Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 59326-2021 "Молоко и молочное сырье. Определение наличия ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств методом иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией с применением технологии биочипов" (утв. и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 февраля 2021 г. N 73-ст)

Milk and milk raw material. Determination of veterinary drugs and chemotherapeutic drugs by enzyme immunoassay with chemiluminescent detection using biochip technology

ОКС 67.100.10

Дата введения - 15 марта 2021 г.
Введен впервые

Предисловие

1 Разработан Федеральным государственным автономным научным учреждением "Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности" (ФГАНУ "ВНИМИ")

2 Внесен Техническим комитетом по стандартизации ТК 470 "Молоко и продукты переработки молока"

3 Утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 февраля 2021 г. N 73-ст

4 Введен впервые

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сырое молоко, молочное сырье* (далее - продукт) и устанавливает иммуноферментный метод одновременного определения наличия следующих ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств с применением технологии биочипов:

---

* В настоящем стандарте к молочному сырью относят: пастеризованное молоко, обезжиренное молоко, концентрированное молоко и молочную сыворотку.

- авермектины;

- 2-аминобензимидазолы;

- амфениколы;

- апрамицин;
- баквилоприм;
- бацитрацин;
- бензимидазолы;
- бета-лактамы;
- вирджиниямицин М1;
- галофугинон;
- гентамицин;
- гигромицин В;
- 5-гидрокси-флуниксины;
- дапсон;
- дексаметазон;
- деркванте л;
- имидокарб;
- канамицин А;
- клозантел;
- клорсулон;
- ласалоцид;
- левамизол;
- линкомицин;
- мелоксикам;
- метамизолы;
- метилпреднизолоны;
- моксидектин;
- монензин;
- монепантел;
- морантел;
- неомицины;
- нитроксинил;
- новобиоцин;
- оксиклозанид;
- оксфендазолсульфон;
- пирлимицин;
- полимиксины;
- рактопамин;
- рифаксимин;
- спектиномицин;

- спирамицины;

- стрептомицины;

- сульфагуанидин;

- сульфаметазины;

- сульфапиридины;

- сульфонамиды;

- тетрациклины;

- тиабендазол;

- тилдипирозин;

- тилозины;

- тобрамицин;

- толтразурил;

- толфенамовая кислота;

- триклабендазол;

- триметоприм;

- трипиленамин;

- фенилбутазоны;

- хинолоны;

- хлормадинон;

- цефалексин;

- цефуроксим;

- эритромицины.

Метод, предусмотренный настоящим стандартом, не является контрольным методом. В качестве контрольного метода применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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

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

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

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

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

ГОСТ 1770 (ИСО 1042-83, ИСО 7788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 13928 Молоко и сливки заготовляемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

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

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

ГОСТ Р 52501 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р ИСО 707 Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования - на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю "Национальные стандарты", который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя "Национальные стандарты" за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по [1], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 иммуноферментный метод: Метод определения низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция "антиген - антитело". Для выявления образовавшегося комплекса в качестве метки для регистрации сигнала применяют специфический для каждой реакции фермент или ферментозависимое вещество.

3.2 тест-система (тест-набор): Набор (комплект) специально подобранных реагентов (реактивов), оборудования и составных частей, предназначенный для определения одного или нескольких конкретных химиотерапевтических лекарственных средств или групп химиотерапевтических лекарственных средств и ветеринарных препаратов.

4 Сущность метода

Иммуноферментный метод с хемилюминесцентной детекцией (ИФА-Х) с применением технологии биочипов основан на одновременном измерении анализатором массовой концентрации химиотерапевтических лекарственных средств и ветеринарных препаратов в растворах экстрактов анализируемых проб продукта с помощью прямого твердофазного ИФА-Х.

Метод основан на конкуренции химиотерапевтических лекарственных средств и ветеринарных препаратов к антителам, адсорбированным на дискретных участках биочипа.

В ходе иммуноспецифической реакции образуются комплексы "антитела - лекарственные вещества". Вещества, не связанные с поверхностью биочипа комплексом "антиген - антитело", удаляют на стадии промывания.

После добавления раствора субстрата регистрируют значение интенсивности люминесценции, характеризующее степень взаимодействия антител с антигенами. Измеренное анализатором значение обратно пропорционально массовой концентрации определяемых лекарственных средств и ветеринарных препаратов в растворе.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

Примерный перечень оборудования и тест-систем изложен в приложении А.

