



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «ПионерПродукт»

Юревич А.Д.

«7» августа 2020 г.

ПРОДУКЦИЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ.

Методика обнаружения остаточных количеств

бета-лактамов, тетрациклинов, хлорамфеникола, стрептомицинов, цефалексина в молоке, молочной сыворотке с использованием тест-наборов «PIONEER MEIZHENG BIO-TECH (5 in 1) JC0586, *Beta-Lactams & Tetracyclines & Chloramphenicol & Streptomycin & Cefalexin Rapid Test Kit*», производства Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD, Китай

МИ 5-1-2020-ПП

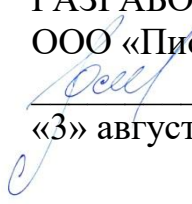
Свидетельство об аттестации

№ 7550/03-RA.RU.311703-2020

Выдано ФБУ «Ростест-Москва» РФ

РАЗРАБОТАНО

ООО «ПионерПродукт»

 Романовская А.А.

«3» августа 2020 г.

Экземпляр № _____

Выдан: _____

Минск
2020

ПРЕДИСЛОВИЕ

1 РАЗРАБОТАНА Обществом с ограниченной ответственностью ООО «ПионерПродукт» (ООО «ПионерПродукт») «3» августа 2020 г.

2 АТТЕСТОВАНА Федеральным бюджетным учреждением «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний в г. Москве» (ФБУ «Ростест-Москва») «19» августа 2020 г.

3 УТВЕРЖДЕНА «7» августа 2020 г. директором ООО «ПионерПродукт» Юревичем А.Д.

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ от «19» августа 2020 г. №7550/03-RA.RU.311703-2020 выдано ФБУ «Ростест-Москва».

СВЕДЕНИЯ О РЕГИСТРАЦИИ ФР.1.31.2020.37996



СОДЕРЖАНИЕ

1 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.....	4
2 ПРИНЦИП МЕТОДА	4
3 ТОЧНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЙ	4
4 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ИСПЫТАТЕЛЬНОЕ И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ.....	5
4.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование	5
4.2 Состав тест - набора.....	6
5 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ.....	6
6 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ТРЕБОВАНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ	6
6.1 Требования безопасности.....	6
6.2 Требования к квалификации персонала	7
7 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА.....	7
7.1 Отбор образцов.....	7
7.2 Подготовка лабораторной посуды	7
8 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	7
8.1 Подготовка образцов жидкой сыворотки	7
9 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	8
9.1 Подготовка.....	8
9.2. Проведение анализа	8
10 ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА АНАЛИЗА И ЕГО ИНТЕРПРЕТАЦИЯ.....	9
10.1 Получение результата анализа	9
10.2 Интерпретация результатов.	9
11 ФОРМА ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	12
12 ВНУТРЕННИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ.....	12
13 МИНИМАЛЬНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К ЛАБОРАТОРИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ВАЛИДАЦИИ	13
14 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	14

1 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Методика предназначена для экспресс определения антибиотиков группы бета-лактамов, тетрациклинов, хлорамфеникола, стрептомицинов и цефалексина в сыром, пастеризованном, стерилизованном, восстановленном сухом молоке, молочной сыворотке, молочной сыворотке сухой восстановленной с помощью тест-наборов «*PIONEER MEIZHENG BIO-TECH (5 in 1) JC0586, Beta-Lactams&Tetracyclines&Chloramphenicol&Streptomycin&Cefalexin Rapid Test Kit*», производства *Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD*, Китай.

Методика разработана в соответствии с учетом требований ГОСТ 32219.

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 ТОЧНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЙ

Пределы обнаружения антибиотиков группы бета-лактамов, тетрациклинов, хлорамфеникола, стрептомицинов и цефалексина представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Пределы обнаружения

Группы антибиотиков		Предел обнаружения мкг/дм ³
Бета-лактамы		
Пенициллины	Пенициллин G	от 1 до 2
	Клоксациллин	от 2 до 5
	Амоксициллин	от 2 до 3
	Оксациллин	от 4 до 6
	Нафциллин	от 7 до 9
	Ампициллин	от 2 до 3
	Диклоксациллин	от 2 до 5
	Бензатин пенициллин(Бензициллин)	от 2 до 4
	Гетациллин	от 5 до 8
	Пиперациллин	от 5 до 6
	Прокаин-пенициллин	от 2 до 4
	Тикарциллин	от 3 до 6
Цефалоспорины	Цефкином	от 5 до 7

