

Microbial Screening test for the presumptive detection of antibiotic and sulfonamide residues in particularly fresh meat. NF VALIDATION certification scope includes beef, pork and poultry meat (with the exception of ground meat). The following selected antibiotics were investigated:

Penicillins: Penicillin G (CC β = 6 μ g/kg); Amoxicillin (CC β = 11 μ g/kg); Cloxacillin (CC β = 150 μ g/kg)
Tetracyclines: Chlortetracycline (CC β = 160 μ g/kg); Epichlortetracycline (CC β > 500 μ g/kg); Oxytetracycline (CC β = 160 μ g/kg); Epioxytetracycline (CC β > 500 μ g/kg); Doxycycline (CC β = 100 μ g/kg)
Sulfonamides: Sulfadimethoxine (CC β = 75 μ g/kg); Sulfadiazine (CC β = 90 μ g/kg)
Macrolides: Erythromycine A (CC β = 200 μ g/kg); Tylosine A (CC β = 90 μ g/kg)

The CC β values were determined by spiking in meat juice; the detection capabilities in other samples may differ.

Tetracyclines, Cefalosporins, Aminoglycosides, Amphenicols, Quinolones, Tiamulin, and Lincomycin are detected above the Maximum Residue Level (MRL).

This validation study has been conducted according to the protocol NF 102 for validation protocol for methods of detecting and quantifying traces of animal medicines in food products (Rev 12).

20260701 - Insert 1015

Contents

25 ampoules with *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* in a solid agar medium, disposable pipette, perforated cover foil.

Product description

Premi® Test is a broad-spectrum microbial screening test especially developed for the detection of antimicrobial substances, such as antibiotic and sulfonamide residues particularly in fresh meat, in the range of MRL.

Test principle

Premi® Test is based on the inhibition of the growth of *Bacillus stearothermophilus*, a micro-organism very sensitive to many antibiotic and sulfonamide residues.

A standardized number of spores are imbedded in an agar medium with selected nutrients. When meat fluid is added to the Premi® Test and heated at 64 °C, the spores will germinate. The germinated spores will multiply and form an acid when no inhibitory substances are present. This will be visible by a color change from purple to yellow of the indicator in the ampoule. When antimicrobial residues are present in sufficient amount (above the detection level) no growth will occur and the color will remain purple.

Caution

This test is sensitive to certain antibiotics and other inhibitory substances, any contamination with such materials should be avoided at all times. It is advised to wash hands thoroughly before starting the test procedure. Use tissue paper or a clean towel to dry hands.

Instruction for use

- Wash hands thoroughly before starting the test procedure.
- Remove the required number of ampoules without damaging the aluminum foil of the adjacent ampoules.
- Remove foil carefully from the required number of ampoules (do not open more ampoules than needed).
- Take approximately 2 cm³ of lean meat and use a meat press to extract approximately 250 µL of meat fluid. Alternatively, the meat juice can be obtained by freeze/thawing the meat.
- For each sample use a new and clean pipette.
- Pipette 100 µL of the fluid onto the agar in the ampoule. Do not distort the agar.
- Allow to stand at room temperature for 20 minutes for a pre-incubation.
- Flush the meat juice away by gently filling and emptying the test ampoule twice with demineralized (demi) water. Wash the ampoules with demineralized water only and do not use tap-water!
- Remove the last water carefully from the test ampoule.
- Close the test ampoule with the foil supplied to avoid evaporation.
- Incubate the test ampoule in a Premi® Test Incubator or water bath (64 °C ± 1 °C).
- It is required to use, in parallel, a negative control of the same matrix that is being tested. Read the test results after the negative control has changed color.
- All necessary equipment (meat press, scissors, incubator, and timer) are available in the Premi® Test Starter Kit.
- To facilitate the use of the Premi® Test there is a PowerPoint document available on request for all users.

Reading test results

- Read the color only from the bottom 2/3 part of the ampoule.
- A clear color change (from purple towards yellow) indicates the absence of antibiotics / sulfonamides above the detection limit.
- No clear color change indicates the presence of antibiotics and/or sulfonamides at/or above the limit of detection of the test.

Negative control

The use of a negative control is required (obligatory for NF VALIDATION). Start to check the color of the negative control after an incubation time of 2 h 40 min and then in intervals of 5 min until the color of the negative control has changed from purple to yellow. At that time, the samples should be compared to the negative control, because a delayed measuring (> 5 min.) can lead to increased values of the detection capability (CC β).

If there is no color change of the negative control after 4 h, repeat the test. The negative control can be prepared by freezing and storing meat juice from a sample tested negative. Never use water as a negative control!

Positive control

It is strongly recommended to test a positive control (protocol is available from R-Biopharm AG) to verify the correct application of the test.

Storage

The ampoules should be stored cool (3 – 10 °C). Attention: DO NOT FREEZE!

Limited Liability

Premi® Test is a screening test and as such 100% accuracy of the test results cannot be guaranteed. Besides, the assessment of color, in particular that of a yellow/purple result, may differ from person to person. In cases where severe consequences are involved for the user, test results should be confirmed by a validated comprehensive analytical method. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality.

Recommendations for sample-preparations of fish, shrimps, eggs, kidney, liver, urine, blood and feed are available at R-Biopharm AG. These matrices require individual validation by the customer. Supportive information are available at R-Biopharm upon request.

R-Biopharm AG

Postanschrift / Postal Address: An
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:

Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrenner,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409



Mikrobieller Inhibitionstest zum Screening von Antibiotika- und Sulfonamid-Rückständen insbesondere in Frischfleisch. Die Zertifizierung NF VALIDATION gilt für Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch, ausgenommen Hackfleisch. Folgende ausgewählte Antibiotika wurden untersucht:
Beta-lactams: Penicillin G (CC_β = 6 µg/kg); Amoxicillin (CC_β = 11 µg/kg); Cloxacillin (CC_β = 150 µg/kg)
Tetracycline: Chlortetracyclin (CC_β = 160 µg/kg); Epichlortetracyclin (CC_β > 500 µg/kg); Oxytetracyclin (CC_β = 160 µg/kg);
Epioxytetracycline (CC_β > 500 µg/kg); Doxycyclin (CC_β = 100 µg/kg)
Sulfonamide: Sulfadimethoxin (CC_β = 75 µg/kg); Sulfadiazin (CC_β = 90 µg/kg)
Macrolide: Erythromycin A (CC_β = 200 µg/kg); Tylosin A (CC_β = 90 µg/kg)
Die CC_β Werte wurden durch Dotierung in Fleischsaft bestimmt. Das Nachweisvermögen kann in anderen Proben abweichen.
Tetracycline, Cefalosporine, Aminoglycoside, Amphenicole, Quinolone, Tiamulin, und Lincomycin werden oberhalb der Rückstandshöchstmengen gefunden.
Diese Validierungsstudie wurde gemäß dem Protokoll NF 102 zur Validierung von Methoden zum Nachweis und zur Quantifizierung von Spuren von Tierarzneimitteln in Lebensmitteln (Rev. 12) durchgeführt.

