МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32219— 2013

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммунологические методы определения наличия антибиотиков

(ISO 18330:2003, NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, 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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 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	Минэкономики 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. № 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).

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ИЗДАНИЕ (май 2019 г.) с Изменением № 1 (ИУС 3—2018).

Изменение № 1 принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 104-П от 12.12.2017)

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, KG, RU, UZ, BY [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации[1)]

[1)] Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2018—07—01.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2018, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммунологические методы определения наличия антибиотиков

Milk and milk products. Immunological methods for determination of antibiotics

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сырое, пастеризованное, стерилизованное и предварительно восстановленное сухое молоко и сыворотку, в т. ч. сухую, (далее — продукт) и устанавливает качественные иммунологические 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 наличия левомицетина (хлорамфеникола) и стрептомицина;
- методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—2017 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 3145 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 19881 Анализаторы потенциометрические для контроля pH молока и молочных продуктов. Общие технические условия

ГОСТ 26809.1 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

Издание официальное

ГОСТ 27752 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

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

ГОСТ 33957 Сыворотка молочная и напитки на ее основе. Правила приемки, отбор проб и методы контроля

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru казателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

Раздел 2. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3 Оборудование, средства измерений, посуда, материалы и реактивы

3.1 Термостат, позволяющий поддерживать температуру от 37 °С до 66 °С с допустимой погрешностью ± 0,5 °С.

3.2 Баня водяная с терморегулятором, поддерживающая температуру от 37 °С до 66 °С с отклонением от заданной температуры ± 1 °С.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

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

3.4 Камера морозильная, позволяющая поддерживать температуру минус (20 ± 2) °С.

3.5 Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

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

3.7 Пипетки вместимостью 0,5 и 1,0 $см^3$ 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 № 1[1)] для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий закрытые крышкой пробирки с 3,3´, 5,5´-тетраметилбензидином и специфическими рецепторами; пипетки вместимостью 0,45 $см^3$; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;
- тест-набор № 2[2)] для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий флаконы с лиофилизатом, индикаторные полоски хроматографической бумаги, пипетки вместимостью 0,15 $см^3$;
- тест-набор № 3[3)] для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 $см^3$ 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»);

---

1) Тест-набор «СНАП Бета-Лакта СТ» (IDEXX, США).

2) Тест-набор «Delvotest BLF» (DSM Food Specialties B.V., Нидерланды).

3) Тест-набор «Twinsensor^{BT}» (Unisensor, Бельгия).

Сноски 1)—3) с указанными тест-наборами являются рекомендуемыми к применению.

- тест-набор № 4[1] для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;

- тест-набор № 5[2] для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий закрытые крышкой флаконы со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ с наконечниками;

- тест-набор № 6[3] для одновременного определения левомицетина и стрептомицина, включающий флаконы; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетки вместимостью 0,2 $см^3$ или 0,3 $см^3$;

- тест-набор № 7[4] для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 $см^3$ с наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с концентрацией пенициллина-G 0,004 мг/кг, окситетрациклина 0,01 мг/кг, стрептомицина 0,2 мг/кг, хлорамфеникола 0,0003 мг/кг и красителя («Positive Standard»); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

- тест-набор № 8[5] для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 6;

- тест-набор № 9[6] для одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий пластину микропробирок со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ с наконечниками (дополнительно);

- тест-набор № 10[7] для одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ с наконечниками (дополнительно).

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

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.11 Буфер для восстановления сухой сыворотки Unisensor Dilution Buffer (Unisensor, Бельгия).

3.12 Раствор гидроксида натрия молярной концентрации c (NaOH) = 1 $моль/дм^3$.

3.13 Анализатор потенциометрический по ГОСТ 19881 2-го класса точности диапазоном измерений от 5,5 до 8,0 ед. pH с погрешностью ± 0,05 ед. pH.

3.14 Криостат, позволяющий поддерживать температуру (4 ± 2) °С и (6 ± 2) °С.

3.15 Дозаторы автоматические или механические одноканальные или многоканальные переменной вместимости 0,01—0,1 и 0,1—1 $см^3$, с допускаемым относительным СКО не более 8,0 %.

3.16 Часы 2-го класса точности по ГОСТ 27752.

3.11—3.16 **(Введены дополнительно, Изм. № 1).**

4 Отбор проб

Отбор проб продукта — по ГОСТ 26809.1, ГОСТ 33957 и нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.

---

[1] Тест-набор «СНАП Дуо Бета-Тетра СТ» (IDEXX, США).

[2] Тест-набор «Betastar Combo» (Neogen Corporation, США).

[3] Тест-набор «Reveal for CAP/STREP» (Neogen Corporation, США).

[4] Тест-набор «4sensor^{BTCS}» (Unisensor, Бельгия).

[5] Тест-набор «Betastar 4D» (Neogen Corporation, США).

[6] Тест-набор «PROQUI-TEST R 10 ppb» (Proquiga Biotech, SA, Испания).

[7] Тест-набор «PROQUI-TEST 4» (Proquiga Biotech, SA, Испания).

