

Изменение № 1 ГОСТ Р 51600—2000 Молоко. Методы определения антибиотиков

Утверждено и введено в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 09.02.2006 № 6-ст

Дата введения 2007—07—01

Наименование стандарта изложить в новой редакции:

«Молоко. Методы определения наличия антибиотиков

Milk. Methods for determination of the antibiotics indication».

Раздел 1 изложить в новой редакции:

«1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на натуральное коровье молоко — сырье, пастеризованное, стерилизованное и предварительно восстановленное сухое молоко (далее — молоко) и устанавливает микробиологические и иммуноферментный методы определения наличия антибиотиков».

Подпункт 4.2.3 изложить в новой редакции:

«4.2.3 Ампулы «Delvotest[®] SP», герметично укупоренные, вместимостью 1,0 см³ с агаровой средой, содержащей споры *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатор бромкрезолпурпур, собранные в блоки».

Подпункт 4.2.4. Заменить слово: «Delvotest[®]» на «Delvotest[®] SP».

Раздел 4 дополнить подпунктом — 4.2.9:

«4.2.9 Ампулы «Delvotest[®] SP-NT» или «Delvotest[®] SP MINI-NT», герметично укупоренные, вместимостью 1,0 см³ с агаровой и питательной средой, содержащей споры *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатор бромкрезолпурпур, собранные в блоки».

Подпункт 4.4.1 дополнить наименованием (после обозначения): «Подготовка к анализу ампул по 4.2.3 и бутылочек по 4.2.4».

Подпункт 4.4.2 дополнить словами: «при температуре $(6 \pm 2) ^\circ\text{C}$ ».

Пункт 4.4 дополнить подпунктом — 4.4.4:

«4.4.4 Подготовка к анализу ампул по 4.2.9

Осторожно, не повреждая упаковки, отрезают от блока необходимое число ампул (с учетом контрольной пробы) и маркируют. Оставшиеся ампулы хранят в холодильнике при температуре $(6 \pm 2) ^\circ\text{C}$ ».

(Продолжение см. с. 22)

Подпункт 4.5.1 дополнить словами: «по 4.2.3 или 4.2.9».

Подпункты 4.5.2, 4.5.3 изложить в новой редакции:

«4.5.2 В каждую открытую ампулу по 4.2.3 пинцетом помещают по одной таблетке питательной среды «Delvotest[®] SP», взятой из колпачка бутылочки по 4.4.3. Затем бутылочку плотно закрывают колпачком и хранят при температуре (20 ± 2) °С.

4.5.3 Шприцем-дозатором отбирают 0,1 см³ анализируемого молока и вносят в каждую ампулу по 4.5.2 или 4.2.9. Для каждой пробы анализируемого молока используют новый наконечник. Оставшееся молоко сохраняют до конца анализа в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С.

Подпункт 4.5.4. Исключить слово: «Delvotest[®]».

Раздел 5 изложить в новой редакции:

«5 Метод с 3,3,5,5-триметилбензидином и диметилсульфоксидом»

5.1 Сущность метода

Метод основан на иммуноферментной реакции, в процессе которой антибиотики бета-лактамного типа захватываются иммобилизованными специфическими антителами, меченными ферментом, содержащим индикатор, с образованием химически прочного окрашенного комплекса при взаимодействии с молоком, содержащим антибиотики.

Наличие или отсутствие пенициллина и антибиотиков бета-лактамного типа (ампициллина, цефепима, амоксициллина, цефтиофура, клексациллина, диклоксациллина, цефалонима, цефалексина, нафциллина, цефазолина, цефтриаксона, цефтазидима, оксациллина, цефоперазона) устанавливают, сравнивая цвет зоны анализируемого молока с цветом контрольной зоны индикаторного устройства «Snap[®]».

5.2 Аппаратура, материалы и реактивы

5.2.1 Термостат, позволяющий поддерживать температуру (45 ± 5) °С.

5.2.2 Холодильник бытовой по ГОСТ 16317.

5.2.3 Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

5.2.4 Тест-набор Бета-лактама «Snap[®]», одноразовый комплект в герметичной упаковке, включающий пробирку «Snap[®]» с 3,3,5,5-триметилбензидином, укупоренную; пипетку мерную вместимостью 0,4 см³; индикаторное устройство «Snap[®]» с диметилсульфоксидом по [1].

