprecia, considerar la prueba como POSITIVA y confirmar la interpretación ejecutando una segunda lectura visual dentro de los próximos 15 minutos ;
19. Anotar su apreciación en cada una de las tiras indicadoras ;
20. Las tiras indicadoras se pueden archivar como un registro permanente si fuera requerido, quitando el pre-filtro y permitiendo que se sequen antes del almacenamiento. N.B. La intensidad de la coloración de la línea se oscurecerá al secarse.

Si tiene un Readsensar, tiene que leer la tira indicadora dentro de los 15 minutos de la ejecución de la prueba. Véase el manual de usuario del Readsensar.

I codici Twinsensor^{BT} KIT020 / KIT034 sono test rapidi che permettono di rilevare contemporaneamente la presenza di molecole beta-lattami e tetraciclina in un campione di latte. **(fig.A)**

Sintesi del protocollo :

- Versare 200 µl di latte in un recipiente reagente e mescolare fino ad ottenere un composto omogeneo ;
- Tenere in incubazione per 3 min. a 40°C ;
- Immergere un'asta di livello in ogni recipiente ;
- Continuare a tenere in incubazione per 3 min. a 40°C ;
- Leggere l'intensità del colore.

Meccanismo di reazione

Twinsensor^{BT} è un efficace test che utilizza due recettori in un'unica operazione. Il test richiede l'utilizzo di due componenti. Il primo componente è un recipiente contenente quantità predeterminate di recettori e anticorpi legati a particelle d'oro. Il secondo è un'asta di livello fornita di una serie di membrane con linee di cattura specifiche **(fig. B)**. Per un test valido, la linea di controllo rossa deve essere visibile dopo la seconda incubazione. Le altre due sono le linee "test" specifiche posizionate su entrambi i lati della linea di controllo. La linea per gli antibiotici beta-lattami (penicillina e cefalosporina) è situata sotto la linea di "controllo", mentre la linea relativa alle tetracicline è posizionata al di sopra. Quando il reagente nel recipiente viene sospeso con un campione di latte, entrambi i recettori legheranno i corrispondenti analiti -se presenti- durante i primi 3 minuti di incubazione a 40°C. Successivamente, quando l'asta di livello viene immersa nel latte, il liquido inizia a scorrere verticalmente sull'asta e passa attraverso le zone di cattura. Se il campione è privo di antibiotici, si verifica un cambiamento di colore sulle specifiche linee di cattura, indicando l'assenza degli analiti ricercati nel campione di latte. In caso contrario, la presenza di antibiotici nel campione non provocherà l'apparizione del segnale colorato nelle specifiche linee di cattura.

Composizione dei kit

I kit con codice « KIT020 / KIT034 » contengono tutto il necessario per realizzare 96 analisi

- 12 barattoli ciascuno dei quali provvisto di una striscia di 8 recipienti reagenti e 8 aste di livello ;
- 1 micropipetta di 200 µl e punte usa e getta ;
- « Standard Positivo » contenente polvere per ricostituire il latte crudo "standard positivo" di PenG e di Ossitetraciclina **(fig. C)**. Per facilitarne il riconoscimento, lo Standard Positivo viene colorato con un pigmento che gli conferisce una colorazione rosso pallido ;
- « Standard Negativo » contenente polvere per ricostituire il latte crudo "standard negativo". Lo Standard Negativo viene colorato con un pigmento che gli conferisce una colorazione verde pallido ;
- Un foglio di istruzioni.

Indicazioni generali

1. Alla ricezione, conservare il kit in un luogo asciutto e ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C. Prima dell'apertura, lasciare che i barattoli in plastica raggiungano la temperatura ambiente ed evitare di esporre il prodotto all'umidità e alla luce ;
2. Gli standard sono disponibili in due formati in fiale in vetro o in singoli tubetti in plastica. Le fiale in vetro Standard devono essere reidratate con 1 ml (5 X 200µl) di acqua limpida e i singoli tubetti in plastica Standard devono essere reidratati con 400ml (2 X 200µl) di acqua limpida. Miscelare energicamente (fino alla formazione di un vortice) per evitare la formazione di grumi. La fiala in vetro ricostituita può essere conservata nel congelatore ad una temperatura di -20°C. Non congelare/scongelerare più di una volta ;
3. Evitare l'utilizzo di latte cagliato con Twinsensor^{BT} ;
4. La temperatura ideale per effettuare il test è di 40°C ± 3°C. Utilizzare il "Sensore di calore" o (alternativamente) il metodo bagnomaria. Ogni altro tipo di incubatrice non è appropriato per eseguire l'analisi Twinsensor. (Fare riferimento al manuale del Sensore di calore utilizzato per impostare la temperatura e il tempo corretti) ;

5. Al termine della seconda incubazione, leggere il risultato entro 15 minuti. Non interpretare il risultato se sono trascorsi oltre 15 minuti ;
6. Le letture strumentali devono essere effettuate con il Sensore di lettura (vedere il manuale utente) ;
7. Durante l'asciugatura, l'intensità del colore delle linee diventerà più marcata ;
8. Quando viene registrato un risultato positivo, il risultato del test dovrà essere confermato ;
9. Vuotare un barattolo prima di aprirne un altro.

Diluizione del latte in polvere

In una bottiglia appropriata, mescolare 10 g di latte in polvere con 90 ml di acqua calda (40°C) e distillata. Per una diluizione ottimale, mescolare energicamente.

Indicazioni per l'utilizzo

La procedura descritta serve per eseguire facilmente il test su un singolo campione oppure su una serie di vari campioni. In questo caso, provare a eseguire il test a cascata ed evitare ritardi durante la mescola di reagente e latte ed anche quando si aggiungono e si rimuovono le aste di livello. Assicurarsi che ogni campione riceva il medesimo tempo di incubazione e sia tenuto alla stessa temperatura. Non si dovrebbe testare più di 8 campioni alla volta e, se vi sono più di 3 campioni, si dovrebbe utilizzare una pipetta multipla. Con oltre 8 campioni si consiglia di dividere le serie fino ad un massimo 8 campioni.