Сноски [1]—[7] с указанными тест-наборами являются рекомендуемыми к применению.

Для восстановления сухой сыворотки готовят раствор буфера: при температуре (40 ± 2) °С буфер по 3.11 разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1 (*V*/*V*). 1,5 г сухой сыворотки добавляют к 8,5 см^3 раствора буфера и измеряют значение pH полученного раствора. Если значение менее 6 ед. pH, то кислотность раствора приводят к значению 6—7 ед. pH при помощи раствора гидроксида натрия по 3.12.

Раздел 4. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

5 Методы определения наличия антибиотиков

5.1 Методы определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа

5.1.1 Метод с использованием тест-набора № 1

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики бета-лактамного типа захватываются специфическими белковыми рецепторами, меченными 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 № 1 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 5 мин.

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

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 см^3 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 № 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 № 2 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 9 мес. Перед началом работы необходимое количество флаконов извлекают из тест-набора, выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С, после чего открывают, удаляя фольгу.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры (64 ± 2) °С.

5.1.2.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,15 $см^3$ наполняют анализируемым молоком, выливают во флакон и перемешивают круговыми движениями.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню и выдерживают при температуре (64 ± 2) °С 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 № 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 № 3 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество пеналов из тест-набора выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры (40 ± 3) °С 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 $см^3$ дистиллированной воды (0,4 $см^3$ для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного раствора.

Срок хранения восстановленных контрольных растворов в морозильной камере при температуре минус 20 °С — 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) °С. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 $см^3$ анализируемого продукта, 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) °С в течение 3 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из микропробирок и считывают результат способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора.

Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 $см^3$ раствора «Positive Standard», в другую — 0,2 $см^3$ раствора «Negative Standard».

(Измененная редакция, Изм. № 1).

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 продукте повторяют с новым тест-набором.

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

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

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 продукте.

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

(Измененная редакция, Изм. № 1).

5.2.2 Метод с использованием тест-набора № 4

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы захватываются специфическими белковыми рецепторами, меченными 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 № 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 № 5

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.

5.2.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 5 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 10 мин.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры (37,5 ± 1,0) °С.

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 $см^2$ 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 ± 1,0) °С 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.

5.2.4 Метод с использованием тест-набора № 9

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.

5.2.4.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 9 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 12 мес с даты производства. Перед началом работы необходимое количество микропробирок извлекают из тест-набора.

5.2.4.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ наполняют анализируемым молоком, выливают в микропробирку и перемешивают с ее содержимым, наполняя и сливая его с помощью пипетки пять раз, до образования розового цвета.

Индикаторную полоску хроматографической бумаги помещают в микропробирку на 5—10 с, затем извлекают и кладут на чистую сухую поверхность. По истечении 5—7 мин считывают результат.

5.2.4.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.5.1 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.2.4.2 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 под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа — под контрольной зоной второй.

Бóльшая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке менее предела обнаружения.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствуют о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке больше или равна пределу обнаружения.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

5.3 Метод одновременного определения наличия левомицетина и стрептомицина с использованием тест-набора № 6

Метод основан на реакции комплексообразования левомицетина и стрептомицина 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.

5.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 6 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 10 мин.

Термостат или водяную баню нагревают до температуры (47,5 ± 1,0) °С.

5.3.2 Проведение определения

Пипеткой вносят 0,2 $см^3$ 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 ± 1) °С 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 № 7

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина 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.

5.4.1.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.2.1.1 для тест-набора № 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 ± 3) °С. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 $см^3$ анализируемого продукта, 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 микропробирки и выдерживают в термостате (на водяной бане) при температуре (40 ± 3) °С в течение 5 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают из микропробирок и считывают результат способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора.

Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 $см^3$ раствора «Positive Standard», в другую — 0,2 $см^3$ раствора «Negative Standard».

(Измененная редакция, Изм. № 1).

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 продукте повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы в анализируемом продукте 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 продукте.

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 продукте.

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

(Измененная редакция, Изм. № 1).

5.4.2 Метод с использованием тест-набора № 8

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.

5.4.2.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.3.1 для тест-набора № 8 по 3.10.

5.4.2.2 Проведение определения

Пипеткой вносят 0,3 $см^3$ 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 ± 1) °С в течение 10 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

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-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.

5.4.3 Метод с использованием тест-набора № 10

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, стрептомицина и левомицетина 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.

5.4.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 10 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 12 мес с даты производства. Перед началом работы необходимое количество микропробирок извлекают из тест-набора.

5.4.3.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ наполняют анализируемым молоком, выливают в микропробирку, перемешивают с ее содержимым, наполняя и сливая его с помощью пипетки пять раз, до образования розового цвета, и выдерживают в течение 3 мин.

Индикаторную полоску хроматографической бумаги помещают в микропробирку на 7—8 мин, затем извлекают, кладут на чистую сухую поверхность и считывают результат.

5.4.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.9 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.3.2 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 под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы — под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина — под контрольной зоной третьей. Зона определения левомицетина — под контрольной зоной четвертой.

