



Making Testing Easier

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 the detection of antibiotics and inhibitors in milk. This test can be used in raw (with or without azidiol), 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 a 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 COMET8 equipment, which integrates the processes of incubation, time control and interpretation of results.

ADDITIONAL MATERIAL (NOT PROVIDED)

- COMET8 (ref. ZE/COM8) 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/OXITETRA5), Sulfathiazole (ref. ZE/SULFA5).

NOTES

- ✓ To achieve the best assay performance, it is recommended to analyse samples by using COMET8, which incubates, stops the assay automatically and interprets the results. If it is not possible, use an FX or FS incubator.
- ✓ Before starting, install and switch on COMET8 equipment following the manual provided.
- ✓ 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.
- ✓ It is recommended to analyse a negative control sample of the same species and in the same conditions than the tested samples.
- ✓ Colours change over time, therefore results should be read at the time of the end of the assay.
- ✓ 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 COMET 8 is different to that seen with other incubation systems. Colours should not be compared with colour card shown on the last page.
- ✓ Comet8 was formerly called e-Reader8.
- ✓ If a negative control sample is not applied when using an incubator, the assay should be stopped at 2h 55min of incubation. Please, be aware that sensitivity of the test can be affected.

TEST PROCEDURE (Flowchart Procedure on the last page)

Please pay attention to "Notes" in page 2.

Sample application

1. Cut the tubes needed with scissors. Take care not to damage 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 and buffalo milk**: Seal carefully the test tubes with the adhesive film provided.
 - 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, wash the wells 2-3 times with distilled water. To do this, empty the tubes, fill with distilled water and empty again, removing excess water by gently tapping the tube against absorbent paper. Seal with the adhesive film provided.

*Azidiol can be purchased from PanReac AppliChem (Product Code 176131).

Incubation and reading

There are two options: A) with COMET8 and B) with incubator and visual reading.

A) With COMET8

3. Place the sample tubes in COMET8. Follow COMET8 instructions to begin the assay. Choose the COMET8 method depending on your analysis:

Eclipse Single	Cow	Each test is started individually. No negative control is required.
Eclipse NC	Cow, buffalo	The samples are analysed at the same time with a negative control sample at position 1.
Eclipse NC SGA	Sheep, goat and samples with azidiot	The samples are analysed at the same time with a negative control sample of the same characteristics at position 1.

4. COMET8 will stop automatically the assay and results will be shown on the screen.

B) With incubator and visual reading:

3. Incubate the sealed test tubes in a pre-warmed incubator at $63 \pm 1^\circ\text{C}$.
4. Check the tubes at the time indicated on the product certificate. This time is given as a guide. The incubation should be stopped when the negative control has turned yellow as shown in the colour card (around $2\text{h}40 \pm 15\text{min}$). If the negative control sample is not yellow, incubate the tube again for further 10-15 min to get a yellow colour.

Results: (see colour chart)

- A yellow colour indicates the absence of antibiotics (negative).
- A blue-purple colour indicates the presence of antibiotics (positive).
- A yellow-green 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 $4\text{-}12^\circ\text{C}$ 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.

OBJECTIF

ECLIPSE Farm^{3G} est un test qualitatif pour la détection des antibiotiques et des inhibiteurs dans le lait cru (avec ou sans azidiol), 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 tube 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 COMET8, qui intègre les processus d'incubation, contrôle du temps et l'interprétation des résultats d'une manière automatisée et objective.

MATÉRIEL COMPLEMENTAIRE (non fourni)

- COMET8 (ref. ZE/COM8) o FX incubateur (ref. ZE/FX) o FS incubateur (ref. ZE/FS).
- Témoin négatif (lait sans antibiotique)
- Témoin positif - Pénicilline G (réf. ZE/PG5), oxytétracycline (ref. ZE/OXITETRA5), sulfathiazol (ref. ZE/SULFA5).

ANNOTATIONS

- ✓ Pour obtenir la meilleure performance du test, on recommande d'analyser les échantillons avec COMET8, qui incube, arrête le test automatiquement et interprète les résultats. Si ce n'est pas possible, utilisez un incubateur FX ou FS.
- ✓ Avant de commencer, installer et activer COMET8 en suivant le manuel fourni.
- ✓ Utiliser une mini-pipette neuve pour chaque échantillon. Pour utiliser les pipettes fournies: 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.
- ✓ L'analyse d'un contrôle négatif de la même espèce et dans les mêmes conditions que les échantillons testés est recommandé.
- ✓ Les couleurs changent avec le temps, c'est pourquoi les résultats doivent être lus au moment de la fin de l'analyse.