1. Scegliere un luogo pulito e asciutto per eseguire il test; lavarsi e asciugarsi le mani prima di iniziare ;
2. Collegare il Sensore di calore (vedere il manuale d'utilizzazione) e attendere finché la temperatura non si è stabilizzata a 40°C. Sono necessari circa 10 minuti affinché la temperatura si stabilizzi a 40°C ;
3. Prima di aprire i reagenti, togliere il kit dal frigo e attendere finché la temperatura dei reagenti non raggiunge la temperatura ambiente. Nel frattempo, leggere attentamente le istruzioni per l'uso ;
 - Nel test sono presenti due componenti principali, ovvero : le aste di livello e i reagenti liofilizzati in recipienti. Entrambi sono conservati nei barattoli di plastica bianca.
4. Determinare quanti campioni di latte è necessario testare e scrivere su ogni tubetto un numero identificativo ;
 - I campioni di latte devono essere liquidi e omogenei. Non ci devono essere né grumi né fasi di sedimentazione. La temperatura ideale per il campione di latte è compresa tra 4 e 20°C.
5. Aprire il barattolo in plastica e prelevare tanti recipienti quanti sono i campioni di latte da testare (compreso il latte standard positivo e negativo se necessario) ;
 - Per aprire un barattolo di aste di livello, rimuovere l'anello di sicurezza premendolo sul barattolo, eliminare l'anello e togliere il tappo con il pollice ;
 - Chiudere sempre bene il barattolo con le aste di livello dopo aver rimosso i reagenti ;
 - Vuotare sempre un barattolo con le aste di livello prima di aprirne un altro ;
 - Attenzione, se non si intendono utilizzare tutti e 8 i recipienti, lasciare la serie di 8 coperchi su quelli inutilizzati e non rimuovere la striscia degli otto coperchi, ma lasciarla sui recipienti che non vengono impiegati. Non provare a separare individualmente i coperchi e riportarli immediatamente nel barattolo bianco senza guastare le aste di livello, chiuderlo e assicurarsi che sia ben sigillato.
6. Posizionare il/i recipiente/i nel blocco di riscaldamento, che indica 40°C ;
7. Posizionare una nuova punta della pipetta sul micropipetta e trasferire 200 ml di latte in ciascun recipiente. **(fig.D)**
8. **Attenzione : quando i reagenti e il latte entrano in contatto, ha inizio la reazione. Mescolare rapidamente e avviare IMMEDIATAMENTE il timer premendo il tasto START (RUN)*.** Si avvia il conto alla rovescia di 3 minuti ;
 - Durante la prima incubazione, ogni recettore rileva se sono presenti antibiotici nel campione di latte. Sono necessari 3 minuti per il completamento della reazione.
9. Durante questo intervallo di tempo, aprire lo stesso barattolo di prima, prelevare tante aste di livello quante sono le analisi in corso e chiudere il barattolo. Disporre le aste di livello su un foglio pulito e scrivere il numero che corrisponde a quello del campione di latte ;

10. Quando i 3 minuti sono terminati, ovvero dopo il segnale acustico, premere di nuovo START (STOP)* per interrompere il suono del segnale e immergere la corrispondente asta di livello in ogni recipiente riposto nell'incubatrice ;
 - *Assicurarsi di inserire nel recipiente corrispondente l'asta di livello con lo stesso numero identificativo di quello del corrispondente campione di latte.*
 11. Avviare il timer per la seconda incubazione premendo il tasto START (RUN)*. Si avvia il conto alla rovescia di 3 minuti ;
 12. Quando i 3 minuti sono terminati, ovvero dopo il segnale acustico, premere di nuovo START (STOP)* per interrompere il suono del segnale e rimuovere le aste di livello dai recipienti per disporle su un foglio di carta ;
 13. Riporre tutto nella confezione. Se non si intendono eseguire ulteriori test con twinsensor nella stessa giornata, conservarla in frigo ad una temperatura compresa tra 2 e 8°C.
- *(Fare riferimento al manuale del Sensore di calore – per le utilizzatore del Heatsensor DUO, i punti 9 a 12 sono semplificate)*

Interpretazione visiva dei risultati : (fig. B)

Effettuare le letture visive nel modo seguente :

14. Innanzitutto, verificare se è presente la linea di controllo centrale. Se non è presente, considerare non valide le analisi e non effettuare (o non continuare) alcuna interpretazione ;
15. Quando è possibile visualizzare la linea di controllo centrale, interpretare le due linee del test nel modo seguente :
16. Esaminare una linea del test alla volta e confrontare l'intensità del colore della linea del test con l'intensità del colore della linea di controllo. (Per esempio, iniziare dalla linea finale di beta-lattami) ;
 - a. Se il colore della linea del test è più scuro rispetto alla linea di controllo, il risultato è NEGATIVO e questo significa che, data la sensibilità del test, il campione di latte non contiene antibiotici o ne contiene un numero inferiore al valore stabilito nella tabella di riferimento ;
 - b. Se il colore della linea del test è di intensità uguale o inferiore rispetto alla linea di controllo, il risultato è POSITIVO e questo significa che, data la sensibilità del test, il campione di latte contiene un numero di antibiotici uguale o superiore al valore di rilevamento stabilito nella tabella di riferimento ;
17. Dopo aver interpretato una linea del test, effettuare la stessa operazione per l'altra linea (per esempio, continuare con la linea superiore di tetraciclina) ;
18. In caso di esitazioni, considerare POSITIVO il campione e confermare l'interpretazione eseguendo una seconda lettura visiva entro i successivi 15 minuti ;
19. Annotare la valutazione di ogni asta di livello ;
20. Se necessario, le aste di livello possono essere archiviate come dati permanenti rimuovendo i tamponi e lasciandole asciugare prima della conservazione. N.B. L'intensità del colore della linea diventerà più scura durante l'asciugatura.

Se si possiede un sensore di lettura, leggere l'asta di livello entro 15 minuti dall'esecuzione del test. Vedere il manuale utente del Sensore di lettura.

TR Giriş

KIT020 / KIT034 kodlu TwinsensorBT süt örneklerinde -laktam ve tetrasiklin moleküllerinin her ikisinin varlığını aynı anda tespit eden hızlı bir testtir. **(fig.A)**

Kullanım Özeti :

- Bir adet reaktif kabı içerisine 200 µl süt ekleyiniz ve karıştırarak homojen hale getiriniz ;
- 40°C'de 3 dakika bekletiniz ;
- Her reaktif kabı içerisine bir adet test şeridi daldırınız ;
- 40°C'de 3 dakika tekrar bekletiniz ;
- Renk yoğunluğuna göre okuma yapınız.

Reaksiyon Mekanizması

Twinsensor^{BT} tek işlemde iki reseptör içeren yarışmalı testtir. Testin yapılması için iki bileşen gereklidir. Birincisi; altın partiküllere bağlı antikorlar ile reseptörleri belirli miktarda içeren reaktif kabı, ikincisi ise

çizgilerin bulunduğu membran setinden yapılmış test şeritleridir (**fig.B**). Geçerli test sonuçları için, inkübasyon süresinin bitiminde kırmızı renkte kontrol çizgisi görülmelidir. Diğer iki çizgi ise kontrol çizgisinin iki yanına yerleşmiş özel "test" çizgileridir. β -laktam grubu antibiyotikler (penisilin ve sefalosporin) için tek çizgi kontrol çizgisinin altında bulunurken, tetrasiklinler ile ilgili olanlar üst taraftadır. Reaktif kabında bulunan reaktif süt ile karıştırıldığında, 40°C'de ilk 3 dakikalık inkübasyon süresince her iki reseptör eğer ortamda mevcutsa karşılık gelen analiti ile bağlanır. Ardından çubuklar karışıma daldırıldığında sıvı dikey olarak yukarı doğru çubuk üzerinde ilerler ve çizgilerin bulunduğu bölgelerden geçer. Eğer numune antibiyotik içermiyor ise, özel test çizgilerinde renklenme olur ve süt örneğinde ilgili analitin olmadığını gösterir. Tam tersi durumda örnekte antibiyotik var ise test çizgilerinin olduğu yerde renkli sinyal oluşumuna neden olmayacaktır.