5.1 Анализатор биочипов иммунохимический

5.1.1 Анализатор биочипов иммунохимический полуавтоматический, включающий:

- компьютер с установленным программным обеспечением для управления и обработки результатов измерений;

- блок измерительный, включающий камеру с зарядовой связью для регистрации хемилюминесценции;

- держатель кассет с биочипами;

- термошейкер для перемешивания/инкубации проб;

- сканер штрих-кодов, позволяющий распознавать тест-систему.

5.1.2 Анализатор биочипов иммунохимический автоматический, включающий:

- блок измерительный, включающий камеру с зарядовой связью для регистрации хемилюминесценции, роботизированную систему дозирования и специализированное программное обеспечение;

- сканер штрих-кодов, позволяющий распознавать тест-систему.

5.2 Тест-система N 1 для определения антибиотиков с применением иммунохимического анализатора биочипов полуавтоматического, приведенное в 5.2.1-5.2.7, включающая:

5.2.1 Кассеты с биочипами.

5.2.2 Раствор аналитический буферный для разведения.

5.2.3 Раствор контрольный "Аналитический стандарт" лиофилизированный.

5.2.4 Раствор люминола.

5.2.5 Раствор перекиси водорода.

5.2.6 Концентрат буферного раствора для промывания биочипов.

5.2.7 Раствор ферментного конъюгата.

5.3 Тест-система N 2 для определения кокцидиостатиков и антигельминтных препаратов в молоке с применением иммунохимического анализатора биочипов полуавтоматического, приведенное в 5.3.1-5.3.7, включающая:

5.3.1 Кассеты с биочипами.

5.3.2 Раствор аналитический буферный для разведения.

5.3.3 Раствор контрольный "Аналитический стандарт" лиофилизированный.

5.3.4 Раствор люминола.

5.3.5 Раствор перекиси водорода.

5.3.6 Концентрат буферного раствора для промывания биочипов.

5.3.7 Раствор ферментного конъюгата.

5.4 Тест-система N 3 для определения антибиотиков в молоке с применением иммунохимического анализатора биочипов автоматического, приведенное в 5.4.1-5.4.4, включающая:

5.4.1 Кассета с биочипом (картридж), содержащая комплекс реагентов, необходимых для проведения иммуноферментного анализа.

5.4.2 Раствор контрольный "Положительный стандарт" лиофилизированный.

5.4.3 Раствор буферный для восстановления.

5.4.4 Картридж с наконечниками для дозаторов.

5.5 Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г.

5.6 Часы 2-го класса точности по ГОСТ 27752.

5.7 Секундомер механический или электронный.

5.8 Вортекс лабораторный.

5.9 Испаритель роторный любого типа или устройство для испарения экстрактов с термостатируемым нагревательным модулем, поддерживающим температуру от 25 °С до 100 °С, с системой отдувки растворителей инертным газом.

5.10 Система получения деионизированной воды высокой чистоты.

5.11 Центрифуга лабораторная, обеспечивающая скорость вращения 4000 об/мин.

5.12 Дозаторы пипеточные (пипет-дозаторы) переменного объема дозирования в диапазоне 0,005-0,05 см ^{3}, 0,1-1,0 см ^{3}, 1,0-5,0 см ^{3} с наконечниками.

5.13 Дозатор пипеточный (пипет-дозатор) переменного объема дозирования в диапазоне 1,0-5,0 см ^{3} со стерильными наконечниками.

5.14 Колбы мерные 1-1000-2 по ГОСТ 1770.

5.15 Цилиндры 1-10 (25, 50)-2 по ГОСТ 1770.

5.16 Виалы из темного стекла с крышкой вместимостью 2 см ^{3}.

5.17 Пробирка П-1-15(25)-0,2 или П-2-15(25)-14/23 по ГОСТ 1770 или ПЗ-25(50) по ГОСТ 25336 или пробирки полипропиленовые вместимостью 20-50 см ^{3} с завинчивающимися крышками.

5.18 Пробирки типа Эппендорф вместимостью 0,5-1,5 см ^{3}.

5.19 Стаканы В-1-50(150) по ГОСТ 25336.

5.20 Флаконы из темного стекла с крышками вместимостью 10-50 см ^{3} для приготовления рабочего раствора субстрата.

5.21 Промывалка лабораторная.

5.22 Ткань безворсовая.

5.23 Ацетонитрил, содержание основного вещества не менее 98 %.

5.24 н-Гексан, содержание основного вещества не менее 98 %.

5.25 Магний сернокислый безводный, содержание основного вещества не менее 98 %.

5.26 Натрий хлористый по ГОСТ 4233, ч. д. а.

5.27 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

5.28 Вода деионизированная 2-й степени чистоты по ГОСТ Р 52501.

Допускается применение других средств измерений, испытательного и вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерений, а также реактивов по качеству не ниже вышеуказанных.

