
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
53774—
2010

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Издание официальное



Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения».

Сведения о стандарте

- 1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Россельхозакадемии (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии)
- 2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»
- 3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 26 февраля 2010 г. № 24-ст
- 4 ВЗАМЕН ГОСТ Р 51600—2000 в части разделов 5 и 6 (рецепторные методы)

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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

© Стандартинформ, 2010

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

Содержание

1	Область применения	1
2	Нормативные ссылки	1
3	Оборудование, средства измерений, посуда, материалы и реактивы	2
4	Отбор проб	3
5	Методы контроля	3
5.1	Методы определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа	3
5.2	Методы определения наличия антибиотиков тетрациклической группы	5
5.3	Методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы	6
6	Метрологические характеристики	7
	Приложение А (обязательное) Примеры возможных результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах	9
	Библиография	11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Milk and milk products.

Immunoenzyme methods for determination of antibiotics indication

Дата введения — 2011—01—01

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 определения наличия антибиотиков тетрациклиновой группы;
- методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 53430—2009 Молоко и продукты переработки молока. Методы микробиологического анализа

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

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 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

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

П р и м е ч а н и е — 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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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 °С до 66 °С с допустимой погрешностью $\pm 0,5$ °С.
- 3.2 Блок терmostатированных ячеек, позволяющий поддерживать температуру $(47,5 \pm 1,0)$ °С.
- 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 см³ по ГОСТ 29227.
- 3.8 Колбы мерные вместимостью 50 см³ по ГОСТ 1770.
- 3.9 Колбы конические вместимостью 250 см³ по ГОСТ 25336.
- 3.10 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
- 3.11 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.
- 3.12 Тест-наборы для определения наличия антибиотиков:
- тест-набор № 1 (тест-набор Бета-лактам «Snap®»)¹⁾, включающий укупоренные пробирки с 3,3,5,5-триметилбензидином и специфическими рецепторами, позволяющими определять антибиотики бета-лактамного типа; пипетки мерные вместимостью 0,4 см³; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;
 - тест-набор № 2 (тест-набор «Beta Star®»)¹⁾, включающий флаконы, содержащие специфические рецепторы, меченные коллоидным золотом, позволяющие определять антибиотики бета-лактамного типа; полоски хроматографической бумаги с зоной анализируемого молока и контрольной зоной; шприцы-дозаторы вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками;
 - тест-набор № 3 (тест-набор «Delvo-X-PRESS®βL-II»)¹⁾, включающий пробирки с реагентом, флакон с индикатором, флакон с сухим контрольным раствором с антибиотиком (буферный раствор, после восстановления содержащий антибиотик с массовой концентрацией 0,003 мкг/г), ампулы с растворителем контрольного раствора (0,01 %-ный водный раствор тимерозала), промывочный раствор (буферный раствор, содержащий глицерин), проявитель (водный раствор ферментного субстрата);
 - тест-набор № 4 (тест-набор Тетрациклин «Snap®»)²⁾, включающий укупоренные пробирки с 3,3,5,5-триметилбензидином и специфическими рецепторами, позволяющими определять антибиотики тетрациклической группы; пипетки мерные вместимостью 0,4 см³; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;
 - тест-набор № 5 (тест-набор «TetraStar®»)²⁾, включающий флаконы со специфическими рецепторами, мечеными коллоидным золотом, позволяющими определять антибиотики тетрациклической группы; полоски хроматографической бумаги с зоной анализируемого молока и контрольной зоной; шприцы-дозаторы вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками;

¹⁾ Тест-набор является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что настоящий стандарт устанавливает обязательное применение указанного тест-набора. Допускаются к использованию тест-наборы производства других изготовителей, предназначенные для целей описываемых методов. Рекомендуемые тест-наборы: Бета-лактам «Snap®» (ООО «ЗИП-И»), «Beta Star®» (ООО «Хр. Хансен»), «Delvo-X-PRESS®βL-II» (ООО «ДСМ Восточная Европа»).

²⁾ Тест-набор является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение указанного тест-набора. Допускаются к использованию тест-наборы производства других изготовителей, предназначенные для целей описываемых методов. Рекомендуемые тест-наборы: Тетрациклин «Snap®» (ООО «ЗИП-И»), «TetraStar®» (ООО «Хр. Хансен»).

- тест-набор № 6 (тест-набор «Twinsensor^{BT}»)¹⁾, включающий пластины микропробирок с буферным солевым раствором и специфическими рецепторами, позволяющими определять антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы, индикаторные полоски хроматографической бумаги; шприц-дозатор вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с массовой концентрацией пенициллина-G 0,004 мкг/г и окситетрациклина 0,1 мкг/г, красителя («Positive Standard»); пробирки или флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

- тест-набор № 7 (тест-набор «Betastar[®] Combo»)¹⁾, включающий флаконы со специфическими рецепторами, меченными коллоидным золотом, позволяющими определять антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы; полоски хроматографической бумаги с зоной анализируемого молока и контрольной зоной; шприцы-дозаторы вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками.

Применение конкретного оборудования, средств измерений, посуды, материалов и реактивов осуществляют в соответствии с требованиями разделов 4 и 5.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

4 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ Р 53430 с дополнением. Допускается хранить пробы молока для определения в холодильнике при температуре (5 ± 1) °С не более 24 ч.

5 Методы контроля

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, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие антибиотиков бета-лактамного типа устанавливают, сравнивая цвет зоны анализируемого молока с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.1.1.1 Подготовка к определению

Вскрывают упаковку тест-набора № 1, проверяют положение шарика реагента в пробирке, который должен находиться на дне. При необходимости шарик реагента устанавливают на дно пробирки встряхиванием.

Срок хранения тест-набора № 1 (без упаковки) при температуре (20 ± 2) °С — не более 24 ч.

5.1.1.2 Проведение определения

Мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ по 3.12 наполняют анализируемым молоком до метки и переносят в пробирку с 3,3,5,5-триметилбензидином и специфическими рецепторами по 3.12. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реагента.

Пробирку и индикаторное устройство по 3.12 помещают в термостат по 3.1 и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 5—6 мин.

Индикаторное устройство вынимают из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

¹⁾ Тест-набор является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение указанного тест-набора. Допускаются к использованию тест-наборы производства других изготовителей, предназначенные для целей описываемых методов. Рекомендуемые тест-наборы: «Twinsensor^{BT}» (UNISENSOR SA), «Betastar[®] Combo» (ООО «Х. Хансен»).

Индикаторное устройство выдерживают в термостате при температуре $(45 \pm 5) ^\circ\text{C}$ в течение 4 мин. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения индикаторного устройства из термостата.

5.1.1.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.1.1.2 не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором № 1.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, антибиотики бета-лактамного типа в анализируемом молоке отсутствуют.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве белый или светлее цвета контрольной зоны, антибиотики бета-лактамного типа в анализируемом молоке присутствуют.

5.1.2 Метод с использованием тест-набора № 2

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

5.1.2.1 Подготовка к определению

Необходимое для проведения определения количество комплектов тест-наборов № 2 по 3.12 перед применением выдерживают при комнатной температуре в течение 10—15 мин.

Флаконы с реагентом по 3.12 встряхивают для полного осаждения содержимого на дне.

5.1.2.2 Проведение определения

Шприцем-дозатором с одноразовым наконечником по 3.12 отбирают 0,2 см³ анализируемого молока и переливают во флакон. Флакон закрывают крышкой, встряхивают до полного растворения сухих веществ, затем открывают флакон и помещают его в блок термостатированных ячеек по 3.2 при температуре $(47,5 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ на 3 мин. Во флакон, находящийся в блоке термостатированных ячеек, помещают полоску хроматографической бумаги и термостатируют еще 2 мин. Затем полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона.

5.1.2.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения определения по 5.1.2.2 в соответствии с А.2 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

Большая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствуют о присутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

5.1.3 Метод с использованием тест-набора № 3

Метод основан на иммуноферментной реакции антибиотиков бета-лактамного типа со специфическими белковыми рецепторами, выделенными из бактерий вида *Bacillus stearothermophilus*, и пероксидазой хрена с образованием химически прочного комплекса.

Отсутствие или наличие антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке устанавливают по изменению или отсутствию изменения цвета содержимого пробирки.

5.1.3.1 Подготовка к определению

Из тест-набора № 3 по 3.12 отбирают необходимое количество пробирок, которые перед определением маркируют и выдерживают при комнатной температуре.

Термостат по 3.1 нагревают до температуры $(64 \pm 2) ^\circ\text{C}$ и выдерживают при этой температуре не менее 15 мин.

