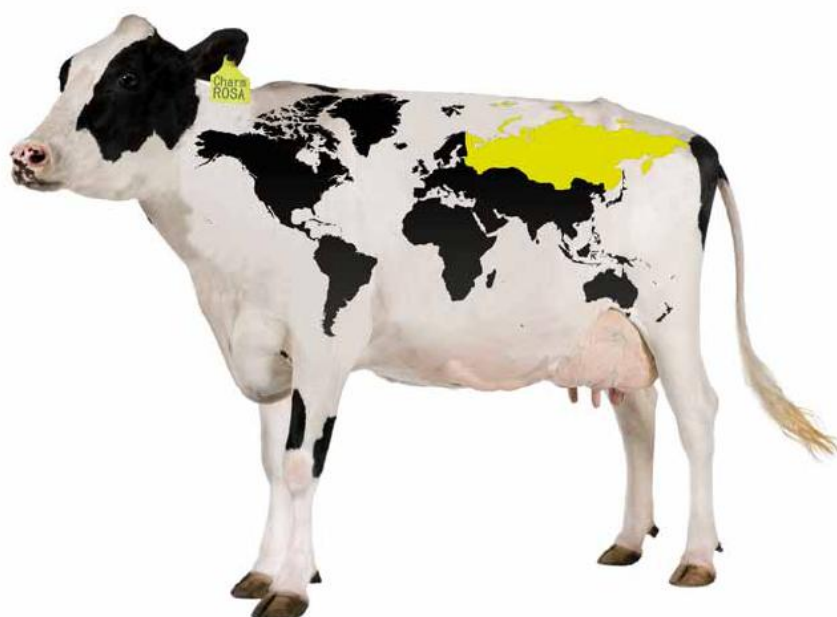


## Charm ROSA® MRL Beta-lactam a RF Tetracyklin 2 minutový test



## Obsah

1. ÚVOD .....	3
2. OBSAH KITU A POTŘEBNÉ VYBAVENÍ.....	3
3. CITLIVOST A SELEKTIVITA.....	3
4. SKLADOVÁNÍ .....	4
5. INTERFERENCE A KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA.....	4
6. ZAŠKOLENÍ .....	4
7. REAGENCIE A SKLADOVÁNÍ.....	4
8. NEGATIVNÍ KONTROLA .....	5
9. POZITIVNÍ KONTROLA.....	5
10. DLOUHODOBÉ SKLADOVÁNÍ VZORKŮ MLÉKA A KONTROL.....	5
11. DENNÍ KONTROLA .....	6
12. INFORMACE O TESTU .....	6
13. PRACOVNÍ POSTUP PRO ROSA READER (PEARL, PEARL-X) S ODDĚLENÝM INKUBÁTOREM: .....	7
14. VIZUÁLNÍ KONTROLA A INTERPRETACE.....	8
15. KOMPLETNÍ PŘEHLED CHARM ROSA TESTŮ .....	10

## Charm MRL Beta-laktamový a RF Tetracyklinový 2 minutový test pro kontrolu syrového kravského, ovčího a koziho mléka (MRLBLRFET2)

### 1. Úvod

Charm MRL beta-laktamový a RF tetracyklinový test je imunoreceptorová analýza využívající ROSA (Rapid One Step Assay) laterální průtokové technologie. Vzorek mléka způsobuje obarvování testovací zóny a intenzita zbarvení testovacích proužků je vyhodnocována čtečkou ROSA Reader nebo EZ reader. Charm MRL beta-laktamový a RF tetracyklinový 2 minutový test detekuje beta-laktamová léčiva na úrovni nebo pod úrovní EU / Codex MRL (maximální reziduální limity) a tetracyklinová léčiva na nebo pod úrovní importních opatření Ruské federace do 2 minut u kravského (nebo 8 minut u ovčího a koziho mléka). Test je určen pro použití v příjmových mlékárenských laboratořích, zemědělských farmách (kontrola bazénové dodávky nebo přeléčených dojnic) před napuštěním do cisterny a v kontrolních laboratořích.