20260701 - Insert 1015

Inhalt

25 Ampullen mit *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* in einem festen Agar; Einweg-Pipetten, perforierte Abdeckfolie.

Produktbeschreibung

Premi Test ist ein mikrobieller Screening-Test mit breitem Spektrum, der eigens zum Nachweis von antimikrobiellen Substanzen, wie etwa Antibiotika- und Sulfonamid-Rückständen insbesondere in Frischfleisch im Bereich des MRL (Maximum Residue Level) entwickelt worden ist.

Testprinzip

Premi Test basiert auf der Wachstumshemmung von *Bacillus stearothermophilus*, einem für viele Antibiotika- und Sulfonamid-Rückstände sehr empfindlichen Mikroorganismus.

Eine standardisierte Anzahl Sporen ist in einem Agar mit ausgewählten Nährstoffen eingebettet. Wenn dem Premi Test Fleischflüssigkeit zugefügt und auf 64°C erhitzt wird, keimen die Sporen. Die gekeimten Sporen vermehren sich und bilden eine Säure, wenn keine Hemmstoffe vorhanden sind. Dies wird durch eine farbliche Veränderung des Indikators von violett nach gelb sichtbar. Wenn antimikrobielle Rückstände in ausreichender Menge (über der Nachweisgrenze) vorhanden sind, tritt kein Wachstum ein und die Farbe bleibt violett.

Vorsicht

Dieser Test ist empfindlich für bestimmte Antibiotika und andere Hemmstoffe, jegliche Kontaminierung mit solchen Stoffen sollte jederzeit vermieden werden. Es wird empfohlen, sich vor Beginn des Testverfahrens sorgfältig die Hände zu waschen. Verwenden Sie Papiertücher oder ein sauberes Tuch zum Trocknen der Hände.

Bedienungsanleitung

- Die Hände vor Beginn des Testverfahrens sorgfältig waschen.
- Entfernen Sie die gewünschte Anzahl Ampullen ab, ohne die Aluminiumfolie der angrenzenden Ampullen zu zerstören.
- Die Folie vorsichtig von der erforderlichen Anzahl Ampullen entfernen (nicht mehr Ampullen öffnen als benötigt).
- Aus etwa 2 cm³ magerem Fleisch mit einer Fleischpresse etwa 250 µL Fleischflüssigkeit entnehmen. Als Alternative dazu kann der Fleischsaft Einfrieren/Auftauen des Fleisches gewonnen werden.
- Für jede Probe muss eine neue und saubere Pipette benutzt werden.
- 100 µL der Flüssigkeit auf den Agar der Ampulle pipettieren. Den Agar nicht beschädigen.
- 20 Minuten bei Raumtemperatur zur Vorinkubation stehen lassen.
- Den Fleischsaft durch zweimaliges behutsames Füllen und Leeren der Testampulle mit vollentsalztem Wasser (dest. Wasser) ausspülen. Waschen Sie die Testampulle nur mit vollentsalztem Wasser und benutzen Sie niemals Leitungswasser.
- Entfernen Sie das Restwasser vorsichtig aus der Testampulle.
- Die Testampulle mit der gelieferten Folie schließen, um Verdunstung zu vermeiden
- Die Testampulle in einem Inkubator Premi Test oder Wasserbad (64 °C ± 1 °C) inkubieren.
- Es ist erforderlich, gleichzeitig eine erwiesene Negativprobe des gleichen Probenmaterials als Parallelprobe durchzuführen.
- Lesen Sie die Testergebnisse ab, nachdem die Negativprobe ihre Farbe verändert hat.
- Die gesamte erforderliche Ausrüstung (Fleischpresse, Schere, Inkubator und Zeituhr) sind im Premi Test Starter Kit erhältlich.
- Um dem Anwender die Handhabung des Premi Test zu erleichtern, steht auf Anfrage eine PowerPoint-Dokumentation zur Verfügung.

Ablesen der Testergebnisse

- Die Farbe nur von den unteren zwei Dritteln der Ampulle ablesen.
- Eine deutliche Farbveränderung (von violett nach gelb) zeigt an, dass keine Antibiotika / Sulfonamide über der Nachweisgrenze vorhanden sind.
- Keine deutliche Farbveränderung zeigt an, dass Antibiotika und/oder Sulfonamide an/über der Nachweisgrenze des Tests vorhanden sind.

Negativkontrolle

Die Untersuchung einer Negativkontrolle ist erforderlich (und obligatorisch für die Durchführung gemäß NF VALIDATION). Die Negativkontrolle erstmals nach einer Inkubationszeit von 2h 40 min auf den Farbumschlag von violett nach gelb kontrollieren und anschließend in Abständen von 5 min, bis der Farbumschlag stattgefunden hat. Die Proben sollten dann direkt mit der Negativkontrolle verglichen werden, da ein verzögertes Ablesen (> 5 min.) zu einer Erhöhung der Werte des Nachweisvermögens führt (CC_β). Wenn nach 4 h kein Farbumschlag der Negativkontrolle auftritt, den Test wiederholen. Falls erforderlich, kann der Benutzer eine Negativkontrolle z. B. durch Einfrieren und Lagern von Fleischsaft aus einer zuvor negativ getesteten Probe erstellen. Niemals Wasser als Negativkontrolle verwenden!

Positive Gegenprobe

Es wird dringend empfohlen eine positive Probe mitzutesten, um die korrekte Durchführung des Tests zu kontrollieren. (Eine Gebrauchsanweisung ist von der R-Biopharm AG erhältlich).

Lagerung

Die Ampullen sollten kühl gelagert werden (3 – 10 °C). Vorsicht: NICHT EINFRIEREN!

Begrenzte Haftung

Premi Test ist ein Screening-Test und kann somit keine 100%-ige Genauigkeit der Testergebnisse gewährleisten. Darüber hinaus kann sich die Beurteilung der Farbe, insbesondere des Gelb-/Violett-Ergebnisses von einer Person zur anderen unterscheiden. In Fällen, in denen sich kritische Folgen für den Benutzer ergeben, sollten die Testergebnisse durch eine bewährte umfassende Analyseverfahren bestätigt werden. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien.