а) Подготовка рабочего промывочного раствора

В мерную колбу вместимостью 50 см³ по ГОСТ 1770 пипеткой по ГОСТ 29227 вносят 1 см³ промывочного раствора по 3.12 и доводят объем до метки дистиллированной водой по ГОСТ 6709.

б) Подготовка контрольного раствора

Флакон с сухим контрольным раствором и ампулу с растворителем по 3.12 вскрывают в соответствии с правилами работы с микробиологическими препаратами [1].

Во флакон с сухим контрольным раствором вносят содержимое ампулы, закрывают пробкой, перемешивают до растворения сухого вещества без образования пены и выдерживают при комнатной температуре в течение 20 мин.

Срок хранения контрольного раствора в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 2 мес.

5.1.3.2 Проведение определения

В пробирки с реагентом по 3.12 пипеткой последовательно вносят 0,2 см³ анализируемого молока и 0,2 см³ индикатора. Параллельно в пробирку с реагентом без анализируемого молока пипеткой вносят 0,2 см³ контрольного раствора с антибиотиком по 5.1.3.1 б) и 0,2 см³ индикатора.

Все пробирки устанавливают в термостат и выдерживают при температуре (64 ± 2) °С в течение 3 мин при непрерывном встряхивании.

Пробирки извлекают из термостата и выливают содержимое в слив. Каждую пробирку трижды промывают рабочим промывочным раствором по 5.1.3.1 а), полностью наполняя пробирку раствором и полностью сливая его. После каждого слива пробирки устанавливают на фильтровальную бумагу по ГОСТ 12026 вверх дном.

Затем в каждую пробирку пипеткой добавляют по 1,0 см³ проявителя по 3.12 и выдерживают при комнатной температуре в течение 3 мин.

5.1.3.3 Обработка результатов

Определяют цвет содержимого пробирок.

Синий цвет содержимого пробирок с анализируемым молоком свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в нем.

Отсутствие изменения цвета содержимого пробирок с анализируемым молоком свидетельствует о присутствии антибиотиков бета-лактамного типа в нем.

Отсутствие изменения цвета содержимого пробирки с контрольным раствором с антибиотиком свидетельствует о достоверности полученных результатов.

5.2 Методы определения наличия антибиотиков тетрациклической группы

5.2.1 Метод с использованием тест-набора № 4

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики тетрациклической группы захватываются специфическими белковыми рецепторами, меченными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие антибиотиков тетрациклической группы устанавливают, сравнивая цвет зоны анализируемого молока с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.2.1.1 Подготовка к определению

Подготовку тест-набора № 4 по 3.12 проводят по 5.1.1.1.

5.2.1.2 Проведение определения — по 5.1.1.2.

5.2.1.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.1.1.2 не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором № 4.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, антибиотики тетрациклической группы в анализируемом молоке отсутствуют.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о присутствии в нем антибиотиков тетрациклической группы.

5.2.2 Метод с использованием тест-набора № 5

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков тетрациклической группы со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом, и последующем визу-

альном выявлении оставшихся свободными мечеными рецепторами путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционную и контрольную зоны.

5.2.2.1 Подготовка к определению

Подготовку тест-набора № 5 по 3.12 проводят по 5.1.2.1.

5.2.2.2 Проведение определения

Шприцем-дозатором с одноразовым наконечником по 3.12 отбирают 0,2 см³ анализируемого молока и переливают во флакон. Флакон закрывают крышкой, встряхивают до полного растворения сухих веществ, затем открывают флакон и помещают его в блок термостатированных ячеек при температуре (47,5 ± 1,0) °С на 2 мин. Во флакон, находящийся в блоке термостатированных ячеек, помещают полоску хроматографической бумаги и термостатируют еще 3 мин. Затем полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона.

5.2.2.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения определения по 5.2.2.2 в соответствии с А.3 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков тетрациклической группы в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

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

Меньшая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствуют о присутствии антибиотиков тетрациклической группы в анализируемом молоке.

5.3 Методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы

5.3.1 Метод с использованием тест-набора № 6

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

5.3.1.1 Подготовка к определению

Из тест-набора № 6 по 3.12 отбирают необходимое количество пеналов и перед их открытием выдерживают при комнатной температуре до видимого испарения влаги с поверхности.

Из тест-набора № 6 отбирают и маркируют необходимое количество микропробирок (не более 8) с учетом контрольных растворов.

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

Восстановление контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard»

В пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см³ дистиллированной воды (0,4 см³ для контрольных растворов во флаконах) и тщательно 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.

5.3.1.2 Проведение определения

Микропробирки по 3.12 помещают в термостат. В каждую микропробирку шприцем-дозатором с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока, быстро перемешивают его с реагентом, наполняя и

сливая смесь шприцем-дозатором пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают его в течение 3 мин.

В микропробирки помещают индикаторные полоски хроматографической бумаги и термостатируют в течение 3 мин при температуре $(40 \pm 3)^\circ\text{C}$. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают.

Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку вносят $0,2 \text{ cm}^3$ раствора «Positive Standard», в другую — $0,2 \text{ cm}^3$ раствора «Negative Standard».

5.3.1.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на индикаторных полосках хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.4 (приложение А).

Зона центральной части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной.

Если после проведения определения окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют по 5.3.1.2.

Зона определения антибиотиков тетрациклической группы в анализируемом молоке 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 молоке.

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

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

5.3.2 Метод с использованием тест-набора № 7

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

5.3.2.1 Подготовка к определению

Подготовку тест-набора № 7 по 3.12 проводят по 5.1.2.1.

5.3.2.2 Проведение определения — по 5.2.2.2.

5.3.2.3 Обработка результатов

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

Зона центральной части полоски хроматографической бумаги является контрольной.

Если после проведения определения по 5.2.2.2 не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новой тест-полоской.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена над контрольной зоной. Зона определения антибиотиков тетрациклической группы — под контрольной зоной.

Большая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков испытуемого молока 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 окрашивания зон определения антибиотиков свидетельствуют о присутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

6 Метрологические характеристики

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

ГОСТ Р 53774—2010

Таблица 1

Ед/г (мкг/г)*

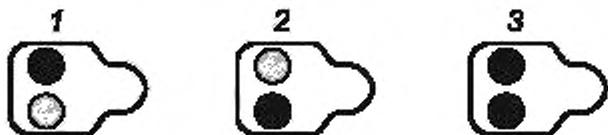
Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов						
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7
Амоксициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002
Ампициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002
Бензидиллин	0,003	—	—	—	—	—	—
Гетациллин	0,01	—	0,006	—	—	—	—
Диклоксациллин	0,02	0,005	0,025	—	—	0,006	0,003
Доксициклин	—	—	—	0,04	—	0,0025	0,025
Клоксациллин	0,022	0,005	0,03	—	—	0,006	0,005
Метациклин	—	—	—	0,04	—	—	—
Метициллин	—	—	0,01	—	—	—	—
Нафциллин	0,052	0,008	—	—	—	0,030	0,012
Оксациллин	0,024	0,005	0,025	—	—	0,012	0,003
Окситетратациклин	—	—	—	0,01	0,06	0,009	0,05
Пенициллин G	0,002	0,002	0,002	—	—	0,002	0,002
Пенициллин V	0,003	—	0,003	—	—	—	—
Пиперациллин	0,006	—	0,005	—	—	—	—
Прокайн-пенициллин	0,002	—	0,003	—	—	—	—
Тетрациклин	—	—	—	0,011	0,06	0,015	0,05
Тикарциллин	0,04	—	0,03	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	—	0,026	0,04	0,006	0,025
Цефадроксил	0,03	—	0,005	—	—	—	—
Цефазолин	0,013	0,04	—	—	—	0,018	0,005
Цефалексин	0,025	—	0,025	—	—	0,750	—
Цефалон	—	—	—	—	—	0,003	—
Цефалоний	0,04	—	0,003	—	—	—	—
Цефалониум	0,04	0,007	—	—	—	0,003	0,004
Цефаперазон	0,01	0,005	0,005	—	—	0,003	0,005
Цефапирин	0,011	0,008	0,004	—	—	0,006	0,008
Цефацетрил	0,05	—	—	—	—	0,03	—
Цефкуином	0,02	0,02	—	—	—	0,02	0,02
Цефоксазол	0,05	—	0,075	—	—	—	—
Цефотаксим	0,01	—	0,004	—	—	—	—
Цефрадин	0,03	—	0,025	—	—	—	—
Цефтиофур	0,011	0,075	0,004	—	—	0,01	0,05
Цефуроксим	0,01	—	0,004	—	—	—	—

* 0,003 мкг активного вещества равно 0,005 Ед активности.

