

MeRA Test

Test microbiologico con spore di *Geobacillus stearothermophilus*
per la ricerca di residui di antibiotici e sulfamidici nella carne

DESCRIZIONE

Sostanze con attività antimicrobica vengono somministrate al bestiame per il trattamento terapeutico di infezioni e possono quindi essere presenti nella carne come farmaci residui. La presenza di farmaci antimicrobici residui nella carne costituisce un potenziale pericolo per il consumatore poiché queste sostanze interferiscono con la flora intestinale, possono causare reazioni allergiche e possono contribuire alla diffusione di microrganismi resistenti. La ricerca di sostanze inibenti nella carne è regolamentata dal Regolamento (UE) N. 37/2010 della Commissione del 22 dicembre 2009 concernente le sostanze farmacologicamente attive e la loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale.

MeRA (Meat Rapid Antibiotic) Test è un test microbiologico, messo a punto per la ricerca di residui di antibiotici e sulfamidici nella carne, che fa uso di spore di *Geobacillus stearothermophilus* e di un terreno culturale studiato allo scopo.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

Ciascuna confezione contiene:

- 50 provette contenenti un terreno culturale liquido
- 50 dischi contenenti spore di *Geobacillus stearothermophilus*
- 1 foglio istruzioni

PRINCIPIO DEL METODO

Il test rileva la presenza degli antibiotici e dei sulfamidici attraverso la loro azione di inibizione sulla crescita *in vitro*, a $64 \pm 0,5$ °C, di *Geobacillus stearothermophilus*. L'inibizione della crescita batterica è resa evidente dalla presenza nel terreno culturale di uno zucchero fermentabile e di un indicatore di pH.

PROCEDURA DI UTILIZZO

- Pesare g 50 circa di carne. Sforbicare il tessuto e macinare ulteriormente con mixer elettrico.
- Pesare g 2 di macinato ed introdurlo in una provetta da 10 mL.
- Aggiungere alla provetta mL 6 di acqua distillata (rapporto carne:acqua 1:3).
- Omogeneizzare per circa 15 secondi tramite omogeneizzatore regolato alla velocità di 13000 rpm.
- Centrifugare l'omogeneizzato in centrifuga da banco regolata alla velocità di 4000 rpm per 15 minuti.
- Raccogliere il supernatante (estratto di carne) ed accertarsi che il suo pH sia pari a circa 5,6. Altrimenti, aggiungere NaOH 0.1 M o HCl 0.1 M rispettivamente per alcalinizzare o acidificare l'estratto.

NOTA: un pH troppo acido dell'estratto provoca il viraggio immediato al giallo del MeRA Test invalidando così il test; un pH troppo alcalino ritarda l'eventuale viraggio del test.

- Rimuovere il tappo alla provetta ed aggiungervi 1 disco di spore. Agitare delicatamente.
- Avvitare il tappo ed introdurre la provetta in un bagnomaria a $64 \pm 0,5$ °C o in Termoblock regolato a $64 \pm 0,5$ °C. Lasciare in incubazione per 20'.
- Togliere la provetta dal bagnomaria o dal Termoblock e lasciare che raggiunga la temperatura ambiente (circa 5').
- Rimuovere il tappo ed introdurre mL 1 del supernatante in esame.
- Preparare almeno un controllo positivo, aggiungendo ad una o più provette antibiotici/sulfamidici come riportato nel paragrafo "Controllo Qualità per l'utilizzatore".
- Avvitare il tappo sulle provette e lasciare agire l'antibiotico/sulfamidico, eventualmente presente, a temperatura ambiente per 20'.
- Reintrodurre le provette nel bagnomaria o nel Termoblock a $64 \pm 0,5$ °C per una seconda incubazione della durata di 3h - 3h 30'.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine della seconda incubazione si osserva il colore del liquido nelle provette che, se verde/blu, indica la presenza nella carne in esame di antibiotici/sulfamidici residui in concentrazione superiore ai limiti di sensibilità; al contrario, un colore giallo/arancione indica l'assenza nella carne in esame di antibiotici/sulfamidici o la loro presenza in concentrazioni inferiori ai limiti di sensibilità.

