

Waschanleitung

Kleine Probleme mit dem Waschen können sich negativ auf die Ergebnisse auswirken.

Zeichen für falsches Waschen sind **Randeffekte**, **erhöhter Hintergrund** oder **Positiv- / Negativergebnisse**, die in einem zweiten Testdurchgang **nicht bestätigt** werden.

Allgemeine Empfehlungen

- **Stellen Sie vor dem Waschen sicher, dass keine Kristalle in der Waschlösung (20-fach oder 1-fach konzentriert) vorhanden sind.** Um Kristalle aufzulösen, legen Sie die Flasche mit der Waschlösung in sehr heißes Wasser – die Kristalle lösen sich in weniger als 1 Minute auf. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur gelagert werden, um die Kristallisierung zu vermeiden.
- Bereiten Sie die Waschlösung gemäß der Gebrauchsinformation vor.
- Respektieren Sie die Anzahl der Waschschriffe, die in der Gebrauchsinformation für jede Etappe des Protokolls angegeben ist. Die meisten Teste benötigen zu mindestens 300-350 µl Waschlösung pro Vertiefung und pro Waschgang. Achten Sie darauf, dass die Vertiefungen bis oberhalb des Niveau der Reagenzien gefüllt werden. Lassen Sie die Vertiefungen aber nicht überlaufen, anderenfalls können die Ergebnisse ungültig werden.
- IDvet stellt nur eine Waschlösung her. Wenn nötig, können Waschlösungen der gleichen Charge untereinander ausgetauscht werden. Waschlösungen die von anderen Herstellern angeboten werden, sowie PBS-Tween Puffer sind ebenfalls mit IDvet Testkits kompatibel.
- Vermeiden Sie verlängerte Inkubationszeiten, es sei denn, es ist in der Gebrauchsinformation explizit empfohlen.
- Saugen Sie die Reagenzien von der Platte ab, bevor Sie die Waschlösung verteilen.
- Lassen Sie die Platte zwischen den einzelnen Waschgängen und vor der Verteilung der Reagenzien nicht austrocknen.
- Nicht die Oberfläche der Platten ankratzen, da dadurch Antigen/Antikörper entfernt werden könnte, und es so zu ungenauen bzw. falschen Ergebnissen kommen könnte.

- Nach dem letzten Waschgang sollte die Platte umgedreht und auf saugfähigem Papier ausgeklopft werden, um die letzten Tröpfchen der Waschlösung zu entfernen. Wenn nötig, kann das Waschvolumen pro Vertiefung erhöht werden (z.B. 350-400 µl); die Inkubationszeit zwischen den Waschgängen kann um 1 min. verlängert werden. Nach dem Ausklopfen, überprüfen Sie, dass keine Färbung auf dem saugfähigem Papier erscheint. Dies würde auf ein unvollständiges Waschen der Platte und auf Rückstände der Reagenzien in oder um die Vertiefungen hinweisen.
- Für Milchproben, Albumin, Vollblut- oder Eigelbproben, achten Sie ganz besonders darauf, die Vertiefungen zu überprüfen. Aufgrund der Protein- oder Fettzusammensetzung dieser Proben, kann das Waschen der Vertiefungen schwieriger sein und die maximal empfohlenen Waschgänge benötigen. Achten Sie darauf, dass sich nach dem Waschen kein Fettring in den Vertiefungen absetzt. Zwischen den Waschgängen ist es möglich die Vertiefungen 2-5 min. mit Waschlösung inkubieren zu lassen.

Manuelles Waschen

- Manuelle Methoden beinhalten Waschen mit Multikanalmikropipetten oder Waschflaschen (nicht empfohlen). Diese Waschmethoden sind nicht sehr effizient und können hohe oder unregelmäßige unspezifische Hintergrundsignale verursachen.
- Achten Sie darauf, dass die Vertiefungen vollständig gefüllt sind.
- Den Inhalt der Vertiefungen ausklopfen oder absaugen. Um die Platten auszuklopfen, drehen Sie die Platte zügig über einem Waschbecken um und führen Sie zwei schnelle Bewegungen zum Leeren der Vertiefungen aus. Dann fahren Sie mit dem nächsten Waschgang fort. Achten Sie darauf, dass die Vertiefungen zwischen den Waschgängen komplett geleert werden.
- Arbeiten Sie zügig, damit die Zeit zwischen den ersten und letzten Vertiefungen/Reihen gering bleibt. Ist die Zeit zu lang, können die leeren Vertiefungen austrocknen und die letzten Vertiefungen eine längere Inkubationszeit als die ersten haben.
- Vermeiden Sie das Austrocknen der Vertiefungen zwischen den Waschgängen oder vor der Verteilung des nächsten Reagenz.
- Klopfen Sie die Platten auf saugfähigem Papier aus, bevor Sie das Konjugat oder die Substratlösung verteilen. Überprüfen Sie, dass keine Färbung auf dem saugfähigem Papier erscheint. Dies würde auf ein unvollständiges Waschen der Platte und auf Rückstände der Reagenzien in oder um die Vertiefungen hinweisen.