Приложение А
(обязательное)

Примеры возможных результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах

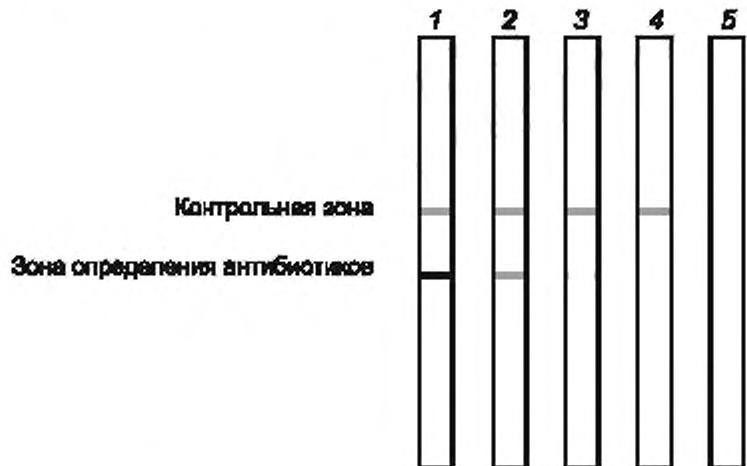
A.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 1 и тест-набора № 4 приведены на рисунке А.1.



1 — антибиотики присутствуют. 2, 3 — антибиотики отсутствуют

Рисунок А.1

A.2 Примеры результатов определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке и молочных продуктах 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 тетрациклической группы в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 5 приведены на рисунке А.3.

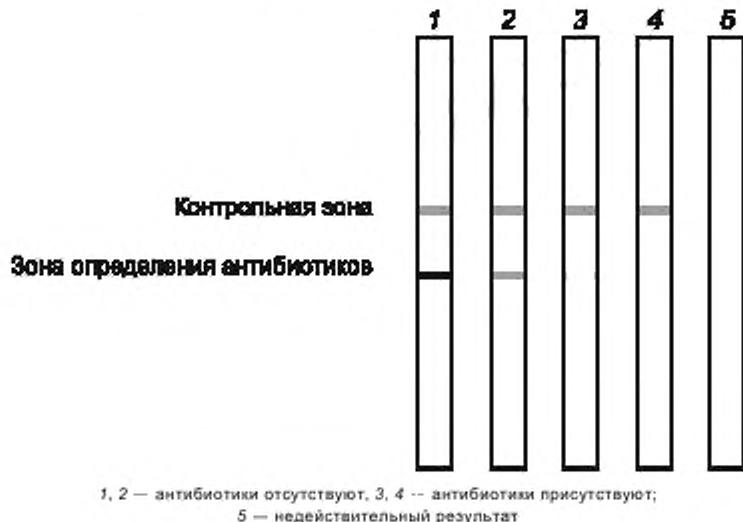


Рисунок А.3

А.4 Примеры результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 6 приведены на рисунке А.4.

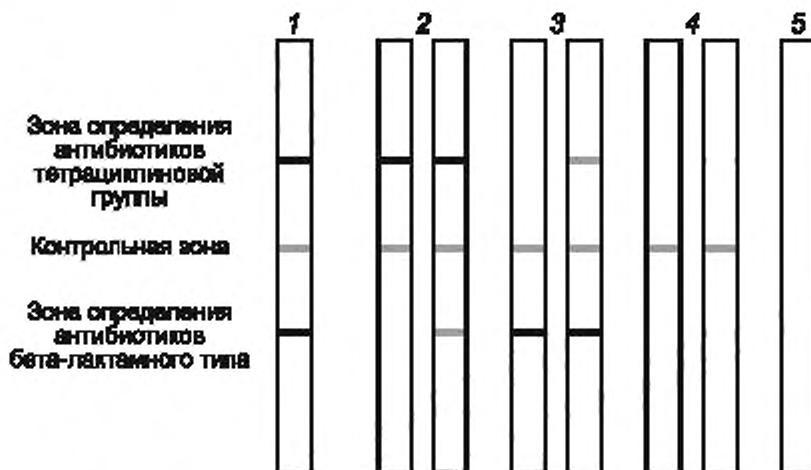
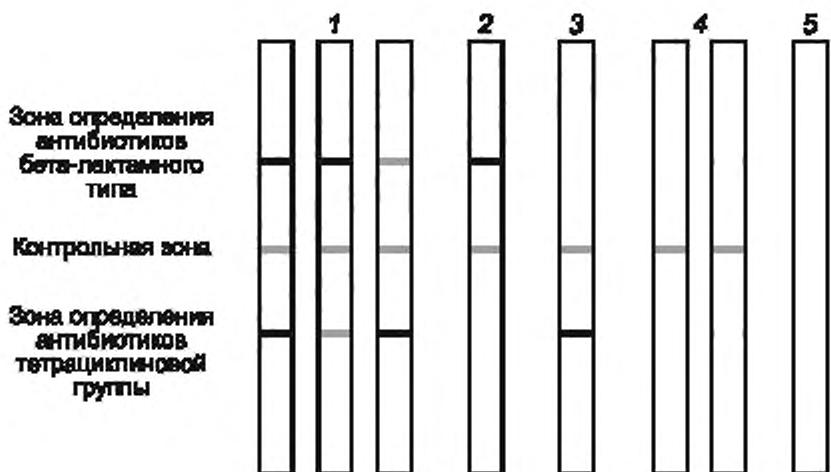


Рисунок А.4

A.5 Примеры результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 7 приведены на рисунке А.5.



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

Рисунок А.5

Библиография

- [1] СП 1.2.731—99 Безопасность работы с микроорганизмами III — IV групп патогенности и гельминтами

ГОСТ Р 53774—2010

УДК 637.11:543.06:006.354

ОКС 67.100.10

Н19

ОКСТУ 9209

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, иммуноферментные методы, методы определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, методы определения наличия антибиотиков тетрациклической группы, методы одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы

Редактор Л.В. Коротникова

Технический редактор Н.С. Гришанова

Корректор М.И. Першина

Компьютерная верстка В.И. Грищенко

Сдано в набор 26.05.2010. Подписано в печать 01.07.2010. Формат 60x84^{1/2}. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,40. Тираж 261 экз. Зак. 540.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ

Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

Изменение № 1 ГОСТ Р 53774—2010 Молоко и молочные продукты.

Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Утверждено и введено в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14.12.2011 № 1553-ст

Дата введения 2012—07—01

Раздел 1 дополнить абзацами:

«- метод одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина (хлорамфеникола) и стрептомицина;

- метод определения наличия гентамицина;

- метод определения наличия сульфаметазина».

Пункт 3.12 (со ссылками 1¹—1³) изложить в новой редакции:

«- тест-набор № 1¹⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий укупоренные пробирки с 3,3,5,5-триметилбензидином и специфическими рецепторами; пипетки мерные вместимостью 0,4 см³; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;

- тест-набор № 2²⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий флаконы, содержащие специфические рецепторы, меченные коллоидным золотом; полоски хроматографической бумаги с зоной анализируемого молока и контрольной зоной; шприцы-дозаторы вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками;

- тест-набор № 3³⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий в себя запечатанные фольгой флаконы с лиофилизатом, индикаторные полоски хроматографической бумаги, одноразовые пипетки вместимостью 0,15 см³;

- тест-набор № 4⁴⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;

- тест-набор № 5⁵⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 2;

- тест-набор № 6⁶⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы, включающий пластины микропробирок с буферным солевым раствором и специфическими рецепторами, позволяющими определять антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы, индикаторные полоски хроматографической бумаги; шприц-дозатор вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с массовой концентрацией пенициллина-G 0,004 мкг/г и окситетрациклина 0,1 мкг/г, красителя («Positive Standard»); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

- тест-набор № 7¹⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 2;
- тест-набор № 8²⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий в себя герметично укупоренный пакет, содержащий закрытый крышкой контейнер с индикаторными полосками хроматографической бумаги; одноразовые пластиковые пипетки вместимостью 0,5 см³; одноразовые пластиковые чашки;
- тест-набор № 9³⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 8;
- тест-набор № 10⁴⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;
- тест-набор № 11⁵⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетин и стрептомициновой группы, включающий пластиковые сосуды с пластинами микропробирок с буферным солевым раствором и специфическими рецепторами, индикаторные полоски хроматографической бумаги; шприц-дозатор вместимостью 0,2 см³ и одноразовые наконечники к нему;
- тест-набор № 12⁶⁾ для определения гентамицина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;
- тест-набор № 13⁷⁾ для определения сульфаметазина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1.

