

**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<sup>®</sup> SP», герметично укупоренные, вместимостью 1,0 см<sup>3</sup> с агаровой средой, содержащей споры *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатор бромкрезолпурпур, собранные в блоки».

Подпункт 4.2.4. Заменить слово: «Delvotest<sup>®</sup>» на «Delvotest<sup>®</sup> SP».

Раздел 4 дополнить подпунктом — 4.2.9:

«4.2.9 Ампулы «Delvotest<sup>®</sup> SP-NT» или «Delvotest<sup>®</sup> SP MINI-NT», герметично укупоренные, вместимостью 1,0 см<sup>3</sup> 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 ± 2) °С».

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 ± 2) °С».

*(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<sup>®</sup> SP», взятой из колпачка бутылочки по 4.4.3. Затем бутылочку плотно закрывают колпачком и хранят при температуре  $(20 \pm 2)$  °С.

4.5.3 Шприцем-дозатором отбирают 0,1 см<sup>3</sup> 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  $(6 \pm 2)$  °С.

Подпункт 4.5.4. Исключить слово: «Delvotest<sup>®</sup>».

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, флоксациллина, диклоксациллина, цефалониума, цефалексина, нафциллина, цефазолина, цефтриаксона, цефтазидима, оксациллина, цефоперазона) устанавливают, сравнивая цвет зоны анализируемого молока с цветом контрольной зоны индикаторного устройства «Snap<sup>®</sup>».

### **5.2 Аппаратура, материалы и реактивы**

5.2.1 Термостат, позволяющий поддерживать температуру  $(45 \pm 5)$  °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-лактам «Snap<sup>®</sup>», одноразовый комплект в герметичной упаковке, включающий пробирку «Snap<sup>®</sup>» с 3,3,5,5-триметилбензидином, укупоренную; пипетку мерную вместимостью 0,4 см<sup>3</sup>; индикаторное устройство «Snap<sup>®</sup>» с диметилсульфоксидом по [1].

Тест-набор Бета-лактам «Snap<sup>®</sup>» хранят в холодильнике при температуре от 0 °С до 7 °С. Необходимое число комплектов для работы в течение суток допускается хранить при температуре  $(20 \pm 2)$  °С.

### **5.3 Отбор проб**

5.3.1 Отбор проб — по ГОСТ 9225. Пробы хранят в холодильнике в течение 24 ч при температуре  $(6 \pm 2)$  °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 «Spar®», 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 «Spar®».

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
Цефтиофурил	0,006
Клоксациллин	0,030
Диклоксациллин	0,020
Цефалоний	0,040
Цефалексин	0,025
Нафциллин	0,070
Цефазолин	0,020
Цефкуинид	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 Диагностикс»

[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.)