Тест-набор Бета-лактама «Snap[®]» хранят в холодильнике при температуре от 0 °С до 7 °С. Необходимое число комплектов для работы в течение суток допускается хранить при температуре (20 ± 2) °С.

5.3 Отбор проб

5.3.1 Отбор проб — по ГОСТ 9225. Пробы хранят в холодильнике в течение 24 ч при температуре (6 ± 2) °С.

(Продолжение см. с. 23)

5.4 Подготовка к анализу

5.4.1 Термостат нагревают до температуры $(45 \pm 5)^\circ\text{C}$ и выдерживают при этой температуре не менее 5 мин.

5.4.2 Вскрывают упаковку тест-набора Бета-лактам «Snap®», проверяют положение шарика реактива в пробирке по 5.2.4. Шарик реактива при заполнении пробирки молоком должен находиться на ее дне. При необходимости шарик реактива устанавливают встряхиванием пробирки на ее дно.

5.5 Проведение анализа

5.5.1 Мерную пипетку по 5.2.4 наполняют анализируемым молоком до метки.

5.5.2 Анализируемое молоко из пипетки выливают в пробирку. Пробирку закрывают и тщательно перемешивают круговыми движениями до растворения реактива. Пробирку и индикаторное устройство помещают в термостат и выдерживают при температуре $(45 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 5 — 6 мин.

5.5.3 Вынимают подогретое индикаторное устройство из термостата и устанавливают на горизонтальной поверхности так, чтобы приемная воронка для заливки анализируемым молоком находилась слева от оператора.

5.5.4 Содержимое пробирки переливают в приемную воронку индикаторного устройства.

5.5.5 При появлении анализируемого молока в круглом окне клавиши индикаторного устройства клавишу нажимают до упора для изменения тока жидкости и промывки пористого материала раствором антибиотиков. Включение индикаторного устройства сопровождается характерным щелчком клавиши.

5.5.6 Индикаторное устройство повторно помещают в термостат, выдерживают при температуре $(45 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 4 мин и извлекают из термостата. Стабильность окраски сохраняется в течение 15 мин после извлечения устройства из термостата.

5.6 Обработка результатов

5.6.1 Сравнивают цвет контрольной зоны в индикаторном окне с цветом зоны анализируемого молока.

5.6.2 Контрольная зона должна быть синего цвета. Если изменение цвета контрольной зоны после проведения процедур по 5.5.4 — 5.5.6 не произошло, то определение повторяют с новым тест-набором Бета-лактам «Snap®».

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

(Продолжение см. с. 24)

Белый или менее интенсивный цвет зоны анализируемого молока по сравнению с цветом контрольной зоны свидетельствует о наличии в анализируемом молоке пенициллина или антибиотиков бета-лактамного типа.

5.7 Метрологические характеристики

5.7.1 Наименьшие пределы определения антибиотиков бета-лактамного типа представлены в таблице 3.

Т а б л и ц а 3

Наименование антибиотиков	Наименьший предел определения, Ед/г (мкг/г)
Пенициллин*)	0,003
Ампициллин	0,005
Цефепим	0,011
Амоксициллин	0,007
Цефтиофур	0,006
Клоксациллин	0,030
Диклоксациллин	0,020
Цефалоний	0,040
Цефалексин	0,025
Нафциллин	0,070
Цефазолин	0,020
Цефтриаксон	0,020
Цефтазидим	0,050
Оксациллин	0,040
Цефоперазон	0,010
*) 0,003 мкг активного вещества равно 0,005 Ед активности.	

Стандарт дополнить разделом — 6:

«6 Требования безопасности»

Работу со споровой культурой тест-микроба в лаборатории проводят в соответствии с санитарными правилами по [2].

Приложение А. Библиографию изложить в новой редакции:

«Библиография

- [1] Тест-набор Бета-лактам «Snap®». Россия, ООО «ЗИП-И Диагностика»

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

Ключевые слова после слов «зона ингибиции» дополнить словами: «антибиотики бета-лактамного типа».

(ИУС № 4 2006 г.)