6 Отбор проб

Отбор и подготовка проб - по ГОСТ Р ИСО 707, ГОСТ 13928, ГОСТ 26809.1.

Если измерение не может быть проведено сразу после отбора проб продукта, то неконсервированные

пробы продукта хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более 36 ч.

Если измерение не может быть проведено в течение 36 ч, то после отбора проб допускается замораживание проб продукта при температуре (минус 20 ± 2) °С.

Титруемая кислотность анализируемого сырого молока не должна превышать 21,0 °Т.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Приготовление реактивов и реагентов

7.1.1 Приготовление контрольного раствора "Аналитический стандарт"

7.1.1.1 Приготовление контрольного раствора "Аналитический стандарт" при применении тест-системы N 1 (5.2)

Во флакон с контрольным раствором "Аналитический стандарт" (5.2.3) добавляют 1 $см^3$ деионизированной воды, флакон закрывают пробкой. Содержимое флакона аккуратно перемешивают в течение 20 мин, не допуская образования пены.

Восстановленный контрольный раствор "Аналитический стандарт" стабилен в течение 8 ч при хранении его при температуре от 2 °С до 8 °С.

Восстановленный контрольный раствор "Аналитический стандарт" делят на аликвоты объемом 0,1 $см^3$ в пробирках типа Эппендорф или виалах из темного стекла в течение 1 ч после приготовления и хранят при температуре (минус 20 ± 2) °С не более 1 мес.

После размораживания контрольный раствор "Аналитический стандарт" стабилен в течение 8 ч при хранении его при температуре от 2 °С до 8 °С. Отбирают только необходимое количество материала. Не допускается повторное замораживание восстановленного раствора.

7.1.1.2 Приготовление контрольного раствора "Аналитический стандарт" при применении тест-системы N 2 (5.3)

Во флакон с контрольным раствором "Аналитический стандарт" (5.3.3) добавляют 6 $см^3$ деионизированной воды, флакон закрывают пробкой. Содержимое флакона аккуратно перемешивают в течение 20 мин, не допуская образования пены.

Далее восстановленный контрольный раствор "Аналитический стандарт" готовят по 7.3.2, помещая в центрифужную пробирку вместимостью 30 $см^3$ вместо 5 $см^3$ анализируемого продукта 5 $см^3$ восстановленного контрольного раствора "Аналитический стандарт".

7.1.2 Приготовление контрольного раствора "Положительный стандарт"

Контрольный раствор "Положительный стандарт" используют при применении тест-системы N 3 (5.4).

Во флакон с контрольным раствором "Положительный стандарт" (5.4.2) добавляют 1 $см^3$ буферного раствора для восстановления (5.4.3) и закрывают крышкой. Содержимое флакона аккуратно перемешивают, не допуская образования пены, и оставляют на 20 мин.

Восстановленный контрольный раствор "Положительный стандарт" делят на аликвоты объемом по 0,3 $см^3$ в виалах из темного стекла в течение 1 ч после приготовления и хранят при температуре (минус 20 ± 2) °С не более 1 мес.

После размораживания контрольный раствор "Положительный стандарт" стабилен в течение 8 ч при хранении его при температуре от 2 °С до 8 °С. Отбирают только необходимое количество материала. Не допускается повторное замораживание восстановленного раствора.

7.1.3 Приготовление рабочего раствора субстрата при применении тест-системы N 1 (5.2) и тест-системы N 2 (5.3)

Рабочий раствор субстрата готовят, смешивая раствор люминола (5.2.4, 5.3.4) и раствор перекиси водорода (5.2.5, 5.3.5), прилагаемые к тест-системе, в пропорции 1:1 (V/V). На одну кассету с биочипами (девять лунок) необходимо приблизительно 3 $см^3$ рабочего раствора субстрата или 0,250 $см^3$ рабочего раствора субстрата на одну лунку.

Во флакон из темного стекла соответствующей вместимости, используя пипет-дозатор с

одноразовыми стерильными наконечниками, помещают необходимые количества растворов люминола (5.2.4, 5.3.4) и перекиси водорода (5.2.5, 5.3.5), при этом раствор люминола добавляют к раствору перекиси водорода, избегая воздействия солнечных лучей.

Полученную смесь аккуратно перемешивают в течение 15 мин.

Рабочий раствор субстрата остается стабильным в течение 4 ч при температуре от 15 °С до 25 °С.

7.1.4 Приготовление рабочего буферного раствора для промывания биочипов при применении тест-системы N 1 (5.2) и тест-системы N 2 (5.3)

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 32 $см^3$ концентрата буферного раствора для промывания биочипов (5.2.6, 5.3.6), добавляют небольшое количество деионизированной воды по ГОСТ Р 52501 и аккуратно перемешивают, объем раствора доводят деионизированной водой до метки.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С - не более 1 мес.

