ИЗМЕНЕНИЯ, ПРИНЯТЫЕ К МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫМ СТАНДАРТАМ

67 ПРОИЗВОДСТВО ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

МКС 67.100.10

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

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

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 13965

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

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

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

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

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

Раздел 2. Дополнить ссылками:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

дополнить сноской:

«———————

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

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

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

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

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

———————

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

0,01 мг/кг, стрептомицина 0,2 мг/кг, хлорамфеникола 0,0003 мг/кг и красителя («Positive Standard»); пробирки и флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»)»;

дополнить перечислениями:

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

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

сноски к пункту 3.10 изложить в новой редакции:

«———————

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Раздел 3 дополнить пунктами 3.11—3.16:

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

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

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

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

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

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

Раздел 4 изложить в новой редакции (кроме заголовка):

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

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

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

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

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

Подраздел 5.2 дополнить пунктом 5.2.4:

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

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

5.2.4.1 Подготовка к определению

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

5.2.4.2 Проведение определения

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

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

5.2.4.3 Обработка результатов

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

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.2.4.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

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

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

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

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

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

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

Подпункт 5.4.2.2 изложить в новой редакции:

«5.4.2.2 Проведение определения

Пипеткой вносят 0,3 $см^3$ анализируемого молока во флакон.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню. Во флакон, находящийся в термостате (на водяной бане), помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают при температуре (47,5 ± 1) °С в течение 10 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат способом, рекомендуемым изготовителем тест-набора».

Подраздел 5.4 дополнить пунктом 5.4.3:

«5.4.3 Метод с использованием тест-набора № 10

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

5.4.3.1 Подготовка к определению

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

5.4.3.2 Проведение определения

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

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

5.4.3.3 Обработка результатов

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

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.3.2 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы — под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина — под контрольной зоной третьей. Зона определения левомицетина — под контрольной зоной четвертой.

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

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

Раздел 6. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

«Таблица 1

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
Амоксициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,002	0,002	0,003	0,003
Ампициллин	0,0035	0,004	0,003	0,003	0,002	—	0,003	0,003	0,003	0,003
Бензициллин	0,003	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Гетациллин	0,01	—	0,005	—	—	—	0,005	—	—	—
Дигидрострептомицин	—	—	—	—	—	—	0,05	—	—	0,1
Диклоксациллин	0,02	0,03	0,006	0,011	0,002	—	0,006	0,003	0,006	0,003
Доксициклин	—	—	0,0025	—	0,002	—	0,002	0,002	0,006	0,006
Клоксациллин	0,022	0,03	0,006	0,018	0,002	—	0,006	0,003	0,003	0,003
Левомицетин (хлорамфеникол)	—	—	—	—	—	0,0003	0,0003	0,0003	—	0,0003
Нафциллин	0,052	—	0,03	0,046	0,0075	—	0,03	0,01	0,01	0,01
Оксациллин	0,024	0,03	0,012	0,032	0,003	—	0,012	0,003	0,003	0,003
Окситетрациклин	—	—	0,0075	0,01	0,01	—	0,007	0,01	0,01	0,01
Пенициллин G	0,002	0,004	0,003	0,001	0,002	—	0,003	0,003	0,002	0,0015
Пенициллин V	0,003	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Пиперациллин	0,006	—	0,005	—	—	—	0,005	—	—	—
Прокаин-пенициллин	0,002	—	0,003	—	—	—	0,003	—	—	—
Стрептомицин	—	—	—	—	—	0,2	0,15	0,2	—	0,1
Тетрациклин	—	—	0,01	0,01	0,01	—	0,01	0,01	0,008	0,008
Тикарциллин	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Хлортетрациклин	—	—	0,006	0,026	0,006	—	0,005	0,006	0,004	0,004
Цефадроксил	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Цефазолин	0,013	0,05	—	—	0,015	—	—	0,02	0,005	—
Цефалексин	0,025	0,1	—	0,01	0,4	—	—	—	—	—

Окончание таблицы 1

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

».

Стандарт дополнить разделами 7 и 8:

«7 Требования, обеспечивающие безопасность

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

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

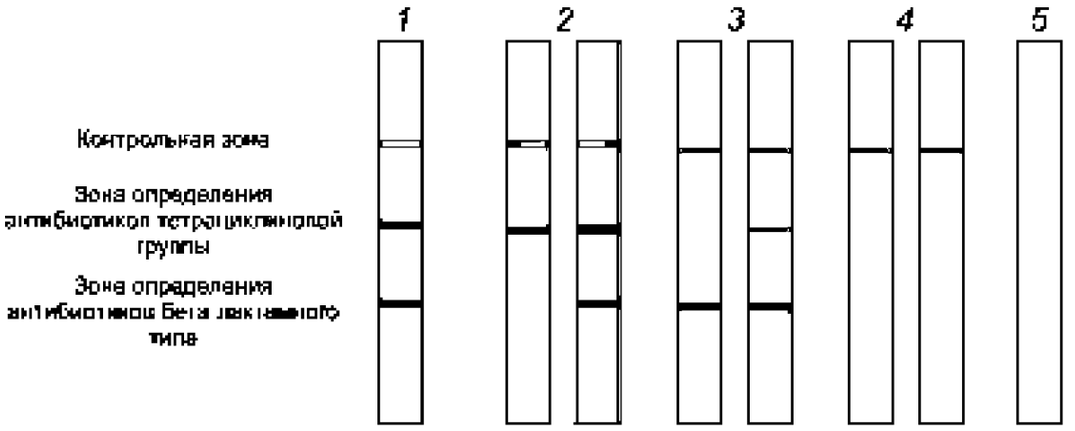
Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и должно быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

8 Требования к оператору

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

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

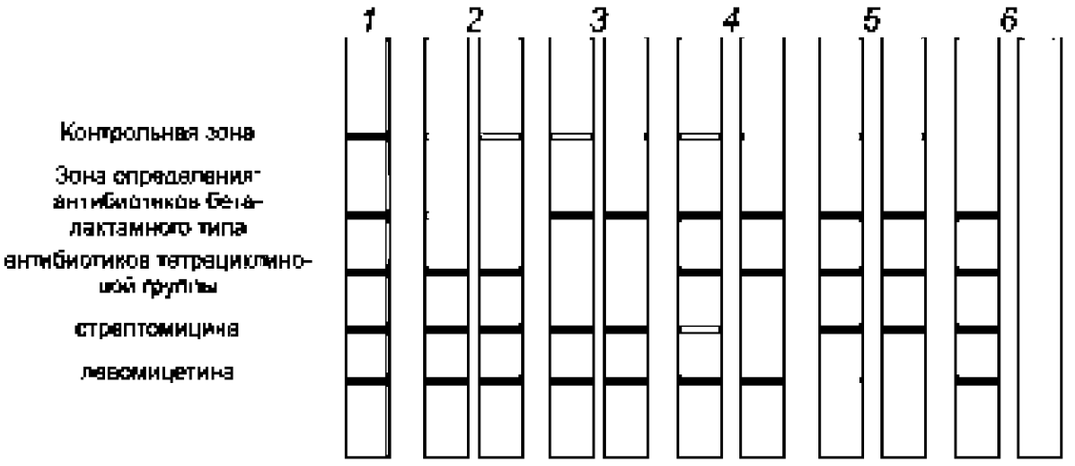
«А.5.1 Примеры результатов определения наличия антибиотиков с использованием тест-набора № 9 приведены на рисунке А.5.1.



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

Рисунок А.5.1»;

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



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

Рисунок А.9».

(ИУС № 3 2018 г.)