Kit İçerisinde Bulunan Malzemeler

- « KIT020 / KIT034 » kodlu kitler 96 adet ölçüm yapabilecek malzemeleri içerir ;
- Her birinde 8 adet test şeridi ve 8 adet reaktif kabı içeren toplam 12 adet plastik test tüpü bulunur ;
- "Pozitif standart"; sulandırılarak hazırlanacak 4ppb PenG ve 100 ppb Oksitetrasiklin içeren çiğ süt "pozitif standart" tozu içerir (**fig. C**). Kolay ayırt edilebilmesi için, pozitif standart çok açık kırmızı renk veren boya ile hazırlanmıştır ;
- "Negatif Standart"; sulandırılarak hazırlanacak çiğ süt "negatif standart" tozu içerir. Negatif standart çok açık yeşil renkli boya ile hazırlanmıştır ;
- Kullanım Kılavuzu

Genel Bilgiler

1. **Antibiyotik test kitini kuru bir yerde ve 2 ile 8 °C arasında düşük sıcaklıklarda saklayınız.** Açmadan önce plastik test tüplerinin oda sıcaklığına gelmesini sağlayınız, neme ve ışığa maruz bırakmayınız ;
2. Standartlar ufak cam şişelerde veya plastik tüplerde olmak üzere iki formatta bulunur. Standart cam şişede ise 1 ml (5 X 200µl) saf su ile eğer plastik tüpte ise her biri 400 l (2 X 200µl) saf su ile sulandırılır. Vorteks ile karıştırılarak çözündürülür. Sulandırılmış cam şişeler -20°C'de saklanabilir. Bir kereden fazla dondurup çözmezsiniz ;
3. Twinsensor BT ile pıhtılaşmış sütte test yapmayınız ;
4. Doğru ölçümler için test sıcaklığı 40°C \pm 3'dir. Twinsensor inkübatör ya da alternatif olarak kontrollü su banyosu kullanınız. Diğer tip inkübatörler Twinsensor testini yapmaya uygun değildir ;
5. İkinci inkübasyondan sonra sonuçları 15 dakika içinde okuyunuz. 15 dakikadan sonra sonuçlarda değerlendirme yapmayınız ;
6. Cihaz ile okumaları Readsensör (kullanım kılavuzuna bakınız) ile yapınız ;
7. Test şeritleri kurduğunda çizgilerdeki renk yoğunluğu netleşir ;
8. Pozitif sonuçlar kaydedildiği zaman test sonuçları doğrulanmalıdır ;
9. Test kaplarının biri bitmeden diğerini açmayınız.

Süt Tozu Seyreltmesi

Uygun bir şişede 10 g süt tozu ile 90 ml ılık (40°C) distile suyu karıştırınız. En iyi seyreltme için kuvvetlice karıştırınız.

Kullanma Talimatı

Bu prosedür sadece tek bir örnek ya da bir çok örnek setinin kolaylıkla test edilebilmesini anlatır. Bu durumda testi ardışık olarak uygulamaya çalışınız ve reaktif ile sütü karıştırırken, test şeridini yerleştirirken ve çıkarırken işlemleri geciktirmeyiniz. Her örnek için aynı inkübasyon süresi ve sıcaklığın uygulandığından emin olunuz. 8 adet örnekten fazlasını aynı anda test etmemeniz önerilir ve eğer 3 örnekten fazla test yapılacak ise multi-pipet kullanılmalıdır. Sekizden fazla örneği test etmek için en fazla 8'li örnek serisi olarak paylaşarak test yapmanız önerilir.

1. Test işlemini yapmak için kuru ve temiz bir alan seçiniz ve teste başlamadan önce ellerinizi yıkayın kuruyun ;
2. Twinsensor inkübatörü açınız ve 40°C sıcaklığa gelip sabit kalana dek bekleyiniz. Sıcaklığın 40°C'ye sabitlenmesi en fazla 10 dakika kadar sürecektir ;
3. Reaktif kaplarını açmadan önce, kiti dolaptan çıkarınız ve reaktif kaplarının sıcaklığı oda sıcaklığına gelene kadar bekletiniz. Bu sırada dikkatlice kullanma talimatını okuyunuz ;
- *Testin iki temel bileşeni vardır: test şeritleri ve reaktif kaplarındaki freeze-dried (dondurarak kurutulmuş) reaktif. Her ikisi de beyaz plastik test tüpünün içindedir.*

4. Kaç adet süt örneğini analiz edeceğinizi belirleyiniz ve gerekli adlandırma/numaralandırmaları yapınız ;
 - *Süt örnekleri sıvı ve homojen olmalıdır. Partikül, pıhtı veya çökelti olmamalıdır. Pıhtılaşmış sütü kullanmayınız. Süt örneği için ideal sıcaklık 4-20°C arasında olmalıdır.*
 5. Beyaz plastik test tüplerinden bir tanesini alınız ve test edilecek miktardaki reaktif kaplarını çıkarınız (Eğer gerekiyorsa pozitif ve negatif standart süt dahil edilir) ;
 - *Test şeritlerinin bulunduğu beyaz tüpü açmak için kapağın altındaki güvenlik halkasını aşağıya bastırarak çıkarınız ve tüpün kapağını açınız;*
 - *Test şeritlerini içeren beyaz tüp, reaktif kapları çıkarıldıktan sonra sıkıca kapatılmalıdır;*
 - *Test tüpündeki reaktifler bitmeden yenisini açmayınız;*
 - *Eğer 8 tane reaktif kabının tümünde test uygulanmayacaksa, reaktif kaplarının üzerindeki 8 adet kapağı koparmadan kullanılmayan reaktif kaplarının üzerinde bırakınız ve hemen kutusuna geri yerleştiriniz. Reaktif kaplarını birbirinden ayırmayınız ve test şeritlerine zarar vermeden beyaz plastik tüpe yerleştirip kapatınız ve kapağın sıkıca kapatıldığından emin olunuz.*
 6. Reaktif kaplarını 40°C' deki Twinsensor inkübatöre yerleştiriniz ;
 7. Micropipete yeni uç takınız ve test edilecek reaktif kaplarının her birine aşağıda belirtildiği gibi 200 µl süt ilave ediniz ; **(fig.D)**
 - 8*. **UYARI: Reaktif ve süt temas ettiği anda reaksiyon başlar. Bu yüzden sağlıklı sonuçlar alabilmek için SÜTÜ HIZLICA KARIŞTIRINIZ ve İNKÜBASYON İŞLEMİNE BAŞLAYINIZ**

Inkübatörde ☺ tuşuna basarak süreyi başlatınız. 'S1' işaretinin yanındaki yeşil ışık yanacaktır ve 3 dakikalık ilk inkübasyon süresi başlayacaktır;

 - *İlk inkübasyon süresince her bir reseptör süt örneğinde antibiyotik olup olmadığını tespit eder. Reaksiyonun tamamlanması 3 dakika sürer.*
 9. Bu süre boyunca, kullandığınız aynı plastik tüpten reaktif kaplarına koyduğunuz numune sayısınıca test şeridi çıkarınız ve tüpün kapağını kapatınız. Test şeridini temiz bir yere koyunuz ve her bir reaktif kabındaki örnek için denk gelen numarayı yazınız ;
 10. 3 dakika tamamlandıktan sonra alarm sesi duyulur, 'S1END'yanındaki ışık yanar ve ekranda END yazısı görünür. Alarmı durdurmak için ☒ tuşuna basınız. Eğer bu tuşa basılmazsa 1 dk süresince alarm çalar ve ardından kendiliğinden durur. İnkübatörde bulunan reaktif kaplarına her bir şeridi ayrı ayrı ok yönünde batırınız.
 - *Numaralandırılmış test şeritlerini uygun reaktif kaplarına yerleştirdiğinizden emin olunuz.*
 11. İnkübatörde ☺ tuşuna basarak ikinci inkübasyon süresini başlatınız, 'S2' ışığı yanacaktır ve 3 dakikalık ikinci inkübasyon süresi başlayacaktır;
 12. 3 dakika tamamlandıktan alarm sesi duyulur, 'S2END' ışığı yanar ve ekranda END yazısı görülür. ☒ tuşuna basarak alarmı kapattıktan sonra şeritler reaktif kaplarından çıkarılır ve temiz bir kağıt üzerine yayılır;
 13. Eğer Twinsensor ile yeni bir test yapmayacaksanız, plastik tüpün kapağının sıkıca kapalı olduğundan emin olunuz. Tüm malzemeleri kutuya yerleştiriniz ve 2-8°C buzdolabı koşullarında saklayınız.
- *(DUO ısı sensörünü kullanıcıları için, 9'den 12'ye kadar olan adımlar basitleştirilmiştir)*

