

ГОСТ 32219-2013

Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

ГОСТ 32219-2013

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Milk and milk products. Immunoenzyme methods for determination of antibiotics

МКС 67.100.10

Дата введения 2015-07-01

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0-92 "Межгосударственная система стандартизации. Основные положения" и ГОСТ 1.2-2009 "Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены"

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением "Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности" Российской академии сельскохозяйственных наук" (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. N 44)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004-97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004-97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономки Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. N 1920-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32219-2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт разработан с учетом основных нормативных положений международного стандарта ISO 18330:2003* "Молоко и молочные продукты. Руководящие указания по стандартизованному описанию иммунологических или рецепторных анализов для определения антибактериальных остатков" ("Milk and milk products - Guidelines for the standardized description of immunoassays or receptor assays for the detection of antimicrobial residues", NEQ)

* Доступ к международным и зарубежным документам, упомянутым здесь и далее по тексту, можно получить, перейдя по ссылке на сайт <http://shop.cntd.ru>. - Примечание изготовителя базы данных.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе "Национальные стандарты", а текст изменений и поправок - в ежемесячном информационном указателе "Национальные стандарты". В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе "Национальные стандарты". Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования - на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сырое, пастеризованное, стерилизованное и предварительно восстановленное сухое коровье молоко (далее - молоко) и устанавливает качественные иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков:

- методы определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа;
- методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы;
- метод одновременного определения левомецетина (хлорамфеникола) и стрептомицина;
- методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомецетина и стрептомицина.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 3145-84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 16317-87 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 28498-90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования.
Методы определений

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные.
Часть 1. Общие требования

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования - на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю "Национальные стандарты", который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя "Национальные стандарты" за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует

руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Оборудование, средства измерений, посуда, материалы и реактивы

3.1 Термостат, позволяющий поддерживать температуру от 37°C до 66°C с допустимой погрешностью $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

3.2 Баня водяная с терморегулятором, поддерживающая температуру от 37°C до 66°C.

3.3 Холодильник бытовой, позволяющий поддерживать температуру от 0°C до 12°C по ГОСТ 16317.

3.4 Камера морозильная, позволяющая поддерживать температуру минус $(20\pm 2)^\circ\text{C}$.

3.5 Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

3.6 Термометр лабораторный стеклянный с диапазоном измерения от 0°C до 100°C ценой деления шкалы 1°C по ГОСТ 28498.

3.7 Пипетки вместимостью 0,5 и 1,0 см³ по ГОСТ 29227.

3.8 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

3.9 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

3.10 Тест-наборы для определения наличия антибиотиков:

- тест-набор N 1 для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий закрытые крышкой пробирки с 3,3',5,5'-тетраметилбензидином и специфическими рецепторами; пипетки вместимостью 0,45 см³; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;

- тест-набор N 2 для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий флаконы с лиофилизатом, индикаторные полоски хроматографической бумаги, пипетки вместимостью 0,15 см³;

- тест-набор N 3 для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом;

индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 см³ с наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с массовой концентрацией пенициллина-G 0,004 мкг/г и окситетрациклина 0,01 мкг/г, красителя ("Positive Standard"); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя ("Negative Standard");

- тест-набор N 4 для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору N 1;

- тест-набор N 5 для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий закрытые крышкой флаконы со специфическими рецепторами, мечеными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 см³ с наконечниками;

- тест-набор N 6 для одновременного определения левомицетина и стрептомицина, включающий флаконы; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетки вместимостью 0,2 см³ ;

- тест-набор N 7 для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору N 3;

- тест-набор N 8 для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору N 6.

Тест-набор "СНАП Бета-Лактам СТ".

Тест-набор "Delvotest BLF".

Тест-набор "Twinsensor".

Тест-набор "СНАП Дуо Бета-Тетра СТ".

Тест-набор "Betastar Combo HS".

Тест-набор "Reveal for CAP/STREP".

Тест-набор "4sensor".

Тест-набор "Betastar 4D".

Сноски 1)-8) с указанными тест-наборами являются рекомендуемыми к применению. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает их обязательное применение. Допускаются к использованию тест-наборы производства других изготовителей, обеспечивающие требования настоящего стандарта. В этом случае следует руководствоваться инструкциями, прилагаемыми к данным тест-наборам.

Допускается использование другого оборудования с техническими характеристиками и средств измерений с метрологическими характеристиками, а также материалов, реактивов и посуды по качеству не ниже вышеуказанных.