Группы антибиотиков		Предел обнаружения мкг/дм ³
Бета-лактамы		
	Цефалониум	от 3 до 5
	Цефтиофур	от 60 до 80
	Цефапирин	от 4 до 8
	Цефоперазон	от 3 до 5
	Цефаксетрил	от 10 до 20
	Цефазолин	от15 до 25
	Цефадроксил	от 10 до 15
	Цефоксазол	от 70 до 90
	Цефотаксим	от 25 до 30
	Цефуросим	от 25 до 30
Тетрациклины	Тетрациклин	от 6 до 8
	Хлортетрациклин	от 5 до 7
	Доксициклин	от 3 до 4
	Окситетрациклин	от 7 до 9
Хлорамфеникол	Хлорамфеникол	от 0,2 до 0,3
Стрептомицин	Стрептомицин	от 50
Цефалексин	Цефалексин	от 10 до 15
Другие антибиотики	Дигидрострептомицин	от 50

4 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ИСПЫТАТЕЛЬНОЕ И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

4.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование

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

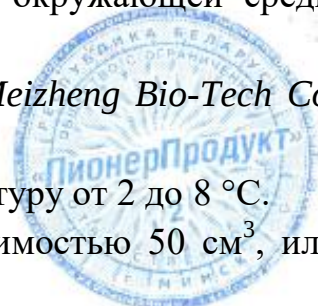
Термометр лабораторный частичного погружения, класс точности 1, цена деления 1 °С.

Инкубатор, обеспечивающий поддержание температуры $(40 \pm 3) ^\circ\text{C}$, 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 до 25 °С.

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

Холодильник бытовой, поддерживающий температуру от 2 до 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) JC0586, Beta-Lactams&Tetracyclines&Chloramphenicol&Streptomycin&Cefalexin RapidTestKit*», производства *Beijing Meizheng Bio-Tech Co, LTD*, Китай включает в себя все необходимое для 96 определений:

– 12 туб, каждая из которых содержит 1 стрип с 8 лунками с реагентом, содержащими антитела, и 8 тест - полосками либо 6 туб, каждая из которых содержит 2 стрипа с 8 лунками с реагентом, содержащими антитела, и 16 тест - полосками - в зависимости от упаковки набора; 100 одноразовых пипеток Пастера;

- Инструкция;
- 1 планшет для лунок;
- Реагенты для контроля качества - положительный и отрицательный стандарты.

5 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Тест-набор необходимо хранить в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С. Замораживать компоненты набора реагентов не допускается. Использование тест - набора с истекшим сроком годности не допускается.

6 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ТРЕБОВАНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ

6.1 Требования безопасности

При выполнении работ обслуживающий персонал должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования:

- электробезопасности по ГОСТ 12.2.003;
- пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004;
- техники безопасности, изложенной в инструкциях по эксплуатации средств измерений и оборудования, применяемых при выполнении работ по данной методике.

6.2 Требования к квалификации персонала

К проведению работ по данной методике допускаются лица, прошедшие обучение приемам работы с тест-наборами, освоившие выполнение всех операций, предусмотренных методикой.



7 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

При выполнении анализа должны соблюдаться следующие условия:

- температура окружающей среды от 16 до 25 °С;
- влажность окружающей среды не более 80 % при температуре 25 °С.

7.1 Отбор образцов

7.1.1 Образцы для анализа отбираются в соответствии с действующими ТНПА.

7.1.2 Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение 2-х дней или в замороженном виде при температуре не выше минус 18 °С в течение 14 дней. Перед проведением анализа замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от 2 до 8 °С.

7.2 Подготовка лабораторной посуды

Используемая лабораторная посуда должна быть чистой либо одноразовой. После проведения анализа стеклянную посуду следует промыть в растворе специального моющего средства и промыть водопроводной водой, ополоснуть несколько раз дистиллированной водой и высушить. Стеклянную посуду, имеющую сильные загрязнения, следует предварительно промыть хромовой смесью.

