

Informazione sul Kit

Introduzione

Charm CowSide II Test rileva gli antibiotici nel latte crudo vaccino, pastorizzato, UHT e latte in polvere. I batteri presenti nella fiala, a contatto con il latte, generano degli acidi che modificano l'indicatore del pH, il quale vira da viola a giallo. I campioni dove non si ha cambiamento di colore sono da considerarsi positivi agli antibiotici.

Contenuto del Kit e Materiale Occorrente

Fornito nel Kit	Non Forniti nel Kit	Strumentazione
<ul style="list-style-type: none"> Fiale Charm CowSide II Test Pipetta 100 µL Scheda interpretazione risultati Punta per forare alluminio Metodica aggiornata 	<ul style="list-style-type: none"> 4 ppb Penicillin G Standard, 10 mL 5 ppb Penicillin G Standard, 10 mL Zero Control Standard, 100 mL 	<ul style="list-style-type: none"> Incubatore 64.0±0.5°C

Selettività e Sensibilità

Selettività – I campioni privi di antibiotici risultano negativi al 90% con una affidabilità del 95%

Sensibilità – Tabella: Antibiotici rilevati positivi rispetto ai limiti di legge.

Antimicrobial Drug ¹	Concentration ² (ppb ³)	US Safe Level/ Tolerance (ppb ³)	EU / CODEX MRL ⁴ (ug/kg)	Antimicrobial Drug ¹	Concentration ² (ppb ³)	US Safe Level/ Tolerance (ppb ³)	EU / CODEX MRL ⁴ (ug/kg)
Amoxicillin	3 to 4	10	4 / 4	Chlortetracycline	200 to 300	300	100 / 100
Ampicillin	3 to 4	10	4	Doxycycline	25 to 75	None	0 ⁶
Cefacetile	10 to 15	None	125	Oxytetracycline	75 to 100	300	100 / 100
Cefalexin	75 to 100	None	100	Tetracycline	50 to 100	300	100 / 100
Cefalonium	15 to 20	None	20	Gentamicin	75 to 150	30	100 / 200
Cefazolin	6 to 10	None	50	Neomycin	100 to 150	150	1500 / 1500
Cefoperazone	20 to 30	None	50	Sulfadiazine	40 to 60	10	100
Cefquinome	40 to 60	None	20	Sulfadimethoxine	25 to 50	10	100
Ceftiofur & Metabolites ⁵	50 to 100	100	100 / 100	Sulfamethazine (Sulfadimidine)	75 to 125	10	100 / 25
Cefuroxime	20 to 25	None	None	Dapsone	1 to 2	None	0 ⁶
Cephapirin	8 to 10	20	60	Trimethoprim	200 to 300	None	50
Cloxacillin	10 to 25	10	30	Erythromycin	75 to 100	50	40
Dicloxacillin	5 to 10	None	30	Lincomycin	75 to 150	None	150
Nafcillin	5 to 10	None	30	Pirlimycin	25 to 50	None	100 / 100
Oxacillin	5 to 10	None	30	Spiramycin	300 to 400	None	200 / 200
Penethamate ⁷	2 to 3	None	4	Tilmicosin	25 to 35	None	50
Penicillin G	2 to 3	5	4 / 4	Tylosin	20 to 30	50	50 / 100

¹ Antimicrobial drugs listed are representative of their respective drug families. Other drugs will be detected at different levels.

² Positive 90% of the time with 95% confidence

³ Parts per billion or µg/L

⁴ Maximum Residue Limit

⁵ Total parent and metabolites concentration

⁶ Not for use in animals from which milk is produced for human consumption

⁷ Penethamate is rapidly converted to benzylpenicillin, the marker residue in milk

Conservazione

Conservare CowSide II Test a T° refrigerata (0-7°C o 0-4.5°C per US). Guardare **Reagenti e Conservazione** per maggiori dettagli.