- ✓ 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 COMET8 est différente de celle qui s'observe avec d'autres systèmes d'incubation. Ne comparez pas les résultats obtenus avec COMET8 et la charte de couleurs montrée sur la dernière page.
- ✓ Comet8 était auparavant appelé e-Reader8.
- ✓ Si un échantillon de contrôle négatif n'est pas utilisé lors de l'utilisation d'un incubateur, le test doit être arrêté après 2h 55min d'incubation. Prendre en compte que la sensibilité du test peut être affectée.

PROCÉDURE DE TEST (Diagramme sur la dernière page)

Lisez attentivement la section «Annotations».

Application de l'échantillon

1. Couper avec des ciseaux 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 "Annotations" pour l'utilisation des pipettes.
 - Pour la détection d'antibiotiques dans le **lait de vache et bufflonne**: Fermez les tubes avec le film adhésif.
 - 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. Pour ce faire, vider les tubes, remplir d'eau distillée et vider à nouveau, en éliminant l'excès d'eau en tapotant doucement le tube contre du papier absorbant. Fermez les tubes avec le film adhésif.

*Azidiol peut être commandé chez PanReac AppliChem (Product Code 176131).

Incubation et lecture

Il existe deux options: A) avec COMET8 et B) avec incubateur et lecture visuelle

A) Avec COMET8:

- Placez les tubes dans le COMET8. Suivez les instructions du COMET8 pour commencer l'analyse. Choisissez la méthode COMET8 en fonction de votre analyse:

Eclipse Single	Vache	Chaque essai est démarré individuellement. Aucun contrôle négatif n'est requis
Eclipse NC	Vache, bufflonne	Les échantillons sont analysés en même temps qu'un échantillon témoin négatif en position 1
Eclipse NC SGA	Brevis, chèvre et échantillon contenant de l'azidiol	Les échantillons sont analysés en même temps qu'un échantillon témoin négatif ayant les mêmes caractéristiques en position 1

- COMET8 arrêtera automatiquement l'essai. Les résultats seront affichés sur l'écran.

B) Avec incubateur et lecture visuelle:

- Introduisez les tubes fermés dans un incubateur préchauffé à $63 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Vérifiez les tubes à l'heure indiquée sur le certificat du produit. Ce temps est donné à titre indicatif. L'incubation doit s'arrêter lorsque le contrôle négatif est devenu jaune comme indiqué sur la carte de couleurs (environ $2\text{h}40 \pm 15\text{min}$). Si l'échantillon du contrôle négatif n'est pas jaune, incubez à nouveau le tube pendant 10 à 15 minutes supplémentaires pour obtenir une couleur jeune.

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 $4\text{-}12^\circ\text{C}$ 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.

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 COMET8, que integra los procesos de incubación, control del tiempo e interpretación de resultados de forma automatizada y objetiva.

MATERIAL Y EQUIPAMIENTO ADICIONAL (NO INCLUIDO)

- COMET8 (ref. ZE/COM8) o incubador FX (ref. ZE/FX) o incubador FS (ref. ZE/FS).
- Control negativo (muestra carente de antibióticos).
- Control positivo: Penicilina G (ref. ZE/PG5), Oxitetraciclina (ref. ZE/OXITETRA5), Sulfatiazol (ref. ZE/SULFA5).

OBSERVACIONES

- ✓ Para lograr el mejor rendimiento del test, se recomienda analizar las muestras con el equipo COMET8, que integra los procesos de incubación, control del tiempo e interpretación de resultados de forma automatizada y objetiva. Si no se dispone de COMET8, utilizar un incubador FX o FS.
- ✓ Antes de comenzar, instalar y encender COMET8 siguiendo el manual que acompaña al equipo.
- ✓ 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.

- ✓ Los colores evolucionan con el tiempo, por tanto, los resultados se deben leer en el momento de finalización del ensayo.
- ✓ 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 COMET8 es diferente a la observada con otro tipo de incubadores. No compare los resultados obtenidos con COMET8 con la carta de colores que aparece en la última página.
- ✓ Comet8 se llamaba anteriormente e-Reader8.
- ✓ Si no se utiliza una muestra control negativo cuando se usa un incubador, el ensayo debe detenerse a las 2h 55min de incubación. Tenga en cuenta que la sensibilidad del test puede verse afectada.