4 Отбор проб

Отбор проб молока - по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт. Пробы допускается хранить в холодильнике при температуре $(4\pm 2)^\circ\text{C}$ не более 24 ч.

5 Методы определения наличия антибиотиков

5.1 Методы определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа

5.1.1 Метод с использованием тест-набора N 1

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики бета-лактамного типа захватываются специфическими белковыми рецепторами, мечеными ферментом с индикатором, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие антибиотиков устанавливают визуально, сравнивая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков с интенсивностью цвета контрольной зоны индикаторного устройства.

5.1.1.1 Подготовка к определению

Тест-набор N 1 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2°C до 8°C . Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15°C до 30°C в течение 5 мин.

Анализируемое молоко хранят в холодильнике при температуре от 0°C до 10°C .

Вскрывают упаковку тест-набора и проверяют положение шарика реактива в пробирке, который должен находиться на дне. При необходимости шарик реактива устанавливают на дно пробирки встряхиванием.

5.1.1.2 Проведение определения

Снимают крышку с пробирки. Пипетку вместимостью 0,45 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают крышкой и перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Индикаторное устройство устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемой смеси находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

В момент начала изменения цвета активационного окна клавишу индикаторного устройства нажимают до щелчка. Через 6 мин считывают результат. Стабильность окраски сохраняется в течение 30 мин.

5.1.1.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность окрашенных в синий цвет зон в окнах индикаторного устройства в соответствии с А.1 (приложение А).

Если после проведения определения по 5.1.1.2 изменения цвета контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Большая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.1.2 Метод с использованием тест-набора N 2

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа с белковыми рецепторами, содержащимися в лиофилизате, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционную и контрольную зоны.

5.1.2.1 Подготовка к определению

Тест-набор N 2 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре $(6\pm 2)^{\circ}\text{C}$ не более 9 мес. Перед началом работы необходимое количество флаконов извлекают из тест-набора, выдерживают при температуре от 15°C до 30°C , после чего открывают, удаляя фольгу.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры $(64\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

5.1.2.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,15 см³ наполняют анализируемым молоком, выливают во флакон и перемешивают круговыми движениями.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню и выдерживают при температуре $(64\pm 2)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 мин. После этого флакон достают из термостата (водяной бани), перемешивают круговыми движениями до растворения реактива и помещают обратно.

Во флакон, находящийся в термостате (на водяной бане), помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают в течение 3 мин. По истечении времени индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат.

5.1.2.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий, в соответствии с А.2 (приложение А).

Зона в верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.1.2.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

Большая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.2 Методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы

5.2.1 Метод с использованием тест-набора N 3

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

Метод распространяется на молоко и сыворотку, в том числе сухую.

5.2.1.1 Подготовка к определению

Тест-набор N 3 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2°C до 8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество пеналов из тест-набора выдерживают при температуре от 15°C до 30°C.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры (40±3)°C и выдерживают при этой температуре не менее 5 мин.

Восстановление контрольных растворов "Positive Standard" и "Negative Standard"

В стеклянные пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см дистиллированной воды (0,4 см для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного раствора.

Срок хранения восстановленных контрольных растворов в морозильной камере при температуре минус 20°C - не более 6 мес. Не допускается повторное замораживание восстановленных контрольных растворов.

5.2.1.2 Проведение определения

Микропробирки извлекают из пенала и помещают в термостат или на водяную баню с температурой (40±3)°C. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см анализируемого молока, перемешивают, наполняя и сливая содержимое с помощью пипетки пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают в термостате (на водяной бане) в течение 3 мин.

Для каждой микролунки используют новый наконечник на пипетку.

Индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из пенала, помещают в микропробирки и выдерживают в термостате (на водяной бане) при температуре (40±3)°C в течение 3 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из микропробирок и считывают результат.

Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см раствора "Positive

Standard", в другую - 0,2 см раствора "Negative Standard".

5.2.1.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий, в соответствии с А.3 (приложение А).

Зона центральной части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.2.1.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена над контрольной зоной. Зона определения антибиотиков бета-лактаманного типа - под контрольной зоной.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

При проведении определений с применением контрольных растворов "Positive Standard" и "Negative Standard" обработку результатов проводят, как указано выше.

5.2.2 Метод с использованием тест-набора N 4

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики бета-лактаманного типа и тетрациклиновой группы захватываются специфическими белковыми рецепторами, мечеными ферментом с индикатором, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие антибиотиков устанавливают визуально, сравнивая интенсивность цвета зон определения антибиотиков с интенсивностью цвета контрольной зоны индикаторного устройства.