Für Fisch, Shrimps, Ei, Niere, Leber, Urin, Blut und Futtermittel sind bei R-Biopharm AG separate Empfehlungen für Probenvorbereitungen verfügbar. Diese Matrices müssen vom Kunden einzeln validiert werden. Unterstützende Informationen sind bei R-Biopharm auf Anfrage erhältlich.

R-Biopharm AG

Postanschrift / Postal Address: An
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:

Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrenner,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409



Premi[®]Test



RBP 31/02-04/11
ALTERNATIVE ANALYTICAL
METHODS FOR AGRIBUSINESS
Certified by AFNOR Certification
End of validity: see AFNOR website
<http://nf-validation.afnor.org/en>,
search PremiTest.

Microbiologische screeningstest voor de detectie van antibiotica en sulfonamideresiduen in, met name, vers vlees. De certificering "NF VALIDATION" is geldig voor rundvlees, varkensvlees en gevogelte, met uitzondering van gehakt vlees. De volgende antibiotica zijn getest:
Penicillinen: Penicilline G (CC_β = 6 µg/kg); Amoxicilline (CC_β = 11 µg/kg); Cloxacilline (CC_β = 150 µg/kg)
Tetracyclinen: Epichloortetracycline (CC_β > 500 µg/kg); Chloortetracycline (CC_β = 160 µg/kg); Oxytetracycline (CC_β = 160 µg/kg);
Epioxytetracycline (CC_β > 500 µg/kg); Doxycycline (CC_β = 100 µg/kg)
Sulfonamiden: Sulfadimethoxine (CC_β = 75 µg/kg); Sulfadiazine (CC_β = 90 µg/kg)
Macroliden: Erythromycine A (CC_β = 200 µg/kg); Tylosine A (CC_β = 90 µg/kg)
De CC_β-waarden zijn bepaald met gespikete vleessapmonsters; de detectiecapaciteiten in andere soorten monsters kunnen afwijken.
Tetracyclinen, cefalosporinen, aminoglycosiden, amfenicolen, quinolonen, tiamuline en lincomycine zijn boven de waarde van de maximale residulimiet (MRL) gedetecteerd.
Dit validatieonderzoek is uitgevoerd volgens protocol NF 102 voor de validatie van methoden voor het opsporen en kwantificeren van sporen van diergeneesmiddelen in levensmiddelen (Rev. 12).

20260701 - Insert 1015

Inhoud

25 ampullen met *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* in een vast agar medium, pipetten voor eenmalig gebruik, geperforeerde afdekfolie.

Productbeschrijving

Premi[®]Test is een breedspectrum screeningstest die speciaal is ontwikkeld voor het detecteren van antimicrobiële stoffen zoals antibiotica- en sulfonamideresiduen in, met name, vers vlees op of onder de maximale residulimiet (MRL).

Testprincipe

Het principe van de Premi[®]Test is gebaseerd op de groeiremming van *Bacillus stearothermophilus*, een micro-organisme dat gevoelig is voor vele antibiotica- en sulfonamideresiduen. Uitgegaan wordt van een agar medium dat gestandaardiseerde hoeveelheden sporen en nutriënten bevat. Na toevoeging van vleessap aan de Premi[®]Test en verhitting op 64 °C zullen de sporen ontkiemen. De ontkiemde sporen zullen zich vermenigvuldigen en zuur vormen als er geen remmende stoffen aanwezig zijn. Dit zal zichtbaar zijn door kleurverandering van de indicator van paars naar geel. Als er voldoende antimicrobiële stoffen aanwezig zijn (boven de detectiegrens) zal geen groei plaatsvinden en zal de kleur van de indicator paars blijven. Voor garnalen, eieren en urine zijn aparte "sample-procedures" bij R-Biopharm AG aanwezig.

Belangrijk

Omdat deze test uiterst gevoelig is voor bepaalde antibiotica en andere remmende stoffen, moet elke verontreiniging met dergelijke stoffen worden voorkomen. Geadviseerd wordt de handen goed te wassen en af te drogen met een schone handdoek of tissue alvorens de test uit te voeren.

Gebruiksaanwijzing

- Voor gebruik de handen grondig wassen.
- Verwijder de benodigde ampullen uit het blok zonder de aluminiumfolie van aangrenzende ampullen te beschadigen.
- Verwijder voorzichtig de folie van het gewenste aantal ampullen (maak nooit meer ampullen open dan nodig).
- Neem ca. 2 cm² mager vlees en onttrek hieraan ca. 250 µl vleessap met behulp van een vleesspers. Vleessap kan ook worden verkregen door het vlees eerst te bevriezen en vervolgens te ontdooien.
- Gebruik voor ieder monster een nieuwe, schone pipet (zorg dat de pipetten niet vervuild raken).
- Pipetteer 100 µl van het vleessap op de agar in de ampul. Zorg ervoor dat daarbij geen beschadiging van de agar optreedt.
- Laat 20 minuten staan bij kamertemperatuur voor prediffusie.
- Spoel het vleessap weg door de ampul twee keer voorzichtig te spoelen met gedemineraliseerd water en het laatste water voorzichtig uit de ampul te verwijderen. Gebruik nooit kraanwater!
- Sluit de ampul goed af met folie om uitdrogen te voorkomen.
- Incubeer de testampul in de Premi[®]Test Incubator of waterbad bij 64 °C (± 1 °C).
- Het is vereist om tegelijkertijd een bekend negatief monster van dezelfde matrix te testen. Lees het testresultaat af nadat het negatieve monster van kleur is veranderd.
- Alle benodigdheden (vleesspers, schaar, incubator en klok) zijn te vinden in de Premi[®]Test Starter Kit.
- Om het gebruik van de Premi[®]Test te vergemakkelijken is er een PowerPoint-presentatie op aanvraag beschikbaar met alle "tips & tricks".

Aflezen

- Kijk bij het aflezen van het resultaat uitsluitend naar de kleur van het onderste 2/3 deel van de ampul.
- Een duidelijke kleurverandering (van paars naar geel) wijst op de afwezigheid van antibiotica/sulfonamiden boven de detectielimiet.
- Indien geen duidelijke kleurverandering optreedt, is dit een aanwijzing voor de aanwezigheid van antimicrobiële stoffen op of boven de detectielimiet.

Negatieve controle

Een negatief controlemonster is vereist (tevens verplicht conform "NF VALIDATION"). Controleer de kleur van de negatieve controle na een incubatietijd van 2 uur en 40 minuten; de kleur dient te veranderen van paars naar geel. Controleer de kleur van de negatieve controle telkens na 5 minuten opnieuw indien geen kleurverandering is opgetreden. Een vertraagde aflezing (>5 min) kan leiden tot verhoogde waarden van de detectiecapaciteit (CC_β). Herhaal de test wanneer er na 4 uur nog steeds geen kleurverandering is opgetreden. De negatieve controle kan door de gebruiker zelf worden gemaakt, door bijvoorbeeld een eerder negatief bevonden vleessapmonster in te vriezen en te bewaren. Gebruik nooit water als een negatieve controle!