Бóльшая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке менее предела обнаружения.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствуют о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке больше или равна пределу обнаружения.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

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									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
Амоксициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,002	0,002	0,003	0,003
Ампициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,003	0,003	0,003	0,003
Бензициллин	0,003	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Гетациллин	0,01	—	0,005	—	—	—	0,005	—	—	—
Дигидрострептомицин	—	—	—	—	—	—	0,05	—	—	0,1
Диклоксациллин	0,02	0,03	0,006	0,011	0,002	—	0,006	0,003	0,006	0,003
Доксициклин	—	—	0,0025	—	0,002	—	0,002	0,002	0,006	0,006
Клоксациллин	0,022	0,03	0,006	0,018	0,002	—	0,006	0,003	0,003	0,003

Окончание таблицы 1

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
Левомицетин (хлорамфеникол)	—	—	—	—	—	0,0003	0,0003	0,0003	—	0,0003
Нафциллин	0,052	—	0,03	0,046	0,0075	—	0,03	0,01	0,01	0,01
Оксациллин	0,024	0,03	0,012	0,032	0,003	—	0,012	0,003	0,003	0,003
Окситетрациклин	—	—	0,0075	0,01	0,01	—	0,007	0,01	0,01	0,01
Пенициллин G	0,002	0,004	0,003	0,001	0,002	—	0,003	0,003	0,002	0,0015
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	—	0,1
Тетрациклин	—	—	0,01	0,01	0,01	—	0,01	0,01	0,008	0,008
Тикарциллин	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	0,006	0,026	0,006	—	0,005	0,006	0,004	0,004
Цефадроксил	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефазолин	0,013	0,05	—	—	0,015	—	—	0,02	0,005	—
Цефалексин	0,025	0,1	—	0,01	0,4	—	—	—	—	—
Цефалоний	0,04	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Цефалониум	0,04	0,02	0,003	0,04	0,003	—	0,003	0,003	0,004	0,004
Цефапирин	0,011	—	—	0,008	0,004	—	—	0,004	0,004	0,004
Цефацетрил	0,05	—	—	0,009	—	—	—	—	—	—
Цефкином	0,02	0,02	—	0,01	0,006	—	—	0,006	0,005	0,005
Цефоксазол	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефоперазон	0,01	0,05	0,003	0,004	0,003	—	0,003	0,004	0,005	0,004
Цефотаксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефрадин	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефтиофур	0,011	0,1	—	0,002	0,05	—	0,01	0,015	0,01	0,01
Цефуроксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(Измененная редакция, Изм. № 1).

7 Требования, обеспечивающие безопасность

При выполнении работ необходимо, чтобы помещение лаборатории было оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с требованиями ГОСТ 12.4.021 и содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не превышало норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

Требования техники безопасности при работе с химическими реактивами — в соответствии с ГОСТ 12.1.007; требования техники безопасности при работе с электроустановками — в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и должно быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

8 Требования к оператору

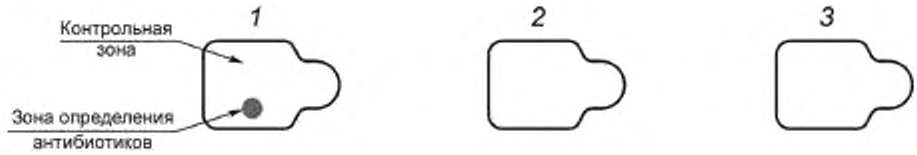
К проведению определения наличия антибиотиков допускаются лица, имеющие специальное образование по профилю выполняемых работ, прошедшие обучение приемам работы с оборудованием, освоившие выполнение предусмотренных методикой операций, ранее не принимавшие антибактериальные и противовирусные препараты в течение периода их полного выведения из организма в соответствии с инструкцией к конкретному препарату.

Разделы 7, 8 **(Введены дополнительно, Изм. № 1).**

Приложение А
(справочное)

Примеры возможных результатов определения наличия антибиотиков в молоке

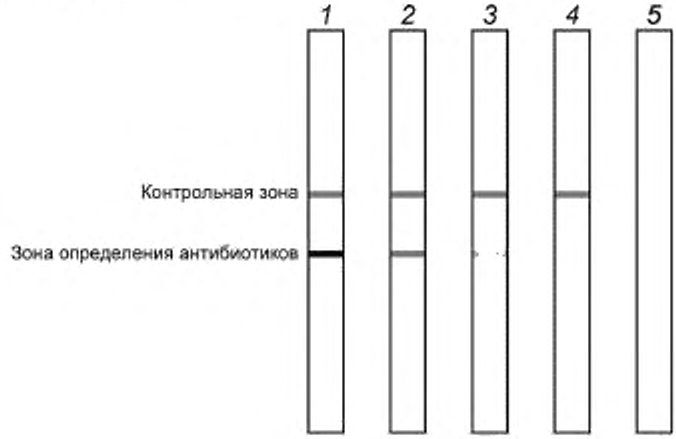
А.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 1 приведены на рисунке А.1.