5.2.2.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1 для тест-набора N 4 по 3.10.

5.2.2.2 Проведение определения в соответствии с 5.1.1.2.

5.2.2.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность окрашенных в синий цвет зон в окнах индикаторного устройства в соответствии с А.4 (приложение А).

Если после проведения определения по 5.2.2.2 изменения цвета контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Большая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.2.3 Метод с использованием тест-набора N 5

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

5.2.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор N 5 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2°C до 8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15°C до 30°C в течение 10 мин.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры $(37,5 \pm 1,0)^\circ\text{C}$.

Флаконы с реагентом встряхивают для осаждения содержимого на дне.

5.2.3.2 Проведение определения

Снимают крышку с флакона. Пипеткой с наконечником вносят 0,2 см анализируемого молока во флакон, закрывают его крышкой, встряхивают до растворения реактива и снимают крышку.

Для каждого флакона используют новый наконечник на пипетку.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню и выдерживают при температуре $(37,5 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Затем во флакон, находящийся в термостате (на водяной бане), помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают 3 мин. По истечении времени индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из

флакона и считывают результат.

5.2.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий, в соответствии с А.5 (приложение А).

Зона центральной части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.2.3.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена над контрольной зоной. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы - под контрольной зоной.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.3 Метод одновременного определения наличия левомицетина и стрептомицина с использованием тест-набора N 6

Метод основан на реакции комплексообразования левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

5.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор N 6 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2°C до 8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15°C до 30°C в течение 10 мин.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры $(47,5 \pm 1,0)^\circ\text{C}$.

5.3.2 Проведение определения

Пипеткой вносят 0,2 см³ анализируемого молока во флакон.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню. Во флакон, находящийся в термостате (на водяной бане), помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают при температуре $(47,5 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат.

5.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.6 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.3.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения левомицетина на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной зоной. Зона определения стрептомицина - под контрольной зоной второй.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.4 Методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина

5.4.1 Метод с использованием тест-набора N 7

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

Метод распространяется на молоко и сыворотку, в том числе сухую.

5.4.1.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.2.1.1 для тест-набора N 7 по 3.10.

5.4.1.2 Проведение определения

Микропробирки извлекают из пенала и помещают в термостат или на водяную баню с температурой $(40\pm 3)^{\circ}\text{C}$. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см анализируемого молока, перемешивают, наполняя и сливая содержимое с помощью пипетки пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают в термостате (на водяной бане) в течение 5 мин.

Для каждой микролунки используют новый наконечник на пипетку.

Индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из пенала, помещают в микропробирку и выдерживают в термостате (на водяной бане) при температуре $(40\pm 3)^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из микропробирок и считывают результат.

Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см раствора "Positive Standard", в другую - 0,2 см раствора "Negative Standard".

5.4.1.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторных полосках хроматографической бумаги в виде линий, в соответствии с А.7 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.1.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы в анализируемом молоке расположена под контрольной зоной первой. Зона определения левомицетина - под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина - под контрольной зоной третьей. Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа - под контрольной зоной четвертой.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков, по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

При проведении определений с применением контрольных растворов "Positive Standard" и "Negative Standard" обработку результатов проводят как указано выше.

5.4.2 Метод с использованием тест-набора N 8

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамногo типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

5.4.2.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.3.1 для тест-набора N 8 по 3.10.

5.4.2.2 Проведение определения в соответствии с 5.3.2.

5.4.2.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.8 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.2.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы в анализируемом молоке расположена под контрольной зоной первой. Зона определения левомицетина - под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина - под контрольной зоной третьей. Зона определения антибиотиков бета-лактамногo типа - под контрольной зоной четвертой.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков, по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

6 Метрологические характеристики

Наименьшие пределы определения антибиотиков в молоке и молочных продуктах представлены в таблице 1.

