

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «ПионерПродукт»
Юревич А.Д.
«01» августа 2019 г.

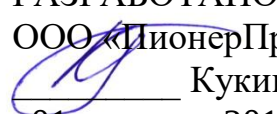


**Методика обнаружения остаточного количества
сульфаниламидов, тилозина, тилмикозина, линкомицина,
эритромицина, фторхинолонов в молоке, молочной сыворотке с
использованием тест-наборов
«PIONEER MEIZHENG BIO-TECH (5 in 1) JC0429,
Sulfonamides & Tylosin/Tilmicosin & Lincomycin & Erythromycin &
Fluoroquinolones Rapid Test Kit», производства Beijing Meizheng Bio-Tech
Co, LTD, Китай**

МИ 5-1-2019-ПП-С

**Свидетельство об аттестации
№ 6359/130-RA.RU.311703-2019
Выдано ФБУ «Ростест-Москва» РФ**

РАЗРАБОТАНО
ООО «ПионерПродукт»
Кукишев А.С.
«01» августа 2019 г.



Экземпляр № _____

Выдан: _____

Минск 2019

ПРЕДИСЛОВИЕ

1 РАЗРАБОТАНА Обществом с ограниченной ответственностью ООО «ПионерПродукт» (ООО «ПионерПродукт») «01» августа 2019 г.

2 АТТЕСТОВАНА Федеральным бюджетным учреждением «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний в г. Москве» (ФБУ «Ростест-Москва») «01» августа 2019 г.

3 УТВЕРЖДЕНА «01» августа 2019 г. директором ООО «ПионерПродукт» Юревичем А.Д.

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ от «01» августа 2019 г. №6359/130-RA.RU.311703-2019 выдано ФБУ «Ростест-Москва».

СВЕДЕНИЯ О РЕГИСТРАЦИИ ФР.1.31.2019.35184



СОДЕРЖАНИЕ

1. Область применения	4
2. Принцип метода	4
3. Характеристики методики	4
4. Оборудование и материалы	5
4.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование. 5	
4.2 Состав тест - набора.....	5
5. Условия хранения	6
6. Требования безопасности и требования квалификации операторов	6
6.1 Требования безопасности.....	6
6.2 Требования к квалификации персонала	6
7. Условия выполнения анализа	6
7.1 Отбор образцов.....	6
7.2 Подготовка лабораторной посуды	7
8. Подготовка образцов для анализа	7
8.1 Подготовка образцов жидкой сыворотки	7
9. Проведение анализа	7
9.1 Подготовка.....	7
9.2. Проведение анализа	7
10. Получение результата анализа и его интерпретация	8
10.1 Получение результата анализа	8
10.2 Интерпретация результатов.	8
11. Форма предоставления результатов.....	11
12. Внутренний контроль качества с использованием образцов для контроля.	11
13. Минимальные требования к лаборатории при проведении валидации .	12
14. Нормативные ссылки.....	12



1. Область применения

Методика предназначена для экспресс определения сульфаниламидов (сульфаметазин, сульфамеразин, сульфадиазин, сульфонометоксин, сульфадиметоксин, сульфадоксин, сульфаметоксазол, сульфадимидин, сульфаметоксипиразин, сульфаметоксидиазин, сульфизомидин, сульфаклорпиридазин, сульфаметоксипиридазин, сульфабензамид, сульфаксинаксалин, сульфатиазол, сульфаклорпиразин, сульфизоксазол, сульфаметизол), тилозина, тилмикозина, линкомицина, эритромицина, фторхинолонов в сыром, пастеризованном, стерилизованном, восстановленном сухом молоке, молочной сыворотке, молочной сыворотке сухой восстановленной с помощью тест - наборов «PIONEER MEIZHENG BIO-TECH (5 in 1) JC0429, Sulfonamides & Tylosin/Tilmicosin & Lincomycin & Erythromycin & Fluoroquinolones Rapid Test Kit», производства Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD, Китай

2. Принцип метода

В наборе реагентов используется иммунохроматографический метод с использованием частиц коллоидного золота. Проба добавляется в лунку с антителами, если в пробе присутствуют антибиотики, они будут связываться с антителами, предотвращая, таким образом, последующее связывание антител с антигенами, нанесенными на нитроцеллюлозную мембрану тест - полоски.