CONTROLLO QUALITÀ PER L'UTILIZZATORE

Ogni lotto di **MeRA Test** viene sottoposto al controllo di qualità. Il controllo analita-negativo è ottenuto usando un campione di carne certificata biologica o di filiera. I controlli analita-positivi sono ottenuti utilizzando campioni di carne addizionati con antibiotici/sulfamidici quali ampicillina (50 µg/kg) e sulfadiazina (100 µg/kg).

PRECAUZIONI

Il prodotto **MeRA Test** non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente. **MeRA Test** è un dispositivo monouso da utilizzare solo per uso *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti di agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare **MeRA Test** a 2-8 °C nella sua confezione originale. Non conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. In queste condizioni **MeRA Test** mantiene la sua validità fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione, i flaconi, prima di essere smaltiti, devono essere decontaminati adeguatamente con sostanze chimiche o autoclavati.

BIBLIOGRAFIA

- DM 26/03/1992 GU n° 90 16/04/1992: Attuazione della decisione n. 91/180/CEE concernente la fissazione di metodi di analisi e prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente.
- CONAL Analisi e controllo qualità dei prodotti lattiero-caseari Il latte VIII/5, 356-357 (1983).
- 91/180/EEC: Commission Decision of 14 February 1991 laying down certain methods of analysis and testing of raw milk and heat-treated milk. Official Journal L 093, 13/04/1991 P. 0001 - 0048.
- Van Oss J.L., Lameris S.A. Doodewaard J., Oostendrop J.G., Diffusion Test for the determination of antibiotic residues in milk. Neth. Milk Dairy J. 29, 16 (1975).
- International Dairy Federation International Standard FIL-IDF 57:1970 Detection of penicillin in milk by a disk assay technique (1970).
- Deborah Currie, Lorraine Lynas, D. Glenn Kennedy and W. John McCaughey. Evaluation of a modified EC Four Plate.
- Method to detect antimicrobial drugs. Food Additives and Contaminants, 1998, Vol. 15, No. 6, 651-660.
- Regulation 37/2010 EC.

PRESENTAZIONE

Prodotto	REF	
MeRA Test	80356	50 test

Tabella 1: Sensibilità del **MeRA Test** ad alcuni agenti antimicrobici, comunemente usati in medicina veterinaria e rispettivo valore di MRL (Maximum Residue Limits) valido per l'Europa¹.

Tabella 1

ANTIBIOTICO/SULFAMIDICO	MRL per muscolo bovino ¹ MAXIMUM RESIDUE LIMITS (µg/kg)	Sensibilità del MeRA Test in 3h 30' LIMITI DI SENSIBILITÀ (µg/kg)
BETA-LACTAMS		
Ampicillina	50	25-50
Oxacillina	300	150-300
Cloxacillina	300	150-300
Dicloxacillina	300	150-300
Amoxicillina	50	25-50
Benzilpenicillina	50	25-50
Penetamato	50	25-50
Cefalexina	200	100-200
Ceftiofur	1000	<500
Cefquinome	50	25-50
TETRACICLINE		
Tetraciclina	100	100-200
Clorotetraciclina	100	100-200
Ossitetraciclina	100	100-200
Doxiciclina	100	100-200
MACROLIDI		
Eritromicina	200	200-400
Tilosina	100	100-200
Tilmicosina	50	100-200
Spiramicina	200	200-400
LINCOSAMIDI		
Lincomicina	100	100-200
Pirlimicina	100	50-100
AMINOGLICOSIDI		
Gentamicina	50	100-200
Neomicina	500	500-1000
Streptomicina	500	500-1000
Diidrostreptomicina	500	500-1000
SULFAMIDICI		
Sulfadiazina	100	50-100
SULFANILAMIDI		
Sulfadimidina	100	50-100
BENZIL PIRIMIDINE		
Trimetoprim	50	50-100
CHINOLONI		
Flumequina	200	200-400
Enrofloxacin	100	50-100

¹ Regulation 37/2010 EC.

