

# TriSensor

For product code: KIT035 - Incubation temperature: 40°C

GB

**A Rapid Test For  $\beta$ -lactams,  
Sulfonamides and Tetracyclines Detection in MILK**

## OPERATING INSTRUCTIONS

---

SP

**Prueba rápida para la detección de  $\beta$ -lactámicos,  
sulfonamidas y tetraciclinas en leche**

## INSTRUCCIONES

---

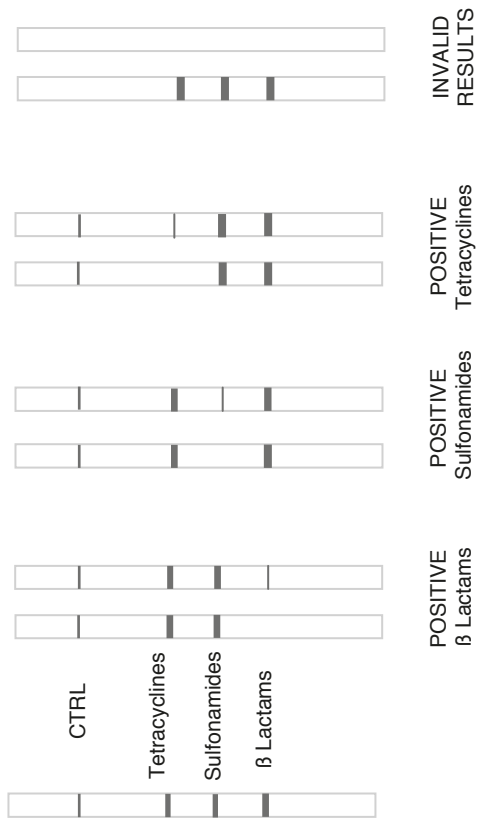
FR

**Un test rapide permettant la détection des  $\beta$ -lactames,  
Sulfamides et Tétracyclines dans le LAIT**

## MANUEL D'UTILISATION



**Figure A : Visual interpretation**



**TABLE A : Limits of detection of Trisensor**

B-LACTAMES (ppb)		SULFONAMIDES (ppb)		TETRACYCLINES (ppb)	
<b>Penicillines</b>		Sulfadiazine	8-10	Tétracycline	80-100
Penicilline G	2,5-3,5	Sulfapyridine	0,5-1	Oxytétracycline	60-70
Ampicillin	3-4	Sulfathiazole	7,5-8,5	Chlortétracycline	50-60
Amoxicillin	3-4	Sulfamethoxazole	320-360	Doxycycline	20-30
Oxacillin	13-15	Sulfamethazine	1-2		
Cloxacillin	7-9	Sulfamethoxyipyridazine	2-3		
Dicloxacillin	4-6	Sulfadimethoxine (Sdm)	10-15		
Nafcillin	50-70	Sulfacetamide	300-600		
<b>Cefalosporines</b>		Sulfamerazine	2-3		
Ceftiofur	8-12	Sulfamonomethoxine	8-12		
Cefquinome	16-20	Sulfaquinoxaline	14-18		
Cefazolin	15-19	Sulfachloropyridazine	5-10		
Cefapirine	4-6	Sulfaguanidine	15-25		
Cefacetile	16-20	Sulfamethizole	220-260		
Cefoperazone	3-4	Sulfasalazine	250-350		
Cefalexin	700-800				
Cefalonium	3-5				

Trisensor is a rapid test that allows you to simultaneously detect the presence of both  $\beta$ -lactam, Sulfonamide and Tetracycline molecules in a milk sample.

## II. Summary of the protocol

- Add 200  $\mu$ 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.

## III. Reaction Mechanism

Trisensor is a competitive test involving two receptors and generic monoclonal antibodies 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. For a valid test, the upper red control line has to be visible after the second incubation (see Figure A). The other three are the specific "test" lines placed below the control line. The line for  $\beta$ -lactam antibiotics (penicillins and cephalosporins) is located below the sulfonamide line 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 and monoclonal antibodies 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.

## IV. Composition of kits

Trisensor Milk Kits contain everything needed to perform 96 measurements.