7.2 Подготовка анализатора

Подготовку анализатора проводят в соответствии с прилагаемой к прибору инструкцией.

7.3 Подготовка анализируемой пробы продукта

7.3.1 Подготовка проб продукта при применении тест-системы N 1 и тест-системы N 3

Перед проведением измерения пробы продукта перемешивают, переворачивая не менее трех раз.

Замороженные продукты предварительно размораживают и выдерживают при комнатной температуре в течение 20 мин.

Не допускается проведение измерений проб продукта, если после их размораживания наблюдается выпадение осадка или образование сгустков.

7.3.2 Подготовка проб продукта при применении тест-системы N 2

В центрифужную пробирку вместимостью 30 $см^3$ помещают 5 $см^3$ анализируемого продукта, добавляют 10 $см^3$ ацетонитрила (5.23) и перемешивают на вортексе в течение 60 с. К полученной смеси добавляют (0,05 $\pm$ 0,01) г натрия хлористого (5.26), (2,00 $\pm$ 0,01) г магния сернокислого безводного (5.25) и тщательно перемешивают во избежание образования комочков. Затем, после получения однородной смеси, добавляют 4 $см^3$ н-Гексана (5.24) и перемешивают на вортексе в течение 60 с.

Полученную смесь центрифугируют при 4000 об/мин в течение 8 мин. Дозатором отбирают 4 $см^3$ нижней фракции, переносят в чистую стеклянную пробирку и сушат в токе азота при температуре (50 $\pm$ 2) °С. Полученный сухой остаток растворяют в 0,5 $см^3$ рабочего буферного раствора для промывания, приготовленного по 7.1.4. После этого анализируемая проба продукта подготовлена для проведения измерений.

7.4 Подготовка тест-системы к проведению измерений

7.4.1 Перед применением тест-систему достают из холодильника и выдерживают при комнатной температуре не менее 30 мин, после чего каждый флакон с реагентами, входящий в тест-систему, перемешивают, аккуратно встряхивая его.

После использования флаконы с реагентами сразу убирают в холодильник.

На всех этапах проведения измерений воздействия прямого солнечного света не допускается.

7.4.2 При применении полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов добавление реактивов проводят при помощи пипетирования по направлению к переднему краю биочипа. Для каждого реагента используют отдельный наконечник пипет-дозатора. Внесение растворов на биочипы проводят осторожно, не касаясь наконечником пипет-дозатора поверхности биочипа.

8 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории необходимо соблюдать следующие условия:

температура окружающего воздуха ... от 18 °С до 27 °С;

относительная влажность воздуха ... (50 ± 30) %;

атмосферное давление ... (96 ± 10) кПа.

9 Проведение измерений

9.1 Проведение измерений с применением полуавтоматического иммунохимического анализатора

9.1.1 Проведение измерений с применением тест-системы N 1

9.1.1.1 В держатель кассет вставляют необходимое количество кассет с биочипами.

Схема заполнения кассеты с биочипами приведена в приложении Б (пункты Б.1.1, Б.1.2).

9.1.1.2 На каждый биочип (лунку) кассеты (5.2.1) наносят по 0,175 см ^{3} аналитического буферного раствора для разведения (5.2.2), обеспечивая равномерное покрытие всей поверхности биочипа.

В лунку 1 добавляют 0,025 см ^{3} контрольного раствора "Аналитический стандарт", приготовленного по 7.1.1.1.

В лунки 2-9 добавляют по 0,025 см ^{3} анализируемой пробы продукта, подготовленной по 7.3.

Растворы в лунках перемешивают аккуратным постукиванием (не менее 10 раз) по ребру держателя кассет с биочипами.

9.1.1.3 Держатель кассет с биочипами помещают в термошейкер и перемешивают/инкубируют при температуре (25 ± 2) °С в течение 30 мин.

9.1.1.4 В каждую лунку вносят по 0,100 см ^{3} раствора ферментного конъюгата (5.2.7) и продолжают перемешивание/инкубирование в термошейкере при температуре (25 ± 2) °С еще в течение 60 мин.

9.1.1.5 Держатель кассет с биочипами достают из термошейкера и сливают реактивы. Биочипы быстро промывают, добавляя в каждую лунку приблизительно по 0,350 см ^{3} рабочего буферного раствора для промывания биочипов, приготовленного по 7.1.4, и выливая его. Процедуру повторяют дважды, при этом необходимо избегать переполнения лунок, чтобы не допустить попадания посторонних примесей из лунки в лунку.