Positieve controle

Het wordt aanbevolen positieve controles mee te nemen met de te testen monsters om de correcte uitvoering van de Premi[®]Test te controleren (protocol is bij R-Biopharm AG aanwezig).

Bewaarcondities

De ampullen moeten koel (3 - 10 °C) bewaard worden. Let op: NIET INVRIEZEN!

Beperking aansprakelijkheid

Aangezien de Premi[®]Test een screeningstest is, kan geen 100% nauwkeurigheid worden gegarandeerd. Bovendien kan de kleurbeoordeling, met name de omslag van paars naar geel, van persoon tot persoon verschillen. In gevallen waarin de uitslag van de test belangrijke consequenties kan hebben voor de gebruiker, moeten de resultaten worden bevestigd door een uitgebreide gevalideerde analyse. R-Biopharm biedt geen enkele garantie, met uitzondering van de standaard kwaliteit van de reagentia.

Aanbevelingen voor monsteropwerkmethoden voor vis, garnalen, ei, nier, lever, urine, bloed en voer zijn verkrijgbaar bij R-Biopharm AG. Deze matrices dienen door de gebruiker zelf gevalideerd te worden. Ondersteunende informatie hierover is, op aanvraag, beschikbaar bij R-Biopharm AG.

R-Biopharm AG
Postanschrift / Postal Address: An
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:
Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrener,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409



Screening test microbiologico per la determinazione presuntiva di residui di antibiotici e residui di sulfonamide in carne fresca. La certificazione NF VALIDATION è valida per le carni bovine, suine e di pollame, escluse le carni macinate. Sono stati studiati i seguenti antibiotici:

Penicilline: Penicillina G (CC₅₀ = 6 µg/kg); Amoxicillina (CC₅₀ = 11 µg/kg); Cloxacillina (CC₅₀ = 150 µg/kg)
Tetracicline: Clortetraciclina (CC₅₀ = 160 µg/kg); Epichlortetraciclina (CC₅₀ > 500 µg/kg); Ossitetraciclina (CC₅₀ = 160 µg/kg); Epiossitetraciclina (CC₅₀ > 500 µg/kg); Doxiciclina (CC₅₀ = 100 µg/kg)
Sulfamidici: Sulfadimetossina (CC₅₀ = 75 µg/kg); Sulfadiazina (CC₅₀ = 90 µg/kg)
Macrolidi: Eritromicina A (CC₅₀ = 200 µg/kg); Tilosina A (CC₅₀ = 90 µg/kg)

I valori di CC₅₀ sono stati determinati contaminando artificialmente il succo di carne; i limiti di rilevamento in altri campioni possono differire. Tetracicline, cefalosporine, aminoglicosidi, amfenicoli, chinoloni, tiamulina e lincomicina sono rilevati al di sopra della quantità massima di residuo (MRL).

Il presente studio di validazione è stato condotto in conformità al protocollo NF 102 relativo alla validazione dei metodi di rilevamento e quantificazione di tracce di medicinali veterinari nei prodotti alimentari (Rev. 12).

20260701 - Insert 1015

Contenuto

25 ampole contenenti *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* in un terreno agarizzato solido, pipette monouso, pellicola perforata di protezione.

Descrizione del prodotto

Il Premi Test è un test di screening microbiologico ad ampio spettro appositamente sviluppato per la rilevazione delle sostanze antimicrobiche, come i residui di antibiotici e sulfamidici nelle carni fresche al livello della quantità massima di residuo (MRL).

Principio del test

Il Premi Test è basato sulla inibizione della crescita del *Bacillus stearothermophilus*, un microrganismo molto sensibile a residui di diversi antibiotici e sulfamidici. Le ampole fornite nel kit contengono un numero standard di spore in un terreno agarizzato con sostanze nutritive selezionate. Dopo aver aggiunto al Premi Test il campione opportunamente preparato, le ampole vengono incubate a 64 °C e, in assenza di sostanze inibenti, le spore germinano e si moltiplicheranno e formeranno un acido. La colorazione dell'indicatore contenuto nell'agar vincerà dal viola al giallo. Qualora dovessero essere presenti residui antimicrobici in misura sufficiente (sopra il livello di rilevazione), non si assisterà ad alcuna crescita ed il colore dell'agar rimarrà viola.

Avvertenza

Questo test è sensibile ad alcuni antibiotici e ad altre sostanze inibenti e pertanto è necessario evitare qualsiasi contaminazione durante la sua esecuzione. Prima di iniziare la procedura del test è consigliabile lavarsi molto bene le mani e asciugarle utilizzando salviette di carta o asciugamani puliti.

Istruzioni per l'uso

- Lavarsi molto bene le mani prima di iniziare la procedura del test.
- Rimuovere dal blocco il numero necessario di ampole senza danneggiare la pellicola di copertura delle ampole adiacenti (non strappare le ampole dal blocco).
- Rimuovere con cura la pellicola di alluminio solo dalle ampole che si intendono utilizzare (non aprire mai un numero di ampole superiore al necessario).
- Prendere circa 2 cm³ di carne magra e utilizzare uno spremicarne per estrarre circa 250 µL di succo. Eventualmente il succo si può ottenere oppure congelandola e poi scongelandola.
- Per ogni nuovo campione usare una pipetta nuova e pulita.
- Pipettare 100 µL di succo nell'ampolla sull'agar. Non toccare l'agar.
- Incubare a temperatura ambiente per 20 minuti.
- Sciacquare il succo della carne riempiendo e svuotando con prudenza l'ampolla del test due volte con acqua demineralizzata e rimuovere con cura l'acqua residua. Non usare acqua di rubinetto!
- Eliminare con cura l'acqua residua dall'ampolla.
- Chiudere l'ampolla del test utilizzando la pellicola adesiva fornita per evitare l'evaporazione.
- Incubare l'ampolla nell'incubatrice Premi Test o in un bagnomaria (64 °C ± 1 °C).
- È necessario utilizzare in parallelo un campione di controllo negativo della stessa matrice del campione da analizzare. Leggere i risultati del test non appena il controllo negativo ha cambiato colore.
- Tutta l'attrezzatura necessaria (spremicarne, forbici, termoblocco, timer) è fornita con Premi Test Starter Kit.
- Per facilitare l'utilizzo del Premi Test, è disponibile a richiesta una presentazione in PowerPoint.