¹⁾ Тест-набор «Бета-лактам Snap», «Бета-лактам Snap СТ» (ООО «ЗИП-И»).

²⁾ Тест-набор «Beta Star» (ООО «Хр.Хансен»).

³⁾ Тест-набор «DelvoTest BLF» (ООО «ДСМ Восточная Европа»).

⁴⁾ Тест-набор «Тетрациклин Snap» (ООО «ЗИП-И»).

⁵⁾ Тест-набор «Tetra Star» (ООО «Хр.Хансен»).

⁶⁾ Тест-набор «Twinsensor[®]» (ООО «АТЛ»).

⁷⁾ Тест-набор «Betastar Combo», «Betastar Combo HS» (ООО «Хр.Хансен»).

⁸⁾ Тест-набор «Milk Doctor Beta» (AR Brown Co., Ltd / ООО «СЭЙФИД»).

⁹⁾ Тест-набор «Milk Doctor Tetra» (AR Brown Co., Ltd / ООО «СЭЙФИД»).

¹⁰⁾ Тест-набор «Дуо Бета-Тетра Snap», «Дуо Бета-Тетра Snap СТ» (ООО «ЗИП-И»).

¹¹⁾ Тест-набор «4sensor[®]» (ООО «АТЛ»).

¹²⁾ Тест-набор «Гентамицин Snap» (ООО «ЗИП И»).

¹³⁾ Тест-набор «Сульфаметазин Snap» (ООО «ЗИП И»).

^{1) — 7)} Указанные тест-наборы являются рекомендованными 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».

Раздел 3 дополнить пунктом — 3.13:

«3.13 Баня водянная с терморегулятором, поддерживающая температуру от 37 °С до 66 °С».

Пункт 5.1.1.2 изложить в новой редакции:

«5.1.1.2 Проведение определения

Для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap») мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Пробирку и индикаторное устройство помещают в термостат и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 5–6 мин.

Индикаторное устройство вынимают из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Индикаторное устройство выдерживают в термостате при температуре (45 ± 5) °С в течение 4 мин. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата.

Для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap СТ») мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Индикаторное устройство выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 4 мин. Индикаторное устройство устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата».

Пункт 5.1.3 (с подпунктами 5.1.3.1 — 5.1.3.3) изложить в новой редакции:

«5.1.3 Метод с использованием тест-набора № 3

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа с меченными белковыми рецепторами, содержащимися

в лиофилизате, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными мечеными рецепторов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.1.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 3 хранят в холодильнике при температуре от $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ не более 6 мес.

Анализируемое молоко переливают в колбу по 3.8 или 3.9, помещают в термостат и выдерживают в нем до достижения температуры молока $(64 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Необходимое для проведения определения количество входящих в состав тест-набора № 3 флаконов извлекают из набора и открывают, удаляя фольгу.

5.1.3.2 Проведение определения

Одноразовой пипеткой отбирают $0,15 \text{ см}^3$ анализируемого молока, переливают во флакон и перемешивают круговыми движениями.

Флакон с анализируемым молоком помещают в термостат и выдерживают при температуре $(64 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 2 мин. После этого флакон достают из термостата и перемешивают круговыми движениями.

Во флакон помещают полоску хроматографической бумаги на 3 мин, после чего извлекают из флакона и считывают результат.

5.1.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедур по 5.1.3.2 в соответствии с А.2 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

Большая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

Меньшая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке».

Подраздел 5.1 дополнить пунктом (с подпунктами 5.1.4.1 — 5.1.4.3):

«5.1.4 Метод с использованием тест-набора № 8

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа со специфическим иммунокомплексом антител, ме-

ченных коллоидным золотом, и антигенов с последующим визуальным выявлением оставшихся свободными иммунокомплексов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.1.4.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 8 хранят в холодильнике или другом сухом месте при температуре от 2 °С до 30 °С не более года.

Вскрывают герметично укупоренный пакет, достают закрытый крышки контейнер. Открывают контейнер, крышку помещают на стол вниз донышком.

Открытый контейнер выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 10—15 мин.

Необходимое для проведения определения количество пластиковых чашек достают из пакета и ставят по одной на ровную сухую поверхность.

5.1.4.2 Проведение определения

Одноразовой пипеткой отбирают 0,2 см³ анализируемого молока до специальной метки и переливают в чашку. Этой же пипеткой отбирают еще 0,2 см³ анализируемого молока и переливают в ту же чашку. Встряхивают чашку для равномерного распределения анализируемого молока по ее дну.

Из контейнера берут полоску хроматографической бумаги и помещают ее в чашку под наклоном так, чтобы она касалась и дна, и стенки чашки. Через 5 мин полоску хроматографической бумаги извлекают из чашки и считывают результат.

5.1.4.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедур по 5.1.4.2 в соответствии с А.6 (приложение А).

Появление трех полосок одинакового интенсивно-красного цвета свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

Если одна или две линии из трех не появились или цвет их менее интенсивный, это свидетельствует о наличии антибиотиков бета-лактамного типа в молоке.

Если окрашивания не произошло или появились три полоски одинакового бледно-розового цвета, результат считают недействительным и определение повторяют по 5.1.4.2».

Подпункт 5.2.1.2 изложить в новой редакции:

«5.2.1.2 Проведение определения — по 5.1.1.2 (для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap»)).»

Подраздел 5.2 дополнить пунктом — 5.2.3 (с подпунктами 5.2.3.1 — 5.2.3.3):

«5.2.3 Метод с использованием тест-набора № 9

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков тетрациклической группы со специфическим иммунокомплексом антител, меченный коллоидным золотом, и антигенов с последующим визуальным выявлением оставшихся свободными иммунокомплексов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.2.3.1 Подготовка к определению по 5.1.4.1.

5.2.3.2 Проведение определения по 5.1.4.2.

5.2.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедуры по 5.2.3.2 в соответствии с А.3 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков тетрациклической группы в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

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

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

Подпункт 5.3.2.2 изложить в новой редакции:

«5.3.2.2 Проведение определения с использованием тест-набора № 7 («Betastar Combo») — в соответствии с 5.2.2.2.

Проведение определения с использованием тест-набора № 7 («Betastar Combo HS»): шприцем-дозатором с одноразовым наконечником отбирают $0,2 \text{ см}^3$ анализируемого молока и переливают во флакон. Флакон закрывают крышкой, встряхивают до полного растворения сухих веществ, затем открывают и помещают в блок терmostатированных ячеек при температуре $(37,5 \pm 1,0)^\circ\text{C}$ на 5 мин. Во флакон, находящийся в блоке терmostатированных ячеек, помещают полоску хроматографической бумаги и выдерживают еще 3 мин. Затем полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и удаляют уплотнение с конца полоски. По истечении 5 мин проводят обработку результатов».

Подпункт 5.3.2.3. Шестой абзац после слова «Большая» исключить слова: «или равная»;

седьмой абзац после слова «Меньшая» дополнить словами: «или равная».

Подраздел 5.3 дополнить пунктом — 5.3.3 (с подпунктами 5.3.3.1—5.3.3.3):
«5.3.3 Метод с использованием тест-набора № 10

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

Наличие антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.3.3.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.3.3.2 Проведение определения

Для тест-набора «Дуо Бета-Тетра Snap» мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Пробирку и индикаторное устройство помещают в термостат и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 5—6 мин.

Индикаторное устройство вынимают из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Индикаторное устройство выдерживают в термостате при температуре (45 ± 5) °С в течение 4 мин. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата.

Для тест-набора «Дуо Бета-Тетра Snap CT» мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Индикаторное устройство выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 4 мин. Индикаторное устройство устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата

5.3.3.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.7 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.3.3.2 не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором № 10.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, антибиотики в анализируемом молоке отсутствуют.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии в анализируемом молоке антибиотиков».

Раздел 5 дополнить подразделами — 5.4—5.6 (с пунктами 5.4.1—5.4.3, 5.5.1—5.5.3, 5.6.1—5.6.3, подпунктами 5.4.1.1—5.4.1.3, 5.4.2.1, 5.4.2.2, 5.4.3.1—5.4.3.4):

«5.4 Метод одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина и стрептомицина с использованием тест-набора № 11

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической 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.

5.4.1 Подготовка к определению

5.4.1.1 Тест-набор № 6 по 3.12 хранят в холодильнике при температуре от 2 °C до 8 °C. Перед открытием пеналы выдерживают при комнатной температуре до видимого испарения влаги с поверхности.