1, 2 — антибиотики отсутствуют, *3* — антибиотики присутствуют

Рисунок А.1

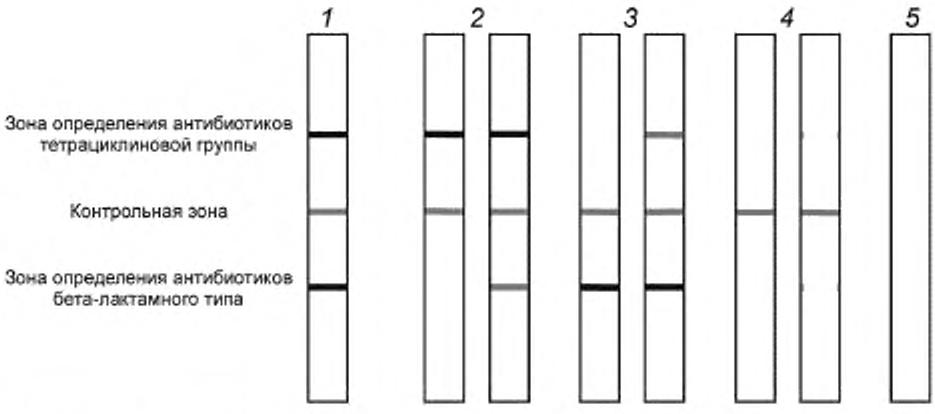
А.2 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 2 приведены на рисунке А.2.



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

Рисунок А.2

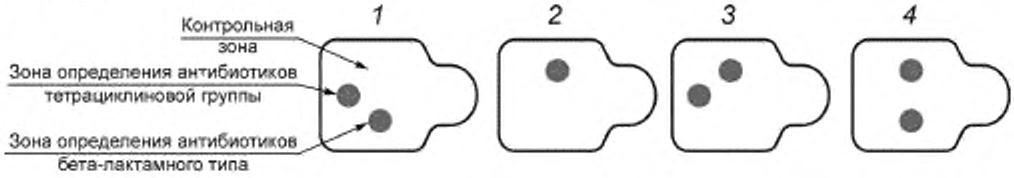
А.3 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 3 приведены на рисунке А.3.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *3* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; *4* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, *5* — недействительный результат

Рисунок А.3

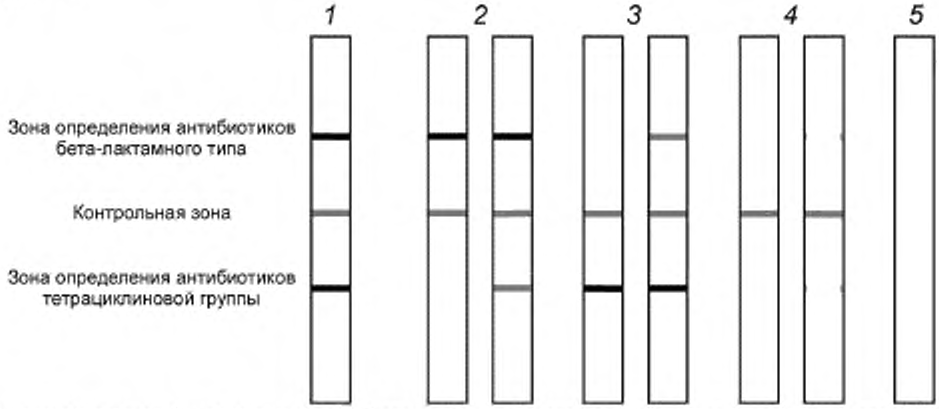
А.4 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 4 приведены на рисунке А.4



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы; *3* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *4* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы

Рисунок А.4

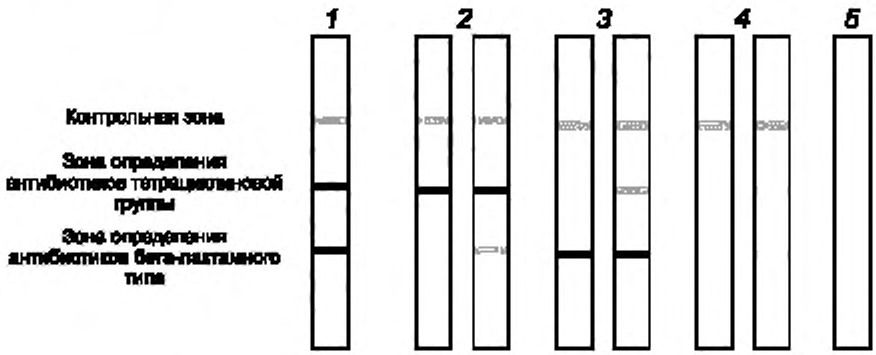
А.5 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 5 приведены на рисунке А.5.