Interpretazione dei risultati del test

- Leggere solo il colore dei 2/3 inferiori dell'ampolla.
- Una chiara variazione di colore (dal viola al giallo) indica l'assenza di antibiotici / sulfamidici sopra il limite di rilevazione.
- Una variazione di colore poco evidente indica la presenza di antibiotici e/o sulfamidici al limite o sopra il limite di rilevazione del test.

Controllo negativo

L'uso del controllo negativo è assolutamente necessario (e obbligatorio per NF VALIDATION). Iniziare a verificare il colore del controllo negativo dopo un periodo di incubazione di 2 ore e 40 minuti e successivamente a intervalli di 5 minuti, fino a quando il colore del controllo negativo non avrà virato da porpora a giallo.

A quel punto, i campioni dovrebbero essere confrontati con il controllo negativo, perché una misurazione ritardata (> 5 min.) può portare ad un aumento dei valori della capacità di rilevamento (CC₅₀).

Se non si nota alcun cambiamento di colore del controllo negativo dopo 4 ore, ripetere il test. Come controllo negativo ideale utilizzare un campione risultato negativo con il kit e conservato congelato in aliquote. Non utilizzare mai acqua come controllo negativo!

Controllo positivo

Si raccomanda vivamente di analizzare regolarmente un controllo positivo (il protocollo per la preparazione del controllo positivo è disponibile presso R-Biopharm AG) per verificare il corretto funzionamento del kit.

Conservazione

Le ampole devono essere mantenute al fresco (3 – 10 °C). Attenzione: NON CONGELARE!

Responsabilità limitata

Premi Test è un test di screening e pertanto non è possibile garantire una totale accuratezza dei risultati. Inoltre, la valutazione del colore, in particolare quella di un risultato giallo / viola, è soggettiva. Nei casi in cui sono implicate gravi conseguenze per l'utente, i risultati dei test devono essere confermati da un metodo analitico completo validato. R-Biopharm non rilascia alcuna garanzia, espressa o implicita, tranne per il fatto che i materiali con cui sono realizzati i suoi prodotti sono di qualità standard.

Raccomandazioni per la preparazione di campioni di pesce, gamberi, uova, reni, fegato, urina, sangue e mangimi sono disponibili presso R-Biopharm AG. Queste matrici richiedono una validazione individuale da parte del cliente. Informazioni di supporto sono disponibili presso R-Biopharm su richiesta.

R-Biopharm AG
Postanschrift / Postal Address: Am
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:
Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrenner,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409

r-biopharm®



Test rapide pour la détection de résidus d'antibiotiques et sulfamides en particulier dans les viandes fraîches. La validation AFNOR (NF VALIDATION) porte sur les viandes bovines, porcines et de volaille (hors viande hachée). Les antibiotiques suivants ont été étudiés :
Pénicillines : Pénicilline G (CC β = 6 μ g / kg) ; Amoxicilline (CC β = 11 μ g / kg) ; Cloxacilline (CC β = 150 μ g / kg)
Tétracyclines : Chlortétracycline (CC β = 160 μ g / kg) ; Epichlortétracycline (CC β > 500 μ g / kg) ; Oxytétracycline (CC β = 160 μ g / kg) ;
Epioxytétracycline (CC β > 500 μ g / kg) ; Doxycycline (CC β = 100 μ g / kg)
Sulfamides : Sulfadiméthoxine (CC β = 75 μ g / kg) ; Sulfadiazine (CC β = 90 μ g / kg)
Macrolides : Érythromycine A (CC β = 200 μ g / kg) ; Tylosine A (CC β = 90 μ g / kg)
Les valeurs de CC β ont été déterminées en réalisant des ajouts dosés dans du jus de viande. Les capacités de détection dans d'autres échantillons peuvent différer. Les tétracyclines, les céfalosporines, les aminosides, les amphénols, les quinolones, la tiamuline et la lincomycine sont détectées au-dessus de la limite maximale de résidus (LMR).
Cette étude de validation a été conduite selon le protocole NF102 de validation des méthodes de détection et de quantification des résidus de médicaments vétérinaires dans les produits agroalimentaires (Rév 12).

20260701 - Insert 1015

Contenu du coffret

25 ampoules contenant des spores de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* enrobées dans une gélose, pipettes jetables, film de protection perforé.

Description du produit

Premi Test est un test de détection microbiologique à large spectre, spécialement mis au point pour la détection, en particulier dans les viandes fraîches, de substances antimicrobiennes telles que les résidus d'antibiotiques ou de sulfamides à un niveau égal ou inférieur aux LMR (limite maximale de résidus).

Principe du test

Premi Test est basé sur l'inhibition du développement de *Bacillus stearothermophilus* qui est un micro-organisme très sensible à de nombreux résidus d'antibiotiques et de sulfamides. Un nombre standardisé de spores est enrobé dans une gélose contenant des nutriments. Lorsque le jus de viande est ajouté dans l'ampoule Premi Test puis mis à incuber à 64 °C, les spores germent. Ces spores germées vont se multiplier et acidifier le milieu en l'absence de substances inhibitrices. Ceci se traduit par un changement de couleur de la gélose qui vire alors du violet au jaune. Quand des résidus antimicrobiens sont présents en quantité suffisante (au-dessus du seuil de détection), le germe ne se développe pas et la couleur de la gélose reste violette.

Précautions à prendre

Ce test est sensible à certains antibiotiques et à d'autres substances inhibitrices : il est donc nécessaire d'éviter tout risque de contamination croisée par de telles substances. De ce fait, il est conseillé de bien se laver et se sécher les mains (à l'aide de papier absorbant ou d'une serviette propre) avant de débiter l'analyse.

Utilisation

- Bien se laver les mains avant de commencer le test.
- Retirez le nombre d'ampoules nécessaires sans abîmer le film en aluminium qui protège les ampoules voisines.
- Enlever prudemment le film recouvrant les ampoules souhaitées (ne pas ouvrir plus d'ampoules que nécessaire).
- Prendre environ 2 cm³ de viande maigre et utiliser un presse-viande pour en extraire environ 250 μ L de jus. Il est également possible d'obtenir du jus de viande en faisant congeler/décongeler la viande.
- Pour chaque échantillon, utilisez une nouvelle pipette propre.
- Pipeter dans l'ampoule 100 μ L de jus et le verser sur la gélose, sans la toucher.
- Laisser à température ambiante pendant 20 minutes pour une pré-incubation.
- Éliminer le jus de viande en remplissant puis en vidant l'ampoule de test deux fois de suite avec de l'eau déminéralisée. Laver impérativement à l'EAU DÉMINÉRALISÉE (pas d'eau du robinet !)
- Il est important d'éliminer soigneusement le restant d'eau de l'ampoule.
- Fermer l'ampoule à l'aide du film fourni pour éviter toute évaporation.
- Mettre l'ampoule à incuber dans l'incubateur Premi Test ou au bain-marie (64 °C $\pm$ 1 °C).
- Il est nécessaire de réaliser en parallèle un contrôle négatif de la matrice testée. Lire les résultats du test lorsque le témoin négatif change de couleur.
- Tout le matériel nécessaire (presse-viande, ciseaux, incubateur et minuteur) est disponible dans le Premi Test Starter Kit.
- Pour une bonne utilisation du Premi Test, un document PowerPoint est à la disposition des utilisateurs sur demande.