Берут необходимое число микропробирок (не более 8) с учетом контрольных растворов и маркируют их. Оставшиеся микропробирки хранят в холодильнике при температуре от 2 °C до 8 °C.

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

5.4.1.3 Подготовка контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard»

В стеклянные пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см³ дистиллированной воды (0,4 см³ для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного

раствора. Восстановленные контрольные растворы хранят в морозильной камере при температуре минус 20 °С. Не допускается повторное замораживание восстановленных контрольных растворов.

5.4.2 Проведение определения

5.4.2.1 Микропробирку помещают в термостат или на водяную баню. В каждую микропробирку шприцем-дозатором с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока, быстро перемешивают его с реагентом, наполняя и сливая смесь шприцем-дозатором пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают его в течение 5 мин.

5.4.2.2 В микропробирки помещают индикаторные полоски хроматографической бумаги и выдерживают в термостате или на водяной бане в течение 5 мин при температуре (40 ± 3) °С. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают.

5.4.3 Обработка результатов

5.4.3.1 Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на индикаторных полосках хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.8 (приложение А).

5.4.3.2 Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения процедур окрашивания контрольной зоны не произошло, то результат считается недействительным и процедуры по 5.4.2 повторяют.

5.4.3.3 Зона определения антибиотиков тетрациклической 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 зоны определения антибиотиков, свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.4.3.4 При проведении испытаний с использованием контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard» обработку результатов осуществляют в соответствии с 5.4.3.1—5.4.3.3.

5.5 Метод определения гентамицина с использованием тест-набора № 12

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой гентамицин захватывается специфическими белковыми рецепторами, меченными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие гентамицина устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.5.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.5.2 Проведение определения в соответствии с 5.2.1.2.

5.5.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.5.2 не произошло, то определение наличия гентамицина в молоке повторяют с новым тест-набором № 12.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, гентамицин в анализируемом молоке отсутствует.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии гентамицина в анализируемом молоке.

5.6 Метод определения сульфаметазина с использованием тест-набора № 13

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой сульфаметазин захватывается специфическими белковыми рецепторами, мечеными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие сульфаметазина устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.6.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.6.2 Проведение определения в соответствии с 5.5.2.

5.6.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.6.2 не произошло, то определение наличия сульфаметазина в молоке повторяют с новым тест-набором № 13.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, сульфаметазин в анализируемом молоке отсутствует.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии сульфаметазина в анализируемом молоке».

Раздел 6. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

Таблица 1

Ед./г (мкг/г)*

Наименование антибиотика	Наименованный предел определения антибиотиков в с использованием тест-наборов													
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Сомбо Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13
Амоксициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002	0,002	10	—	0,003	0,002	—	—
Ампициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002	0,002	2	—	0,003	0,003	—	—
Бензилпенициллин	0,003	—	—	—	—	0,003	—	—	—	—	0,003	—	—	—
Гентамицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03	—	—
Гетациллин	0,01	—	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Дигидро-стрептомицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,05	—	—
Диклоксациллин	0,02	0,005	0,03	—	—	0,006	0,003	0,002	0,02	—	0,011	0,006	—	—
Доксициклин	—	—	—	0,04	—	0,0025	0,025	0,002	—	0,07	—	0,002	—	—
Клоксациллин	0,022	0,005	0,03	—	—	0,006	0,005	0,002	0,004	—	0,018	0,006	—	—
Левомицетин (хлорамфеникол)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Метациклин	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Метициллин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Натрийллин	0,052	0,008	—	—	0,030	0,012	0,0075	0,005	—	0,046	0,03	—	—	—
Оксациллин	0,024	0,005	0,003	—	—	0,012	0,003	0,003	0,01	—	0,032	0,012	—	—

Продолжение таблицы 1

*Ед./ (МКГ/г)**

Наименование антибиотика	Наменклатура претерпевшего антибиотиков в использованном тест-наборов												
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12
Окситетрациклин	—	—	0,01	0,06	0,007	0,05	0,01	—	0,02	0,01	0,007	—	—
Пенициллин G	0,002	0,004	—	—	0,002	0,002	0,002	0,003	—	0,001	0,002	—	—
Пенициллин V	0,003	—	—	—	0,002	—	—	—	—	—	0,002	—	—
Пиперациллин	0,006	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Прокан-пенициллин	0,002	—	—	—	0,003	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Стрептомицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,15	—	—
Сульфаметазин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,01
Тетрациклин	—	—	0,011	0,06	0,01	0,05	0,01	—	0,02	0,01	0,01	—	—
Ликарциллин	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	0,026	0,04	0,006	0,025	0,006	—	0,1	0,026	0,005	—	—
Цефалексин	0,03	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Цефажолин	0,013	0,04	0,05	—	0,018	0,005	0,015	0,003	—	—	0,018	—	—
Цефалексин	0,025	—	0,1	—	0,750	—	0,4	0,01	—	0,01	1,0	—	—
Цефалоний	0,04	—	—	—	0,003	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Цефалонум	0,04	0,007	0,02	—	0,003	0,004	0,003	0,003	—	0,04	0,003	—	—

Окончание таблицы I

Ед./г (мкг/г)*

Наименование антибиотика	Найменший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов													
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Сомбо Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13
Цефалиприн	0,011	0,008	—	—	—	0,006	0,008	0,004	0,02	—	0,008	0,006	—	—
Цефациприл	0,05	—	—	—	—	0,03	—	—	—	—	0,009	0,03	—	—
Цеффакном	0,02	0,02	0,02	—	—	0,02	0,02	0,006	0,02	—	0,01	0,03	—	—
Цефоксазол	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефолеразон	0,01	0,005	0,05	—	—	0,003	0,005	0,003	10	—	0,004	0,003	—	—
Цефотаксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефрамин	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефтиофур	0,011	0,075	0,1	—	—	0,01	0,05	0,005	—	—	0,002	0,01	—	—
Цефуроксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* 0,003 мкг активного вещества равно 0,005 Ед. активности.

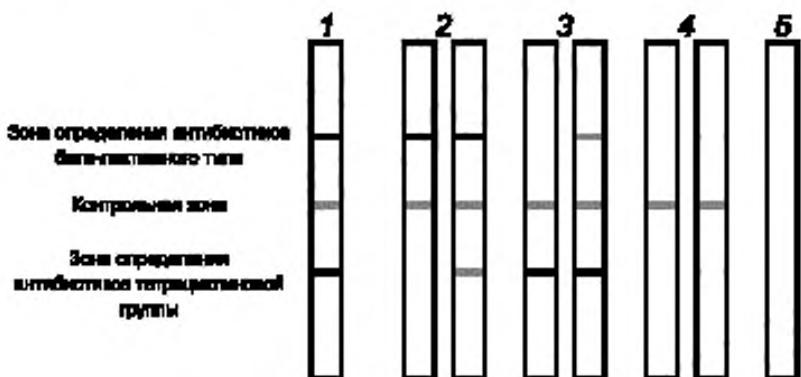
Приложение А. Пункт А.1. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 1 и тест-набора № 4».

Пункт А.2. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 2».

Пункт А.3. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 5».

Пункт А.5 изложить в новой редакции:

«А.5 Примеры результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 7 приведены на рисунке А.5.

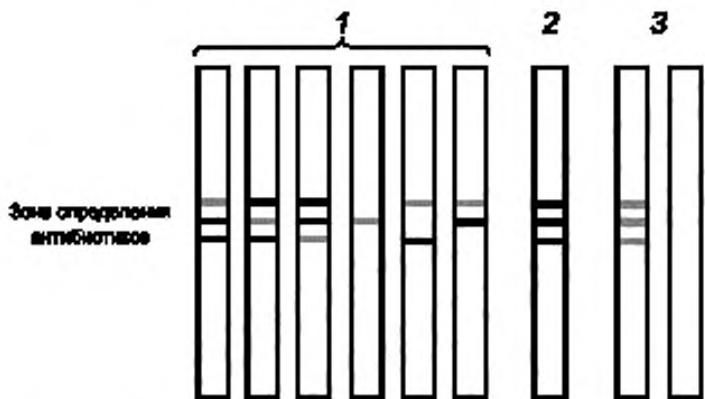


1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики тетрациклической группы; 3 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа, 4 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы; 5 – недetectивный результат

Рисунок А.5»

Приложение А дополнить пунктами — А.6 — А.8:

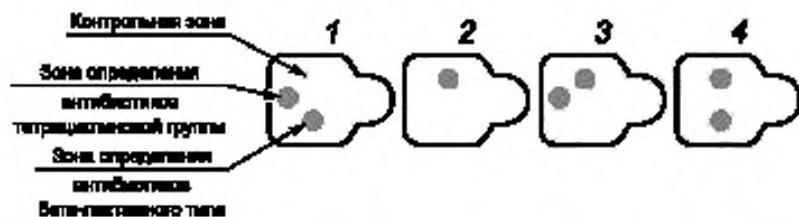
«А.6 Примеры результатов определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 8 приведены на рисунке А.6.