1 — антибиотики отсутствуют, *2* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы, *3* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *4* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы; *5* — недействительный результат

Рисунок А.5

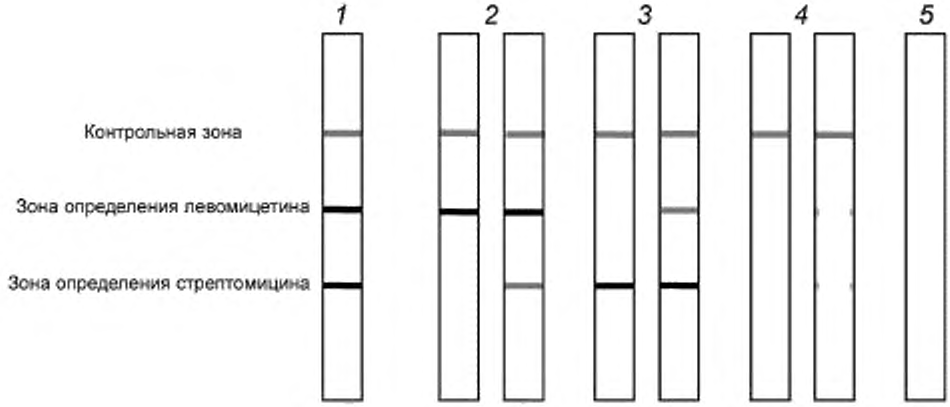
А.5.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 9 приведены на рисунке А.5.1.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *3* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; *4* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы; *5* — недействительный результат

Рисунок А.5.1

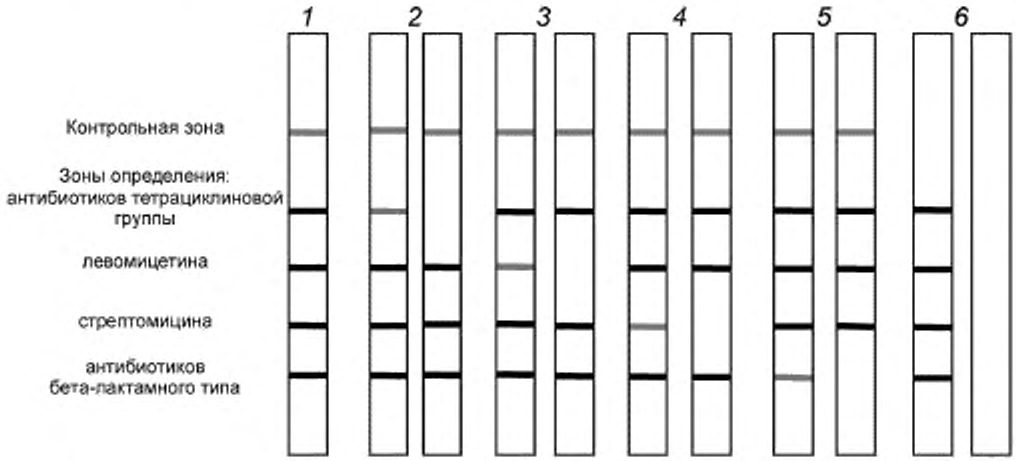
А.6 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 6 приведены на рисунке А.6.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствует стрептомицин; *3* — присутствует левомицетин; *4* — присутствуют левомицетин и стрептомицин; *5* — недействительный результат

Рисунок А.6

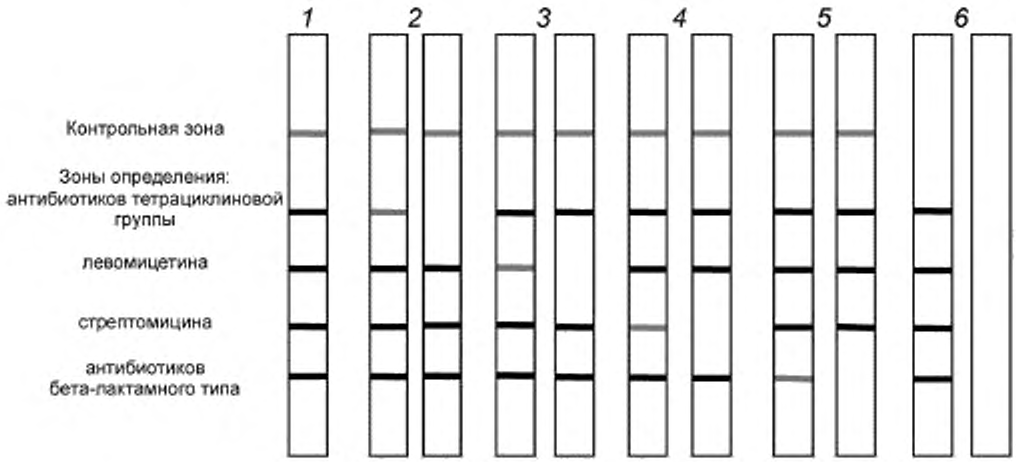
А.7 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 7 приведены на рисунке А.7.