Halb-manuelles Waschen

- Bei IDvet kommt ein halb-manuelles Waschsystem zum Einsatz; das aus einem Glas-Erlenmeyerkolben und einem Dispensierkamm besteht:



- Achten Sie darauf, dass die Vertiefungen vollständig aufgefüllt sind.
- Drehen Sie die Platte zügig über einem Waschbecken um und führen Sie zwei schnelle Bewegungen aus, um die Vertiefungen zu leeren. Dann fahren Sie mit dem nächsten Waschgang fort. Achten Sie darauf, dass die Vertiefungen zwischen den Waschgängen komplett geleert sind.
- Vermeiden Sie das Austrocknen der Vertiefungen zwischen den Waschgängen oder vor der Verteilung des nächsten Reagenz .
- Klopfen Sie die Platten auf saugfähigem Papier aus, bevor Sie das Konjugat oder die Substratlösung verteilen. Überprüfen Sie, dass keine Färbung auf dem saugfähigem Papier erscheint. Dies würde auf ein unvollständiges Waschen der Platte und Rückstände der Reagenzien in oder um die Vertiefungen hinweisen.

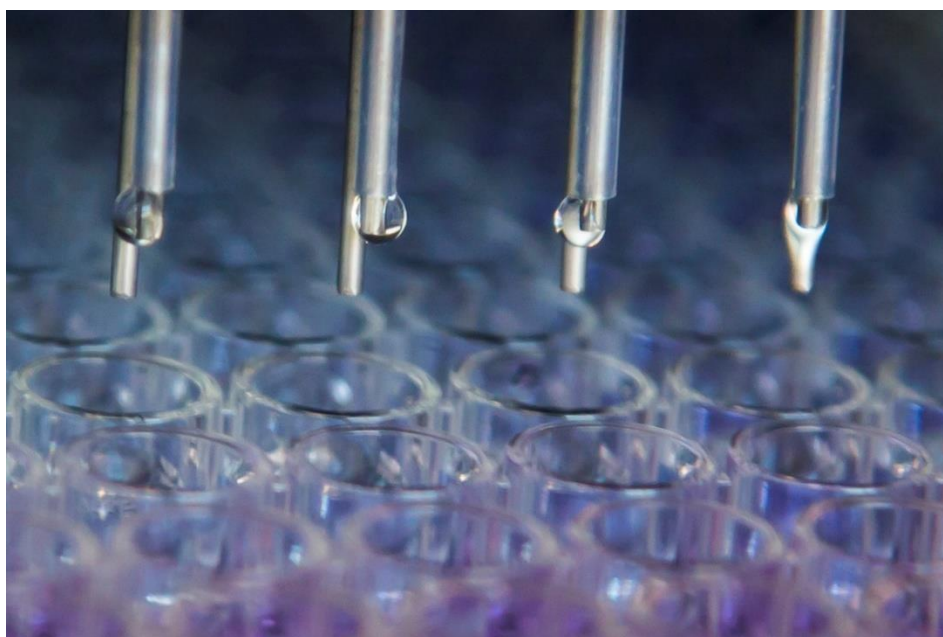


Automatisches oder halb-automatisches Waschsystem

- Im allgemeinen sorgen ordnungsmäßig funktionierende automatische oder halb-automatische Waschsysteme für ein gleichmäßigeres Waschen als manuelle Systeme.
- Achten Sie darauf, dass alle Nadeln die Flüssigkeiten gleichmäßig verteilen, und dass die Absaugungsanschlüsse gleichmäßig absaugen.
- Das Waschen der Platten muss von Platte zu Platte und von Reihe zu Reihe gleichmäßig vorgehen.
- Sorgen Sie dafür, dass Ihr Waschsystem sachgemäß gereinigt und gewartet wird. Bakterielle Mikrofilme in den Leitungen können sich negativ auf die Ergebnisse auswirken.
- Automatisierte Waschsysteme müssen auf mindestens 3 Waschgänge programmiert sein.
- Die Waschsysteme müssen so kalibriert sein, dass die Vertiefungen, zwischen jedem Waschgang korrekt gefüllt und vollständig geleert werden.
- Die Plattenhöhe kann von einem Hersteller zum anderen unterschiedlich sein. Daher müssen die Absaugungsparameter gemäß dem Plattenhersteller der im Kit befindlichen Platten eingestellt sein (siehe folgendes Kapitel).