8 ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Сухое молоко и молочную сухую сыворотку восстанавливают в соответствии с ГОСТ 29245.

Молоко, восстановленное сухое молоко, молочную сыворотку, восстановленную сухую сыворотку: пробы должны быть жидкими и однородными. В пробах не должно быть сгустков и фаз разделения образца. Температура пробы должна быть не ниже 4 °С, не замороженное и не нагретое. Перед испытанием тщательно перемешайте пробу.

8.1 Подготовка образцов жидкой сыворотки.

В колбу вместимостью 50 см³ отмеривают 10 см³ жидкой сыворотки, содержание сухих веществ жидкой сыворотки доводят до значения 6-8% путем добавления дистиллированной воды. Для жидкой сыворотки с содержанием веществ менее 8% разбавление не требуется. Измеряют значение pH. Если оно менее 5,0 необходимо добавить раствор гидроокиси натрия молярной концентрации с (NaOH)=1моль/дм³ и довести значение pH до 5,5-6,5.



9 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1 Подготовка

Компоненты набора, необходимые для анализа необходимо довести до комнатной температуры. Для этого достаньте необходимое количество компонентов набора из холодильника и оставьте при комнатной температуре нагреваться не менее 15 минут. Использовать данные компоненты необходимо в течение 24 часов с момента их нагревания. Не использованные компоненты набора должны храниться в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С.

При использовании инкубатора, заранее подключите инкубатор к сети и нагрейте его до температуры $(40 \pm 3) ^\circ\text{C}$.

9.2. Проведение анализа

9.2.1 Поместите лунки с реагентом в предварительно нагретый не более $(40 \pm 3) ^\circ\text{C}$ инкубатор или в планшет для лунок (при отсутствии инкубатора). От образцов, подготовленных по пункту 8 отберите аликвоты проб объемом 200 мкл и перенесите в лунки тест-набора.

9.2.2 С помощью микропипетки перемешайте (10-ти кратный набор и слив пробы из наконечника микропипетки либо одноразовой пипетки Пастера) содержимое лунок. После перемешивания смесь пробы и краситель из лунок должны иметь розовый цвет и однородную структуру. Инкубируйте смесь в течение 3-х минут.

9.2.3 Поместите тест-полоску нижней частью в лунку с пробой. Инкубируйте тест-полоску в течение 7-и минут в инкубаторе, при $(40 \pm 3) ^\circ\text{C}$, или в планшете, в закрытом помещении при температуре окружающей среды от 16 до 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

Расположение указанных областей на тест-полоске приведено на рисунке 1.



Для получения результатов анализа произведите визуальный осмотр тест-полоски.

По результатам осмотра зафиксируйте наличие окрашенных зон для каждого образца в следующих областях тест-полоски:

- контрольная линия
- линия тетрациклинов
- линия хлорамфеникола
- линия стрептомицинов
- линия бета-лактамов
- линия цефалексина

Рисунок 1 – Области тест-полоски

10.2 Интерпретация результатов

10.2.1 Проведите интерпретацию полученных результатов анализов согласно таблице 2.

Таблица 2 – Интерпретация результатов анализов

Наличие окраски линии						Результат анализа				
Контрольная линия	Линия Тетрациклинов	Линия Хлорамфеникола	Линия Стрептомицинов	Линия Бета-лактамов	Линия цефалексина	Тетрациклиновая группа	Хлорамфеникол	Стрептомицины	Бета-лактамы	Цефалексин
есть	есть	есть	есть	есть	нет	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	обн.
есть	есть	есть	есть	нет	нет	не обн.	не обн.	не обн.	обн.	обн.
есть	есть	есть	нет	есть	нет	не обн.	не обн.	обн.	не обн.	обн.
есть	есть	есть	нет	нет	нет	не обн.	не обн.	обн.	обн.	обн.
есть	есть	нет	есть	есть	нет	не обн.	обн.	не обн.	не обн.	обн.
есть	есть	нет	есть	нет	нет	не обн.	обн.	не обн.	обн.	обн.
есть	есть	нет	нет	есть	нет	не обн.	обн.	обн.	не обн.	обн.
есть	есть	нет	нет	нет	нет	не обн.	обн.	обн.	обн.	обн.