- 12 pots each with 1 strip of 8 reagent microwells and 8 dipsticks;
- 1 Micropipette of 200  $\mu$ l;
- « Positive Standard » containing powder to reconstitute "positive standard" raw milk of PenG, Sulfadimethoxine and Oxytetracycline (See point X for standards reconstitution). 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 (See point X for standards reconstitution). The Negative Std is stained by a dye to give it a very pale green colour;
- One instruction sheet.

## V. Additional material needed

- 1 Heatsensor (40°C incubation, refer to the used Heatsensor manual).
- 1 Readsensensor (optional, refer to the Readsensensor manual).

## VI. General Remarks

1. If instrumental reading is chosen for result interpretation, the Readsensensor must be switched on before the analysis (see Readsensensor manual);
2. 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;
3. Avoid using clotted milk with Trisensor;
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 Trisensor assay. (Refer to the used Heatsensor manual for setting at right temperature and timing);
5. After the second incubation, read the result within a 10-minutes time-frame. Do not attempt to interpret the result after 10 minutes;
6. When drying, the colour intensities of the lines will become sharper;
7. When a positive result is recorded, the test result should be confirmed;
8. Empty one pot before opening another pot.

## VII. 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.

## VIII. 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 one 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 (refer to the used Heatsensor 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 used for the test which are: dipsticks and the freeze-dried reagents in microwells. Both are stored in the white plastic pots.
4. Determine how many 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 sample 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 tip on the micropipette and transfer 200 µl of milk into each of the microwells;
8. **Warning: when reagents and milk are in contact, the reaction begins. Mix quickly AND IMMEDIATELY push the START(RUN) button. The 3-minutes countdown starts;**
  - During that first incubation, both receptors and monoclonal antibodies 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-minutes 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. If you are not planning to perform any other test within the day with Trisensor, put everything back into the box and 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)*

## IX. Visual interpretation of results (see Figure A)

Make visual readings as follows:

14. First check whether the top control line is present. If it is not, regard the analysis as invalid and do not start (or continue) any interpretation.
15. When the top control line can be seen, interpret the three 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  $\beta$ -lactams for example);
  - 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 A;

- 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 A.
17. When you have interpreted one test line, do the same for the other lines;
  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 Readsensur, you should read the dipstick within 10 minutes of performing the test. See the user manual of Readsensur.

## X. Negative and Positive standards reconstitution

- Remove the cap and rubber stopper from the vial and add 1 ml of distilled or deionised water;
- Replace the stopper and leave to stand for 1 minute and a half;
- Vigorously shake the sample during 10 seconds;
- Check that the sample is properly dissolved.

The test material is now ready to use.

**SP**

## I. Introducción

Trisensor es una prueba rápida que permite detectar simultáneamente la presencia de antibióticos tanto de β-lactámicos y sulfamidas como de tetraciclinas en una muestra de leche.

## II. Resumen de protocolo

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

## III. Mecanismo de reacción

Trisensor consiste en una prueba comparativamente atrayente que incluye dos receptores y anticuerpos genéricamente monoclonales en una sola operación. La prueba requiere la utilización de dos componentes. El primer componente es un micropocillo que contiene cantidades previamente determinadas de ambos receptores y anticuerpos enlazados con partículas de oro. El segundo componente consiste de una tira indicadora constituida por un conjunto de membranas con líneas de captura específicas. Para que la prueba sea válida, la línea roja de control tiene que ser visible al final de la segunda incubación (ver imagen A). Las otras tres son las líneas de "prueba" específicas que se encuentran debajo de la línea de control. La línea para los antibióticos β-lactámicos (penicilinas y cefalosporinas) está localizada debajo de la línea de sulfamidas mientras la línea de mide tetraciclinas se encuentra arriba. Cuando el reactivo del micropocillo se vuelve a poner en suspensión con una prueba 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.

## IV. Composición de los kits analíticos

Los kits Trisensor Leche contienen todo lo que se necesita para ejecutar 96 pruebas.