1 – антибиотики присутствуют; 2 – антибиотики отсутствуют; 3 – недействительный результат

Рисунок А.6

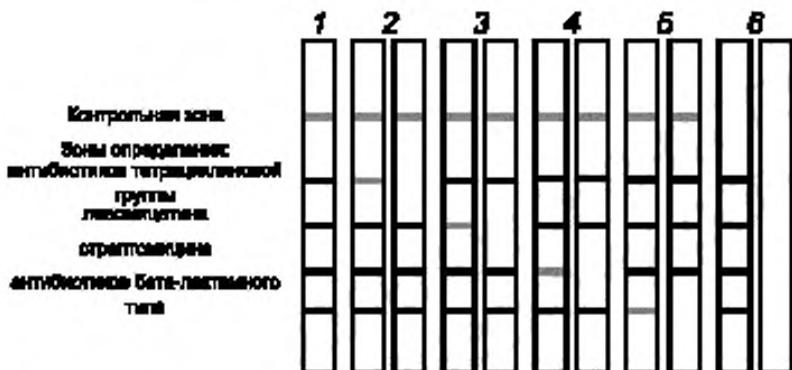
А.7 Примеры результатов определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 10.



1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы; 3 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; 4 – присутствуют антибиотики тетрациклической группы

Рисунок А.7

А.8 Примеры (некоторые) результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 11 приведены на рисунке А.8.



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

Рисунок А.8»

Информационные данные. Ключевые слова дополнить словами: «метод одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина и стрептомицина; метод определения наличия гентамицина; метод определения наличия сульфаметазина».

(ИУС № 3 2012 г.)

Изменение № 1 ГОСТ Р 53774—2010 Молоко и молочные продукты.

Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков

Утверждено и введено в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14.12.2011 № 1553-ст

Дата введения 2012—07—01

Раздел 1 дополнить абзацами:

«- метод одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина (хлорамфеникола) и стрептомицина;

- метод определения наличия гентамицина;

- метод определения наличия сульфаметазина».

Пункт 3.12 (со ссылками 1¹—1³) изложить в новой редакции:

«- тест-набор № 1¹⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий укупоренные пробирки с 3,3,5,5-триметилбензидином и специфическими рецепторами; пипетки мерные вместимостью 0,4 см³; индикаторное устройство с диметилсульфоксидом;

- тест-набор № 2²⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий флаконы, содержащие специфические рецепторы, меченные коллоидным золотом; полоски хроматографической бумаги с зоной анализируемого молока и контрольной зоной; шприцы-дозаторы вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками;

- тест-набор № 3³⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий в себя запечатанные фольгой флаконы с лиофилизатом, индикаторные полоски хроматографической бумаги, одноразовые пипетки вместимостью 0,15 см³;

- тест-набор № 4⁴⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;

- тест-набор № 5⁵⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 2;

- тест-набор № 6⁶⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы, включающий пластины микропробирок с буферным солевым раствором и специфическими рецепторами, позволяющими определять антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы, индикаторные полоски хроматографической бумаги; шприц-дозатор вместимостью 0,2 см³ с одноразовыми наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с массовой концентрацией пенициллина-G 0,004 мкг/г и окситетрациклина 0,1 мкг/г, красителя («Positive Standard»); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

- тест-набор № 7¹⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 2;
- тест-набор № 8²⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, включающий в себя герметично укупоренный пакет, содержащий закрытый крышкой контейнер с индикаторными полосками хроматографической бумаги; одноразовые пластиковые пипетки вместимостью 0,5 см³; одноразовые пластиковые чашки;
- тест-набор № 9³⁾ для определения антибиотиков тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 8;
- тест-набор № 10⁴⁾ для одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;
- тест-набор № 11⁵⁾ для определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетин и стрептомициновой группы, включающий пластиковые сосуды с пластинами микропробирок с буферным солевым раствором и специфическими рецепторами, индикаторные полоски хроматографической бумаги; шприц-дозатор вместимостью 0,2 см³ и одноразовые наконечники к нему;
- тест-набор № 12⁶⁾ для определения гентамицина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1;
- тест-набор № 13⁷⁾ для определения сульфаметазина в соответствии с требованиями, предъявляемыми к тест-набору № 1.

¹⁾ Тест-набор «Бета-лактам Snap», «Бета-лактам Snap СТ» (ООО «ЗИП-И»).

²⁾ Тест-набор «Beta Star» (ООО «Хр.Хансен»).

³⁾ Тест-набор «DelvoTest BLF» (ООО «ДСМ Восточная Европа»).

⁴⁾ Тест-набор «Тетрациклин Snap» (ООО «ЗИП-И»).

⁵⁾ Тест-набор «Tetra Star» (ООО «Хр.Хансен»).

⁶⁾ Тест-набор «Twinsensor[®]» (ООО «АТЛ»).

⁷⁾ Тест-набор «Betastar Combo», «Betastar Combo HS» (ООО «Хр.Хансен»).

⁸⁾ Тест-набор «Milk Doctor Beta» (AR Brown Co., Ltd / ООО «СЭЙФИД»).

⁹⁾ Тест-набор «Milk Doctor Tetra» (AR Brown Co., Ltd / ООО «СЭЙФИД»).

¹⁰⁾ Тест-набор «Дуо Бета-Тетра Snap», «Дуо Бета-Тетра Snap СТ» (ООО «ЗИП-И»).

¹¹⁾ Тест-набор «4sensor[®]» (ООО «АТЛ»).

¹²⁾ Тест-набор «Гентамицин Snap» (ООО «ЗИП И»).

¹³⁾ Тест-набор «Сульфаметазин Snap» (ООО «ЗИП И»).

^{1) — 7)} Указанные тест-наборы являются рекомендованными 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».

Раздел 3 дополнить пунктом — 3.13:

«3.13 Баня водянная с терморегулятором, поддерживающая температуру от 37 °С до 66 °С».

Пункт 5.1.1.2 изложить в новой редакции:

«5.1.1.2 Проведение определения

Для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap») мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Пробирку и индикаторное устройство помещают в термостат и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 5–6 мин.

Индикаторное устройство вынимают из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Индикаторное устройство выдерживают в термостате при температуре (45 ± 5) °С в течение 4 мин. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата.

Для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap СТ») мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Индикаторное устройство выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 4 мин. Индикаторное устройство устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата».

Пункт 5.1.3 (с подпунктами 5.1.3.1 — 5.1.3.3) изложить в новой редакции:

«5.1.3 Метод с использованием тест-набора № 3

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа с меченными белковыми рецепторами, содержащимися

в лиофилизате, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными мечеными рецепторов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.1.3.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 3 хранят в холодильнике при температуре от $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ не более 6 мес.

Анализируемое молоко переливают в колбу по 3.8 или 3.9, помещают в термостат и выдерживают в нем до достижения температуры молока $(64 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Необходимое для проведения определения количество входящих в состав тест-набора № 3 флаконов извлекают из набора и открывают, удаляя фольгу.

5.1.3.2 Проведение определения

Одноразовой пипеткой отбирают $0,15 \text{ см}^3$ анализируемого молока, переливают во флакон и перемешивают круговыми движениями.

Флакон с анализируемым молоком помещают в термостат и выдерживают при температуре $(64 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 2 мин. После этого флакон достают из термостата и перемешивают круговыми движениями.

Во флакон помещают полоску хроматографической бумаги на 3 мин, после чего извлекают из флакона и считывают результат.

5.1.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедур по 5.1.3.2 в соответствии с А.2 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

Большая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

Меньшая интенсивность цвета зоны определения антибиотиков анализируемого молока по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие ее окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке».

Подраздел 5.1 дополнить пунктом (с подпунктами 5.1.4.1 — 5.1.4.3):

«5.1.4 Метод с использованием тест-набора № 8

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа со специфическим иммунокомплексом антител, ме-

ченных коллоидным золотом, и антигенов с последующим визуальным выявлением оставшихся свободными иммунокомплексов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.1.4.1 Подготовка к определению

Тест-набор № 8 хранят в холодильнике или другом сухом месте при температуре от 2 °С до 30 °С не более года.