Sonuçların Görsel Yorumlanması : (fig. B)

Görsel yorumlamayı aşağıda belirtilen şekilde yapınız ;

14. Öncelikle şeridin ortasındaki merkez kontrol çizgisinin olup olmadığını kontrol ediniz. Eğer yoksa testi geçersiz sayarak başlamayınız ya da devam etmeyiniz ;
15. Merkezdeki kontrol çizgisi görülüyorsa testi aşağıdaki adımları takip ederek değerlendiriniz;
16. Test çizgilerini tek tek inceleyiniz ve çizgilerdeki renk yoğunluğunu kontrol çizgisinin renk yoğunluğu ile karşılaştırınız (Örneğin, alt çizgideki β-laktamlar ile başlayınız) ;
- a. Eğer test çizgisi kontrol çizgisinden daha koyu ise, sonuç NEGATİF olarak değerlendirilir ve süt örneği antibiyotik içermiyor ya da ekteki tabloya karşılık gelen değerlerden daha düşük oranda antibiyotik içerdiği anlamındadır ;
- b. Eğer test çizgileri kontrol çizgisi kadar, kontrolden daha açık renkte veya görülmez ise, numune POZİTİF olarak değerlendirilir ve ekteki tabloda belirtilen kadar veya daha fazla miktarda antibiyotik içerdiği anlamındadır ;
17. Bir test çizgisini değerlendirdikten sonra diğeri için de aynı işlemleri yapınız (Örneğin, üstteki tetrasiklin çizgisi için tekrarlayınız) ;
18. Eğer sonuçlardan şüphe ederseniz numunenizin POZİTİF olduğunu varsayarak 15 dakika içinde ikinci kez şeritteki çizgileri tekrar değerlendiriniz ;
19. Değerlendirmelerinizi her bir test şeridine yazınız ;
20. İhtiyaç duyulduğunda test şeritleri alt kısmındaki pamuklu kısmı çıkartılarak ve kurutularak sürekliliği kayıt olarak saklanabilir. Çizgi renk yoğunluğu test şeritleri kurudukça koyulaşır ;

Eğer Readsensör (test şeridi okuyucu) var ise sonuçları 15 dakika içinde cihazda okutmanız gerekmektedir. Readsensör kullanım kılavuzuna bakınız.



TwinsensörBT (试剂盒型号: KIT020 / KIT034) 是利用竞争性受体-配体免疫原理, 快速检测牛奶样品中 β -内酰胺类和四环素类抗生素残留的试剂盒。(fig.A)

操作要点:

- 吸取200 μ l牛奶样品加到装有冻干试剂的微孔中, 混合均匀
- 40°C下温育3分钟
- 测试条插入到微孔中
- 40°C下继续温育3分钟
- 判读结果

反应机理:

TwinsensörBT是一种竞争性检测, 涉及两种受体。检测需要两部分, 一部分是含有一定数量的金标抗体的微孔, 另一部分是测试条, 上面有俘获线。对于一次有效检测而言, 第二次温育后控制线 (CTRL) 颜色将由绿色变成红色。两条特异性的检测线 (TEST) 位于控制线的上下两侧。 β -内酰胺类(青霉素类和头孢菌素类)的检测线在控制线的下方, 四环素类的检测线在控制线的上方。在第一次3分钟温育时 (40°C), 微孔中的试剂和牛奶样品反应, 两种受体会结合相应的分析物。当插入测试条后, 样品液体会沿着测试条垂直向上渗透并通过测试条上的俘获区域。当样品中没有 β -内酰胺类和四环素类抗生素时, 样品中分析物的颜色便在测试条上特异性的俘获线处显现出红色。相反, 如果样品中有 β -内酰胺类或四环素类抗生素存在时, 测试条上的特异性的俘获线将没有红色出现。

试剂盒组分:

每个试剂盒 (试剂盒型号: KIT020 / KIT034) 所含试剂可供96次检测。

- 每8孔微孔试剂 + 8条测试条放置于1个试剂筒中, 每盒12筒共96次检测
- 1把200 μ l的微量移液器及配套吸头
- 1瓶阳性质控 (含有青霉素G及土霉素的原奶干粉, 参见Fig. C), 浅红色。
- 1瓶阴性质控 (不含抗生素的原奶干粉), 浅绿色
- 1份说明书

注意事项:

1. 试剂盒应保存在2-8°C的阴凉干燥处。
2. 阴性和阳性质控可能是玻璃瓶或塑料管装。玻璃瓶装质控需加入1ml (5 \times 200 μ l) 纯净水还原, 塑料管装质控需加入400 μ l (2 \times 200 μ l) 纯净水还原。还原过程中请缓慢震荡质控样品, 避免结块。质控样品在加水还原后需保存在-20°C冰箱中。每次最多配制一套以免失效。
3. Twinsensör BT试剂不能检测结块变质的牛奶样品。
4. 检测的最佳温度为40°C \pm 3°C, 可使用“Heatsensör”温育器, 不建议使用其他类型温育器。(请按照温育器操作说明书正确设定温育时间和温度。)
5. 第二次温育后15分钟内读取结果。如超过15分钟读取结果, 视为无效。
6. 仪器读取结果必须使用配套Readsensör (参见使用说明书)。
7. 测试条干燥后颜色深度会增加。
8. 如发现阳性, 检测结果需要进行确证。
9. 使用试剂时, 请用完一筒再打开另外一筒, 以免受潮失效。

奶粉还原步骤:

在干净的容器中, 加入10g奶粉及90ml蒸馏水/纯净水 (40°C), 充分混匀。

牛奶操作步骤:

可用于大批量检测, 也可用于单一测试。在操作过程中, 混合试剂和奶样、插入或取出测试条等步骤要尽量避免时间延误。请确保检测样品温育时间和温度的一致性。如果每次检测样品超过3个, 请使用多通道移液器加样。如果一次检测样品数量超过8个, 请按照8个一组, 分批检测

- 1、彻底洗干净手, 从冰箱中取出试剂盒, 在干燥洁净的实验条件下进行操作。
- 2、调节温育器温度至40°C, 一般温育器在开始升温5-10分钟后稳定到40°C。
- 3、当试剂盒温度达到室温时, 打开试剂筒, 准备开始实验, 同时认真阅读操作说明。
 - 试剂筒包含两个组成部分: 测试条和装有冻干试剂的微孔。