- 12 tubos cada uno con 1 serie de 8 reactivos micropocillos y 8 tiras indicadoras;
- 1 micropipeta de 200 µl;
- 1 Estándar Positivo ("Positive Standard") que contiene polvo para reconstituir leche cruda con un "control positivo" y Penicilina G, Sulfadimetoxina y de oxitetraciclina (ver punto X para estándares de reconstitución). Para facilidad de reconocimiento, el "Positive Standard" se tinte con una tintura para darle un color rojo muy pálido;
- 1 Estándar Negativo ("Negative Standard") que contiene polvo para reconstituir "control negativo" leche cruda. El "Negative Standard" se tinte con una tintura para darle un color verde muy pálido;
- Una hoja con instrucciones.

## V. Material adicional necesario

- 1 Heatsensor (40°C incubación, remitirse al manual de usuario para Heatsensor);
- 1 Readsensord (opcional, remitirse al manual de usuario para Readsensord).

## VI. Observaciones generales

1. Si elige hacer una lectura instrumental para los resultados, se debe prender el Readsensord antes de hacer el análisis (ver manual de Readsensord).
2. 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 esponga a la humedad ni a la luz.
3. Evite usar leche coagulada con Trisensor.
4. La mejor temperatura para ejecutar la prueba es 40°C ± 3°C. Utilizar el "Heatsensord" (o alternativamente el baño de agua). Cualquier otro tipo de incubadora no es apropiada para realizar la prueba Trisensord. (Remítirse al manual del Heatsensord 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 10 minutos. Después de 10 minutos no intente interpretar el resultado.
6. Cuando se seca, las intensidades de color de las líneas se vuelven más pronunciadas.
7. Cuando se registra un resultado positivo, el resultado de la prueba se tiene que confirmar.
8. Vaciar un tubo antes de abrir otro tubo.

## VII. Dilución de polvo de leche

1 Heatsensord (40°C incubación, remitirse al manual de usuario para Heatsensord);

1 Readsensord (opcional, remitirse al manual de usuario para Readsensord).

## VIII. 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 el 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 Heatsensord (ver el manual) y esperar hasta que la temperatura de estabilice a 40°C.  
- *Toma unos 10 minutos para que la temperatura se estabilice a 40°C.*
3. Antes de abrir los reactivos, sacar el juego del frío y esperar a 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 micropocillos. Ambos se guardan en los tubos blancos de plástico.*
4. Determinar cuántas muestras de leche se van a someter a la prueba y escribir en cada una el número de identificación.  
- *La prueba de leche debe estar líquida y ser homogénea. No debe 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 micropocillos 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 micropocillos, dejar el juego de 8 tapas en los no utilizados y no arrancar la tira de las 8 tapas, más bien dejarla en los micropocillos 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) micropocillo(s) en el bloque de calentamiento que muestra 40°C.
7. Colocar una nueva punta de pipeta en la "micropipeta" y transferir 200 µl de leche en cada uno de los microwells.
8. **Advertencia: Cuando los reactivos y la leche entran en contacto comienza una 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 abrió anteriormente y sacar tantas tiras indicadoras como 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 micropocillos que hay en la incubadora.  
- Asegurarse de poner en el micropocillo 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 micropocillos, 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 Trisensor dentro del mismo día, almacenarlo bajo refrigeración a una temperatura entre 2 y 8°C.  
*\*(Remítase al manual del Heatsensor utilizado—para los usuarios de Heatsensor DUO, los puntos 9 hasta 12 están simplificados).*

## IX. Interpretación visual de los resultados (ver Imagen A)

Realice las lecturas (visuales) de manera siguiente:

14. Primero verificar si la línea central de control está presente. Si no fuera así, considerar el análisis como no válido y no comience (ni continúe) ninguna interpretación.
15. Cuando se puede ver la línea de control, interpretar las tres líneas de prueba como sigue:
16. Examinar una línea de prueba a la vez y comparar la intensidad de color de la línea de prueba con la intensidad de color de la línea de control. (Empezar con la línea de abajo para  $\beta$ -lactámicos, por ejemplo)
  - Si la línea de prueba 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 (A).
  - Si la línea de prueba 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 (A).
17. Cuando haya interpretado una línea de prueba, hacer lo mismo con la otra línea.
18. Si hubiera dudas de que sea positivo ya que se aprecia, considerar 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.  
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 Readsensord, tiene que leer la tira indicadora dentro de los 15 minutos de la ejecución de la prueba. Véase el manual de usuario del Readsensord.