Вскрывают герметично укупоренный пакет, достают закрытый крышки контейнер. Открывают контейнер, крышку помещают на стол вниз донышком.

Открытый контейнер выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 10—15 мин.

Необходимое для проведения определения количество пластиковых чашек достают из пакета и ставят по одной на ровную сухую поверхность.

5.1.4.2 Проведение определения

Одноразовой пипеткой отбирают 0,2 см³ анализируемого молока до специальной метки и переливают в чашку. Этой же пипеткой отбирают еще 0,2 см³ анализируемого молока и переливают в ту же чашку. Встряхивают чашку для равномерного распределения анализируемого молока по ее дну.

Из контейнера берут полоску хроматографической бумаги и помещают ее в чашку под наклоном так, чтобы она касалась и дна, и стенки чашки. Через 5 мин полоску хроматографической бумаги извлекают из чашки и считывают результат.

5.1.4.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедур по 5.1.4.2 в соответствии с А.6 (приложение А).

Появление трех полосок одинакового интенсивно-красного цвета свидетельствует об отсутствии антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке.

Если одна или две линии из трех не появились или цвет их менее интенсивный, это свидетельствует о наличии антибиотиков бета-лактамного типа в молоке.

Если окрашивания не произошло или появились три полоски одинакового бледно-розового цвета, результат считают недействительным и определение повторяют по 5.1.4.2».

Подпункт 5.2.1.2 изложить в новой редакции:

«5.2.1.2 Проведение определения — по 5.1.1.2 (для тест-набора № 1 («Бета-лактам Snap»)).»

Подраздел 5.2 дополнить пунктом — 5.2.3 (с подпунктами 5.2.3.1 — 5.2.3.3):

«5.2.3 Метод с использованием тест-набора № 9

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков тетрациклической группы со специфическим иммунокомплексом антител, меченный коллоидным золотом, и антигенов с последующим визуальным выявлением оставшихся свободными иммунокомплексов путем хроматографии на полосках хроматографической бумаги.

5.2.3.1 Подготовка к определению по 5.1.4.1.

5.2.3.2 Проведение определения по 5.1.4.2.

5.2.3.3 Обработка результатов

Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на полосках хроматографической бумаги в виде линий после проведения процедуры по 5.2.3.2 в соответствии с А.3 (приложение А).

Зона в верхней части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют.

Зона определения антибиотиков тетрациклической группы в анализируемом молоке на полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной.

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

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

Подпункт 5.3.2.2 изложить в новой редакции:

«5.3.2.2 Проведение определения с использованием тест-набора № 7 («Betastar Combo») — в соответствии с 5.2.2.2.

Проведение определения с использованием тест-набора № 7 («Betastar Combo HS»): шприцем-дозатором с одноразовым наконечником отбирают $0,2 \text{ см}^3$ анализируемого молока и переливают во флакон. Флакон закрывают крышкой, встряхивают до полного растворения сухих веществ, затем открывают и помещают в блок терmostатированных ячеек при температуре $(37,5 \pm 1,0)^\circ\text{C}$ на 5 мин. Во флакон, находящийся в блоке терmostатированных ячеек, помещают полоску хроматографической бумаги и выдерживают еще 3 мин. Затем полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и удаляют уплотнение с конца полоски. По истечении 5 мин проводят обработку результатов».

Подпункт 5.3.2.3. Шестой абзац после слова «Большая» исключить слова: «или равная»;

седьмой абзац после слова «Меньшая» дополнить словами: «или равная».

Подраздел 5.3 дополнить пунктом — 5.3.3 (с подпунктами 5.3.3.1—5.3.3.3):
«5.3.3 Метод с использованием тест-набора № 10

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

Наличие антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.3.3.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.3.3.2 Проведение определения

Для тест-набора «Дуо Бета-Тетра Snap» мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Пробирку и индикаторное устройство помещают в термостат и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 5—6 мин.

Индикаторное устройство вынимают из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Индикаторное устройство выдерживают в термостате при температуре (45 ± 5) °С в течение 4 мин. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата.

Для тест-набора «Дуо Бета-Тетра Snap CT» мерную пипетку вместимостью 0,4 см³ наполняют анализируемым молоком до метки и выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива.

Индикаторное устройство выдерживают при температуре от 15 °С до 30 °С в течение 4 мин. Индикаторное устройство устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливания анализируемого молока находилась слева от оператора. Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до щелчка для изменения тока жидкости и промывания пористого материала раствором антибиотиков.

Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата

5.3.3.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.7 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.3.3.2 не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором № 10.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, антибиотики в анализируемом молоке отсутствуют.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии в анализируемом молоке антибиотиков».

Раздел 5 дополнить подразделами — 5.4—5.6 (с пунктами 5.4.1—5.4.3, 5.5.1—5.5.3, 5.6.1—5.6.3, подпунктами 5.4.1.1—5.4.1.3, 5.4.2.1, 5.4.2.2, 5.4.3.1—5.4.3.4):

«5.4 Метод одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина и стрептомицина с использованием тест-набора № 11

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической 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.

5.4.1 Подготовка к определению

5.4.1.1 Тест-набор № 6 по 3.12 хранят в холодильнике при температуре от 2 °C до 8 °C. Перед открытием пеналы выдерживают при комнатной температуре до видимого испарения влаги с поверхности.

Берут необходимое число микропробирок (не более 8) с учетом контрольных растворов и маркируют их. Оставшиеся микропробирки хранят в холодильнике при температуре от 2 °C до 8 °C.

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

5.4.1.3 Подготовка контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard»

В стеклянные пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см³ дистиллированной воды (0,4 см³ для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного

раствора. Восстановленные контрольные растворы хранят в морозильной камере при температуре минус 20 °С. Не допускается повторное замораживание восстановленных контрольных растворов.

5.4.2 Проведение определения

5.4.2.1 Микропробирку помещают в термостат или на водяную баню. В каждую микропробирку шприцем-дозатором с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока, быстро перемешивают его с реагентом, наполняя и сливая смесь шприцем-дозатором пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают его в течение 5 мин.

5.4.2.2 В микропробирки помещают индикаторные полоски хроматографической бумаги и выдерживают в термостате или на водяной бане в течение 5 мин при температуре (40 ± 3) °С. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают.

5.4.3 Обработка результатов

5.4.3.1 Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появляющихся на индикаторных полосках хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с А.8 (приложение А).

5.4.3.2 Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения процедур окрашивания контрольной зоны не произошло, то результат считается недействительным и процедуры по 5.4.2 повторяют.

5.4.3.3 Зона определения антибиотиков тетрациклической 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 зоны определения антибиотиков, свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

5.4.3.4 При проведении испытаний с использованием контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard» обработку результатов осуществляют в соответствии с 5.4.3.1—5.4.3.3.

5.5 Метод определения гентамицина с использованием тест-набора № 12

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой гентамицин захватывается специфическими белковыми рецепторами, меченными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие гентамицина устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.5.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.5.2 Проведение определения в соответствии с 5.2.1.2.

5.5.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.5.2 не произошло, то определение наличия гентамицина в молоке повторяют с новым тест-набором № 12.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, гентамицин в анализируемом молоке отсутствует.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии гентамицина в анализируемом молоке.

5.6 Метод определения сульфаметазина с использованием тест-набора № 13

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой сульфаметазин захватывается специфическими белковыми рецепторами, мечеными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного комплекса, блокирующего свойство индикатора изменять цвет продуктов химических реакций.

Наличие сульфаметазина устанавливают, сравнивая цвет зон анализируемого продукта с цветом контрольной зоны индикаторного устройства.

5.6.1 Подготовка к определению в соответствии с 5.1.1.1.

5.6.2 Проведение определения в соответствии с 5.5.2.

5.6.3 Обработка результатов

Сравнивают цвет контрольной зоны в окне индикаторного устройства с цветом зоны анализируемого молока в соответствии с А.1 (приложение А).

Контрольная зона должна быть синего цвета.

Если изменение цвета контрольной зоны после проведения определения по 5.6.2 не произошло, то определение наличия сульфаметазина в молоке повторяют с новым тест-набором № 13.

Если цвет зоны анализируемого молока на индикаторном устройстве аналогичен или темнее цвета контрольной зоны, сульфаметазин в анализируемом молоке отсутствует.

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии сульфаметазина в анализируемом молоке».