1 — антибиотики отсутствуют, *2* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; *3* — присутствует левомицетин, *4* — присутствует стрептомицин, *5* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *6* — недействительный результат

Рисунок А.7

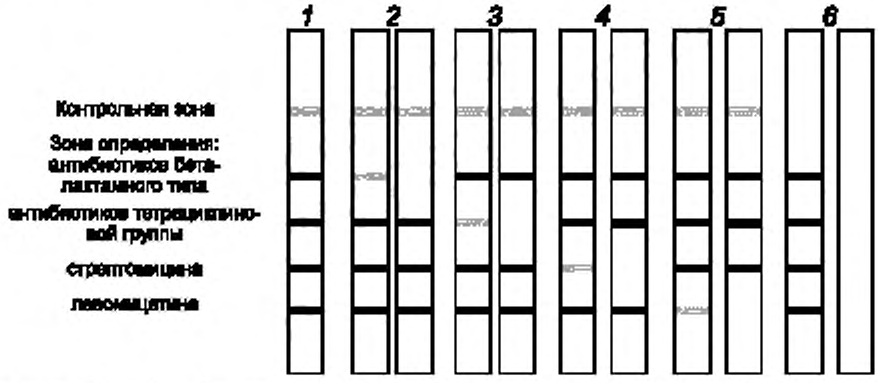
А.8 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 8 приведены на рисунке А.8.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы, *3* — присутствует левомицетин, *4* — присутствует стрептомицин, *5* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *6* — недействительный результат

Рисунок А.8

А.9 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 10 приведены на рисунке А.9.



1 — антибиотики отсутствуют, *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *3* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы, *4* — присутствует стрептомицин, *5* — присутствует левомицетин; *6* — недействительный результат

Рисунок А.9

Приложение А **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

УДК 637.12.04/.07:006.354 МКС 67.100.10 NEQ

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, иммунологические методы, методы определения антибиотиков бета-лактамного типа, методы одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, метод одновременного определения левомицетина (хлорамфеникола) и стрептомицина, методы одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина

Редактор *Н.Н. Кузьмина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 30.05.2019. Подписано в печать 24.07.2019 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32 Уч.-изд. л. 2,10.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва. Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

МКС 67.100.10

Изменение № 1 ГОСТ 32219—2013 Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 104-П от 12.12.2017)

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 13965

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, KG, RU, UZ, BY [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации*

Титульный лист и первая страница. Наименование стандарта. Заменить слово: «**Иммуноферментные**» на «**Иммунологические**».

Раздел 1. Первый абзац. Заменить слова: «коровье молоко (далее — молоко)» на «молоко и сыворотку, в т. ч. сухую, (далее — продукт)»;

четвертый абзац после слов «одновременного определения» дополнить словом: «наличия».

Раздел 2. Дополнить ссылками:

«ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 19881—74 Анализаторы потенциометрические для контроля pH молока и молочных продуктов. Общие технические условия

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 33957—2016 Сыворотка молочная и напитки на ее основе. Правила приемки, отбор проб и методы контроля»;

ссылку на ГОСТ 12.1.019—79 дополнить знаком сноски — *;

дополнить сноской:

«_____

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009»;

ссылка на ГОСТ 28498—90. Наименование. Заменить слово: «определений» на «испытаний».

Пункт 3.2 после значения «66 °С» дополнить словами: «с отклонением от заданной температуры ± 1 °С».

Пункт 3.10. Шестое перечисление после значения «0,2 $см^3$» дополнить словами: «или 0,3 $см^3$»;

седьмое перечисление. Заменить слова: «в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 3» на «, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 $см^3$ с наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с концентрацией пенициллина-G 0,004 мг/кг, окситетрациклина 0,01 мг/кг, стрептомицина 0,2 мг/кг, хлорамфеникола 0,0003 мг/кг и красителя («Positive Standard»); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»)»;

_____

* Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2018—07—01.

дополнить перечислениями:

«- тест-набор № 9[9)] для одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы, включающий пластину микропробирок со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 см^3 с наконечниками (дополнительно);

- тест-набор № 10[10)] для одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 см^3 с наконечниками (дополнительно)»;

сноски к пункту 3.10 изложить в новой редакции:

«_____

1) Тест-набор «СНАП Бета-Лактам СТ» (IDEXX, США).
2) Тест-набор «Delvotest BLF» (DSM Food Specialties B.V., Нидерланды).
3) Тест-набор «Twinsensor^{BT}» (Unisensor, Бельгия).
4) Тест-набор «СНАП Дуо Бета-Тетра СТ» (IDEXX, США).
5) Тест-набор «Betastar Combo» (Neogen Corporation, США).
6) Тест-набор «Reveal for CAP/STREP» (Neogen Corporation, США).
7) Тест-набор «4sensor^{BTCS}» (Unisensor, Бельгия).
8) Тест-набор «Betastar 4D» (Neogen Corporation, США).
9) Тест-набор «PROQUI-TEST R 10 ppb» (Proquiga Biotech, SA, Испания).
10) Тест-набор «PROQUI-TEST 4» (Proquiga Biotech, SA, Испания).

Сноски 1)—10) с указанными тест-наборами являются рекомендуемыми к применению».

Раздел 3 дополнить пунктами 3.11—3.16:

«3.11 Буфер для восстановления сухой сыворотки Unisensor Dilution Buffer (Unisensor, Бельгия).