3. Характеристики методики

Предел обнаружения сульфаниламидов, тилозина, тилмикозина, линкомицина, эритромицина, фторхинолонов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Пределы обнаружения

Сульфаниламиды	Предел обнаружения мкг/дм ³	Сульфаниламиды	Предел обнаружения мкг/дм ³
Сульфаметазин	10	Сульфаметоксидиазин	4
Сульфамеразин	4	Сульфизомидин	4
Сульфадиазин	3	Сульфаклорпиридазин	5
Сульфонометоксин	3	Сульфаметоксипиридазин	10
Сульфадиметоксин	4	Сульфабензамид	7
Сульфадоксин	3	Сульфаксинаксалин	9
Сульфаметоксазол	20	Сульфатиазол	12
Сульфадимидин	10	Сульфаклорпиразин	4
Сульфаметоксипиразин	10	Сульфизоксазол	20
		Сульфаметизол	3
Фторхинолоны	Предел обнаружения мкг/дм³	Фторхинолоны	Предел обнаружения мкг/дм³
Энрофлоксацин	2-3	Ципрофлоксацин	2-3

Данофлоксацин	2-4	Флюмеквин	2-3
Оксолиновая кислота	1-1.5	Дифлоксацин	2-4
Сарафлоксацин	4-6	Норфлоксацин	2-3
Эноксацин	2-3	Циноксацин	60-100
Пефлоксацин	1-2	Офлоксацин	3-4
Марбофлоксацин	3-6	Ломефлоксацин	3-4
Макролиды	Предел обнаружения мкг/дм³	Макролиды	Предел обнаружения мкг/дм³
Тилозин	5-10	Тилмикозин	3-6
Линкозамиды	Предел обнаружения мкг/дм³	Макролиды	Предел обнаружения мкг/дм³
Линкомицин	1-2	Эритромицин	2-4

4. Оборудование и материалы

4.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование

Микропипетка с переменным или фиксированным объемом дозирования, которая позволяет дозировать 200 мкл, с комплектом наконечников;

Термометр лабораторный частичного погружения, класс точности 1, цена деления 1 °С;

Инкубатор, обеспечивающий поддержание температуры 40 ± 3 °С, например портативный инкубатор MiniT, производства Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD, Китай. Можно проводить инкубацию без использования инкубатора в закрытом помещении при температуре окружающей среды от 16 °С до 25 °С;

Считывающее устройство производства Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD, Китай;

Холодильник бытовой, поддерживающий температуру 2-8 °С;

Палочки стеклянные, стаканы стеклянные вместимостью 50 см³, или колбы объемом 100 см³ по ГОСТ 25336;

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или деионизированная;

Допускается применение средств измерений, вспомогательного и испытательного оборудования с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных.

4.2 Состав тест - набора

Тест-набор «PIONEER MEIZHENG BIO-TECH (5 in 1) JC0429, Sulfonamides & Tylosin/Tilmicosin & Lincomycin & Erythromycin & Fluoroquinolones Rapid Test Kit», производства Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD, Китай включает в себя все необходимое для 96 определений:

9.2.3 Поместите тест-полоску нижней частью в лунку с пробой. Инкубируйте тест-полоску в течение 5-ти минут в инкубаторе, при 40 ± 3 °С, или в планшете, в закрытом помещении при температуре окружающей среды 16-25 °С.

9.2.4 Извлеките тест-полоску из лунки. Интерпретируйте результат в течение 3-х минут. Для хранения тест-полоски с результатом анализа удалите фильтры с обоих концов тест-полоски.