PROCEDIMIENTO DEL TEST (Esquema en la última página)

Leer atentamente el apartado "Observaciones".

Aplicación de la muestra

1. Cortar con tijeras los tubos que vayan a ser utilizados con cuidado de no dañar 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 y búfala**: Sellar los tubos con la lámina adhesiva suministrada.
 - 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. Para ello, vaciar los tubos, llenar con agua destilada y vaciar de nuevo eliminando el exceso de agua golpeando suavemente el tubo contra papel absorbente. Sellar con la lámina adhesiva proporcionada.

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

Incubación y lectura

Hay dos opciones: A) con COMET8 y B) con incubador y lectura visual
A) Con COMET8:

3. Introducir los tubos sellados en el equipo COMET8. Seguir las instrucciones del equipo para comenzar. Elegir el método de COMET8 en función del análisis:

Eclipse Single	Vaca	Cada ensayo se inicia de forma individual. No se necesita control negativo.
Eclipse NC	Vaca, búfala	Las muestras se analizan al mismo tiempo con un muestra control negativo en la posición 1.
Eclipse NC SGA	Oveja, cabra y muestras con azidiol	Las muestras se analizan al mismo tiempo con un muestra control negativo de las mismas características en la posición 1.

4. COMET8 finalizará automáticamente el ensayo y los resultados se mostrarán en la pantalla del equipo.

B) Con incubador y lectura visual:

3. Colocar los tubos sellados en un incubador, previamente estabilizado a $63 \pm 1^\circ\text{C}$.
4. Comprobar el color de los tubos en el tiempo indicado en el certificado de producto. Este tiempo se da a modo de guía. La incubación debe detenerse cuando el control negativo haya virado a amarillo como se muestra en la carta de colores (alrededor de $2\text{h}40 \pm 15\text{min}$). Si la muestra control negativo no es amarilla, incubar 10-15 min más hasta que el color sea amarillo.

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 amarillo-verdoso indica presencia de antibióticos en concentración cercana al límite de detección (dudoso). El análisis debe repetirse.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Conservar los tubos de Eclipse dentro de la caja 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 habitual o ZEULAB.

KIT COMPONENTS

	ZE/EF25	ZE/EF50
Test tubes / Tubos de test / Tubes de test	25	50
Mini-pipettes / Mini-pipetas / Mini-pipettes	25	50
Adhesive film / Lámina adhesiva / Film adhésif	1	2

ECLIPSE is an *in vitro* diagnostic kit for antibiotics screening in milk. Suspected non-compliant results obtained with screening methods for official control purposes are liable to physicochemical confirmation (Commission Decision 2002/657/EC). 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.

ECLIPSE est un test de diagnostic *in vitro* pour screening. Les résultats présumés non conformes obtenus avec des méthodes de screening à des fins de contrôle officiel sont susceptibles de confirmation physico-chimique (décision 2002/657/CE de la Commission). ZEULAB n'assume aucune responsabilité légale.

Les informations contenues dans ce document sont considérées comme exactes et complètes, en fonction de nos connaissances actuelles. Cependant, rien d'inclus ici ne sera interprété comme une garantie complète.

ECLIPSE es un test de diagnóstico *in vitro* para cribado de antibióticos en leche. Los resultados sospechosos de ser no-conformes obtenidos con métodos de cribado con fines de control oficial están sujetos a confirmación fisicoquímica (Decisión de la Comisión 2002/657/CE). ZEULAB no asume ninguna responsabilidad legal.

La información incluida en este documento se considera precisa y completa, basada en nuestro conocimiento presente. Sin embargo, nada de lo aquí incluido se interpretará como una garantía completa.

PROCEDURE MODE OPÉRATEUR PROCEDIMIENTO

A) COMET8

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



Place the tubes with your samples in COMET8
Placez les tubes avec les échantillons dans COMET8
Colocar los tubos con las muestras en COMET8

Check the results
Vérifier les résultats
Comprobar los resultados

	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	81	30	81	35	73	33		
Result	+	-	+	-	+	-		
23.10.2014		65.1°C		Método		ESC		

B) INCUBATOR AND VISUAL READING

Incubator and visual reading
Incubateur et lecture visuelle
Incubador y lectura visual