- 4、确定待测牛奶样品数量，并在每管牛奶样品上做好标记。
 - 牛奶样品必须为均匀液体，不能有结块或沉淀，理想样品温度为4-20°C。
- 5、打开装有微孔的试剂筒，取出所需要数量的微孔。（如果需要，可包含阳性和阴性质控样品。）
 - 打开试剂筒时，先去除筒盖上的安全环，再用拇指将筒塞推开。
 - 检测试剂从试剂筒取出后，请立即盖好试剂筒盖。
 - 用完一筒试剂再打开另外一筒。
 - 如果一次用不完8个微孔，可用微孔盖盖住剩余微孔，并立即放回装有干燥剂的试剂筒中（请小心放回，避免损坏试剂筒中测试条的检测区域），密封保存。
- 6、将微孔放置于温度设定为40°C的温育器上。
- 7、将微量移液器装上吸头，吸取200µl的牛奶样品于微孔中，具体操作如下 (**fig.D**)
- 8、注意：当微孔中试剂和牛奶样品接触后，反应便开始进行。请尽量快速操作，将微孔置于温育器后立即按下START (RUN)* 按键开始计时。按下温育器START (RUN) 按键，开始第一次3分钟计时温育。
 - 在第一次温育过程中，每个微孔中包含的受检测牛奶样品中是否残留抗生素。温育反应时间3分钟。
- 9、打开试剂筒，取出所需数量的测试条并盖好筒盖。在测试条上空白端做好样品编号。
- 10、第一次3分钟温育结束后，按下温育器START (STOP 按键停止计时，将测试条插入到微孔中（吸水海绵端朝下），并使之充分浸没到溶液中。
 - 注意：测试条的样品编号要与微孔中牛奶样品编号相对应。
- 11、再次按下温育器START (RUN) 按键，开始第二次3分钟温育。
- 12、第二次3分钟温育结束后，按下温育器START (STOP) 按键停止计时，取出测试条。去掉测试条下的吸水海绵，注意不要接触或损坏测试条中部检测区域
- 13、检验完毕，余下的测试条放回试剂筒并盖紧筒盖，放回试剂盒中，2-8°C保存。

目测判断结果：(fig. B)

测试条吸水海绵端为下端，自下而上三条线分别为：β-内酰胺类抗生素检测线，控制线 (CTRL线) 及四环素类检测线。

* (对于DUO热传感器用户，步骤9至步骤12只须操作一次)

- 14、首先查看控制线 (CTRL)，如果不变红色，说明试剂失效或没有完全反应。
- 15、在控制线 (CTRL) 正常显色的情况下，按照以下标准判断结果：
- 16、通过对比两条检测线与控制线 (CTRL) 的颜色强度来进行结果判断。（以β-内酰胺类检测线为例，四环素类抗生素检测结果判定标准相同。）
 - 如果检测线的颜色比控制线的颜色深，则判断样品为阴性或含有较低浓度的抗生素（参见 (**fig.A**)
 - 如果检测线的颜色与控制线的颜色一致或者比控制线颜色稍浅，则判断样品为阳性，样品中抗生素的含量等于或高于试剂盒的检测限量（参见 (**fig.A**)）。
 - 如果检测线的颜色没显示出来，表明样品为强阳性。
- 17、当完成一条检测线结果判读以后，相同的方法进行下一条检测线的判读。
- 18、遇到可疑阳性时，可15分钟内再次观察确认。
- 19、记录下所有判读结果。
- 20、测试条可以作为永久记录存档。如果需要，去掉测试条下端的吸水海绵将测试条晾干以后存档。注：测试条干燥以后检测线的颜色深度会增加。

如果使用Readsensor进行结果判断，请于反应完成15分钟内读取结果。具体请参阅Readsensor使用说明书

RUS Введение

ТвинсенсорВТ с кодом КИТ020 / КИТ034 - это экспрессный метод, который позволяет одновременно выявлять присутствие молекул β-лактамов и тетрациклинов в пробе молока. (**fig.A**)

Краткое изложение протокола:

- Добавить 200 µl молока в одну микролунку реагентов и смешать до тех пор, пока масса не станет однородной.
- Инкубировать 3 мин при температуре 40°C.
- Опустить по одной тест-полоске в каждую микролунку.
- Продолжить инкубацию ещё 3 мин при температуре 40°C.
- Считать интенсивность цвета.

Механизм реакции.

Твинсенсор^{BT} - это сравнительное испытание с участием двух рецепторов в одной операции. Испытание требует использования двух компонентов. Первый компонент представляет собой микролунку, содержащую заранее установленное количество рецепторов и антител, связанных с частицами золота. Вторым компонентом - это тест-полоска, состоящая из набора мембран с уникальными линиями фиксации (**fig.B**). Испытание действительно в том случае, если контрольная линия видима после двух инкубаций. Две другие линии - это особые «измерительные» линии, расположенные по обеим сторонам линии «контроля». Линия для β-лактамовых антибиотиков (пенициллинов и цефалоспоринов) находится под линией «контроля», а линия, относящаяся к тетрациклинам, находится выше неё. Когда реактив из микролунки повторно суспендируется с пробой молока, оба рецептора связывают соответствующие анализируемые вещества, если таковые существуют в течение первых 3-минут инкубации при температуре 40°C. Затем, когда тест-полоска погружается в молоко, жидкость начинает течь вертикально по тест-полоске и проходит через зоны поглощения. Если проба не содержит антибиотиков, цветное проявление имеет место в особых линиях поглощения, указывающих отсутствие особых анализируемых веществ в пробе молока. И наоборот, наличие антибиотиков в пробе не приведет к появлению цветного оповещения в особых линиях поглощения.

Состав комплекта

Комплект с кодом « KIT020 / KIT034 » содержит всё необходимое для выполнения 96 измерений.

- 12 сосудов, каждый из которых имеет 1 пластинку с 8 микролунками реактивов и 8 тест-полосками.
- 1 микропипетка 200 µл и одноразовые наконечники.
- « Положительный Стандарт », содержащий порошок для воспроизведения непастеризованного молока "положительного стандарта" с пенициллином G и Окситетрациклином. (Рис. С) Для удобства различия Положительный Стандарт окрашен краской, чтобы придать ему очень тусклый красный оттенок.
- « Отрицательный Стандарт », содержащий порошок для воспроизведения непастеризованного молока "отрицательного стандарта". Негативный Стандарт окрашен краской, чтобы придать ему очень тусклый зеленый оттенок.
- Одна инструкция по применению.

Общие замечания.

1. При получении, хранить комплект в сухом месте и при низкой температуре между 2 °C и 8 °C. Перед тем, как открыть упаковку, необходимо дать возможность пластиковым сосудам достичь комнатной температуры и не допускать воздействия на изделие влаги и света.
2. Стандарты приведены в двух форматах, т.е. в стеклянных пробирках или в индивидуальных пластиковых трубках. Стандартные Стеклянные пробирки должны быть повторно гидратированы 1 мл (5 X 200µl) чистой воды, а Стандартные Индивидуальные Пластиковые трубки должны быть повторно гидратированы 400µl (2 X 200µl) чистой воды. Хорошо смешать (встряхивая), чтобы избежать сгустков. Повторно суспендированные стеклянные пробирки можно хранить в морозильнике при температуре -20 °C. Не замораживать / размораживать более одного раза.
3. Избегать использования свернувшегося молока вместе с Твинсенсор BT
4. Наилучшая температура для проведения испытания - это 40°C ± 3°C. Используйте «Инкубатор» (или, в качестве альтернативы водяную баню) водяной термостат. Для выполнения исследования с помощью Твинсенсора не подойдет любой вид инкубатора. (См. на инструкцию применяемого инкубатора для установления правильной температуры и расчета времени) ;
5. После второй инкубации, считайте результаты в течение 15 минутного срока. Не пытайтесь расшифровывать результаты после 15 минут.
6. Инструментальный расчёт должен быть произведен с помощью считывающего устройства (см. руководство по применению).
7. При сушке, яркость цветов линий станет четкой.
8. При отметке положительного результата, результаты теста должны быть подтверждены.
9. Освободить сосуд, перед тем как открывать новый.