10. Получение результата анализа и его интерпретация

10.1 Получение результата анализа

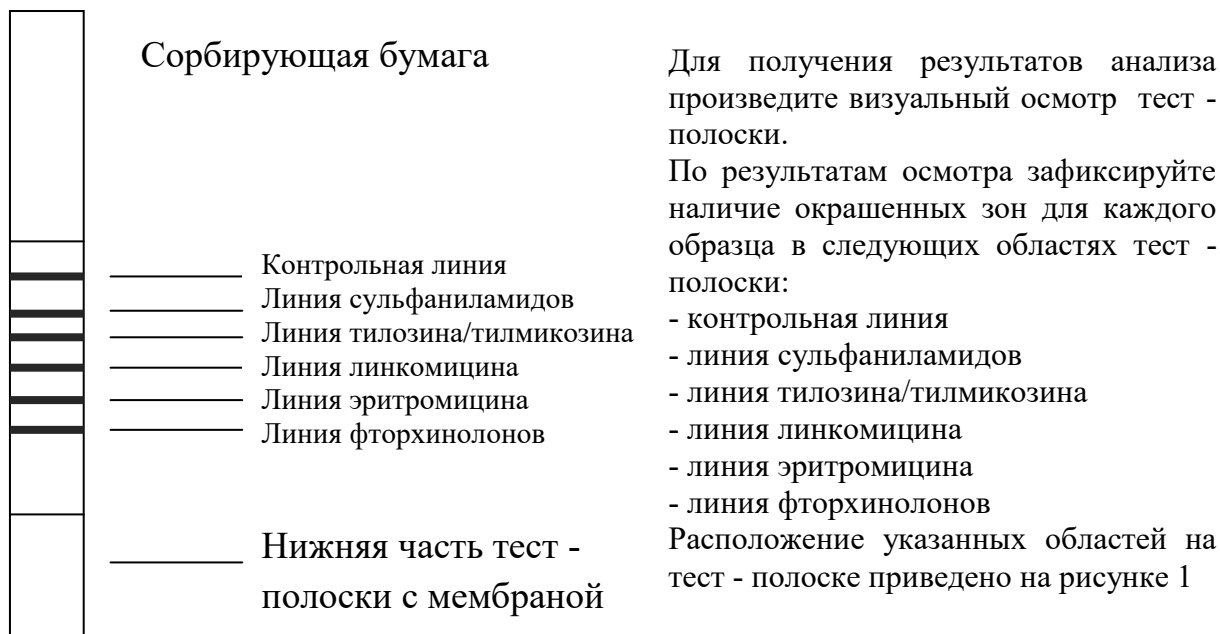


Рис. 1 Области тест - полоски

10.2 Интерпретация результатов.

10.2.1 Проведите интерпретацию полученных результатов анализа согласно таблице 2.

Таблица 2 Интерпретация результатов анализа

Наличие окраски линии						Результат анализа				
Контрольная линия	Линия сульфаниламидов	Линия тилозина/тилмикозина	Линия линкомицина	Линия эритромицина	Линия фторхинолонов	Сульфаниламиды	Тилозин/тилмикозин	Линкомицин	Эритромицин	Фторхинолоны
есть	есть	есть	есть	есть	есть	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
есть	есть	есть	есть	нет	есть	не обн.	не обн.	не обн.	обн.	не обн.
есть	есть	есть	нет	есть	есть	не обн.	не обн.	обн.	не обн.	не обн.
есть	есть	есть	нет	нет	есть	не обн.	не обн.	обн.	обн.	не обн.
есть	есть	нет	есть	есть	есть	не обн.	обн.	не обн.	не обн.	не обн.
есть	есть	нет	есть	нет	есть	не обн.	обн.	не обн.	обн.	не обн.