## X. Reconstitución de estándares positivos y negativos

- Remover la tapa y parador de goma del vial y añadir 1 ml de agua destilada y desionizada.
- Remplazar el parador y dejar por 1 minuto y medio.
- Agitar la muestra vigorosamente durante 10 segundos.
- Asegurarse de que la muestra esté completamente diluida.

El material de prueba está listo para usar.

Trisensor est un test rapide qui permet de détecter simultanément la présence de molécules de  $\beta$ -lactames, Sulfamides et Tétracyclines dans un échantillon de lait.

## II. Résumé du protocole

- Ajoutez 200  $\mu$ l de lait dans une microcuvette et mélangez afin d'obtenir une solution homogène ;
- Incubez 3 min à 40 °C ;
- Introduisez une bandelette dans chaque microcuvette ;
- Poursuivez l'incubation pendant 3 min à 40 °C ;
- Interprétez le résultat.

## III. Mécanisme de la réaction

Trisensor est un test de compétition qui se base sur la reconnaissance de deux récepteurs pour les  $\beta$ -lactames et Tétracyclines et d'un anticorps monoclonal générique pour les Sulfamides, en une seule opération. Ce test fait intervenir deux composants : d'une part une microcuvette contenant une certaine quantité de récepteurs et d'anticorps fixés à des particules d'or colloïdal, d'autre part une bandelette, composée de membranes, sur laquelle se trouvent des lignes de capture. Pour que le test soit valide, la ligne contrôle rouge doit être visible après la seconde incubation (voir Figure A). Les 3 autres lignes, situées sous la ligne contrôle, sont les lignes spécifiques de capture. La ligne des  $\beta$ -lactames (pénicillines et céphalosporines) se trouve sous la ligne des sulfamides, et la ligne des tétracyclines est placée au-dessus. Lorsque l'échantillon de lait est mis en présence des réactifs, les antibiotiques éventuellement présents se fixent sur les récepteurs et les anticorps monoclonaux au cours de la première incubation de 3 minutes à 40 °C. Ensuite, lorsque la bandelette est introduite dans le mélange, le liquide commence à migrer verticalement sur la bandelette pour traverser les zones de capture. Si l'échantillon ne contient pas d'antibiotiques, 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, à la ligne de capture respective, un signal coloré égal ou moins important que celui du contrôle.

## IV. Composition des kits

Les kits de Trisensor Milk contiennent les éléments nécessaires à la réalisation de 96 tests:

- 12 tubes contenant chacun 1 barrette de 8 microcuvettes de réactifs et 8 bandelettes ;
- 1 micropipette de 200  $\mu$ l ;
- 1 "contrôle positif" sous forme de poudre pour reconstituer un lait cru positif à la PenG, la Sulfadiméthoxine et l'Oxytétracycline. Ce contrôle positif contient un colorant rouge clair ;
- 1 « contrôle négatif » sous forme de poudre pour reconstituer un lait cru négatif. Ce contrôle négatif contient un colorant vert clair ;
- 1 protocole d'utilisation.

## V. Matériel supplémentaire

- 1 Heatsensor (incubation à 40°C, voir le manuel d'utilisation du Heatsensor).
- 1 Readsensorm (en option, voir le manuel d'utilisation du Readsensorm).