Interferenze e Cross Reactivity

Charm CowSide II Test è un test di screening ad ampio spettro. I seguenti antibiotici, a 100 ppb, non mostrano interferenze; amphenicols, fluoroquinolones e nitrofurans, o chlorothiazide, dexamethasone, dipyrone, flunixin, furosemide, ivermectin, novobiocin, oxytocin, phenylbutazone, e trichlormethiazide. Gli altri antibiotici vengono rilevati. Non ci sono interferenze per alti livelli di grasso (fino a 6%), cellule somatiche a 5×10^5 SCC/mL, o batteri a 3×10^5 cfu/mL.

Poiché si tratta di un test di inibizione microbica-sensibile, gli inibitori non antibiotici come gli inibitori naturali nel latte, sanificanti, disinfettanti o detergenti possono dare risultati positivi al test.

Contatti

- Per qualsiasi informazione contattare ALITEST Srl allo 0375/780789 r.a. oppure info@alitest.it

Reagenti e Conservazione

Fiale CowSide II

- Conservare a T° refrigerata. Mantenere le fiale in verticale. **Non congelare.**

Controllo negativo

- Usare un campione *negativo noto* di latte crudo, pastorizzato, o UHT
- Usare campioni refrigerati per massimo 3 giorni.
- Zero Control Standard, un campione *negativo noto* di latte in polvere, può essere acquistato separatamente come controllo negativo.

4 and 5 ppb Penicillin G Standards

- 4 ppb and 5 ppb Penicillin G Standard possono essere acquistati separatamente e usati come controllo positivo adeguato ai limiti di legge EU, CODEX or US.
- Come indicato sull'etichetta, ricostituire con *controllo negativo noto* di latte crudo, pastorizzato, o ultra - pastorizzato (10.0 mL per 4 ppb standard e 8.0 mL per 5 ppb standard). Agitare bene. Lasciare riposare in frigorifero o sul ghiaccio per 15 minuti prima dell'uso.
- Conservare lo standard a T° refrigerata. Durante l'uso, lo standard ricostituito può essere conservato in frigorifero o su ghiaccio per un massimo di 48 ore.

Conservazione a lungo termine di campioni di controllo

- Mescolare il campione e congelare le aliquote (almeno 0.5 ml) in fiale pulite.
- I campioni di controllo devono essere congelati entro 6 ore dalla preparazione.
- Le aliquote congelate a -15°C o meno per un massimo di 2 mesi.
- Scongela lentamente (durante la notte in frigorifero o con acqua fredda) e agitare bene. Il campione scongelato è stabile per 24 ore in frigorifero. La precipitazione proteica evidente indica un campione inadatto. Scartare il campione scongelato non utilizzato. Non ricongelare.

Campione e Informazioni sul Test

- Per latte vaccino crudo, pastorizzato, UHT e latte in polvere ricostituito (10% solidi). Per i singoli campioni di vacca, evitare il latte materno e prelevare il latte da tutte e 4 le mammelle. Testare il latte da 0 a 15°C o raffreddare da 0 a 7°C e testare entro 5 giorni dalla mungitura. Congelare i campioni a -15°C o meno per una conservazione più lunga. Scongela con acqua tiepida e agitare bene i campioni prima del test. Le notevoli precipitazioni da latte congelato a scongelato indicano campioni di scarsa qualità per i test.
- Il latte anormale può dare risultati errati a causa di sostanze inibenti naturali. Il latte con cellule somatiche elevate, colostro e/o livelli batterici elevati può interferire con le prestazioni del test.

Strumentazione necessaria



- Incubatore a pozzetto dei Test Classici 3ore impostato a $64.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$






Performance Check

Si consigliano analisi con standard negativo e positivo (venduti separatamente) per il controllo delle prestazioni del test.

Procedura – CowSide II

Preparazione

1. Collegare l'incubatore e verificare che la T° sia impostata a **$64.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$** .
2. Aspettare che la T° si stabilizzi.