TABELLA DEI SIMBOLI

 Codice del lotto	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Limiti di temperatura
 Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	



Liofilchem®

Via Scozia Zona Ind.le - 64026 Roseto D.A. (TE) - Italy

Tel. +390858930745 Fax +390858930330 Website: www.liofilchem.net E-Mail: liofilchem@liofilchem.net

F00041
Rev.5.1 / 03.02.2016



MeRA Test

ENGLISH

Microbiological test with spores of *Geobacillus stearothermophilus*
for the detection of antibiotic and sulphamide residues in meat

DESCRIPTION

Antimicrobial substances are given to cattle for therapeutic treatment of infections and so they can be present in meat as residual drugs. The presence of residual antimicrobial drugs in meat is a potential hazard for the consumers since those substances interfere with the intestinal flora, can cause allergic reactions and can contribute to the spreading of resistant microorganisms.

The detection of inhibiting substances in meat is ruled in Europe by Regulation 37/2010 EC and following modifications.

MeRA (Meat Rapid Antibiotic) Test is a microbiological test, set for the detection of residual antibiotics and sulphamides in meat, that uses spores of *Geobacillus stearothermophilus* and a culture medium designed for that purpose.

CONTENT OF THE PACKAGE

Each package contains:

- 50 tubes containing liquid culture medium
- 50 discs containing spores of *Geobacillus stearothermophilus*
- 1 instructions sheet

PRINCIPLE OF THE METHOD

The test detects residues of antibiotics and sulphamides through their inhibition action against the growth *in vitro*, at $64 \pm 0,5$ °C, of *Geobacillus stearothermophilus*. The inhibition of bacterial growth is made evident by the presence of a fermentable sugar and a pH indicator in the culture medium.

PROCEDURE FOR USE

- Weigh about g 50 of meat. Cut up the tissue and mince further by electric mixer.
- Weigh g 2 of minced meat and introduce it in a 10 mL tube.
- Add mL 6 of distilled water to the tube (ratio meat:water 1:3).
- Homogenize for some seconds through homogenizer set at 13000 rpm.
- Centrifuge the homogenized meat by tabletop centrifuge set at 4000 rpm for 15 minutes.
- Collect the supernatant (meat extract) and make sure its pH is 5.6 roughly. Otherwise, add NaOH 0.1 M or HCl 0.1 M respectively to alkalize or acidify the meat extract.

NOTE: pH lower than 5.6 causes the immediate color change to yellow of MeRA Test thus invalidating the test; pH above 5.6 causes delay of the color change in case of antibiotic free meat sample.

- Remove the cup from the tube and add 1 disc of spores. Shake gently.
- Put the cup and introduce the tube in a waterbath at $64 \pm 0,5$ °C or in a Termoblock set at $64 \pm 0,5$ °C. Incubate for 20'.
- Remove the tube from the waterbath or Termoblock and allow to reach room temperature (roughly 5').
- Remove the cup and introduce 1 mL of the supernatant under test.
- Prepare one or more analyte-positive controls, by the addition of antibiotic/sulphamide into the tubes as indicated in the paragraph "Quality Control for the user".
- Replace and tighten the cap on the tubes and let the antibiotic/sulphamide, if present, act at room temperature for 20'.
- Reintroduce the tube in the waterbath or in the Termoblock at $64 \pm 0,5$ °C for the second incubation for 3h - 3h 30'.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

At the end of the second incubation observe colour of the liquid in the tubes that, if green/blu, indicates antibiotic/sulphamide residues in the examined meat in concentrations above the detection limits; otherwise, a yellow/orange colour indicates the absence of antibiotic/sulphamide residues in the examined meat or their presence in concentrations under the detection limits.

QUALITY CONTROL FOR THE USER

Every batch of **MeRA Test** is submitted to quality control. The analyte-negative control is obtained using a certified antibiotic free meat sample. The analyte-positive controls are obtained using meat samples with the addition of antibiotics/sulphamides, such as ampicillin (50 µg/kg) and sulphadiazine (100 µg/kg).