Разведение Сухого Молока :

В соответствующем сосуде разбавить 10 г сухого молока с 90 мл тёплой (40°C) и дистиллированной водой. Для оптимального разведения сильно встряхнуть.

Инструкции по использованию.

Данная процедура описана для легкого проведения одной единственной пробы или набора проб. Постарайтесь выполнить тест последовательно и избежать задержек во время смешивания реактива и молока, а также во время добавления и удаления тест-полосок. Убедитесь в том, что время инкубации и температура одинаковые для всех проб. Вам не следует тестировать более чем 8 проб одновременно и в случае наличия более 3 проб, Вам следует использовать многоканальные пипетки. Тестирование более чем 8 проб мы рекомендуем проводить двумя операторами, каждый из которых будет проводить тест 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 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 трубке идентификационный номер.
 - Проба молока должна быть жидкой и однородной. Ни фаз образования сгустков, ни фаз осадков быть не должно. Идеальной для пробы молока считается температура между 4 и 20°C
5. Откройте один пластиковый сосуд и выньте столько микролунок, сколько проб молока необходимо протестировать (положительные и отрицательные стандарты молока присоединить при необходимости).
 - Для того, чтобы открыть сосуд тест-полосок, снимите кольцо безопасности путем нажатия кольца вниз сосуда, снимите кольцо и большим пальцем выньте пробку из сосуда.
 - Сосуд с тест-полосками должен быть всегда плотно закрытым, после того как достали реактивы.
 - Сосуд с тест-полосками должен быть опустошен, прежде чем открывать новый.
 - Будьте осторожны, если Вы не намереваетесь использовать все 8 микролунок, оставьте набор из 8 крышек на неиспользованных крышках и не отделяйте стрип восьми крышек, а оставьте его на микролунках, которые не будут использованы. Не пытайтесь отделить индивидуальные крышки, сразу положите их обратно в белый сосуд, не повредив тест-полоски, закройте его и убедитесь в том, что он плотно закрыт.
6. Разместите микролунки в инкубаторе, который показывает 40°C.
7. Разместите наконечник новой пипетки на микропипетке и переместите 200 µl молока в каждую из микролунок, как указано ниже. **(fig.D)**
8. **Внимание : когда реактивы и молоко вступают в контакт, начинается реакция. Смешайте быстро и НЕЗАМЕДЛИТЕЛЬНО нажмите кнопку START (ЗАПУСК)*.** Начинается обратный отсчёт 3 минут.
 - В течение первой инкубации каждый из рецепторов выявляет наличие антибиотиков в пробе молока. На завершение реакции потребуется 3 минуты.
9. В течение этого времени, откройте тот же сосуд что и прежде, выньте столько тест-полосок сколько необходимо провести анализов и закройте сосуд. Положите тест-полоски на чистый лист и напишите номер, который соответствует номеру пробы молока.
10. По истечении 3 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 положили в микролунку тест-полоску с тем же идентификационным номером, что и номер пробы молока.
11. Включите таймер для второй инкубации путем нажатия кнопки СТАРТ (ЗАПУСК)*. Начинается обратный отсчёт 3 минут.
12. По истечении 3 минут, т.е. после звукового сигнала, нажмите СТАРТ (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 ещё анализы с помощью Твинсенсора, убедитесь, что сосуды герметично закрыты. Положите всё обратно в ящик и храните его в холодильнике при температуре от 2 до 8°C.

* (См. Инструкцию применяемого инкубатора - Для тех, кто использует инкубатор DUO Heatsensor шаги с 9 по 12 упрощены)

Визуальная расшифровка результатов : (fig. B)

Визуальное считывание выполняется следующим образом :

14. В первую очередь, проверьте, имеется ли в наличии центральная линия контроля. Если нет, то примите во внимание, что анализы не действительны и не начинайте (или продолжайте) какую-либо расшифровку.
15. Если центральная линия контроля видна, расшифруйте две измерительные линии следующим образом :
16. Проверяйте по одной измерительной линии за раз и сравните интенсивность цвета измерительной линии с интенсивностью цвета линии контроля. (Начните с нижней линии β-лактамов, например).
 - A. Если измерительная линия имеет более интенсивный цвет, чем линия контроля, результат ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ, означающий, что, учитывая чувствительность нашего теста, проба молока не содержит антибиотиков или содержит антибиотики на более низком уровне, чем значение, указанное в прилагаемой таблице.
 - B. Если измерительная линия отлична или светлее по цвету, чем линия контроля, то результат ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, означающий, что, учитывая чувствительность нашего теста, проба молока содержит антибиотики на уровне или выше значения, указанного в прилагаемой таблице.
17. Когда вы расшифруете одну линию измерения, сделайте то же самое с другими линиями (перейдите к расшифровке верхней линии тетрациклинов, например).
18. Если Вы сомневаетесь, считайте, что проба ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ и подтвердите Вашу расшифровку путём выполнения второй визуальной расшифровки в течение следующих 15 минут.
19. Напишите Вашу оценку на каждой из тест-полосок.
20. В случае необходимости, тест-полоски могут быть заархивированы в виде постоянной записи путем удаления прокладок и просушивания перед архивированием. P.S. Интенсивность цвета линий потемнеет при просушке.

Если у Вас имеется считывающее устройство, Вам следует считать тест-полоску в течение 15 минут после проведения теста. См. руководство по применению считывающего устройства.

GR ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα TwinsensorBT με κωδικούς ΚΙΤ020 / ΚΙΤ034 είναι γρήγορα τεστ που επιτρέπουν τον ταυτόχρονο εντοπισμό μορίων β-λακτάμης και τετρακυκλικής σε ένα δείγμα γάλακτος. (fig.A)

ΣΥΝΟΨΗ ΜΕΘΟΔΟΥ :

- Προσθήκη 200 μικρόλιτρων γάλακτος στην κυψελίδα και ανακίνηση του γάλακτος μέχρι να προκύψει ένα ομοιογενές ροζ μίγμα
- Επώαση 3 λεπτών στους 40 οC
- Εμβάπτιση χάρτινου στικ στη κυψελίδα και επώαση για 3 λεπτά
- Ανάγνωση της έντασης χρωματισμού των γραμμών που εμφανίζονται στο χάρτινο στικ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ.