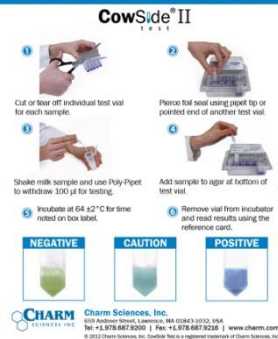
	<p>Step 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Tagliare le fiale che si voglio utilizzare (una fiala per ogni campione da analizzare).
	<p>Step 2</p> <ul style="list-style-type: none">• Posizionare le fiale nei fori dell'incubatore. Forare il film di alluminio con la punta della pipetta o una estremità appuntita.
	<p>Step 3</p> <ul style="list-style-type: none">• Agitare il campione di latte e prelevare 100 µL (da 0 a 15° C) usando una pipetta monouso. Tenere la pipetta in posizione verticale come mostrato e premere il bulbo superiore. Inserire la pipetta nel campione di latte (immergendo circa 1cm per evitare bolle d'aria) e rilasciare lentamente il bulbo. Smettere di rilasciare quando il campione raggiunge il bulbo. Rimuovere la pipetta dal latte.• Le pipette 100 µL sono mono-uso. Non riutilizzarle.
	<p>Step 4</p> <ul style="list-style-type: none">• Rilasciare 100 µL di campione di latte nell'agar viola della fiala premendo lentamente il bulbo superiore della pipetta (il campione in eccesso deve rimanere nel bulbo inferiore). Trasferire la fiala sull'incubatore).• E' necessario testare un controllo negativo noto per verificare il funzionamento del test CowSide II.
	<p>Step 5</p> <ul style="list-style-type: none">• Impostare il timer per il tempo specificato sull'etichetta del kit e incubare. (Nota: il tempo di incubazione stampato sull'etichetta del kit è di circa 3 ore).• Dopo l'incubazione, il controllo negativo deve avere un colore negativo, come mostrato nella sezione Interpretazione risultati. In caso contrario, incubare per altri 15 minuti. Dopo l'incubazione, rimuovere le fiale e interpretare i risultati.

Interpretazione risultati

Interpretare i risultati entro 30 minuti dalla rimozione dei test dall'incubatrice. Osservare il colore sul fondo della fiala (i 2/3 inferiori dell'agar). Leggi i risultati sotto una luce fluorescente bianca fredda. Confronta il colore dell'agar con la scheda di interpretazione fornita con il kit di test.

I risultati del colore sono stabili per 16 ore se lasciati in incubatrice dopo lo spegnimento automatico.

Refer to Current Operator's Manual for Complete Test Procedure



- **NEGATIVO** – I colori giallo o giallo/verde identificano il campione come negativo alla presenza di antibiotici.
- **ALLERTA** - I colori blu/verde identificano il campione come "initial positive". Il campione deve essere analizzato nuovamente (Vedere Analisi dei "Initial Positive")
- **POSITIVO** - I colori blu/viola identificano il campione come "initial positive". Il campione deve essere analizzato nuovamente.

Analisi dei "Initial Positive"

- In una provetta, riscaldare 500 ± 100 µL di campione di latte positivo a 82-100 ° C per 3 minuti. Raffreddare immediatamente a 0-15 ° C e agitare bene.
- Eseguire il campione riscaldato in duplicato insieme a un controllo negativo, un controllo positivo (standard di penicillina G da 4 o 5 ppb se disponibile) e campione non riscaldato (vedi **Procedura**).
- Il controllo negativo deve essere un risultato negativo e il controllo positivo deve essere un risultato positivo. Vedere **Interpretazione Risultati**.
- Se il campione dopo il trattamento termico è positivo, il campione è un Test CowSide II positivo.
- Se il campione è negativo dopo il trattamento termico, il campione può contenere un inibitore non antibiotico (sensibile al calore).

Codici e contenuto Kit

KIT		Non presente nel Kit
<p>L9951:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 20 Fiale CSII Test • 20 Pipette monouso 100µ • Scheda interpretazione risultati • Punta per forare alluminio • Metodica aggiornata 		<p>PG4: 4 ppb Penicillin G Standard, 10 mL</p> <p>PG5: 5 ppb Penicillin G Standard, 10 mL</p> <p>ZCS: Zero Control Standard, 100 mL</p>
<p>L9952:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 100 Fiale CSII Test • 100 pipette monouso 100µL • Scheda interpretazione risultati • Punta per forare alluminio • Metodica aggiornata 		