

# **ECLIPSE 50**

Test pro detekci inhibičních látek v mléce

Katalogové číslo ZE/E50/96i  
ZE/E50/288i

## **Manuál**

In vitro test  
Transport 4 - 12 °C  
Skladování 4 - 12 °C

**Použití**

Eclipse je kvalitativní test, který je dodáván ve flexibilním a šikovném formátu. Je určen na detekci antibiotik a inhibitorů v syrovém, tepelně opracovaném a sušeném kravím, ovčím nebo kozím mléce.

**Princip:**

Eclipse je založen na inhibici mikrobiálního růstu. Kit má formát mikrodeštičky, kde každá jamka obsahuje agarové médium potažené spory *Geobacillus stearothermophilus* a pH indikátor.

Pokud se deštička inkubuje při 65 °C, spory naklíčí a rostoucí buňky začnou produkovat kyselinu a měnit pH agaru. Změny pH vyvolají změnu barvy agaru z modré (fialové) na žlutavou.

Pokud vzorky mléka obsahují antibiotika ve vyšší koncentraci jako je detekční limit, mikroorganismy nebudou růst a nebudou pozorovatelné ani barevné změny.

**Komponenty kitu:**

	<b>ZE/E50/96i</b>	<b>ZE/E50/288i</b>
Individuální testy (počet jamek)	96	288
Mikrotitrační deštičky	1	3
Adhezivní fólie	1	3
Instrukce ke kitu	ano	ano
Certifikát	ano	ano

**Stabilita a uskladnění:**

Komponenty kitu by měly být skladovány při 4 – 12 °C a chráněny před světlem. Kit je dodáván s minimálně 9 měsíční dobou spotřeby. Trvanlivost kitu viz na obalu.

**Doplňkový materiál (není součástí kitu):**

- mikropipety
- inkubátor (FX inkubátor, kat. číslo ZE/FX) nebo ohřívač na 65 °C
- negativní kontrola (vzorek bez obsahu antibiotik)  
(ovčí mléko - kat. číslo ZE/LPO200, kozí mléko – kat. číslo ZE/LPC200, kravské mléko Merck 1.15363.0500, Scharlab 06-019 )
- pozitivní kontrola – vymražený Penicillin G (kat. číslo ZE/PG5)

**Bezpečnost:**

Při použití testu se doporučuje správná laboratorní praxe. Bezpečnostní list (A Material Safety Data Sheet) je dostupný na vyžádání u JEMO TRADING spol. s r.o.

### **Poznámky:**

- Negativní kontrola vzorku musí být použita při každé spuštěné analýze kvůli určení optimální doby inkubace. Viz. negativní kontroly pro kravské, ovčí a kozí mléko v odstavci „Doplňkový materiál“.
- Doporučuje se také používat pozitivní kontrolu vzorku.
- Pro každý vzorek by měla být použita nová pipetová špička.
- Tento test je extrémně citlivý na antibiotika a jiné antibakteriální látky jako detergenty a dezinfekce. Mělo by být zabráněno kontaminaci těmito látkami.
- I když přirozené inhibitory obsažené v mléce nezasahují do výsledků testu, vzorky z kolostra, mléko z konce rozmnožovací periody a mastitidové mléko mají vysokou koncentraci těchto inhibitorů a mohou pozměnit konečné výsledky.
- Prosím kontaktujte ZEU (JEMO TRADING spol. s r.o.) při analýzách vzorků obsahujících konzervační látky (např. Azidiol).