Lecture des résultats du test

- Lire la couleur uniquement sur les deux tiers inférieurs de l'ampoule.
- Un changement de couleur évident (du violet au jaune) indique une absence d'antibiotique / sulfamide à une concentration supérieure au seuil de détection.
- S'il n'y a aucun changement de couleur ou un changement de couleur peu évident, cela indique une présence présomptive d'antibiotiques / sulfamides à une concentration supérieure ou égale au seuil de détection du test.

Contrôle négatif

L'utilisation d'un témoin négatif est DEMANDÉ et OBLIGATOIRE pour le protocole certifié AFNOR. Vérifier la couleur du contrôle négatif après une incubation de 2 h 40 min, puis toutes les 5 minutes, jusqu'à ce que la couleur passe du violet au jaune. À ce stade, les échantillons doivent être comparés au contrôle négatif, car une mesure retardée (> 5 min.) peut entraîner une augmentation des valeurs de la capacité de détection (CC β). S'il n'y a pas de modification de la couleur avant 4 h, répéter le test. Le témoin négatif peut être préparé en congelant et en conservant le jus de viande issu d'un échantillon testé négatif. Ne surtout pas utiliser de l'eau comme témoin négatif !

Contrôle positif

Il est fortement recommandé de tester régulièrement un TÉMOIN POSITIF (protocoles fournis sur demande) pour vérifier la bonne application du test.

Conservation

Les ampoules doivent être conservées entre 3 et 10 °C. Attention : NE PAS CONGELER !

Responsabilité limitée

Premi Test est un test de détection et en tant que tel, l'exactitude du test ne peut être garantie à 100 %. De plus, l'évaluation de la couleur, et plus particulièrement celle du résultat violet/jaune, peut différer d'une personne à l'autre. En cas de conséquences graves pour l'utilisateur, les résultats du test devront être confirmés par une analyse exhaustive et homologuée. Ces données correspondent à nos connaissances techniques actuelles et fournissent des informations sur nos produits et leur utilisation. R-Biopharm ne donne aucune garantie d'aucune sorte, exprimée ou implicite, en dehors du fait que les matières premières utilisées pour la fabrication de ce produit sont de qualité standard.

Des recommandations concernant la préparation des échantillons de poissons, de crevettes, d'œufs, de reins, de foie, d'urine, de sang et d'aliments pour animaux sont disponibles auprès de R-Biopharm AG. Ces matrices doivent être validées individuellement par le client. Des informations complémentaires sont disponibles sur demande auprès de R-Biopharm.

R-Biopharm AG
Postanschrift / Postal Address: Am
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:
Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrenner,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409



Ensayo microbiano para la detección de posibles residuos antibióticos y de sulfonamidas particularmente en carne fresca. La certificación NF VALIDATION es válida para la carne de res, cerdo y aves de corral (excepto para carne molida). Se investigaron los siguientes antibióticos seleccionados: Penicilinas: penicilina G (CC₅₀ = 6 µg/kg); amoxicilina (CC₅₀ = 11 µg/kg); cloxacilina; (CC₅₀ = 150 µg/kg). Tetraciclinas: clortetraciclina (CC₅₀ = 160 µg/kg); epíclorotetraciclina (CC₅₀ > 500 µg/kg); oxitetraciclina (CC₅₀ = 160 µg/kg); epioxitetraciclina (CC₅₀ > 500 µg/kg); tetraciclina (CC₅₀ = 100 µg/kg). Sulfonamidas: sulfadimetoxina (CC₅₀ = 75 µg/kg); sulfadiazina (CC₅₀ = 90 µg/kg). Macrólidos: eritromicina A (CC₅₀ = 200 µg/kg); tilosina A (CC₅₀ = 90 µg/kg). Los valores CC₅₀ se determinaron al enriquecer con jugo de carne. Pueden diferir las capacidades de detección en otras muestras. Tetraciclinas, cefalosporinas, aminoglicosidos, amfenicoles, quinolonas, tiamulina y lincomicina se detectan por encima del nivel máximo de residuos (NMR). Este estudio de validación se ha realizado de acuerdo con el protocolo NF 102 sobre la validación de métodos para la detección y cuantificación de trazas de medicamentos veterinarios en alimentos (Rev. 12).

20260701 - Insert 1015

Contenido

25 tubos de ensayo con *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* en un medio de agar sólido, pipetas desechables, película perforada de protección.

Especificación del producto

Premi Test es un ensayo de detección microbiano de amplio espectro especialmente diseñado para la detección de sustancias antimicrobianas, tales como residuos antibióticos y sulfonamidas particularmente en carne fresca, en niveles de NMR.

Principio del ensayo

Premi Test se basa en la inhibición del crecimiento del *Bacillus stearothermophilus*, un microorganismo con alta sensibilidad a residuos de muchos de los antibióticos y sulfonamidas. Se introduce una cantidad estándar de esporas en un medio de agar con nutrientes seleccionados. Al agregar jugo de carne al Premi Test y calentarlo a 64 °C, las esporas germinan. Si no se encuentra presente sustancia inhibidora alguna, las esporas germinadas se multiplican produciendo un ácido, identificable por un cambio del color del indicador en el tubo de ensayo, cambiando de violeta a amarillo. Si se encuentra presente una cantidad suficiente de residuos antimicrobianos (sobre el nivel de detección), las esporas no se reproducirán y el color seguirá siendo violeta.

Advertencia

Este ensayo es sensible a los antibióticos y otras sustancias inhibidoras; se debe evitar en todo momento cualquier contaminación con tales materiales. Se recomienda lavarse bien las manos antes de iniciar el ensayo. Utilice papel o una toalla limpia para secarse las manos.