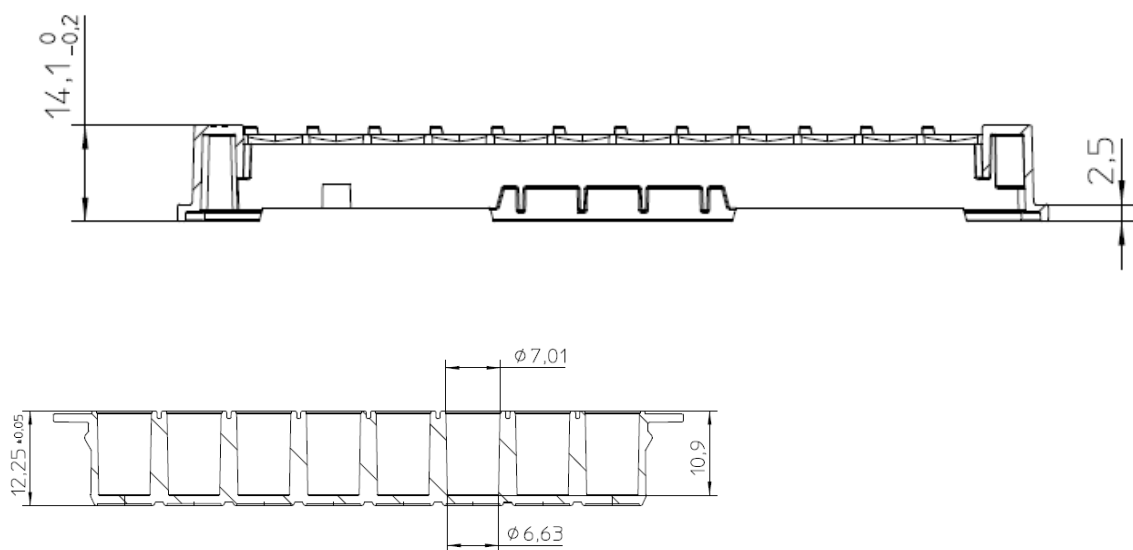


- **Wenn Sie ein Plattenwaschgerät benutzen, denken Sie daran, folgend wichtige Parameter zu überprüfen:**
 - **Modus:** Der Plattenmodus sollte angewandt werden (die Waschlösung wird in alle Riegel verteilt, und dann von allen Riegel abgesaugt). Der Riegelmodus, der nicht angewandt werden sollte, verteilt die Waschlösung in einen Riegel und saugt sie dann direkt wieder ab (kürzere Inkubationszeit).
 - **Absaugen:** Wenn möglich, kreuzweise Absaugung verwenden (doppelte Absaugung in jede Ecke der Vertiefung), um die Waschlösung vollständig zu entfernen.
 - Sorgen Sie dafür, dass die **Rückstandsmenge** zwischen und nach den Waschgängen so niedrig wie möglich ist (um dies zu testen, klopfen Sie die Platte nach jeder Absaugung auf saugfähigem Papier aus).
 - **Absaugungshöhe:** um diesen Parameter einzustellen, berücksichtigen Sie bitte die Anweisungen des Plattenherstellers (Greiner, Nunc, usw). Für die Riegelplatten von Greiner, die IDvet verwendet, sollte die Absaugungshöhe 3,2 mm betragen. Überprüfen Sie visuell, dass die Nadeln so tief wie möglich am Boden der Vertiefungen platziert sind, ohne mit ihm in Kontakt zu kommen. Kontaktieren Sie info@id-vet.com, wenn Sie die entsprechenden Informationen für unsere Monoplaten (von Nunc) benötigen.
- Um die Effektivität der Waschgeräte zu überprüfen, empfehlen wir, ab und zu einen kompletten Waschgang mit blau gefärbter Waschlösung durchzuführen (mit handelsüblichen Lebensmittelfarbstoff gefärbt). Wenn das Waschgerät nicht ordnungsgemäß funktioniert, sind nach dem Waschgang blaue Spuren in der Platte sichtbar, die auf einen Wartungsbedarf hinweisen. Stoppen Sie das Waschgerät nach der Absaugung. Entfernen Sie den Rückstand mit einer Pipette, er sollte kleiner als 5 µl sein. Weitere Informationen finden Sie in der Gebrauchsanweisung des Waschgeräts.
- Führen Sie **Wartungen und Dekontaminierungen** in regelmäßigen Abständen durch. Für weitere Informationen zur Durchführung solcher präventiver Maßnahmen kontaktieren Sie den technischen Support des Waschgeräteherstellers.