9.1.1.6 После этого в каждую лунку опять вносят по 0,350 см ^{3} рабочего буферного раствора для промывания биочипов, приготовленного по 7.1.4, аккуратно перемешивают, постукивая по всем краям держателя кассет с биочипами в течение 10-15 с, и оставляют в покое на 2 мин. Затем раствор удаляют. Процедуру повторяют четыре раза.

9.1.1.7 После последнего промывания в каждую лунку вносят по 0,350 см ^{3} рабочего буферного раствора для промывания биочипов, приготовленного по 7.1.4, и оставляют до добавления рабочего раствора субстрата в темном месте, но не более чем на 30 мин.

9.1.1.8 С биочипов сливают рабочий буферный раствор, а затем полностью его удаляют, постукивая держателем кассет по безворсовой ткани.

9.1.1.9 В каждую лунку вносят по 0,250 см ^{3} рабочего раствора субстрата, приготовленного по 7.1.3, избегая воздействия солнечных лучей, и оставляют на (120 ± 10) с.

9.1.1.10 По истечении (120 ± 10) с держатель кассет с биочипами помещают в иммунохимический анализатор (5.1.1) и проводят измерение интенсивности люминесценции биочипов согласно инструкции, прилагаемой к анализатору.

9.1.2 Проведение измерений с применением тест-системы N 2

9.1.2.1 В держатель кассет вставляют необходимое количество кассет с биочипами.

Схема заполнения кассеты с биочипами приведена в приложении Б (пункты Б.1.1, Б.1.2).

9.1.2.2 На каждый биочип (лунку) кассеты (5.3.1) наносят по 0,100 см ^{3} аналитического буферного раствора для разведения (5.3.2), обеспечивая равномерное покрытие всей поверхности биочипа.

В лунку 1 добавляют 0,100 см ^{3} контрольного раствора "Аналитический стандарт", приготовленного

по 7.1.1.2.

В лунки 2-9 добавляют по 0,100 см ^{3} анализируемой пробы продукта, подготовленной по 7.3.

Растворы в лунках перемешивают аккуратным постукиванием (не менее 10 раз) по ребру держателя кассет с биочипами.

9.1.2.3 Держатель кассет с биочипами помещают в термошейкер и перемешивают/инкубируют при температуре (25 $\pm$ 2) °С в течение 30 мин.

9.1.2.4 В каждую лунку вносят по 0,100 см ^{3} раствора ферментного конъюгата (5.3.7) и продолжают перемешивание/инкубирование в термошейкере при температуре (25 $\pm$ 2) °С еще в течение 60 мин.

9.1.2.5 Далее проводят процедуры согласно 9.1.1.5-9.1.1.10.

9.2 Проведение измерений с применением автоматического иммунохимического анализатора

9.2.1 В лунку кассеты (5.4.1) вносят 0,500 см ^{3} анализируемой пробы продукта, подготовленной по 7.3.

Схема заполнения кассеты и картриджа с биочипом приведена в приложении Б (пункт Б.1.3).

9.2.2 Кассету с биочипом и реагентами с внесенной по 9.2.1 анализируемой пробой продукта и картридж с наконечниками для дозаторов (5.4.4) помещают в автоматический анализатор (5.1.2) и проводят измерение интенсивности люминесценции биочипов согласно инструкции, прилагаемой к анализатору.

9.2.3 Периодически один раз в 30 дней автоматический анализатор запрашивает проведение контроля качества с использованием контрольного раствора "Положительный стандарт". В этом случае в лунку кассеты (5.4.1) вместо пробы анализируемого продукта вносят 0,500 см ^{3} контрольного раствора "Положительный стандарт", приготовленного по 7.1.2, и далее проводят процедуры согласно 9.2.2.

10 Обработка результатов измерений

Обработку результатов измерений проводят с применением программного обеспечения, прилагаемого к анализатору.

Результаты анализа отображаются на дисплее иммунохимического анализатора биочипов и сохраняются в памяти прибора.

Если анализируемая проба продукта определена как отрицательная, программное обеспечение отображает значение "n.d."/"Н.О." (не обнаружено). Это означает, что определяемые вещества в анализируемом продукте отсутствуют или их массовая концентрация менее предела обнаружения.

Если анализируемая проба продукта определена как положительная, программное обеспечение отображает "Positive"/"Обнаружено". Массовая концентрация определяемых веществ в анализируемом продукте более или равна пределу обнаружения.

Примеры вариантов отображения результатов анализа приведены в приложении В.

Дополнительная информация по применению иммунохимического анализатора биочипов для определения ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в пастеризованном молоке, обезжиренном молоке, концентрированном молоке и молочной сыворотке приведена в приложении Г.