Наличие окраски линии						Результат анализа				
Контрольная линия	Линия Тетрациклинов	Линия Хлорамфеникола	Линия Стрептомицинов	Линия Бета-лактамов	Линия цефалексина	Тетрациклиновая группа	Хлорамфеникол	Стрептомицины	Бета-лактамы	Цефалексин
есть	нет	есть	есть	есть	есть	обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
есть	нет	есть	есть	нет	есть	обн.	не обн.	не обн.	обн.	не обн.
есть	нет	есть	нет	есть	есть	обн.	не обн.	обн.	не обн.	не обн.
есть	нет	есть	нет	нет	есть	обн.	не обн.	обн.	обн.	не обн.
есть	нет	нет	есть	есть	есть	обн.	обн.	не обн.	не обн.	не обн.
есть	нет	нет	есть	нет	есть	обн.	обн.	не обн.	обн.	не обн.
есть	нет	нет	нет	есть	есть	обн.	обн.	обн.	не обн.	не обн.
есть	нет	нет	нет	нет	есть	обн.	обн.	обн.	обн.	не обн.
Наличие окраски линии						Результат анализа				
Контрольная линия	Линия Тетрациклинов	Линия Хлорамфеникола	Линия Стрептомицинов	Линия Бета-лактамов	Линия цефалексина	Тетрациклиновая группа	Хлорамфеникол	Стрептомицины	Бета-лактамовая группа	Цефалексин
нет	есть	есть	есть	есть	нет	Получен недействительный результат анализа				
нет	есть	есть	есть	нет	нет					
нет	есть	есть	нет	есть	нет					
нет	есть	есть	нет	нет	нет					
нет	есть	нет	есть	есть	нет					
нет	есть	нет	есть	нет	нет					
нет	есть	нет	нет	есть	нет					
нет	есть	нет	нет	нет	нет					
нет	нет	есть	есть	есть	есть					
нет	нет	есть	есть	нет	есть					
нет	нет	есть	нет	есть	есть					
нет	нет	нет	есть	есть	есть					
нет	нет	нет	есть	нет	есть					
нет	нет	нет	есть	нет	есть					
нет	нет	нет	нет	есть	есть					
нет	нет	нет	нет	нет	есть					

П р и м е ч а н и е – Области тест-полоски для линий тетрациклинов, хлорамфеникола, стрептомицинов, бета-лактамов, цефалексина «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 соответствующим группам антибиотиков; «обнаружено» означает получение положительного результата анализа по соответствующим группам антибиотиков.



