



ECLIPSE FARM 3G

ZE/EF25

ZE/EF50

**Single tube tests for detection
of inhibitory substances in milk**

**Test pour la détection de substances
antibactériennes dans le lait**

**Test en tubos individuales para la
detección de sustancias
antibacterianas en leche**

ZEULAB, S.L.

C/ Bari, 25 dpdo. • 50197 Zaragoza (SPAIN)

Tel.: +34 976 731 533

info@zeulab.com • www.zeulab.com

SCOPE

ECLIPSE Farm^{3G} is a qualitative test designed for detection of antibiotics and inhibitors in milk. This test can be used in raw (with or without azidol), skimmed, heated or powder milk from cow, sheep, goat or buffalo. The analysis of raw cow milk can be performed in individual or commingled milk. For the other species, the analysis should be performed only with commingled milk.

PRINCIPLE

ECLIPSE Farm^{3G} is based on the inhibition of microbial growth. The tubes provided contain an specific culture medium spread with *Geobacillus stearothermophilus* spores and a pH indicator. When the tubes are incubated in absence of antibiotics, spores germinate and cells grow (negative). If samples contain inhibitors at higher concentrations than the detection limit, microorganisms will not grow (positive). The system has been optimized by combining the kit with e-Reader equipment, which integrates the processes of incubation, time control and interpretation of results.

KIT COMPONENTS

	ZE/EF25	ZE/EF50
Test tubes	25	50
Mini-pipettes	25	50
Adhesive film	1	2
Kit instructions	✓	✓
Product certificate	✓	✓

ADDITIONAL MATERIAL (NOT PROVIDED)

e-Reader (ref. ZE/ERT8) or FX incubator (ref. ZE/FX) or FS incubator (ref. ZE/FS).

Negative control sample (without antibiotics).

Positive control. Freeze dried Penicillin G (ref. ZE/PG5), Oxytetracycline (ref. ZE/OXITE-TRA), Sulfathiazole (ref. ZE/SULFA).

NOTES

- ✓ To achieve the best assay performance, it is recommended to analyse samples by using e-Reader, which incubates, stops the assay automatically and interprets the results (If it is not possible, use an FX or FS incubator, the procedure is described on the next page).
- ✓ Before starting, install and switch on e-Reader equipment following the manual provided.
- ✓ It is recommended to analyse a negative control sample of the same species and in the same conditions than the tested samples.
- ✓ A new pipette should be used for each sample. To use the provided pipettes: squeeze the bulb, put the stem in the sample and release the bulb to draw up liquid. Excess liquid is siphoned automatically into overflow tanks. Squeeze the bulb again to release 100 µl.

- ✓ This test is extremely sensitive to antibiotics and other antibacterial substances such as detergents and disinfectants. Any contamination with those substances should be prevented.
- ✓ Milk contains natural inhibitors which do not interfere with the result. However, these substances appear in high concentrations in colostrum, at the end of lactation and in mastitis cases, and they may alter the test results.
- ✓ The range of colours obtained using e-Reader is different to that seen with other incubation systems. Colours should not be compared with colour card shown on the last page.

TEST PROCEDURE (Flowchart Procedure on the last page)

Please pay attention to "Notes" in page 2.

1. Separate the tubes needed. Take care not to remove the foil on the remaining tubes to prevent the agar from drying out and stored immediately at 4-12°C.
2. Pierce or remove the foil covering each tube and add 100 µl of milk sample using the pipettes provided in the kit. (See "Notes" for pipettes use).
 - To detect antibiotics in cow milk: Seal carefully the test tubes with the adhesive film provided and place the sample tubes in e-Reader. Follow e-Reader instructions to begin the assay.
 - To detect antibiotics in goat or sheep milk, and samples containing azidiol*: Seal the test tubes with tape. Test tubes must be incubated at room temperature for 1 h. Afterwards, turn the tubes upside down to remove the remaining samples and wash the wells 2-3 times by filling them with distilled water. Remove the excess of water and seal carefully the test tubes with the adhesive film provided. Follow e-Reader instructions using Eclipse NC-SGA method.
- *Azidiol can be purchase from PanReac AppliChem (Product Code 176131).
3. e-Reader will stop automatically the assay and results will be shown on the screen.