11 Метрологические характеристики

Пределы обнаружения наличия ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в молоке сыром и молочном сырье с применением технологии биочипов приведены в таблицах 1-3.

Таблица 1 - Пределы обнаружения наличия ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в сыром молоке и молочном сырье с применением тест-системы N 1

Наименование группы определяемых веществ	Определяемое вещество	Предел обнаружения, мг/кг
Амфениколы	Тиамфеникол	0,0016
	Флорфеникол	0,0004
	Хлорамфеникол	0,00022
Апрамицин	Апрамицин	0,006
Баквилоприм	Баквилоприм	0,003
Бацитрацин	Бацитрацин	0,002
Бета-лактамы	Амоксициллин	0,0024
	Ампициллин	0,002
	Бензатин Бензилпенициллин	0,00125
	Дезацетилцефапирин	0,00375
	Десфуроилцефтиофур	0,025
	Диклоксациллин	0,002
	Клоксациллин	0,0013
	Нафциллин	0,003
	Оксациллин	0,0014
	Пенетамат	0,002
	Пенициллин G (Бензилпенициллин)	0,00088
	Пенициллин V (Феноксиметилпенициллин)	0,00015
	Прокаин Бензилпенициллин	0,0005
	Цефазолин	0,018
	Цефалониум	0,00035
	Цефалотин	0,0031
	Цефапирин	0,005
	Цефацетрил	0,01
	Цефквином	0,0063
	Цефоперазон	0,0038
	Цефтиофур	0,025
Вирджиниямицин М1	Вирджиниямицин М1	0,00075
Гентамицин	Гентамицин	0,022
Гигромицин В	Гигромицин В	0,0075
5-гидрокси-флуниксины	5-ОН Флуниксин	0,00025
	Флуниксин	0,00036
Дапсон	Дапсон	0,0009
	Сульфадиазин	0,030
	Сульфадиметоксин	0,007
	Сульфадоксин	0,025
	Сульфамеразин	0,0125
	Сульфаметазин	0,015
	Сульфаметер	0,010
	Сульфаметизол	0,025
	Сульфаметоксазол	0,050
	Сульфаметоксипиридазин	0,085
	Сульфамонометоксин	0,012
	Сульфанитран	0,070
	Сульфапиридин	0,050
	Сульфатиазол	0,035

	Сульфахиноксалин	0,005
	Сульфаэтоксипиридазин	0,030
	Сульфизомидин	0,016
Дексаметазон	Бетаметазон	0,0025
	Дексаметазон	0,0002
Канамицин А	Канамицин А	0,004
Линкомицин	Клиндамицин	0,009
	Линкомицин	0,0065
Мелоксикам	Мелоксикам	0,006
Метамизолы	Метамизол(Дипирон)	0,024
	4-метиламиноантипирин	0,042
Метилпреднизолоны	Метилпреднизолон	0,0004
	Преднизолон	0,0014
Неомицины	Неомицин	0,009
	Паромомицин	0,003
	Фрамицетин	0,0075
Нитроксинил	Нитроксинил	0,0015
Новобиоцин	Новобиоцин	0,0125
Пирлимицин	Пирлимицин	0,011
Полимиксины	Колистин	0,0013
	Полимиксин В	0,0005
Рактопамин	Рактопамин	0,00032
Рифаксимин	Рифаксимин	0,001
Спектиномицин	Спектиномицин	0,003
Спирамицины	Спирамицин	0,052
	Неоспирамицин	0,056
	Джозамицин	0,0016
Стрептомицины	Стрептомицин	0,032
	Дигидрострептомицин	0,020
Сульфагуанидин	Сульфагуанидин	0,020
Сульфаметазины	Сульфаметазин	0,0012
	Сульфамеразин	0,025
	Сульфамоксол	0,174
Сульфапиридины	Сульфапиридин	0,0009
	Сульфаэтоксипиридазин	0,030
	Сульфаметоксипиридазин	0,030
	Сульфамоксол	0,0285
	Сульфасалазин	0,0012
	Сульфанитран	0,060
	Сульфатиазол	0,050
	Сульфамонометоксин	0,080
Сульфонамиды	Сульфатиазол	0,024
	Сульфаквиноксалин	0,0045
	Сульфадиметоксин	0,0016
	Сульфацетамид	0,0024
	Сульфадоксин	0,0025
Сульфонамиды	Сульфабензамид	0,00056
	Сульфаметоксазол	0,0016
	Сульфамонометоксин	0,00076
	Сульфахлорпиридазин	0,0018
	Сульфадиазин	0,014
Сульфонамиды	Сульфаметоксипиридазин	0,040
	Сульфизоксазол	0,00075
	Сульфамеразин	0,022
	Сульфаметизол	0,006
	Сульфаметер	0,006
	Сульфамоксол	0,088
	Сульфанитран	0,046
	Сульфафеназол	0,0046