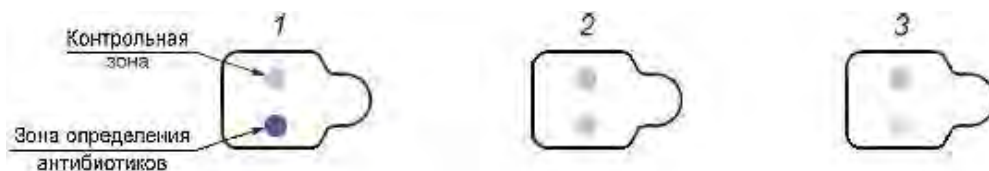
Таблица 1

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг							
	N 1	N 2	N 3	N 4	N 5	N 6	N 7	N 8
Амоксициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	-	0,002	0,002
Ампициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	-	0,003	0,003
Бензициллин	0,003	-	0,003	-	-	-	0,003	-
Гетациллин	0,01	-	0,005	-	-	-	0,005	-
Дигидрострептомицин	-	-	-	-	-	-	0,05	-
Диклосациллин	0,02	0,03	0,006	0,011	0,002	-	0,006	0,003
Доксициклин	-	-	0,0025	-	0,002	-	0,002	0,002
Клоксациллин	0,022	0,03	0,006	0,018	0,002	-	0,006	0,003
Левомецетин (хлорамфеникол)	-	-	-	-	-	0,0003	0,0003	0,0003
Нафциллин	0,052	-	0,03	0,046	0,0075	-	0,03	0,01
Оксациллин	0,024	0,03	0,012	0,032	0,003	-	0,012	0,003
Окситетрациклин	-	-	0,0075	0,01	0,01	-	0,007	0,01
Пенициллин G	0,002	0,004	0,003	0,001	0,002	-	0,003	0,003
Пенициллин V	0,003	-	0,003	-	-	-	0,003	-
Пиперациллин	0,006	-	0,005	-	-	-	0,005	-
Прокаин-пенициллин	0,002	-	0,003	-	-	-	0,003	-
Стрептомицин	-	-	-	-	-	0,2	0,15	0,2
Тетрациклин	-	-	0,01	0,01	0,01	-	0,01	0,01
Тикарциллин	0,04	-	-	-	-	-	-	-
Хлортетрациклин	-	-	0,006	0,026	0,006	-	0,005	0,006
Цефадроксил	0,03	-	0,005	-	-	-	0,005	-
Цефазолин	0,013	0,05	0,018	-	0,015	-	0,018	0,02
Цефалексин	0,025	0,1	0,75	0,01	0,4	-	1,0	-
Цефалоний	0,04	-	0,003	-	-	-	0,003	-
Цефалониум	0,04	0,02	0,003	0,04	0,003	-	0,003	0,003
Цефапирин	0,011	-	0,006	0,008	0,004	-	0,006	0,004
Цефакетрил	0,05	-	0,03	0,009	-	-	0,03	-
Цефкином	0,02	0,02	0,02	0,01	0,006	-	0,03	0,006
Цефоксазол	0,05	-	-	-	-	-	-	-
Цефоперазон	0,01	0,05	0,003	0,004	0,003	-	0,003	0,004
Цефотаксим	0,01	-	-	-	-	-	-	-
Цефрадин	0,03	-	-	-	-	-	-	-
Цефтиофур	0,011	0,1	0,01	0,002	0,05	-	0,01	0,015
Цефуросим	0,01	-	-	-	-	-	-	-

Приложение А (справочное). Примеры возможных результатов определения наличия антибиотиков в молоке

Приложение А (справочное)

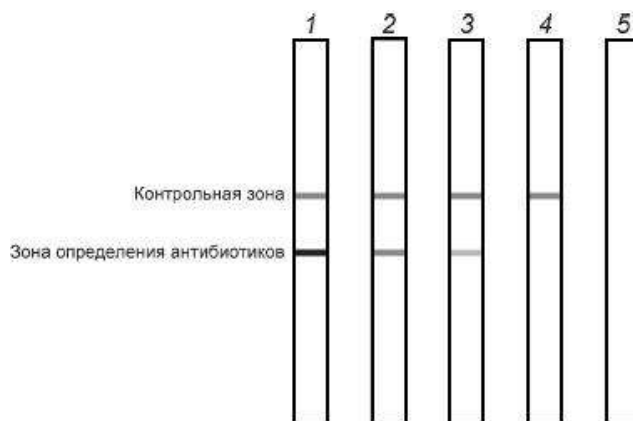
А.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора N 1 приведены на рисунке А.1.



1, 2 - антибиотики отсутствуют; 3 - антибиотики присутствуют

Рисунок А.1

А.2 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора N 2 приведены на рисунке А.2.



1 - антибиотики отсутствуют; 2, 3, 4 - антибиотики присутствуют; 5 - недействительный результат

Рисунок А.2

А.3 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора N 3 приведены на рисунке А.3.