Procedure without e-Reader

- Incubate the test tubes in a pre-warmed incubator at $65 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Check the tubes at the time indicated on the product certificate. The incubation should be stopped when the negative control has turned yellow as shown in the colour card (from 2h15 to 3h). If the negative control sample is not yellow, incubate the tube again for further 10-15 min to get a clear yellow colour. When a negative control sample is not applied, the assay should be stopped after 3h of incubation. Please, be aware that sensitivity of the test can be affected, increasing the limit of detection in some antibiotics when stopping incubation at a fixed time of 3 hours.

- Results: (see colour chart)

- A yellow colour indicates the absence of antibiotics (negative).
- A blue-purple colour indicates the presence of antibiotics (positive).
- A green-blue colour indicates presence of antibiotics in a concentration close to the detection limit (doubtful). Analysis should be repeated.

STABILITY AND STORAGE

The kit components should be stored at 4-12°C and protected from light. The kit is provided with a minimum shelf life of 9 months. See the kit expiring date on the package.

SAFETY

Good laboratory practices are recommended when using this kit. A Material Safety Sheet (MSDS) is available from your local distributor or ZEULAB upon request.

ECLIPSE is an in vitro diagnostic kit for antibiotics screening in milk. In analysis implicating legal processes, the results should be reevaluated with an official reference method. ZEULAB does not assume any legal responsibility.

To the best of our knowledge, the information contained herein is accurate and complete. However, nothing herein shall be construed to imply any warranty or guarantee.

OBJECTIF

ECLIPSE Farm^{3G} est un test qualitatif pour la détection des antibiotiques et des inhibiteurs dans le lait cru (avec ou sans azidol), chauffé, en poudre et écrémé, de vache, chèvre, brebis ou bufflonne. L'analyse du lait cru de vache peut se réaliser sur du lait individuel ou du lait de mélange. L'analyse du lait des autres espèces devra se réaliser sur du lait de mélange.

PRINCIPE

ECLIPSE Farm^{3G} est basé sur l'inhibition de la croissance microbienne. Chaque tub contient un milieu gélosé ensemencé en spores de *Geobacillus stearothermophilus* et un indicateur de pH. Lorsque les tubes sont incubés en l'absence d'antibiotiques, les spores germent et se multiplient (négatif). Si les échantillons de lait contiennent des inhibiteurs à concentration plus élevée que la limite de détection, les microorganismes ne se développent pas (positive). Le système a été optimisé avec la combinaison du kit avec l'équipe e-Reader, qui intègre les processus d'incubation, contrôle du temps et l'interprétation des résultats d'une manière automatisée et objective.

COMPOSANTS DU KIT

	ZE/EF25	ZE/EF50
Tubes test	25	50
Mini-pipettes	25	50
Film adhésif	1	2
Notice d'utilisation	✓	✓
Certificat qualité	✓	✓

MATÉRIEL COMPLEMENTAIRE (non fourni)

1. e-Reader (ref. ZE/ERT8) o FX incubator (ref. ZE/FX) o FS incubator (ref. ZE/FS).
2. Témoin négatif (lait sans antibiotique)
3. Témoin positif - Pénicilline G (réf. ZE/PG5), oxytétracycline (ref. ZE/OXITETRA), sulfathiazol (ref. ZE/SULFA).