	Сульфатроксазол	0,00075
	Сульфизомидин	0,013
	Сульфаэтоксипиридазин	0,030
	Сульфапиридин	0,110
	Сульфаклозин	0,004
Тетрациклины	Доксициклин	0,00125
	Окситетрациклин	0,00125
	4-эпиокситетрациклин	0,0025
	Тетрациклин	0,00125
	4-эпитетрациклин	0,0025
	Хлортетрациклин	0,0025
	4-эпихлортетрациклин	0,005
Тилозины	Тилозин А	0,0075
	Тилмикозин	0,0125
Тобрамицин	Канамицин	0,100
	Тобрамицин	0,007
Толфенамовая кислота	Толфенамовая кислота	0,0016
	Флуниксин	0,0025
	5-гидроксифлуниксин	0,100
Триметоприм	Триметоприм	0,013
Фенилбутазоны	Фенилбутазон	0,00125
	Оксифенбутазон	0,0015
Хинолоны	Данофлоксацин	0,0113
	Дифлоксацин	0,020
	Марбофлоксацин	0,0225
	Норфлоксацин	0,020
Хинолоны	Оксолиновая кислота	0,015
	Офлоксацин	0,0125
	Пефлоксацин	0,00625
	Флумеквин	0,0225
	Ципрофлоксацин	0,0138
	Энрофлоксацин	0,0125
Хлормадинон	Хлормадинон	0,0012
Цефалексин	Цефалексин	0,023
Цефуроксим	Цефуроксим	0,0085
Эритромицины	Эритромицин	0,0025
	Гамитромицин	0,032
	Олеандомицин	0,060
	Рокситромицин	0,00063
	Тулатромицин	0,050

Таблица 2 - Пределы обнаружения наличия ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в сыром молоке и молочном сырье с применением тест-системы N 2

Наименование группы определяемых веществ	Определяемое вещество	Предел обнаружения, мг/кг
Авермектины	Абамектин	0,0006
	Дорамектин	0,0023
	Ивермектин	0,0015
	Эмамектин бензоат	0,001
	Эприномектин	0,0003
2-аминобензимидазолы	Альбендазол 2-аминосульфон	0,0003
	Аминомебендазол	0,00005
	Аминофлубендазол	0,00005
Бензимидазолы	Альбендазол	0,010
	Альбендазол сульфоксид	0,0001
	Альбендазол сульфон	0,0003
	Гидроксимебендазол	0,0001
	Гидроксифлубендазол	0,0001
	Карбендазим	0,040
	Мебендазол	0,0001
	Оксибендазол	0,0008
Бензимидазолы	Оксфендазол (Фенбендазол сульфоксид)	0,0001
	Оксфендазол сульфон (Фенбендазол сульфон)	0,015
	Парбендазол	0,0004
	Фенбендазол	0,001
	Флубендазол	0,0001
Галофугинон	Галофугинон	0,0003
Дерквантел	Дерквантел	0,0001
Имидокарб	Имидокарб	0,0002
Клозантел	Клозантел	0,0143
	Рафоксанид	0,135
Клорзулон	Клорзулон	0,0001
Ласалоцид	Ласолацид	0,0007
Левамизол	Левамизол	0,003
Моксидектин	Моксидектин	0,035
Монензин	Монензин	0,002
Монепантел	Монепантел	0,0025
Морантел	Морантел	0,0001
	Оксантел	0,0001
	Пирантел	0,0001
Нитроксинил	Нитроксинил	0,0012
Оксиклозанид	Оксиклозанид	0,0008
Оксфендазол сульфон	Оксфендазол (Фенбендазол сульфоксид)	0,0031
	Оксфендазол сульфон (Фенбендазолсульфон)	0,0003
	Фенбендазол	0,125
Тиабендазол	Тиабендазол	0,0002
	Камбендазол	0,00065
	Никлозамид	2,0
	5-гидрокситиабендазол	0,0003
Толтразурил	Толтразурил	0,0002
Триклабендазол	Триклабендазол	0,0015
	Триклабендазол сульфоксид	0,0008
	Триклабендазол сульфон	0,0006
	Кето-триклабендазол	0,0007

Таблица 3 - Пределы обнаружения наличия содержания ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в сыром молоке и молочном сырье с применением тест-системы N 3