3.12 Раствор гидроксида натрия молярной концентрации *c* (NaOH) = 1 моль/дм^3.

3.13 Анализатор потенциометрический по ГОСТ 19881 2-го класса точности диапазоном измерений от 5,5 до 8,0 ед. pH с погрешностью ± 0,05 ед. pH.

3.14 Криостат, позволяющий поддерживать температуру (4 ± 2) °С и (6 ± 2) °С.

3.15 Дозаторы автоматические или механические одноканальные или многоканальные переменной вместимости 0,01 — 0,1 и 0,1 — 1 см^3, с допускаемым относительным СКО не более 8,0 %.

3.16 Часы 2-го класса точности по ГОСТ 27752».

Раздел 4 изложить в новой редакции (кроме заголовка):

«Отбор проб продукта — по ГОСТ 26809.1, ГОСТ 33957 и нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.

Для восстановления сухой сыворотки готовят раствор буфера: при температуре (40 ± 2) °С буфер по 3.11 разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1 (*V*/*V*). 1,5 г сухой сыворотки добавляют к 8,5 см^3 раствора буфера и измеряют значение pH полученного раствора. Если значение менее 6 ед. pH, то кислотность раствора приводят к значению 6—7 ед. pH при помощи раствора гидроксида натрия по 3.12».

Подпункт 5.2.1.2. Второй абзац. Заменить слово: «молока» на «продукта»;

четвертый абзац после слов «считывают результат» дополнить словами: «способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора».

Подпункт 5.2.1.3. Третий, пятый, шестой абзацы. Заменить слово: «молоке» на «продукте».

Подраздел 5.2 дополнить пунктом 5.2.4:

«**5.2.4 Метод с использованием тест-набора № 9**

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.

5.2.4.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 9 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 12 мес с даты производства. Перед началом работы необходимое количество микропробирок извлекают из тест-набора.

5.2.4.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ наполняют анализируемым молоком, выливают в микропробирку и перемешивают с ее содержимым, наполняя и сливая его с помощью пипетки пять раз, до образования розового цвета.

Индикаторную полоску хроматографической бумаги помещают в микропробирку на 5 — 10 с, затем извлекают и кладут на чистую сухую поверхность. По истечении 5 — 7 мин считывают результат.

5.2.4.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.5.1 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.2.4.2 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 под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа — под контрольной зоной второй.

Бóльшая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке менее предела обнаружения.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствуют о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке больше или равна пределу обнаружения».

Подпункт 5.4.1.2. Второй абзац. Заменить слово: «молока» на «продукта»;

четвертый абзац после слов «считывают результат» дополнить словами: «способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора».

Подпункт 5.4.1.3. Третий, четвертый, пятый, шестой абзацы. Заменить слово: «молоке» на «продукте».

Подпункт 5.4.2.2 изложить в новой редакции:

«5.4.2.2 Проведение определения

Пипеткой вносят 0,3 $см^3$ 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 ± 1) °С в течение 10 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора».

Подраздел 5.4 дополнить пунктом 5.4.3:

«5.4.3 Метод с использованием тест-набора № 10

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, стрептомицина и левомицетина 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.

5.4.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 10 по 3.10 хранят в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 12 мес с даты производства. Перед началом работы необходимое количество микропробирок извлекают из тест-набора.

5.4.3.2 Проведение определения

Пипетку вместимостью 0,2 $см^3$ наполняют анализируемым молоком, выливают в микропробирку, перемешивают с ее содержимым, наполняя и сливая его с помощью пипетки пять раз, до образования розового цвета, и выдерживают в течение 3 мин.

Индикаторную полоску хроматографической бумаги помещают в микропробирку на 7 — 8 мин, затем извлекают, кладут на чистую сухую поверхность и считывают результат.

5.4.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.9 (приложение А).

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.3.2 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 под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы — под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина — под контрольной зоной третьей. Зона определения левомицетина — под контрольной зоной четвертой.

Бóльшая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке менее предела обнаружения.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствуют о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке больше или равна пределу обнаружения».

Раздел 6. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

«Таблица 1

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
Амоксициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,002	0,002	0,003	0,003
Ампициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,003	0,003	0,003	0,003
Бензициллин	0,003	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Гетациллин	0,01	—	0,005	—	—	—	0,005	—	—	—
Дигидрострептомицин	—	—	—	—	—	—	0,05	—	—	0,1
Диклоксациллин	0,02	0,03	0,006	0,011	0,002	—	0,006	0,003	0,006	0,003
Доксициклин	—	—	0,0025	—	0,002	—	0,002	0,002	0,006	0,006
Клоксациллин	0,022	0,03	0,006	0,018	0,002	—	0,006	0,003	0,003	0,003
Левомицетин (хлорамфеникол)	—	—	—	—	—	0,0003	0,0003	0,0003	—	0,0003
Нафциллин	0,052	—	0,03	0,046	0,0075	—	0,03	0,01	0,01	0,01
Оксациллин	0,024	0,03	0,012	0,032	0,003	—	0,012	0,003	0,003	0,003
Окситетрациклин	—	—	0,0075	0,01	0,01	—	0,007	0,01	0,01	0,01
Пенициллин G	0,002	0,004	0,003	0,001	0,002	—	0,003	0,003	0,002	0,0015
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	—	0,1
Тетрациклин	—	—	0,01	0,01	0,01	—	0,01	0,01	0,008	0,008
Тикарциллин	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	0,006	0,026	0,006	—	0,005	0,006	0,004	0,004
Цефадроксил	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефазолин	0,013	0,05	—	—	0,015	—	—	0,02	0,005	—
Цефалексин	0,025	0,1	—	0,01	0,4	—	—	—	—	—