ANNOTATIONS

- ✓ Pour obtenir la meilleure performance du test, on recommande d'analyser les échantillons avec e-Reader, qui incube, arrête le test automatiquement et interprète les résultats. (Si ce n'est pas possible, utilisez un incubator FX ou FS, le mode opératoire est décrit dans la page suivante).
- ✓ Avant de commencer, installer et activer e-Reader en suivant le manuel fourni.
- ✓ L'analyse d'un contrôle négatif de la même espèce et dans les mêmes conditions que les échantillons testés est recommandé.
- ✓ Utiliser une mini-pipette neuve pour chaque échantillon. Pour utiliser les pipettes fournis: pressez le bulbe, mettez la tige dans l'échantillon et relâchez la pression pour prélever le liquide. L'excès de liquide est automatiquement siphonné dans le réservoir. Pressez de nouveau le bulbe pour distribuer le volume précis de 100 µl.
- ✓ Cet essai étant très sensible aux antibiotiques et aux antimicrobiens tels que les détergents et les désinfectants, il faut éviter toute contamination par ces substances.
- ✓ Le lait contient des substances inhibitrices naturelles qui n'ont aucune conséquence sur les résultats. En revanche, la présence de ces inhibiteurs est plus forte dans le colostrum, à fin de lactation et en cas de mastite, ce qui peut alors modifier les résultats du test.
- ✓ La gamme de couleurs obtenues en utilisant e-Reader est différente à celle qui s'observe avec d'autres systèmes d'incubation. Ne comparez pas les résultats obtenus avec e-Reader et la charte de couleurs montrée sur la dernière page.

MODE OPÉRATOIRE DU TEST (Diagramme sur la dernière page)

Lisez attentivement la section «Annotations» .

1. Séparez le nombre de tubes nécessaire. Faites attention de ne pas enlever le film de protection des autres tubes pour éviter la déshydratation, et remettez-les immédiatement à 4-12°C.
2. Percez ou enlevez le film de chaque tube et distribuez 100 µl de l'échantillon en utilisant les mini-pipettes fournies. (Regardez "Notes" pour l'utilisation des pipettes).
 - Pour la détection d'antibiotiques dans le lait de vache: Fermez les tubes avec le film adhésif et placez-les dans l'e-Reader. Suivez les instructions du e-Reader pour commencer l'analyse.
 - Pour la détection d'antibiotiques dans le lait de chèvre et brebis, et échantillons avec azidiol*: Fermez les tubes avec le film adhésif et laissez diffuser 1 h à température ambiante. Après l'incubation, rincez les tubes 2-3 fois avec de l'eau distillée. Séchez la surface des tubes et fermez-les avec le film adhésif. Suivez les instructions du e-Reader et choisissez la méthode Eclipse NC-SGA pour commencer l'analyse.

*Azidiol peut être commandé chez PanReac AppliChem (Product Code 176131).
3. e-Reader arrêtera automatiquement l'essai et les résultats seront affichés sur l'écran.

Procédure sans e-Reader:

- Introduisez les tubes dans un incubateur préchauffé à 65±1°C.
- Vérifiez les tubes au bout du temps d'incubation indiqué sur le certificat du produit. Ce temps est donné à titre indicatif. Arrêtez l'incubation lorsque le contrôle négatif a viré au jaune selon la charte de couleurs (au bout de 2h15 à 3h). Si l'échantillon du contrôle négatif n'est pas encore jaune, incubez le tube encore de 10 à 15 min jusqu'à ce que le contrôle négatif ait viré au jaune.
- Si le contrôle négatif n'est pas analysé en même temps, l'incubation doit être arrêtée depuis 3h d'incubation. Au-delà, la sensibilité du test peut être affectée, ce qui augmente la limite de détection de certains antibiotiques quand on arrête l'essai dans un temps fixé.
- Résultats (voir de charte de couleurs)
 - Une couleur jaune indique l'absence d'inhibiteur dans l'échantillon testé (négatif).
 - Une couleur bleu-violet indique la présence d'inhibiteurs (positif).
 - Une couleur intermédiaire indique la présence d'inhibiteurs à une concentration proche de la limite de détection. Dans ce cas, l'analyse doit être répétée.