Für die von IDvet gelieferten Greiner Riegelplatten gibt Greiner folgende Information für die Waschgeräteinstellungen:

Page 1 of 2	CUSTOMER DRAWING	 greiner bio-one
Revision 3	PS Strip Plate, 96 Well, F - Bottom	



Vertiefungsbodenhöhe = Plattenhöhe – Riegelhöhe = 14,1-10,9 = 3,2 mm.

Vertiefungsbodenhöhe = 3,2 mm

Wird die Sterilität oder die Qualität des für die Verdünnung der zehnfach konzentrierten Waschlösung benutzten Wassers die Testergebnisse beeinflussen?

- Wir empfehlen, destilliertes / entionisiertes Wasser zu verwenden, um die Bakterienbelastung zu reduzieren; es ist es nicht nötig, steriles Wasser zu benutzen oder das destillierte Wasser in einer sterilen Umgebung zu lagern.
- Unter diesen Bedingungen ist die verdünnte Waschlösung zwar nicht steril sein, weist aber nur eine geringe Bakterienkonzentration auf, die die Ergebnisse nicht beeinflusst.
- Eine hohe Bakterienkonzentration hingegen, die durch progressive Kontamination der Waschlösung oder durch schlecht gereinigtes Glasgeschirr entstehen kann, kann die Qualität der Ergebnisse negativ beeinflussen.
- In diesem Fall werden Sie eine Verringerung des Unterschieds zwischen den Ergebnissen der Positiv- und Negativkontrollen und -proben sowie erhöhte Hintergrundsignale beobachten.
- Es wird normalerweise empfohlen, die Waschlösung am Anfang der Woche vorzubereiten und nicht länger als 5 Tage aufzubewahren (z. B. von Montag bis Freitag).
- Das Glasgeschirr und das Waschsystem (manuell, halbautomatisiert oder automatisiert) müssen unbedingt sehr sauber gehalten werden. Das Waschsystem sollte mindestens einmal pro Woche gründlich gereinigt werden – sonst ist es sinnlos eine frische Waschlösung vorzubereiten!



Ein falsches Waschen der Behälter kann die Ergebnisse beeinflussen!

Es ist wichtig, die Behälter und das Geschirr gut zu reinigen, um korrekte Ergebnisse zu erhalten, besonders die Behälter, die für die Verteilung der Reagenzien benutzt werden.

Wir empfehlen auch, einen (oder mehrere) Behälter ausschließlich für die Substratlösung zu verwenden, um Probleme mit „blauer“ Substratlösung zu vermeiden.



Empfohlenes Waschen

- Das Geschirr und die Behälter sollten mindestens eine Stunde mit basischen Reinigungsmittels eingeweicht werden (wir benutzen **Neodisher FT, 1:1000 mit destilliertem Wasser verdünnt**) (1). Stellen Sie sicher, dass alle Etiketten und Aufschriften mit einem Schleuerschwamm entfernt werden, um das Neodisher nicht zu deaktivieren.
- **Spülen** Sie das Geschirr dreimal mit heißem oder kaltem Leitungswasser ab (2).
- Tauchen Sie die Behälter in deionisiertes Wasser und lassen Sie sie mindestens eine Stunde einweichen (3).
- **Anmerkung:**
 - Wenn das Geschirr nur kurz mit Wasser abgespült wird, und der o. g. Waschablauf nicht respektiert ist, können Probleme auftreten.
 - Dieses Waschprotokoll ist besonders wichtig, wenn das Geschirr vorher für das Konjugat benutzt wurde.
 - Die Neodisher Lösung sollte einmal pro Woche gewechselt werden.
 - Tragen Sie geeignete Schutzkleidung (Laborkittel, Brillen, Handschuhe).