есть	есть	нет	нет	есть	есть	не обн.	обн.	обн.	не обн.	не обн.
есть	есть	нет	нет	нет	есть	не обн.	обн.	обн.	обн.	не обн.
есть	нет	есть	есть	есть	нет	обн.	не обн.	не обн.	не обн.	обн.
есть	нет	есть	есть	нет	нет	обн.	не обн.	не обн.	обн.	обн.
есть	нет	есть	нет	есть	нет	обн.	не обн.	обн.	не обн.	обн.
есть	нет	есть	нет	нет	нет	обн.	не обн.	обн.	обн.	обн.
есть	нет	нет	есть	есть	нет	обн.	обн.	не обн.	не обн.	обн.
есть	нет	нет	есть	нет	нет	обн.	обн.	не обн.	обн.	обн.
есть	нет	нет	нет	есть	нет	обн.	обн.	обн.	не обн.	обн.
есть	нет	нет	нет	нет	нет	обн.	обн.	обн.	обн.	обн.
Наличие окраски линии						Результат анализа				
Контрольная линия	Линия сульфаниламидов	Линия тилозина/тилмикозина	Линия линкомицина	Линия эритромицина	Линия фторхинолонов	Сульфаниламиды	Тилозин/тилмикозин	Линкомицин	Эритромицин	Фторхинолоны
нет	есть	есть	есть	есть	есть	Получен недействительный результат анализа				
нет	есть	есть	есть	нет	есть					
нет	есть	есть	нет	есть	есть					
нет	есть	есть	нет	нет	есть					
нет	есть	нет	есть	есть	есть					
нет	есть	нет	есть	нет	есть					
нет	есть	нет	нет	есть	есть					
нет	есть	нет	нет	нет	есть					
нет	нет	есть	есть	есть	нет					
нет	нет	есть	есть	нет	нет					
нет	нет	есть	нет	есть	нет					
нет	нет	есть	нет	нет	нет					
нет	нет	нет	есть	есть	нет					
нет	нет	нет	есть	нет	нет					
нет	нет	нет	нет	есть	нет					
нет	нет	нет	нет	нет	нет					

Примечание: для линий сульфаниламидов, тилозина, тилмикозина, линкомицина, эритромицина, фторхинолонов «есть» означает наличие окраски соответствующей линии, более яркой, чем контрольная линия или одинаковая интенсивность окрашивания, «нет» означает отсутствие окраски или более слабая интенсивность окрашивания по сравнению с контрольной линией; «не обнаружено» означает получение отрицательного результата анализа по соответствующей группе антибиотиков; «обнаружено» означает получение положительного результата анализа по соответствующей группе антибиотиков.

На рисунке 2 приведены варианты окрашивания линий тест - полоски после проведения анализа.



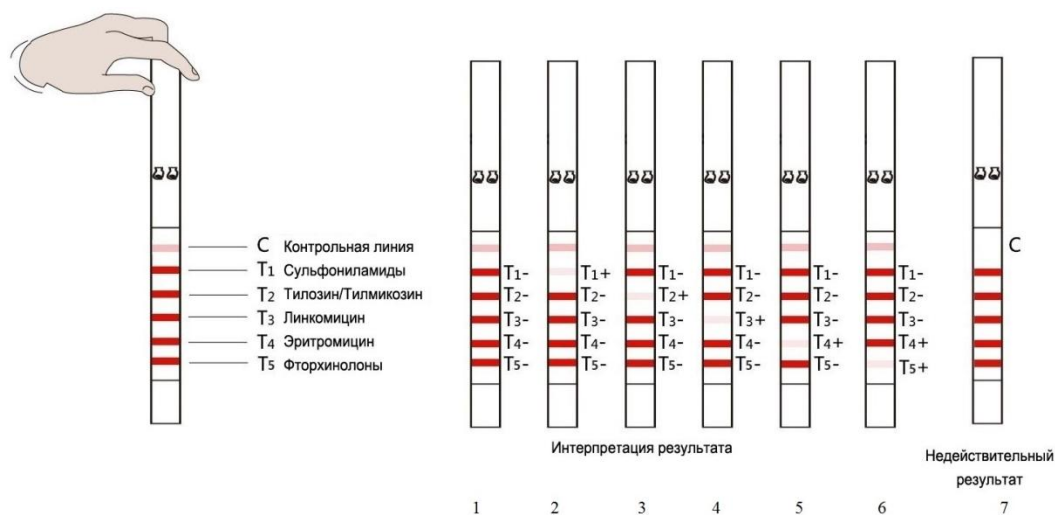


Рисунок 2. Варианты окрашивания линий тест - полосок после проведения анализа.