Instrucciones de uso

- Lávese bien las manos antes de comenzar la ejecución de la prueba.
- Retire el número de tubos de ensayo necesarios sin dañar el aluminio de los tubos de ensayo contiguos.
- Quite con cuidado el aluminio de los tubos de ensayo que se vayan a utilizar (no abra más tubos de ensayo de los necesarios).
- Tome aproximadamente 2 cm³ de carne magra y utilice una prensa para extraer aproximadamente 250 µL de jugo de carne. Otra manera de obtener jugo de carne sería congelando/descongelando la carne.
- Utilice una punta de pipeta limpia y nueva para cada muestra.
- Pipete 100 µL de líquido sobre el agar del tubo de ensayo. No dañe el agar.
- Preincube durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- Elimine el jugo de carne del tubo de ensayo realizando dos lavados con agua destilada y elimine el agua del tubo de ensayo cuidadosamente. Lave los tubos de ensayo con agua destilada únicamente y no utilice agua de la llave!
- Retire con cuidado lo que quede de agua del tubo de ensayo.
- Cierre el tubo de ensayo con el aluminio proporcionado para evitar la evaporación.
- Incube el tubo de ensayo en una incubadora Premi Test o en baño de agua (64 °C ± 1 °C).
- Simultáneamente debe usarse un control negativo de la misma matriz que esté siendo probada. Lea los resultados del ensayo después de que el control negativo haya cambiado de color.
- El Premi Test Starter Kit incluye todo el equipo necesario (prensa de carne, tijeras, incubadora, pipeta y temporizador).
- Para facilitar el uso de Premi Test existe un documento en PowerPoint que está, bajo pedido, a disposición del usuario.

Lectura de los resultados del ensayo

- Lea únicamente el color de los 2/3 inferiores del tubo de ensayo.
- Un claro cambio de color (de violeta a amarillo) indica la ausencia de antibióticos / sulfonamidas por encima del límite de detección del ensayo.
- Un cambio de color poco manifiesto indica la presencia de antibióticos y/o sulfonamidas al mismo nivel o sobre el límite de detección del ensayo.

Control negativo

Se recomienda la realización de un control negativo (obligatorio para los NF VALIDATION). Empiece a revisar el color del control negativo tras 2 hrs y 40 minutos de incubación y luego, cada 5 minutos, hasta que el color cambie de morado a amarillo. En dicho momento, las muestras deberán compararse con el control negativo, ya que una medición demorada (> 5 min.) puede resultar en valores aumentados de la capacidad de detección (CC₅₀). Si el color del control negativo no ha cambiado tras 4 horas, repita el ensayo. ¡Nunca utilice agua como control negativo!

Control positivo

Se recomienda realizar con regularidad una prueba de control positivo (protocolo disponible en R-Biopharm AG) para verificar el correcto funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento

Los tubos de ensayo deben ser conservados en un lugar fresco (3 – 10 °C). Advertencia: ¡NO CONGELE!

Responsabilidad limitada

Premi Test es un ensayo de detección por lo que los resultados no se pueden garantizar al 100%. Además, la apreciación visual del cambio de color, en especial en caso de un resultado amarillo/violeta, puede variar en función del observador. Si los resultados del ensayo tuvieran consecuencias graves para el usuario, éstos deberán ser corroborados mediante un método analítico completo aprobado. R-Biopharm no ofrece ninguna garantía, ni expresa ni implícita, excepto la de que los materiales con los que están hechos los productos son de una calidad estándar.

R-Biopharm AG tiene recomendaciones disponibles para las preparaciones de muestras de pescado, camarón, huevo, riñón, hígado, orina, sangre y pienso. Estas matrices requieren la validación individual del consumidor. R-Biopharm tiene información de apoyo disponible bajo pedido.

Premi®Test

Microbial inhibition test validated for the detection of residues of PENICILLIN in fresh bovine meat

20251017 Insert 0607



1. The Intended Use

Premi®Test is a Microbial inhibition test validated for the detection of residues of PENICILLIN in fresh bovine meat.

2. The Intended User

The test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with the antibiotic screening testing. All users of the Premi®Test should be trained by a R-Biopharm AG representative or by somebody, who already successfully completed the training. To facilitate the use of the Premi®Test there is a PowerPoint document available for all users.

3. Contents

- 25 ampoules containing an agar medium, pH indicator and spores of *Bacillus Stearothermophilus*
- 25 single use pipettes
- Premi®Test covering foil

4. Materials required but not included

- Premi®Test Starter Kit, containing the required equipment to do Premi®Test:
- R-Biopharm AG heating block (Premi®Test Incubator), meat press, pair of scissors, thermometer and timer.
- Instead of the Premi®Test Incubator a water bath at 64 °C ± 1.0 °C can be used.
- In case a water bath is used: a rack or floater is required to accommodate the ampoules during incubation.
- Calibrated thermometer appropriate for designated use.
- Refrigerator at 3 – 10 °C (37 - 50 °F) for storage of the Premi®Test-ampoules.
- Negative control: muscle tissue juice from a known antibiotic-free sample, previously tested as negative.
- Premi®Scan, software to interpret the results of the Premi®Test, an HP Scanjet 7400 or 8200 scanner, templates, black cloth and Kodak Q-60 Color chart.

5. Test Performance

5.1 Detection Sensitivity (dose response information Premi®Test):

10 ppb for Penicillin G

The Premi®Test has been validated to detect penicillin G residues in fresh bovine muscle tissue consistently with 95% confidence.

5.2 Selectivity

30 negative control meat samples were evaluated in an independent laboratory and 0 of these negative samples tested positive with the Premi®Test.

5.3 Cross reactivity

Premi®Test does cross-react with the following drugs spiked at a concentration of 100 ppb:

β-lactams:	Amoxicillin, Ampicillin, Cephapirin, Cloxacillin
Tetracyclines:	Chlortetracycline, Tetracycline
Macrolides:	Erythromycin, Tylosin, Tilmicosin
Glycopeptides:	Virginiamycin
Sulfonamides:	Sulfadiazine, Sulfadimethoxine, Sulfathiazole
Miscellaneous:	Dapsone

Premi®Test does cross-react with the following drugs spiked at a concentration of 50 ppb:

β-lactams:	Amoxicillin, Ampicillin, Cephapirin,
Macrolides:	Erythromycin, Tylosin, Tilmicosin
Miscellaneous:	Dapsone

Premi®Test does cross-react with the following drugs spiked at a concentration of 10 ppb:

β-lactams:	Amoxicillin, Ampicillin
Miscellaneous:	Dapsone

6. Test principle

- Premi®Test is based on the inhibition of the growth of *Bacillus Stearothermophilus var. calidolactis*, a thermophilic microorganism which is very sensitive to many antibiotics and sulphonamide residues. A standardized number of spores is imbedded in an agar medium with selected nutrients and a pH indicator (bromocresol purple).
- When muscle tissue fluid containing no antimicrobials or non-inhibitory substances is added to the Premi®Test and heated at 64 °C, the spores will grow, multiply and produce acid. This process is characterized by a visible change in the color of the pH indicator from purple to yellow in the ampoule.
- When muscle tissue fluid containing antimicrobial residues or inhibitory substances are present at or above the detection sensitivity, no growth will occur and there will be no acid production. As a result, there will be no change in the color of the pH indicator and the color of the ampoule will remain purple.