Окончание таблицы 1

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
Цефалоний	0,04	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Цефалониум	0,04	0,02	0,003	0,04	0,003	—	0,003	0,003	0,004	0,004
Цефапирин	0,011	—	—	0,008	0,004	—	—	0,004	0,004	0,004
Цефацетрил	0,05	—	—	0,009	—	—	—	—	—	—
Цефкином	0,02	0,02	—	0,01	0,006	—	—	0,006	0,005	0,005
Цефоксазол	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефоперазон	0,01	0,05	0,003	0,004	0,003	—	0,003	0,004	0,005	0,004
Цефотаксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефрадин	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефтиофур	0,011	0,1	—	0,002	0,05	—	0,01	0,015	0,01	0,01
Цефуроксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—

».

Стандарт дополнить разделами 7 и 8:

«7 Требования, обеспечивающие безопасность

При выполнении работ необходимо, чтобы помещение лаборатории было оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с требованиями ГОСТ 12.4.021 и содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не превышало норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

Требования техники безопасности при работе с химическими реактивами — в соответствии с ГОСТ 12.1.007; требования техники безопасности при работе с электроустановками — в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

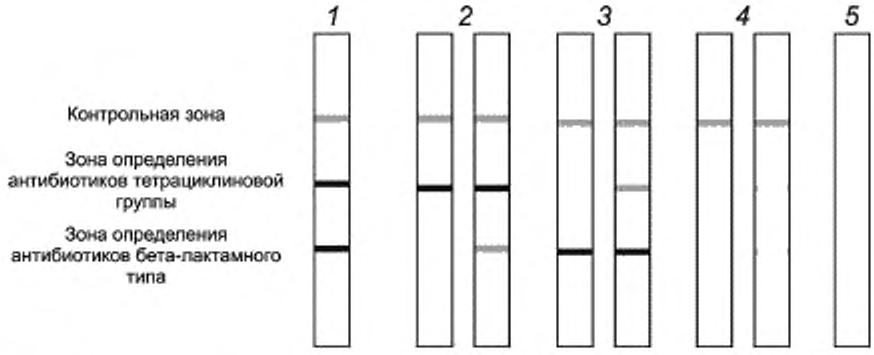
Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и должно быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

8 Требования к оператору

К проведению определения наличия антибиотиков допускаются лица, имеющие специальное образование по профилю выполняемых работ, прошедшие обучение приемам работы с оборудованием, освоившие выполнение предусмотренных методикой операций, ранее не принимавшие антибактериальные и противовирусные препараты в течение периода их полного выведения из организма в соответствии с инструкцией к конкретному препарату».

Приложение А дополнить пунктами А.5.1 и А.9:

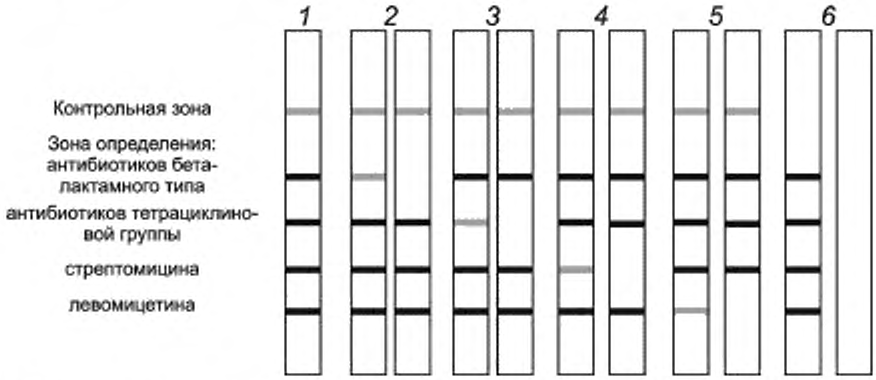
«А.5.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 9 приведены на рисунке А.5.1.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *3* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; *4* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы; *5* — недействительный результат

Рисунок А.5.1»;

А.9 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 10 приведены на рисунке А.9.



1 — антибиотики отсутствуют; *2* — присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; *3* — присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; *4* — присутствует стрептомицин; *5* — присутствует левомицетин; *6* — недействительный результат

Рисунок А.9».

(ИУС № 3 2018 г.)

gost.e-ecolog.ru