Раздел 6. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

Таблица 1

Ед./г (мкг/г)*

Наименование антибиотика	Наименованный предел определения антибиотиков в с использованием тест-наборов													
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Сомбо Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13
Амоксициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002	0,002	10	—	0,003	0,002	—	—
Ампициллин	0,0035	0,002	0,004	—	—	0,003	0,002	0,002	2	—	0,003	0,003	—	—
Бензилпенициллин	0,003	—	—	—	—	0,003	—	—	—	—	0,003	—	—	—
Гентамицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03	—	—
Гетациллин	0,01	—	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Дигидро-стрептомицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,05	—	—
Диклоксациллин	0,02	0,005	0,03	—	—	0,006	0,003	0,002	0,02	—	0,011	0,006	—	—
Доксициклин	—	—	—	0,04	—	0,0025	0,025	0,002	—	0,07	—	0,002	—	—
Клоксациллин	0,022	0,005	0,03	—	—	0,006	0,005	0,002	0,004	—	0,018	0,006	—	—
Левомицетин (хлорамфеникол)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Метациклин	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Метициллин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Натрийллин	0,052	0,008	—	—	0,030	0,012	0,0075	0,005	—	0,046	0,03	—	—	—
Оксациллин	0,024	0,005	0,003	—	—	0,012	0,003	0,003	0,01	—	0,032	0,012	—	—

Продолжение таблицы 1

*Ед./ (МКГ/г)**

Наименование антибиотика	Наменклатура претерпевшего антибиотиков в использованном тест-наборов												
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12
Окситетрациклин	—	—	0,01	0,06	0,007	0,05	0,01	—	0,02	0,01	0,007	—	—
Пенициллин G	0,002	0,004	—	—	0,002	0,002	0,002	0,003	—	0,001	0,002	—	—
Пенициллин V	0,003	—	—	—	0,002	—	—	—	—	—	0,002	—	—
Пиперациллин	0,006	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Прокан-пенициллин	0,002	—	—	—	0,003	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Стрептомицин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,15	—	—
Сульфаметазин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,01
Тетрациклин	—	—	0,011	0,06	0,01	0,05	0,01	—	0,02	0,01	0,01	—	—
Ликарциллин	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	0,026	0,04	0,006	0,025	0,006	—	0,1	0,026	0,005	—	—
Цефалексин	0,03	—	—	—	0,005	—	—	—	—	—	0,005	—	—
Цефажолин	0,013	0,04	0,05	—	0,018	0,005	0,015	0,003	—	—	0,018	—	—
Цефалексин	0,025	—	0,1	—	0,750	—	0,4	0,01	—	0,01	1,0	—	—
Цефалоний	0,04	—	—	—	0,003	—	—	—	—	—	0,003	—	—
Цефалонум	0,04	0,007	0,02	—	0,003	0,004	0,003	0,003	—	0,04	0,003	—	—

Окончание таблицы I

Ед./г (мкг/г)*

Наименование антибиотика	Найменший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов													
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	Сомбо Combo HS	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12	№ 13
Цефалиприн	0,011	0,008	—	—	—	0,006	0,008	0,004	0,02	—	0,008	0,006	—	—
Цефациприл	0,05	—	—	—	—	0,03	—	—	—	—	0,009	0,03	—	—
Цеффакном	0,02	0,02	0,02	—	—	0,02	0,02	0,006	0,02	—	0,01	0,03	—	—
Цефоксазол	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефолеразон	0,01	0,005	0,05	—	—	0,003	0,005	0,003	10	—	0,004	0,003	—	—
Цефотаксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефрамин	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефтиофур	0,011	0,075	0,1	—	—	0,01	0,05	0,005	—	—	0,002	0,01	—	—
Цефуроксим	0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* 0,003 мкг активного вещества равно 0,005 Ед. активности.

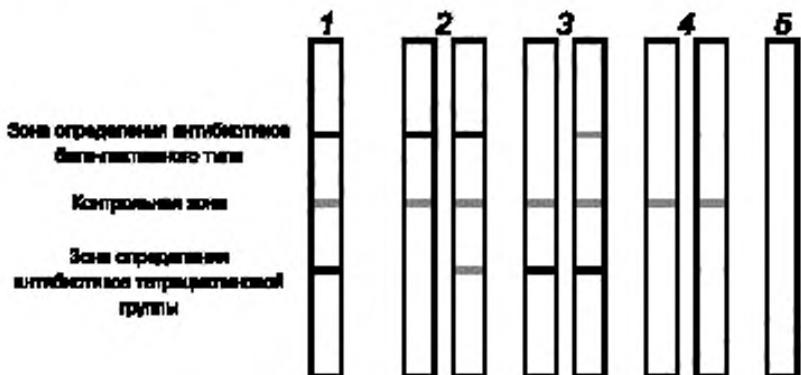
Приложение А. Пункт А.1. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 1 и тест-набора № 4».

Пункт А.2. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 2».

Пункт А.3. После слов «и молочных продуктах» исключить слова: «с использованием тест-набора № 5».

Пункт А.5 изложить в новой редакции:

«А.5 Примеры результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 7 приведены на рисунке А.5.

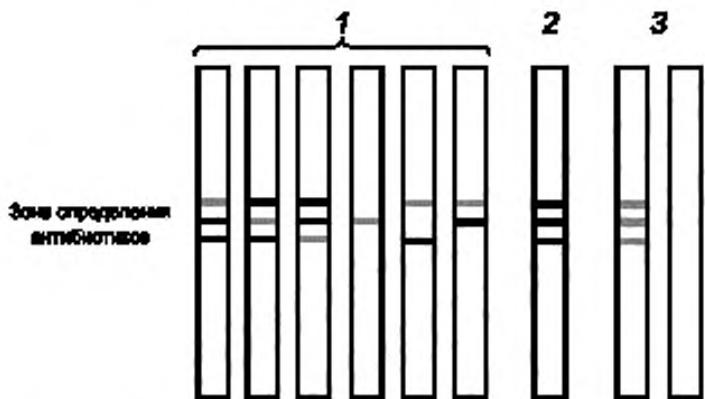


1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики тетрациклической группы; 3 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа, 4 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы; 5 – недействительный результат

Рисунок А.5»

Приложение А дополнить пунктами – А.6 – А.8:

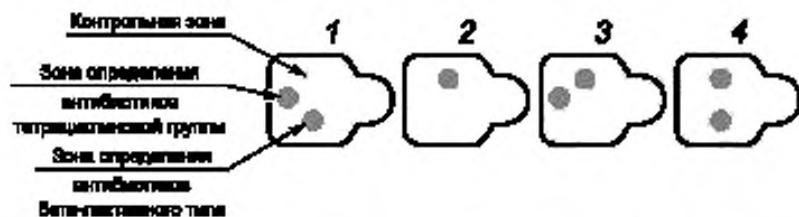
«А.6 Примеры результатов определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 8 приведены на рисунке А.6.



1 – антибиотики присутствуют; 2 – антибиотики отсутствуют; 3 – недействительный результат

Рисунок А.6

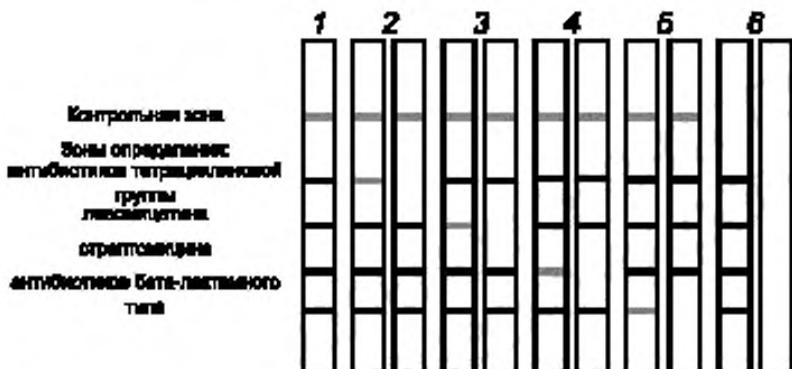
А.7 Примеры результатов определения наличия антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклической группы в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 10.



1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклической группы; 3 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; 4 – присутствуют антибиотики тетрациклической группы

Рисунок А.7

А.8 Примеры (некоторые) результатов определения наличия антибиотиков в анализируемом молоке и молочных продуктах с использованием тест-набора № 11 приведены на рисунке А.8.



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

Рисунок А.8»

Информационные данные. Ключевые слова дополнить словами: «метод одновременного определения антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклической группы, левомицетина и стрептомицина; метод определения наличия гентамицина; метод определения наличия сульфаметазина».

(ИУС № 3 2012 г.)