PRECAUTIONS

The product **MeRA Test** is not classified as dangerous under current legislation. **MeRA Test** is a disposable device to be utilized only for *in vitro* use, it is intended for use in a professional environment and must be used in laboratory by properly trained personnel, using approved asepsis and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store **MeRA Test** at 2-8 °C in its original packaging. Keep away from heat sources and avoid excessive temperature changes. In such conditions **MeRA Test** will remain valid until the expiry date indicated on the label. Do not use beyond that date. Eliminate without using it if there are deterioration signs.

DISPOSAL

After use, before disposal, tubes must be properly decontaminated with chemical substances or autoclaved.

BIBLIOGRAPHY

- DM 26/03/1992 GU n° 90 16/04/1992: Attuazione della decisione n. 91/180/CEE concernente la fissazione di metodi di analisi e prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente.
- CONAL Analisi e controllo qualità dei prodotti lattiero-caseari Il latte VIII/5, 356-357 (1983).
- 91/180/EEC: Commission Decision of 14 February 1991 laying down certain methods of analysis and testing of raw milk and heat-treated milk. Official Journal L 093 , 13/04/1991 P. 0001 - 0048.
- Van Oss J.L., Lameris S.A. Doodewaard J., Oostendrop J.G., Diffusion Test for the determination of antibiotic residues in milk. Neth. Milk Dairy J. 29, 16 (1975).
- International Dairy Federation International Standard FIL-IDF 57:1970 Detection of penicillin in milk by a disk assay technique (1970).
- Deborah Currie, Lorraine Lynas, D. Glenn Kennedy and W. John McCaughey. Evaluation of a modified EC Four Plate.
- Method to detect antimicrobial drugs. Food Additives and Contaminants, 1998, Vol. 15, No. 6, 651-660.
- Regulation 37/2010 EC.

PRESENTATION

Product	REF	
MeRA Test	80356	50 tests

Table 1: Sensitivity of **MeRA Test** to some antimicrobial agents, commonly used in veterinary medicine and respective MRL (Maximum Residue Limits) values valid for Europe¹.

Table 1

ANTIBIOTIC/SULPHAMIDE	MRL for bovine muscle ¹ MAXIMUM RESIDUE LIMITS (µg/kg)	MeRA Test Sensitivity in 3h 30' DETECTION LIMITS (µg/kg)
BETA-LACTAMS		
Ampicillin	50	25-50
Oxacillina	300	150-300
Cloxacillin	300	150-300
Dicloxacillina	300	150-300
Amoxycillin	50	25-50
Benzylpenicillin	50	25-50
Penethamate	50	25-50
Cefalexin	200	100-200
Ceftiofur	1000	<500
Cefquinome	50	25-50
TETRACYCLINES		
Tetracycline	100	100-200
Chlortetracycline	100	100-200
Oxitetracycline	100	100-200
Doxycycline	100	100-200
MACROLIDES		
Erythromycin	200	200-400
Tilosina	100	100-200
Tilmicosin	50	100-200
Spiramicina	200	200-400
LINCOSAMIDES		
Lincomycin	100	100-200
Pirlimycin	100	50-100
AMINOGLYCOSIDES		
Gentamicin	50	100-200
Neomycin	500	500-1000
Streptomycin	500	500-1000
Dihydrostreptomycin	500	500-1000
SULPHAMIDES		
Sulfadiazine	100	50-100
SULPHANILAMIDES		
Sulfadimidine	100	50-100
BENZYL PYRIMIDINE		
Trimethoprim	50	50-100
QUINOLONES		
Flumequine	200	200-400
Enrofloxacin	100	50-100

¹ Regulation 37/2010 EC.

TABLE OF SYMBOLS

 Batch code	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limitation
 Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	



Liofilchem®

Via Scozia Zona Ind.le - 64026 Roseto D.A. (TE) - Italy

Tel. +390858930745 Fax +390858930330 Website: www.liofilchem.net E-Mail: liofilchem@liofilchem.net

F00041
Rev.5.1 / 03.02.2016