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

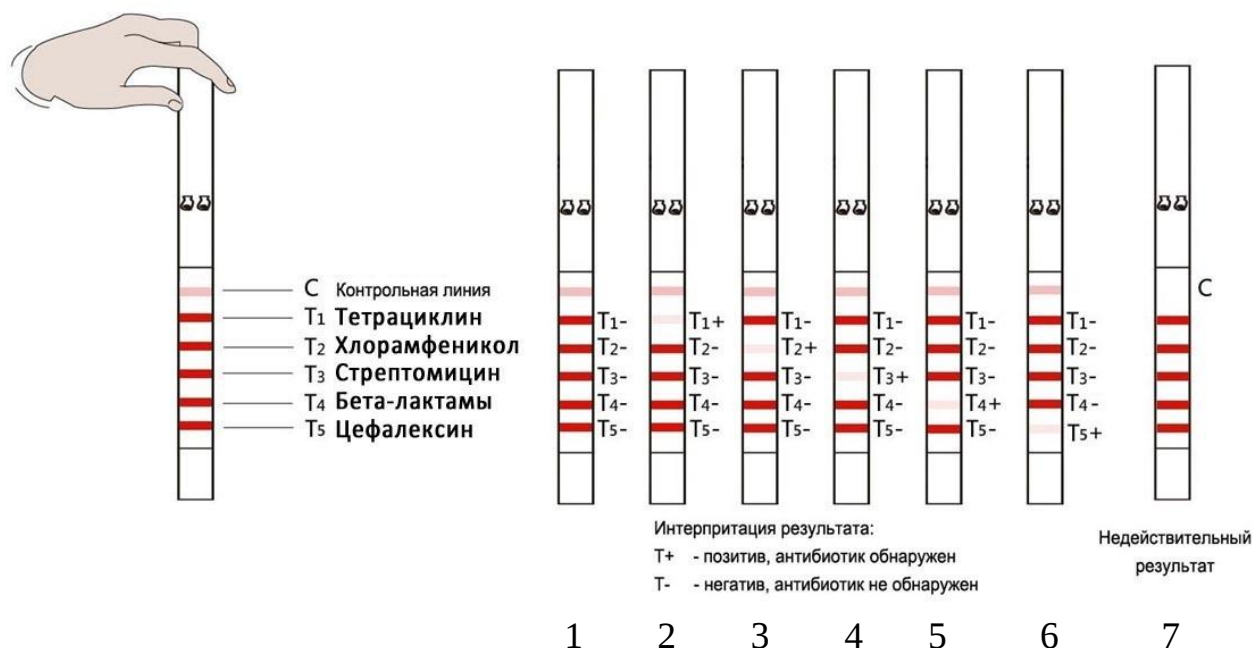


Рисунок 2 – Варианты окрашивания линий тест-полосок после проведения анализа

1–отрицательный результат анализа по группам антибиотиков тетрациклины, хлорамфеникол, стрептомицины, бета-лактамы, цефалексин.

2–положительный результат анализа по антибиотикам группы тетрациклины, отрицательный результат анализа по группам антибиотиков хлорамфеникол, стрептомицины, бета-лактамы, цефалексин.

3–положительный результат анализа по антибиотику хлорамфеникол, отрицательный результат анализа по группам антибиотиков тетрациклины, стрептомицины, бета-лактамы, цефалексин.

4–положительный результат анализа по антибиотикам группы стрептомицины, отрицательный результат анализа по группам антибиотиков тетрациклины, хлорамфеникол, бета-лактамы, цефалексин.

5–положительный результат анализа по антибиотикам группы бета-лактамы, отрицательный результат анализа по группам антибиотиков тетрациклины, хлорамфеникол, стрептомицины, цефалексин.

6–положительный результат анализа по антибиотикуцефалексин, отрицательный результат анализа по группам антибиотиков тетрациклины, хлорамфеникол, стрептомицины, бета-лактамы.

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.

10.2.2 При наличии электронного считывающего устройства, произведите считывание результатов при помощи соответствующей программы. Результаты считывания будут храниться в памяти считывающего устройства. В дальнейшем они могут быть перенесены на ПК и выведены на печать (см. Инструкцию по эксплуатации считывающего устройства).

11 ФОРМА ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При получении положительного результата обнаружения соответствующих групп антибиотиков выдается результат в следующем виде с указанием значений предела обнаружения согласно таблице 1:

- антибиотики группы тетрациклинов обнаружены;
- антибиотик хлорамфеникол обнаружен;
- антибиотики стрептомицины обнаружены;
- антибиотики группы бета-лактамов обнаружены;
- антибиотик цефалексин обнаружен.

При получении отрицательного результата обнаружения соответствующих групп антибиотиков выдается результат в следующем виде с указанием значений предела обнаружения согласно таблице 1:

- антибиотики группы тетрациклинов не обнаружены;
- антибиотик хлорамфеникол не обнаружен;
- антибиотики стрептомицины не обнаружены;
- антибиотики группы бета-лактамов не обнаружены;
- антибиотик цефалексин не обнаружен.

12 ВНУТРЕННИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ

Для проведения процедуры используйте положительный и отрицательный стандарты, входящие в состав набора.

Приготовление отрицательного и положительного стандартов, входящих в комплект набора, осуществляется согласно инструкции производителя, поставляемой вместе с набором.

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
тетрациклины	не обнаружено	обнаружено
хлорамфеникол	не обнаружено	обнаружено
стрептомицины	не обнаружено	обнаружено
бета-лактамы	не обнаружено	обнаружено
цефалексин	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.

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 (тетрациклины, хлорамфеникол, стрептомицины, бета-лактамы, цефалексин) на уровне предела обнаружения должны показать долю ложноотрицательных результатов не более 5 %.



14 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

- ГОСТ 12.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.
- ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
- ГОСТ 12.2.003-91 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
- 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.
- ГОСТ 32219-2013 Молоко и молочные продукты. Иммунологические методы определения наличия антибиотиков (с Изменением N 1)
- ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