Το Twinsensor^{BT} είναι ένα ανταγωνιστικό τεστ που περιέχει δύο υποδοχείς σε μία και μόνη λειτουργία. Το τεστ απαιτεί τη χρήση δύο στοιχείων. Το πρώτο στοιχείο είναι μία κυψελίδα που περιέχει προκαθορισμένες ποσότητες από υποδοχείς και αντιδρώσα ενοποιημένα σε μόρια. Το δεύτερο στοιχείο είναι ένα χάρτινο στικ κατασκευασμένο από μία σειρά μεμβρανών με ξεχωριστές γραμμές σύλληψης (fig.B) Για ένα έγκυρο τεστ, η κόκκινη γραμμή του κοντρόλ θα πρέπει να είναι ορατή μετά και τις δύο επώσεις. Οι άλλες δύο γραμμές είναι οι συγκεκριμένες γραμμές του τεστ και είναι τοποθετημένες εκατέρωθεν της γραμμής ελέγχου(κοντρόλ). Η γραμμή για τις β-λακτάμες (πενικιλίνες και κεφαλοσφαίρινες) είναι τοποθετημένη κάτω από τη γραμμή ελέγχου, ενώ η γραμμή για τις τετρακυκλικές είναι τοποθετημένη πάνω από τη γραμμή ελέγχου. Όταν το αντιδραστήριο από την κυψελίδα ανακατείνεται με το δείγμα του γάλακτος, και οι δύο υποδοχείς θα αντιδράσουν με τα αντιβιοτικά, εάν υπάρχουν, κατά τη διάρκεια της πρώτης 3λεπτης επώασης. Έπειτα, όταν το χάρτινο στικ εμβαπτιστεί στο γάλα της κυψελίδας, το υγρό αρχίζει να εμποτίζει το στικ και να μετακινείται κάθετα προς τη πάνω πλευρά του στικ περνώντας από τις γραμμές σύλληψης. Όταν το δείγμα είναι καθαρό από αντιβιοτικά, οι συγκεκριμένες γραμμές σύλληψης χρωματίζονται, υποδεικνύοντας την απουσία των στοχευμένων αντιβιοτικών στο δείγμα του γάλακτος. Σε αντίθετη περίπτωση, η παρουσία αντιβιοτικών στο δείγμα δε θα προκαλέσει το χρωματισμό των συγκεκριμένων γραμμών σύλληψης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Οι συσκευασίες με του κωδικούς ΚΙΤ020 / ΚΙΤ034 περιέχουν ότι είναι απαραίτητο για τη διενέργεια 96 μετρήσεων.

- 12 σωληνάκια, τα οποία περιέχουν 1 ταινία με 8 κυψελίδες και 8 χάρτινα στικ
- 1 μικροπιπέτα των 200 μικρόλιτρων και "μύτες" μιας χρήσης

- “Θετικό Δείγμα”, το οποίο περιέχει σκόνη γάλα για την ανασύνθεση γάλακτος, θετικό σε πενικιλίνη G και οζτετρακυκλίνη (Fig C). Για τη διευκόλυνση της αναγνώρισης το θετικό δείγμα έχει ένα απαλό κόκκινο χρώμα
- “Αρνητικό Δείγμα”, το οποίο περιέχει σκόνη γάλα για την ανασύνθεση γάλακτος, χωρίς αντιβίωση. Για τη διευκόλυνση της αναγνώρισης το αρνητικό δείγμα έχει ένα απαλό πράσινο χρώμα
- Ένα φυλλάδιο οδηγιών

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ.

1. Αποθήκευση του προϊόντος σε ξηρό περιβάλλον και θερμοκρασίες μεταξύ 2 οC και 8οC. Πριν το άνοιγμα της συσκευασίας, τα σωληνάκια πρέπει να φθάσουν τη θερμοκρασία περιβάλλοντος και να αποφευχθεί η έκθεση του προϊόντος σε υγρασία και φως.
2. Τα θετικά και αρνητικά δείγματα περιέχονται είτε σε γυάλινα φυαλιδία είτε σε πλαστικά σωληνάκια. Τα δείγματα που περιέχονται σε γυάλινα φυαλιδία πρέπει να ενυδατωθούν με 1 ml (5 X 200 μικρόλιτρα) καθαρού νερού, ενώ τα δείγματα που περιέχονται σε πλαστικά σωληνάκια πρέπει να ενυδατωθούν με 400 μικρόλιτρα (2 X 200 μικρόλιτρα) καθαρού(απεσταγμένου) νερού. Η ανάμιξη πρέπει να είναι έντονη για να αποφευχθούν συσσωματώματα. Τα ανασυνθετεμένα δείγματα των γυάλινων φυαλιδιών μπορούν να αποθηκευθούν στη κατάψυξη στους 20 οC. Μην παγώνετε/ξεπαγώνετε το δείγμα πάνω από μία φορά.
3. Αποφυγή χρήσης πηγμένου γάλακτος (γιαούρτη, οξύγαλα κα) με το TwinsensorBT.
4. Η προτεινόμενη θερμοκρασία για τη πραγματοποίηση του τεστ είναι 40 οC ±3οC. Για αυτό το σκοπό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο ειδικός επωαστήρας (η εναλλακτικά υδρόλουτρο). Οποιοσδήποτε άλλος τύπος επωαστήρα δεν είναι κατάλληλος για τη πραγματοποίηση του τεστ (Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του ειδικού επωαστήρα για τη σωστή εκτέλεση του τεστ).
5. Μετά τη δεύτερη επώαση, η ανάγνωση του αποτελέσματος πρέπει να γίνει σε 15 λεπτά. Μετά το πέρας του 15λεπτου δεν πρέπει να γίνεται η ανάγνωση του αποτελέσματος.
6. Η μηχανική ανάγνωση του αποτελέσματος γίνεται με τη χρήση του Readsensor (βλ. Οδηγίες χρήσης).
7. Όταν το χάρτινο στικ στεγνώσει, η ένταση των χρωμάτων γίνεται πιο έντονη
8. Όταν προκύψει θετικό δείγμα, το αποτέλεσμα θα πρέπει να διασταυρωθεί.
9. Συνιστάται η κατανάλωση κάθε ενός από τα σωληνάκια προτού το επόμενο σωληνάκι ανοιχτεί.

ΔΙΑΛΥΣΗ ΣΚΟΝΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ :

Σε ένα κατάλληλο σκεύος, γίνεται η διάλυση 10 γραμμαρίων σκόνης γάλακτος σε 90 ml ζεστού (40 οC) και απεσταγμένου νερού. Για τη βέλτιστη διάλυση χρειάζεται έντονη ανάμιξη του διαλύματος..

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ.

Αυτή η διαδικασία περιγράφει την εκτέλεση του τεστ με ευκολία είτε πρόκειται για ένα δείγμα είτε για πολλαπλά δείγματα ταυτόχρονα. Σε αυτή τη περίπτωση, είναι προτιμότερο τα τεστ να γίνονται εν σειρά ώστε να αποφευχθούν τυχόν καθυστερήσεις κατά την ανάμιξη του αντιδραστήριου με το γάλα καθώς και καθυστερήσεις κατά την εμβάπτιση και την απόσυρση των χάρτινων στικ από τις κυψελίδες. Ο χρόνος επώασης και η θερμοκρασία θα πρέπει να είναι ίδια για κάθε δείγμα. Καλό είναι να μην πραγματοποιούνται περισσότερα από 8 τεστ ανά φορά και εάν τα τεστ είναι παραπάνω από 3 θα πρέπει να γίνεται χρήση μιας πολλαπλής πιπέτας. Όταν τα δείγματα είναι περισσότερα από 8 συνιστάται ο διαχωρισμός τους σε 8άδες.