### 2. Obsah kitu a potřebné vybavení

#### V každé testovací sadě

- MRLBLRFET2 testovací stripy
- 4 ppb Penicilin G a 100 ppb Oxytetracyklin pozitivní kontrola
- Návod k obsluze

#### Spotřební materiál

- jednorázové špičky
- jednorázové pipety

#### Vybavení

- ROSA inkubátor
- ROSA Pearl čtečka
- EZ Reader
- Tiskárna (volitelně)
- 300 µl pipety (volitelně)

### 3. Citlivost a selektivita

Syrové mléko prosté beta-laktamů a tetracyklinů vychází negativně nejméně z 99% všech měření.

Tabulka 1. Citlivost – detekční hladiny v syrovém kravském mléce při 0 až 7°C

Beta-laktamová léčiva	Detekční rozsah † (ppb)	EU / CODEX MRL (ppb*)
Amoxicillin	3-4	4
Ampicillin	3-4	4
Cefacetrole	30-50	125
Cefalonium	3-5	20
Cefazolin	15-30	50
Cefoperazone	1-2	50
Cefquinome	15-20	20
Ceftiofur and Metabolite <sup>^</sup>	40-70	100 / 100
Cephapirin	6-10	60
Cloxacillin	10-20	30
Dicloxacillin	10-20	30
Penicillin G	1,5-2,5	4 / 4

\* parts per billion nebo µg/L

<sup>^</sup> samostatný Ceftiofur má citlivost cca ¼ hladiny uvedené v tabulce

† pozitivita 95% všech měření

Tetracyklinová léčiva	Detekční rozsah † (ppb)	Požadavky Ruské federace ‡ (ppb*)
Chlortetracycline ‡	6-10	10
Doxycycline	6-10	10
Oxytetracycline ‡	6-10	10
Tetracycline ‡	6-10	10

\* parts per billion nebo µg/L

^ samostatný Ceftiofur má citlivost cca 1/4 hladiny uvedené v tabulce

† pozitivita 95% všech měření. ‡ Ruský technický předpis na mléko a mléčné výrobky. Federální zákon č. 88 Fl 88 z 12.června 2008.

## 4. Skladování

Skladujte MRLBLTET2 testovací stripy a tablety pozitivní kontroly chlazené při 0 – 7°C. Viz. Reagencie a skladování.

## 5. Interference a křížová reaktivita

U následujících léčiv nedochází k žádným interferencím v hladině 100 ppb:

aminoglycosidy, amphenicol, macrolidy/lincosamidy, nitrofurany, sulfa drugs/sulfonamidy, chlorothiazid, dexamethason, dipyrone, furosemid, ivermectin, novobiocin, oxytocin, PABA, phenylbutazon, trichlormethiazid, thiabendazol. Další detekovaná beta-laktamová a tetracyklinová léčiva: nafcillin při 150 – 200 ppb, oxacillin při 15 – 20 ppb. Nedochází k interferencím se somatickými buňkami v množství  $10^6$  SCC/ml nebo bakteriemi v množství  $3 \times 10^5$  CFU/ml.

## 6. Zaškolení

- Nastavení a použití zařízení je jednoduché a může být provedeno podle návodu.
- Ověřovací vzorky (slepé pozitivní i negativní kódované vzorky) jsou k dispozici pro validaci.
- Pro další dotazy kontaktujte dodavatele Charm testů.

## 7. Reagencie a skladování

Testovací soupravy není nutno posílat chlazené.

### Testovací stripy

- Uchovávejte v chladničce v těsně uzavřeném dodaném obalu.
- Chcete-li obal otevřít, sejměte a uchovejte plastové víko s pěnovou vložkou krytou fólií pro opětovné uzavření. Krcí fólii z obalu odtrhněte a zlikvidujte.
- Pro omezení kondenzace při vysoké vlhkosti nechte nejprve obal ohřát na pokojovou teplotu (20 až 30 minut od vyjmutí z chladničky).