STABILITÉ ET STOCKAGE

Le coffret doit être conservé à 4-12°C et à l'abri de la lumière. Le kit est fourni avec une durée de vie minimale de 9 mois. Voir la date de péremption sur l'étiquette.

CONSIGNES DE SÉCURITÉ

Respectez les bonnes pratiques de laboratoire pour l'utilisation de ce kit. Une fiche de sécurité du produit peut vous être adressée sur demande.

ECLIPSE est un test de diagnostic in vitro pour screening. Les analyses qui sont amenées à revêtir un caractère légal doivent être effectuées en double ou en triple exemplaires puis confirmées au moyen d'un procédé officiel. ZEULAB n'assume aucune responsabilité légale.

OBJETIVO

ECLIPSE Farm^{3G} es un test cualitativo diseñado para detectar la presencia de antibióticos e inhibidores en leche. Este test se puede usar en leche cruda (con o sin azidiol), desnatada, tratada térmicamente o en polvo tanto de vaca, como de oveja, cabra o búfala. El análisis de leche de vaca cruda puede desarrollarse en leche individual o de mezcla. Para el análisis de otras especies debería realizarse en leche de mezcla.

PRINCIPIO

ECLIPSE Farm^{3G} es un test basado en la inhibición del crecimiento microbiano. Los tubos contienen un medio de cultivo específico con esporos de *Geobacillus stearothermophilus* y un indicador de pH. Cuando los tubos se incuban en ausencia de antibióticos, los esporos germinan y se multiplican (negativo). Si la muestra contiene una concentración de antibióticos superior al límite de detección del test, el crecimiento microbiano se inhibe (positivo). El sistema ha sido optimizado combinando el kit con e-Reader, que integra los procesos de incubación, control del tiempo e interpretación de resultados de forma automatizada y objetiva.

COMPONENTES DEL KIT

	ZE/EF25	ZE/EF50
Tubos	25	50
Pipetas	25	50
Lámina adhesiva	1	2
Guión de instrucciones	✓	a
Certificado de producto	✓	a

MATERIAL Y EQUIPAMIENTO ADICIONAL (NO INCLUIDO)

1. e-Reader (ref. ZE/ERT8) o incubador FX (ref. ZE/FX) o incubador FS (ref. ZE/FS).
2. Control negativo (muestra carente de antibióticos).
3. Control positivo: Penicilina G (ref. ZE/PG5), Oxitetraciclina (ref. ZE/OXITETRA), Sulfatiazol (ref. ZE/SULFA)

OBSERVACIONES

- ✓ Para lograr el mejor rendimiento del test, se recomienda analizar las muestras con el equipo e-Reader, que integra los procesos de incubación, control del tiempo e interpretación de resultados de forma automatizada y objetiva. Si no se dispone de e-Reader, utilizar un incubador FX o FS.
- ✓ Antes de comenzar, instalar y encender e-Reader siguiendo el manual que acompaña al kit.
- ✓ Utilizar una pipeta nueva para cada muestra. Para utilizar las pipetas provistas: presionar el bulbo, introducir el capilar en la muestra y liberar la presión para que ascienda la muestra. El exceso de leche se introducirá en los depósitos adyacentes. Presionar el bulbo de nuevo para liberar los 100 µl de leche necesarios.
 - Se recomienda analizar una muestra control negativo de la misma especie y en las mismas condiciones que las muestras estudiadas.
- ✓ Este ensayo es muy sensible a los antibióticos y a otros antimicrobianos como detergentes y desinfectantes, por lo que debe evitarse cualquier contaminación con dichos productos.
- ✓ La leche contiene inhibidores naturales que no interfieren en el resultado. Sin embargo, estas sustancias aparecen en concentraciones más elevadas en el calostro, al final del período de lactación y en casos de mamitis, pudiendo alterar los resultados del ensayo.
- ✓ La gama de colores obtenida con e-Reader es diferente a la observada con otro tipo de incubadores. No compare los resultados obtenidos con e-Reader con la carta de colores que aparece en la última página.