7. Caution

This test is extremely sensitive to antibiotics, disinfectants and other inhibitory substances. Any contamination with such materials should be avoided at all times. It is advised to wash hands thoroughly before starting the test procedure, and to dry the hands with tissue paper or a clean towel. Disposable hygienic hand gloves can also be used.

8. Operating instructions Premi®Test

8.1 Before starting the test procedure

1. Premi®Test: take the number of ampoules needed from storage and let them warm up to room temperature. (18 - 25 °C / 64 - 77 °F)
2. Premi®Test Incubator: Allow the Premi®Test incubator or water bath to reach the required temperature of 64 °C ± 1.0 °C (147 °F).
3. Samples: Take approximately 4 grams of fresh, lean bovine muscle tissue and use a meat press to extract approximately 250 µL of meat fluid. The juice can be obtained somewhat easier, when heating the meat press first (e.g. by placing it in an incubator of 50 °C (122 °F).

-
4. Number of samples: The number of meat-samples that can be tested in one series is 9. The Premi[®]Test Incubator contains 10- holes. One hole should be reserved for the negative control.
 5. Wash hands thoroughly before starting the test procedure.

8.2 Testing procedure

1. Remove the required number of ampoules. Do not tear off ampoules, as this may damage the foil the adjacent ampoules. Any test with torn foil must be used immediately or discarded.
2. Mark the ampoules with a meat-sample identification code.
3. Remove foil carefully from the required amount of ampoules (do not open more ampoules than needed; after opening, the test can not be stored any longer).
4. Pick up a disposable pipette tip without touching the ends and place it on the syringe.
5. For each sample use a new and clean pipette.
6. Pipette 100 +/- 5 ³L of each muscle tissue juice sample to be tested into the labeled ampoules. Depress the plunger of the pipette, dip the pipette tip into muscle tissue juice and let the plunger return slowly to its original position. Transfer the meat juice onto the agar of the labeled ampoule by depressing the plunger slowly and completely. Do not disturb the agar.
7. Pre-incubate the test 20 minutes at room temperature (18 - 25 °C / 64 - 77 °F).
8. Remove the muscle tissue juice by gently emptying the test, by putting the ampoule(s) upside down.
9. Wash the test two times, by gently filling and emptying the test ampoule with demineralized (demi) water.
10. Remove the last traces of water carefully from the test ampoule, by putting the ampoule upside down on a tissue.
11. Close the test ampoule with the foil supplied with the kit to avoid evaporation during incubation.
12. Incubate the test ampoule in the Premi[®]Test incubator or water bath (64 °C / 147 °F) until the negative control changes color from purple to yellow. (See Section 6.3)
13. When the negative control has changed color (after approximately 3 hours), the ampoules can be read with the Premi[®]Scan.

8.3 Guideline to Determine the Removal of Samples from the Incubator

1. Interpreting result for screening by eye (color change). [NOTE: The EVALUATION WAS NOT INTENDED TO COVER THE USE OF THE EYE, but is included as a guideline for triggering the point at which the test samples should be removed from the incubator to be read by the Premi[®]Scan. GUIDELINE FOR TRIGGERING THE POINT AT WHICH THE TEST SAMPLES SHOULD BE REMOVED FROM THE INCUBATOR TO BE READ BY THE PREMISCAN.]
2. Read the color only from the bottom 2/3 part of the ampoule.
3. A partly or completely yellow color of the agar medium indicates the absence of antibiotic residues in the corresponding meat sample at or above the levels indicated above. Such a result should be regarded as a negative result (reported as not found).
4. When the color change is "doubtful", incubate 5 minutes longer and read again. When the result is still not clear, test the sample again.

9. Operating Instructions Premi[®]Scan

1. Place the Premi[®]Scan in the CD drive; the program will start up automatically.
2. Accept the license agreement by clicking on OK and the program will be ready to use.
3. Place the Kodak Q-60 Color chart, delivered with the Premi[®]Scan, on the scanner (HP Scanjet 7400 or 8200).
4. Calibrate the Premi[®]Scan with the Kodak Q-60 Color chart, by following the instructions of the software.
5. Put the ampoules to be tested in the templates, delivered with the Premi[®]Scan.
6. Place the black cloth over the templates.
7. The Premi[®]Scan recognizes the position of the ampoules automatically and determines the result of the ampoules.
8. Results can be printed.

10. Storage and Precautions

1. The Premi[®]Test ampoules should be stored in a dry and cool place (preferable below 8 °C / 46 °F). Attention: DO NOT FREEZE! Ampoules should not be used after the expiration date, indicated on the label.
2. Anything that may come in contact with the meat (hands, petri-dish etc.) must be cleaned thoroughly, rinsed with tap water and dried with a clean (paper) towel to avoid contamination with inhibiting substances like antibiotics, other drugs, cleaning agents or disinfectants.
3. Store the meat below 8 °C (46 °F) if it is not possible to carry out the test immediately. If it is not possible to test the meat within 48 hours, the sample should be stored at or below -18 °C.

11. Technical Assistance

For assistance in use, interpretation, or troubleshooting unanticipated results of this test contact sales@r-biopharm.de. To facilitate the use of Premi[®]Test there is a PowerPoint document available for all users.

12. Limited Liability

Premi[®]Test is a screening test and as such 100% accuracy of the test results cannot be guaranteed. Besides, the assessment of color, in particular that of a yellow/purple result, may differ from person to person. In cases where severe consequences are involved for the user, test results should be confirmed by a validated comprehensive analytical method (like HPLC or LC-MS MS). The data corresponds to our present state of technology and provides information on our products and their uses. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. Defective products will be replaced. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product. The above test has received AOAC approval for this test kit use in North America.

R-Biopharm AG
Postanschrift / Postal Address: An
der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

Aufsichtsrat/Supervisory Board:
Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender/Chairman)
Vorstand/Board of Management: Christian Dreher
(Vorsitzender/Chairman), Ute Salzbrenner,
Dr. Frank Apostel, Dr. Frank Vitzthum
Handelsregister/ Commercial Register:
Amtsgericht Darmstadt, HRB 8321
Sitz der Gesellschaft/ Corporate Seat: Pfungstadt
USt.ID-Nr. / VAT-No.: DE 111 657 409