## VI. Remarques générales

1. Pour toute lecture instrumentale des résultats, il faut allumer le Readsensorm avant de débiter l'analyse (voir le manuel d'utilisation du Readsensorm) ;
2. Dès réception du kit, placez-le dans un endroit sec et à une température entre 2°C et 8°C. Avant d'ouvrir les pots de réactifs, laissez-les revenir à température ambiante et évitez toute exposition du produit à l'humidité et à la lumière ;
3. Les contrôles se présentent sous formes de fioles en verre. Il faut reconstituer les fioles de lait contrôle avec 1ml (5 X 200 $\mu$ l) d'eau pure. Mélangez énergiquement (à l'aide d'un vortex) pour obtenir une solution homogène. Les fioles en verre reconstituées peuvent se conserver à -20°C, mais elles ne peuvent être congelées / décongelées qu'une seule fois ;
4. Evitez d'utiliser un lait contenant des grumeaux avec les tests Trisensor ;
5. La température idéale pour réaliser le test Trisensor est de 40°C  $\pm$  3°C. Il est recommandé d'utiliser le Heatsensorm (ou, à défaut, un bain marie). Tout autre type d'incubateur n'est pas approprié (voir le manuel d'utilisation du Heatsensorm pour le programmer correctement) ;
6. Après la seconde incubation, retirez directement le filtre de chaque bandelette et lisez le résultat endéans les 10 minutes ; ne réalisez plus de lecture après 10 minutes ;
7. Au séchage, l'intensité de la couleur des lignes de capture devient plus forte ;
8. Lorsque le test est positif, confirmez ce résultat ;
9. Videz d'abord un pot avant d'en ouvrir un autre.

## VII. Dilution du lait en poudre

Dans un bécher approprié, ajoutez 10g de lait en poudre et 90ml d'eau chaude distillée (40°C); mélangez énergiquement.

## VIII. Protocole d'utilisation

*Cette procédure permet de réaliser de manière simple un seul test à la fois ou une série de tests en parallèle. Dans le second cas, réalisez le test en cascade et évitez tout retard lorsque vous mélangez les réactifs au lait ainsi que lorsque vous introduisez et retirez les bandelettes. Assurez-vous de respecter le même temps d'incubation et la même température pour chaque échantillon. Si vous testez plus de 3 échantillons, il est conseillé d'utiliser une multipipette. Si vous avez plus de 8 échantillons, répartissez-les en séries de maximum 8 échantillons.*

1. Pour réaliser le test, installez-vous dans un endroit propre et sec ; lavez-vous et séchez-vous les mains ;
2. Allumez le Heatsensor (voir manuel d'utilisation) et attendez que la température ait atteint 40°C  
*- Il faut environ 2 minutes pour que la température se stabilise à 40°C ;*
3. Sortez le kit du frigo et attendez qu'il revienne à température ambiante avant d'ouvrir les microcuvettes de réactifs. Pendant ce temps, lisez attentivement le protocole d'utilisation ;  
*- Les deux composants principaux du test, à savoir les bandelettes et les microcuvettes contenant les réactifs lyophilisés, sont placés dans des tubes en plastic blancs.*
4. Rassemblez les échantillons de lait à tester et identifiez-les 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 de l'échantillon est de 4 à 20°C.*
5. Ouvrez un tube en plastic et prenez autant de microcuvettes qu'il y a d'échantillons de lait à tester (si nécessaire, les contrôles positif et négatif compris) ;  
*- Pour ouvrir un tube, retirez l'anneau de sécurité en le poussant vers le bas et enlevez le bouchon en le poussant vers le haut à l'aide de votre pouce ;*  
*- Après avoir pris les réactifs, le tube doit toujours être refermé correctement ;*  
*- Soyez vigilant: si vous n'avez pas l'intention d'utiliser les 8 microcuvettes d'une barrette en une fois, laissez la rangée des 8 capuchons solide, replacez les 8 capuchons sur les microcuvettes non utilisées et remettez-les immédiatement dans le tube blanc sans endommager les bandelettes. Refermez correctement le tube.*
6. Placez les microcuvettes sur le bloc chauffant qui indique 40°C ;
7. Placez une nouvelle pointe sur la micropipette et ajoutez 200µl de lait dans chaque microcuvette ;
8. **ATTENTION: dès que le lait est mélangé aux réactifs, la réaction commence. Mélangez donc rapidement et enclenchez DIRECTEMENT le chrono en appuyant sur START (RUN)\* pour commencer la première incubation de 3 minutes ;**  
*- Au cours de la première incubation, les récepteurs et l'anticorps monoclonal détectent la présence éventuelle d'antibiotiques dans l'échantillon de lait. La réaction complète dure 3 minutes.*
9. Pendant ce temps, ouvrez le tube et prenez autant de bandelettes qu'il n'y a d'analyses en cours. Refermez le tube. Déposez les bandelettes sur une surface propre et sèche et indiquez sur la partie cellulosique de chaque bandelette le numéro correspondant à l'échantillon de lait concerné ;
10. Quand le signal sonore retentit, les 3 minutes sont terminées. Appuyez sur START (STOP)\* pour arrêter le chrono et introduisez les bandelettes dans les microcuvettes correspondantes restées sur l'incubateur ;  
*- Veillez à introduire dans la microcuvette la bandelette qui portera la même identification que celle de l'échantillon de lait concerné.*
11. Commencez la seconde incubation de 3 minutes en appuyant sur START (RUN)\*;
12. Lorsque la seconde incubation de 3 minutes est terminée, appuyez à nouveau sur START (STOP)\* pour arrêter le chrono ; retirez les bandelettes des microcuvettes et déposez-les sur une surface propre et sèche ;
13. Si vous n'avez pas l'intention de réaliser d'autres tests Trisensor dans la journée, replacez tous les éléments dans la boîte et remettez le kit au frigo à une température de 2 à 8°C.  
*\* (voir le manuel d'utilisation du Heatsensor – pour les utilisateurs du Heatsensor DUO, les étapes 9 à 12 sont simplifiées)*