1. Επιλέξτε μια στεγνή και καθαρή επιφάνεια για την εφαρμογή του τεστ. Πριν από την εκτέλεση πλύνετε και στεγνώστε τα χέρια σας.
2. Ενεργοποιήστε τον επωαστήρα και περιμένετε μέχρι να σταθεροποιηθεί η θερμοκρασία στους 40 οC. Χρειάζονται περίπου 10 λεπτά για να συμβεί αυτό
3. Πριν ανοίξετε τα αντιδραστήρια, βγάλτε τη συσκευασία από το ψυγείο και περιμένετε έως ότου τα σωληνάκια έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Εν τω μεταξύ, διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες χρήσης.
 - Υπάρχουν δύο απαραίτητα στοιχεία του τεστ: τα χάρτινα στικ και τα λυοφιλιωμένα αντιδραστήρια σε κυψελίδες. Και τα δύο βρίσκονται στα πλαστικά σωληνάκια της συσκευασίας.
4. Προσδιορίστε πόσα δείγματα θέλετε να τεστάρετε και αριθμήστε τα
 - Τα δείγματα του γάλακτος πρέπει να είναι σε υγρή μορφή και ομοιογενή. Δεν πρέπει να είναι πηγμένα ούτε να έχουν διαχωριστεί. Η ιδανική θερμοκρασία των δειγμάτων θα πρέπει να είναι μεταξύ 4 οC και 20 οC.
5. Ανοίξτε ένα σωληνάκι και βγάλτε όλες κυψελίδες χρειάζεστε για τα δείγματά σας (συμπεριλάβετε αν είναι απαραίτητο και τα θετικά και αρνητικά δείγματα).
 - Για να ανοίξετε το σωληνάκι βγάλτε το δακτύλιο ασφαλείας και ανοίξτε το καπάκι.
 - Το σωληνάκι θα πρέπει να είναι πάντα κλειστό αφού έχετε βγάλει τις κυψελίδες.
 - Το σωληνάκι πρέπει πρώτα να αδειάζει πριν ανοιχτεί καινούριο.

• Προσοχή! Όσες κυψελίδες δεν χρησιμοποιούνται θα πρέπει να είναι τοποθετημένες πάντοτε στα καπάκια τους. Μην προσπαθείτε να κόβετε και τα καπάκια μαζί με τις κυψελίδες. Αφού πάρετε όσες κυψελίδες χρειάζεστε τοποθετήστε τις υπόλοιπες πίσω στο σωληνάκι χωρίς να καταστρέψετε τα χάρτινα στικ και κλείστε ερμητικά το καπάκι.

6. Τοποθετήστε τις κυψελίδες στον επωαστήρα που δείχνει 40°C.
7. Τοποθετήστε μια νέα "μύτη" στη μικροπιπέτα και μεταφέρετε 200 μικρόλιτρα γάλακτος σε κάθε μία από τις κυψελίδες με τον εξής τρόπο (fig.D)
8. Προσοχή! Όταν το αντιδραστήριο και το γάλα βρίσκονται σε επαφή, η αντίδραση ξεκινά. Ανακατέψτε γρήγορα και αμέσως πατήστε το κουμπί START (RUN)*. Αρχίστε τη χρονομέτρηση πατώντας το κουμπί . Η αντίστροφη μέτρηση των 3 λεπτών ξεκινά. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επίωσης ο καθένας από τους υποδοχείς ανιχνεύει την ύπαρξη ή όχι των αντιβιοτικών στο δείγμα. Η αντίδραση θέλει 3 λεπτά για να ολοκληρωθεί.
9. Κατά τη διάρκεια των 3 λεπτών βγάλτε από τα πλαστικά σωληνάκια της συσκευασίας τόσα χάρτινα στικς όσα και τα δείγματα που αναλύετε. Αριθμήστε το κάθε στικ.
10. Όταν τα 3 λεπτά τελειώσουν ξαναπατήστε το πλήκτρο START* για να σταματήσετε το καμπανάκι και τοποθετήστε τα στικάκια στις αντίστοιχες κυψελίδες.
11. Αρχίστε το χρονόμετρο για δεύτερη φορά πατώντας ξανά το πλήκτρο START (RUN)*. Η 3λεπτη αντίστροφη μέτρηση ξαναρχίζει.
12. Όταν τα 3 λεπτά περάσουν, πατήστε το πλήκτρο START* για να σταματήσετε το καμπανάκι, βγάλτε τα στικάκια από τις κυψελίδες και τοποθετήστε τες σε ένα καθαρό χαρτί.
13. Εάν δεν σχεδιάζετε να συνεχίσετε με άλλη ανάλυση φροντίστε να έχετε κλείσει ερμητικά τα σωληνάκια. Βάλτε τα πάντα πίσω στο κουτί και τοποθετήστε το κουτί στο ψυγείο μεταξύ 2 και 8°C.

* (ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του επωαστήρα - Για τους χρήστες του DUO Heatsensor, τα στάδια από το 9 έως το 12 έχουν απλοποιηθεί)

Οπτική Επεξήγηση των αποτελεσμάτων : (fig. B).

Διαβάστε τα αποτελέσματα ως εξής :

14. Ελέγξτε πρώτα αν η γραμμή ελέγχου είναι παρούσα. Εάν όχι, θεωρήστε την ανάλυση άκυρη και μην συνεχίζετε με την ανάλυση του αποτελέσματος.
15. Εξετάστε κάθε γραμμή ελέγχου ξεχωριστά και συγκρίνετε την ένταση χρωματισμού της κάθε γραμμής με την ένταση χρωματισμού της γραμμής ελέγχου (κεντρικής). Για παράδειγμα ξεκινήστε με τη γραμμή για τις β-λακτάμες (κάτω γραμμή)
 - a. Εάν η γραμμή από τις β-λακτάμες είναι πιο σκούρα από τη γραμμή του κοντρόλ, τότε τοτέστ είναι αρνητικό, το οποίο σημαίνει ότι συγκριτικά με την ευαισθησία του τεστ δεν υπάρχουν αντιβιοτικά στο γάλα ή υπάρχουν αλλά σε ποσοστό μικρότερο από την τιμή που αναγράφεται στον επισυναπτόμενο πίνακα.
 - β. Εάν το χρώμα της γραμμής από τις β-λακτάμες είναι πιο ανοιχτό από αυτό του κοντρόλ τότε το αποτέλεσμα είναι θετικό, το οποίο σημαίνει ότι συγκριτικά με την ευαισθησία του τεστ, το γάλα περιέχει αντιβιοτικά στο ίδιο ή μεγαλύτερο ποσοστό από την τιμή που αναγράφεται στον επισυναπτόμενο πίνακα.
16. Επαναλάβετε το ίδιο με τη γραμμή ανίχνευσης των τετρακυκλίνων.
17. Εάν διατάζετε θεωρήστε το δείγμα θετικό και επαναλάβετε το διάβασμα των γραμμών μέσα στα επόμενα 15 λεπτά.
18. Σημειώστε το αποτέλεσμα που βγάλατε από το κάθε στικάκι.
19. Τα στικάκια μπορείτε να τα αρχειοθετήσετε εάν χρειάζεστε αφαιρώντας το σφουγγαράκι από το κάτω μέρος τους πριν από την αρχειοθέτηση. Σ.Σ. Τα χρώματα των γραμμών θα γίνονται πιο έντονα όταν στεγνώσουν.

Εάν έχετε το Readsensor θα πρέπει να διαβάσετε το στικάκι μέσα σε 15 λεπτά αφότου έχει τελειώσει το τεστ. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του Readsensor.

unisensor 

Tel. +32 4 252 66 02 — fax +32 4 252 90 55

www.twinsensor.com — info@unisensor.be — www.unisensor.be

MADE IN BELGIUM

Translations are provided for information purpose only. The English version prevails.