- Zkontrolujte indikátor vlhkosti. Kuličky ve vysoušecím sáčku by měly být modré. Nepoužívejte testovací stripy v případě, že kuličky jsou zbarvené do fialova nebo růžové.
- Vyjměte z obalu potřebný počet testovacích stripů, které spotřebujete během jednoho dne. Tyto stripy ponechte během dne při pokojové teplotě a spotřebujte do 12 hodin. Nespotřebované stripy zlikvidujte.
- Použijte dodané plastové víčko k okamžitému uzavření obalu a vrácení do chladničky.

## 8. Negativní kontrola

- Jako negativní kontrolu použijte syrové mléko prosté beta-laktamových a tetracyklinových reziduí, stejně tak pro rozpuštění pozitivních tablet. Nepoužívejte pasterizované nebo UHT mléko.
- Dodávaná negativní kontrola by měla vycházet silně negativní – BL a TE proužek tmavší než proužek C (viz.vizuální interpretace)
- Viz.**Opakování zkoušky v případě positivity** pro potvrzení negativní kontroly.
- Při skladování v chladu může být negativní kontrola použita až po dobu 72 hodin.

## 9. Pozitivní kontrola

- Charm MRL beta-laktamový a RF tetracyklinový test používá MRLBLTET / TET pozitivní tablety k přípravě  $4 \pm 0,4$  ppb penicilin G a  $100 \pm 20$  ppb oxytetracyklin pozitivní kontroly.
- Pozitivní tablety skladujte v chladu a v uzavřeném zip-lock sáčku odolném proti vlhkosti.
- Rozpusťte pozitivní tabletu v 5,0 ml negativní kontroly (viz výše) a dobře protřepejte. Nechte odstát v chladu po dobu 5 minut a před použitím ještě jednou protřepte.
- Obnovená pozitivní kontrola může být uchovávána v chladu po dobu 48 hodin.

## 10. Dlouhodobé skladování vzorků mléka a kontrol

- Promíchaný vzorek zamrazte (alespoň 0,5 ml) v čisté lahvičce.
- Kontroly by měly být zmrazeny do 6 hodin od přípravy.
- Při teplotě  $-15^{\circ}\text{C}$  nebo nižší mohou být skladovány po dobu 2 měsíců.
- Vzorek pomalu postupně rozmrazujte (přes noc v chladničce nebo studenou vodou) a dobře promíchejte. V chladu je rozmrazený vzorek stabilní po dobu 24 hodin. Viditelně vysrážená bílkovina značí, že vzorek je již nepoužitelný. Jednou rozmrazený vzorek zlikvidujte. **Opakovaně nezmrazujte.**

## 11. Denní kontrola

### - Při použití čtečky Rosa reader

- Pro každodenní monitoring čtečky ROSA jsou k dispozici kalibrační stripy. Kontrolu kalibrace provádějte denně a před každým ověřením vzorku podezřelého z pozitivitu, tím ověříte správnou funkci ROSA čtečky. Kalibrační stripy musí být odečteny ve správném rozsahu. Vyvolejte kalibrační mód čtečky ROSA stisknutím klávesy ESC, 5 a ENTER. Pokud kontrola není odečítána ve stanoveném rozsahu, kontaktujte servisní oddělení dodavatele Charm.
- Pro kontrolu zařízení a testovacích stripů proveďte před každodenním testováním vzorků jednu negativní a jednu pozitivní kontrolu.
- Viz. Opakování zkoušky v případě positivity