PROCEDIMIENTO DEL TEST (Esquema en la última página)

Leer atentamente el apartado "Observaciones".

1. Cortar los tubos que vayan a ser utilizados con cuidado de no despegar la lámina adhesiva que tapa al resto de tubos y así evitar el secado del agar. Los test que no se empleen deben guardarse inmediatamente a 4-12°C.
2. Perforar o retirar la lámina de aluminio y añadir 100 µl de muestra de leche en cada tubo, usando las pipetas desechables suministradas.
 - Para la detección de antibióticos en leche de vaca: Sellar los tubos con la lámina adhesiva suministrada e introducirlos en el equipo e-Reader. Seguir las instrucciones del equipo para comenzar.

- Para la detección de antibióticos en leche de cabra y oveja, y muestras conteniendo azidiol*: Sellar los tubos y dejar difundir 1 hora a temperatura ambiente. Tras esta incubación, hacer 2-3 lavados con agua destilada. Secar bien la superficie de los tubos y sellar con la lámina adhesiva proporcionada. Seguir las instrucciones del equipo seleccionando el método Eclipse NC-SGA.

* El azidiol puede adquirirse en PanReac AppliChem (Product Code 176131).

3. e-Reader finalizará automáticamente el ensayo y los resultados se mostrarán en la pantalla del equipo.

Procedimiento sin e-Reader

- Colocar los tubos en un incubador, previamente estabilizado a $65 \pm 1^\circ\text{C}$.

- Revisar los tubos en el tiempo indicado en el certificado de producto. Parar la incubación cuando el control negativo haya virado a color amarillo (rango de 2h15 a 3h). Si el control negativo todavía no es amarillo, incubar 10-15 min más, hasta que el color sea claramente amarillo. Si no se aplica el control negativo en el análisis, parar el ensayo a las 3h de incubación. La sensibilidad del test podría verse afectada cuando se para la incubación a un tiempo fijo de 3 horas, incrementándose los límites de detección.

- Resultados: (ver carta de colores)

- El color amarillo indica la ausencia de antibióticos (negativo).
- El color azul-morado indica la presencia de antibióticos (positivo).
- El color verdoso-azulado (dudoso) indica presencia de antibióticos en concentración cercana al límite de detección. En este caso, se recomienda analizar la muestra de nuevo.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Conservar los componentes del kit en oscuridad a $4-12^\circ\text{C}$. El kit se suministra con una caducidad mínima de 9 meses (Consultar la fecha indicada en el envase).

PRECAUCIONES DE USO

Aunque el uso de guantes no es necesario, se recomienda lavarse las manos para evitar contaminaciones. Existe una HOJA DE SEGURIDAD disponible bajo solicitud a través de su distribuidor.

ECLIPSE es un test de diagnóstico in vitro para cribado o screening. Los análisis que pudieran tener una implicación de tipo legal deberían realizarse por duplicado o triplicado y confirmarse mediante un procedimiento oficial. ZEULAB no asume ninguna responsabilidad legal.

PROCEDURE MODE OPÉRATOIRE PROCEDIMIENTO

- 1** Add 100 μ l of milk into each tube
Déposer 100 μ l de lait dans chaque tube
Añadir 100 μ l de leche en cada tubo



- 2** Place the tubes with your samples in e-Reader
Placez les tubes avec les échantillons dans e-Reader
Colocar los tubos con las muestras en e-Reader

	1	2	3	4	5	6	7	8
State	END	END	ON	END	END	ON	END	END
Sample ID	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7	a8
Assay time	160	160	120	160	160	120	160	160
Value	86	95	85	95	85	95	78	70
Result	+	+	+	+	+	+	-	-
23.10.2014		65.1°C		Metodo		100		

- 3** Check the results
Vérifier les résultats
Comprobar los resultados

WITHOUT E-READER SANS E-READER SIN E-READER