### **Postup (pracovní diagram na straně 5):**

1. Rozřežte ochrannou fólii pokrývající komůrky a oddělte pásy, které chcete použít vytlačením zespu.  
Fólie pokrývající ostatní komůrky nesmí být odstraněna a zůstávající komůrky okamžitě skladovány při teplotě 4 – 12 °C, aby se předešlo vyschnutí agaru.
2. Odlepte adhezivní fólii pokrývající destičku a přidejte 50 µl vzorku mléka do každé komůrky, včetně negativní kontroly vzorku.
3. Pásy důkladně zalepte adhezivní fólií a inkubujte při 65 °C. Inkubace by měla být zastavena, jakmile se změní barva negativní kontroly na žlutou (přibližně 2.15 až 2.45 hod). Jako referenci použijte inkubační časy uvedeny v certifikátu produktu.
4. Po změně barvy negativní kontroly vzorku na žlutou, otočte destičku nahoru dnem a odstraňte zbytek vzorku. Jamky promyjte s destilovanou vodou jejich naplněním povrch a následně vyprázdněte otočením destičky nahoru dnem. Přebytkovou vodu z jamky odstraňte pomocí absorpčního papíru (jemně poklepte otočenou destičkou po papíru). Přemývací krok opakujte 2 – 3 krát.
5. Výsledky
  - Vizuální odčítání: Otočte jamky nahoru dnem a odčítejte výsledky porovnáním každého vzorku s jamkou negativní kontroly. Modré jamky identifikujte jako pozitivní a žluté jamky jako negativní (viz barevnou kartu na straně 5). Barevné rozmezí mezi žlutou a modrou indikuje přítomnost antibiotik v koncentraci blízké se k detekčnímu limitu. V případě pochybností by měla být analýza opakována.
  - Fotometrické odčítání: Jamky/destičku odčítejte při 590 nm (filter1) a při 650 nm (filter2)  
Analýza musí být zastavena, jakmile je rozdíl absorbancí negativní kontroly (AN 590nm – AN 650nm) mezi 0,2 a 0,4. Vzorky s výsledky vyššími a rovnými jako ten, který získáte pro negativní kontrolu + 0,2 budou pozitivní.

Pozitivní výsledek:  $AM\ 590nm - AM\ 650nm \geq AN\ 590nm - AN\ 650nm + 0,2$

AM: Absorbance vzorku

AN: Absorbance negativní kontroly

**Poznámka:** Výše uvedená procedura je platná, pokud je rozdíl absorbancí negativní kontroly při 590 nm – 650 nm mezi 0,2 a 0,4.

Eclipse je *in vitro* diagnostický test pro skríníng antibiotik v mléce. Pro právní účely by měly být výsledky potvrzeny oficiální referenční metodou. ZEU-INMUNOTEC, S.L. nepřebírá žádnou právní zodpovědnost.

**Detekční limity (LOD  $\mu\text{g/l}$  nebo ppb) ECLIPSU 50 pro různé inhibitory v kravském mléce:**

<b>INHIBITOR</b>	<b>LOD (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b>
<b><math>\beta</math>-LAKTÁMY</b>	
Amoxicillin	4
Ampicillin	4-5
Cefalexin	75
Cefapirin	8
Cefalonium	20
Ceftiofur	100
Cloxacillin	35
Oxacillin	25
Penicillin G	3-4
<b>TETRACYKLÍNY</b>	
Doxycyline	100
Oxytetracycline	100
Tetracycline	100
<b>MAKROLIDY</b>	
Erytromycin	400-800
Tylosin	80-100
Spiramycin	>400
<b>AMINOGLYKOZIDY</b>	
Streptomycin	2000
Gestamycin	400
Neomycin	1500
Kanamycin	>2000
<b>SULFOAMIDY</b>	
Sulfadiazine	100
Sulfametazine	150
Sulfamethoxypyridazine	100
Sulfanilamide	600
Sulfamethoxazole	100
Sulfathiazole	100
<b>LINKOSAMIDY</b>	
Lincomycin	150-300
<b>JINÉ</b>	
Chloraphenicol	5000

Prosím kontaktujte JEMO TRADING spol. s.r.o. pro detekční limity ostatních živočišných druhů.

**Pracovní diagram:**



Přidejte 50  $\mu$ l mléka



Inkubujte při 65 °C, dokud se negativní kontrola nezbarví na žlutou

Jamky přemyjte a odčítejte výsledek:

- vizuálně ze spodu jamek
- fotometrické odčítání při 590 nm a 650 nm