### Upozornění

- Vysokotučné vzorky mléka (více než 6,5% tuku) mohou způsobit neplatné výsledky. Neodečítejte takovéto stripy v ROSA čtečce.
- Tyto testy nejsou určeny pro kontrolu pasterovaného nebo sterilovaného plnotučného mléka.
- Nečistoty přítomné na povrchu stripu mohou nepříznivě ovlivnit odečítací optiku. Udržujte proto přístroj v čistotě a před použitím ze stripů odstraňte případný prach a zbytky mléka.
- ROSA inkubátor musí být čistý a teplota zobrazená na indikátoru by se měla pohybovat v rozmezí  $56 \pm 1^\circ\text{C}$ . Provádějte pravidelnou kontrolu teploty. Pokud neprovádíte inkubaci, nechte víko inkubátoru přivřené, ale ne úplně zavřené.
- Vyhřátí ROSA inkubátoru na provozní teplotu může trvat déle než 10 minut, v závislosti na okolní teplotě.

## 12. Informace o testu

- Vzorek syrového mléka musí být zchlazený ( $0$  až  $15^\circ\text{C}$ ).
- Test zchlazených vzorků proveďte do 72 hodin od nadojení.
- Chcete-li po testování zachovat vzorky nebo kontroly, zamrazte je při teplotě  $-15^\circ\text{C}$  nebo nižší. Viz. Dlouhodobé skladování vzorků a kontrol.
- Při testování zmrazeného vzorku, obnoveného sušeného mléka nebo individuálního vzorku dojnice s obsahem částic, vzorek odstředte (3 minuty při  $1200 \pm 200\text{ g}$ ) a pro test použijte horní část. Upozorňujeme, že odstředěné vzorky s nízkým obsahem tuku přinášejí zvýšení citlivosti.
- Individuální vzorky kravského, ovčího a kozího mléka nebo špatně promíchané vzorky s obsahem tuku vyšším než 6,5% mohou způsobit neplatné výsledky. Vzorky před testováním dobře promíchejte.
- Testy lze provádět při okolní teplotě  $10$  až  $30^\circ\text{C}$  v prostředí s přirozeně cirkulujícím vzduchem.

## Informace k testování ovčího a kozího mléka

- Testování směsného vzorku syrového ovčího a kozího mléka vyžaduje prodloužení inkubačního času z 2 minut na 8 minut
- K prodloužení inkubačního času na Charm EZ nebo Rosa readeru kontaktujte svého dodavatele

## 13. Pracovní postup pro Rosa Reader (Pearl, Pearl-X) s odděleným inkubátorem:

Zkontrolujte, že teplota ROSA inkubátoru je  $56 \pm 1^\circ\text{C}$ . Použijte MRLBLTET2 testovací stripy. Strip do inkubátoru vložte profilovanou stranou dolů.

### Krok 1

- **Všechny vzorky před testováním dobře promíchejte.**

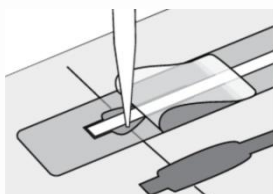


### Krok 2

- **Označte testovací stripy** popisem vzorku. Stripy mohou být vloženy do inkubátoru, aby nedošlo k promáčknutí rezervoáru.

### Krok 3

- **Vložte strip do ROSA inkubátoru**
- Přidržte strip v inkubátoru a odlepte vrchní ochrannou fólii až k uvedené značce. Dejte pozor na poškození své houbičky.



### Krok 4

- Nasajte pipetou 300  $\mu\text{l}$  mléka bez pěny a vzduchových bublin.
- Pipetu přiložte kolmo k rezervoáru s houbičkou a z jedné strany v místě indikační linie na stripu **pomalou pipetujte 300  $\mu\text{l}$  ( $\pm 15 \mu\text{l}$ )**.

### Krok 5

- **Ochrannou fólii opět přelepte** vzorkovací komůrku.
- Pokud testujete více vzorků najednou opakujte: odlepení, pipetování, opětovné přelepení u každého stripu.
- Dokončete přípravu všech vzorků během 1 minuty.

### Krok 6

- **Uzavřete víko** inkubátoru a zajistěte jej. Automaticky se spustí časovač a rozsvítí se červená kontrolka.