1 – отрицательный результат анализа по антибиотикам сульфаниламиды, тилозин, тилмикозин, линкомицин, эритромицин, фторхинолоны.

2 – положительный результат анализа по сульфаниламидам, отрицательный результат анализа по антибиотикам тилозин, тилмикозин, линкомицин, эритромицин, фторхинолоны.

3 – положительный результат анализа по тилозину, тилмикозину, отрицательный результат анализа по антибиотикам сульфаниламиды, линкомицин, эритромицин, фторхинолоны.

4 – положительный результат анализа по линкомицину, отрицательный результат анализа по антибиотикам сульфаниламиды, тилозин, тилмикозин, эритромицин, фторхинолоны.

5 – положительный результат анализа по эритромицину, отрицательный результат анализа по антибиотикам сульфаниламиды, тилозин, тилмикозин, линкомицин, фторхинолоны.

6 – положительный результат анализа по фторхинолонам, отрицательный результат анализа по антибиотикам сульфаниламиды, тилозин, тилмикозин, линкомицин, эритромицин.

7 – недействительный результат анализа. Анализ следует повторить.

Примечание: отрицательный результат означает отсутствие антибиотиков или концентрация антибиотиков ниже предела обнаружения методики; положительный результат означает наличие антибиотиков равно или выше предела обнаружения методики.

Если полученные результаты обнаружения целевых антибиотиков соответствуют, то результат выполнения процедуры контроля качества признается удовлетворительным.

Таблица 3. Результаты анализа, соответствующие удовлетворительному проведению процедуры контроля качества

Результаты обнаружения антибиотиков группы	Отрицательный контрольный образец	Положительный контрольный образец
сульфаниламиды	не обнаружено	обнаружено
тилозин, тилмикозин	не обнаружено	обнаружено
линкомицин	не обнаружено	обнаружено
эритромицин	не обнаружено	обнаружено
фторхинолоны	не обнаружено	обнаружено

При получении не удовлетворительного результата проведения процедуры контроля качества производится поиск и устранение причин его проведения. После устранения причин повторно выполняют процедуру контроля качества.

При правильном хранении тест-набора допускается проводить внутренний контроль качества с использованием положительного и отрицательного стандартов только один раз перед началом работы с тестами при первом вскрытии коробки тест-набора.

13. Минимальные требования к лаборатории при проведении валидации

При внедрении данной методики, в лаборатории необходимо провести валидацию методики.

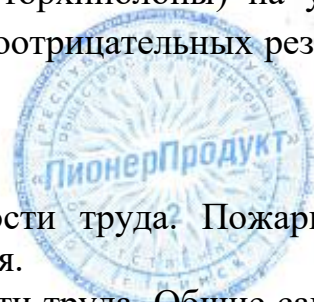
Проведение валидации и оформление отчета должно выполняться в соответствии с документами системы менеджмента качества лаборатории.

При проведении валидации лаборатория определяет следующие характеристики:

- Не менее 20 проб, не содержащих целевые антибиотики должны показать долю ложноположительных результатов – 0 %.
- Не менее 20 проб, содержащих целевые антибиотики (сульфаниламиды, тилозин, тилмикозин, линкомицин, эритромицин, фторхинолоны) на уровне предела обнаружения должны показать долю ложноотрицательных результатов не более 5 %.

14. Нормативные ссылки

- ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
- ГОСТ 12.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие сани-



	тарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.
ГОСТ 12.2.003-91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная. 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 29245-91	Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей.