## IX. Analyse visuelle des résultats (voir Figure A)

Procédez à l'analyse visuelle des résultats de la façon suivante:

14. Vérifiez d'abord que la ligne contrôle (ligne supérieure) est visible. Si ce n'est pas le cas, l'analyse est non valable, ne commencez (ou continuez) pas l'interprétation ;
15. Si la ligne contrôle (ligne supérieure) est visible, interprétez alors les trois lignes test comme suit :
16. Examinez une ligne test à la fois et comparez-en l'intensité colorée avec celle de la ligne contrôle (commencez par la ligne inférieure des  $\beta$ -lactames par exemple) ;

- Si la ligne test est plus foncée que la ligne contrôle, le résultat est considéré comme étant NEGATIF, et, tenant compte de la sensibilité du test, l'échantillon de lait ne contient pas d'antibiotiques ou en contient en concentration inférieure à ce que renseigne le tableau A annexé ;
  - Si la ligne test est de même intensité, ou si elle est plus claire que la ligne contrôle, le résultat est considéré comme étant POSITIF, et, tenant compte de la sensibilité du test, l'échantillon de lait contient une concentration en antibiotiques égale ou supérieure à ce que renseigne le tableau A annexé.
17. Quand vous avez fini avec une première ligne test, réalisez la même interprétation avec les autres lignes ;
  18. Si vous hésitez, considérez l'échantillon comme étant POSITIF et confirmez par une seconde lecture 15 minutes plus tard ;
  19. Ecrivez le résultat sur chaque bandelette ;
  20. Pour archiver définitivement les bandelettes, nous conseillons de retirer délicatement la membrane inférieure de la bandelette. Notez que les couleurs s'intensifient au séchage.

Si vous possédez un Readsensar, vous devez lire les bandelettes dans les 10 minutes qui suivent la fin du test. Voir le manuel d'utilisation du Readsensar.

## **X. Reconstitution des standards négatifs et positifs**

- Enlever le bouchon en caoutchouc et ajouter 1ml d'eau distillée ou désionisée.
- Replacer le bouchon en caoutchouc et laisser reposer 1,5 min.
- Vortexer ou homogénéiser vigoureusement la fiole pendant 10s.
- Vérifier l'absence d'agglomérat.

Le standard est maintenant prêt à être utilisé.

# TriSensor

Tél. +32 4 252 66 02 - Fax +32 4 252 90 55  
**[www.unisensor.be](http://www.unisensor.be) [info@unisensor.be](mailto:info@unisensor.be)**

Made in Belgium

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