## Krok 7

- Inkubujte 2 minuty\*, ne však déle než 3 minuty.
- Po 2 minutách se spustí alarm a začne blikat střídavě žlutá a červená kontrolka.

## Krok 8

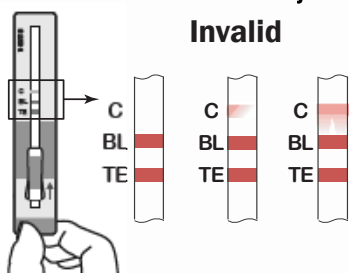
- **Vyjměte strip** z ROSA inkubátoru. Během odečítání držte strip vzorkovací komůrkou směrem dolů a nemačkejte ji.
- Odečtěte do 5 minut od konce inkubace.
- Víko inkubátoru přivřete, nezajišťujte jej.

\* Inkubujte 8 minut, ne však déle než 9 minut pokud testujete ovčí nebo kozí mléko.

## 14. Vizuální kontrola a interpretace

Během odečítání držte strip vzorkovací komůrkou směrem dolů a nemačkejte ji. Opatrně ze stripu setřete případné nežádoucí částice.

Zkontrolujte C kontrolní proužek, a pokud:



- C proužek chybí
- C proužek je rozmazaný nebo nerovnoměrný
- Pokud mléko zakrývá proužky C, BL (beta-laktam) nebo TE (tetracyklin). Je test neplatný.

Opakujte test znovu. Neplatné stripy nekládejte do čtečky.

Pokud je proužek C správně vybarvený, proveďte vizuální posouzení dle přiložené tabulky.

### Interpretace odečítacím zařízením

Výsledky MRLBLRFET2 testů musí být odečítány pomocí Rosa čtečky (PEARL, PEARL-X nebo EZ Reader).

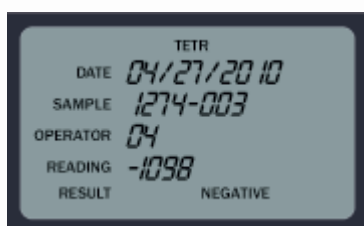


Do 5 minut od dokončení testu vložte čistý a vizuálně zkontrolovaný strip do čtečky Rosa jak je znázorněno. Zasuňte jej celý do otvoru.

Odečtěte výsledky na kanálu TETR čtečky Rosa v 3-proužkovém/3 minutovém módu. Pokud to požadujete, může být zadána identifikace **vzorku** a/nebo **operátora**, potvrdit stisknutím ENTER. Na displeji se zobrazí číselná hodnota (**READING**) a interpretace výsledků (**RESULT**).

Výsledky jsou uloženy do paměti a mohou být zpětně vyvolány k přenosu do počítače nebo vytisknuty.





**Negativní** – pokud je **odečtené číslo záporné** nebo rovno nule, bude čtečka ROSA zobrazovat **negativní výsledek**.

**Pozitivní** – pokud je **odečtené číslo kladné**, bude čtečka ROSA zobrazovat **pozitivní výsledek**. Vzorek by měl být znovu testován. Viz. Opakování zkoušky v případě positivity.

## Opakování zkoušky v případě positivity

1. Pozitivní vzorek opakujte nejlépe duplicitně s pozitivní i negativní kontrolou.
2. U negativní kontroly musí být odečtená hodnota nižší než -400 a výsledek na ROSA čtečce negativní.
3. U pozitivní kontroly musí být odečtená hodnota vyšší než +400 a výsledek na ROSA čtečce pozitivní.
4. Jestliže jedna z kontrol není v uvedeném rozsahu opakujte test. Pokud kontrola nebude stále v požadovaném rozsahu, kontaktujte svého dodavatele.
5. Jestliže se obě kontroly pohybují v uvedeném rozsahu a jeden nebo oba opakovaně testované vzorky jsou pozitivní, je vzorek pozitivní na beta-laktam a/nebo tetracyklin.

## 15. Kompletní přehled Charm ROSA testů