Наименование группы определяемых веществ	Определяемое вещество	Предел обнаружения, мг/кг
Амфениколы	Тиамфеникол	0,00125
	Флорфеникол	0,00015
	Хлорамфеникол	0,0001
Апрамицин	Апрамицин	0,005
Баквилоприм	Баквилоприм	0,006
Бацитрацин	Бацитрацин	0,0025
Бета-лактамы	Амоксициллин	0,0032
	Ампициллин	0,0038
	Бензатин Бензилпенициллин	0,00125
	Дезацетилцефапирин	0,028
	Десфуроилцефтиофур	0,060
Бета-лактамы	Диклоксациллин	0,00135
	Клоксациллин	0,0045
	Нафциллин	0,005
	Оксациллин	0,005
	Пенетамат	0,005
	Пенициллин G (Бензилпенициллин)	0,001
	Пенициллин V (Феноксиметилпенициллин)	0,001
	Прокаин Бензилпенициллин	0,00175
Бета-лактамы	Цефазолин	0,090
	Цефалониум	0,00125
	Цефалотин	0,014
	Цефапирин	0,015
	Цефацетрил	0,032
	Цефквином	0,006
	Цефоперазон	0,00175
	Цефтиофур	0,080
Вирджиниямицин М1	Вирджиниямицин М1	0,003
Гентамицин	Гентамицин	0,060
5-гидрокси-флуниксины	5-ОН Флуниксин	0,0005
	Флуниксин	0,0008
Дапсон	Дапсон	0,0009
	Сульфадиазин	0,025
	Сульфадиметоксин	0,006
	Сульфадоксин	0,025
	Сульфамеразин	0,015
	Сульфаметазин	0,020
	Сульфаметер	0,0075
	Сульфаметизол	0,0275
	Сульфаметоксазол	0,095
	Сульфаметоксипиридазин	0,043
	Сульфамонометоксин	0,057
Дапсон	Сульфанитран	0,070
	Сульфапиридин	0,050
	Сульфатиазол	0,017
	Сульфахиноксалин	0,005

	Сульфаэтоксипиридазин	0,025
	Сульфизомидин	0,015
Дексаметазон	Бетаметазон	0,001
	Дексаметазон	0,00025
Канамицин А	Канамицин А	0,030
Линкомицин	Клиндамицин	0,009
	Линкомицин	0,010
Мелоксикам	Мелоксикам	0,004
Метамизолы	Метамизол(Дипирон)	0,017
	4-метиламиноантипирин	0,020
Метилпреднизолоны	Метилпреднизолон	0,00019
	Преднизолон	0,002
Неомицины	Неомицин	0,045
	Паромомицин	0,029
	Фрамицетин	0,055
Нитроксинил	Нитроксинил	0,0075
Новобиоцин	Новобиоцин	0,007
Пирлимицин	Пирлимицин	0,025
Полимиксины	Колистин	0,002
	Полимиксин В	0,0015
Рактопамин	Рактопамин	0,0006
Рифаксимин	Рифаксимин	0,003
Спектиномицин	Спектиномицин	0,004
Спирамицины	Спирамицин	0,030
	Неоспирамицин	0,125
Стрептомицины	Стрептомицин	0,025
	Дигидрострептомицин	0,025
Сульфагуанидин	Сульфагуанидин	0,022
Сульфаметазины	Сульфаметазин	0,002
	Сульфамеразин	0,0375
	Сульфамоксол	0,45
Сульфапиридины	Сульфапиридин	0,005
	Сульфаметоксипиридазин	0,043
	Сульфамоксол	0,065
	Сульфамонометоксин	0,4
	Сульфанитран	0,15
	Сульфасалазин	0,0047
	Сульфатиазол	0,15
	Сульфаэтоксипиридазин	0,047
	Сульфабензамид	0,00075
	Сульфадиазин	0,0075
	Сульфадиметоксин	0,0018
Сульфапиридины	Сульфадоксин	0,0015
	Сульфаквиноксалин	0,0023
	Сульфамеразин	0,070
	Сульфаметер	0,0045
	Сульфаметизол	0,0075
	Сульфаметоксазол	0,0025
	Сульфаметоксипиридазин	0,043
	Сульфамоксол	0,060
	Сульфамонометоксин	0,001
	Сульфанитран	0,028
	Сульфапиридин	0,060
	Сульфатиазол	0,016
	Сульфафеназол	0,0025
	Сульфахлорпиридазин	0,00225
	Сульфацетамид	0,001
	Сульфаэтоксипиридазин	0,025
	Сульфизоксазол	0,0007

	Сульфизомидин	0,015
Тетрациклины	Доксициклин	0,010
	Окситетрациклин	0,004
	4-эпиокситетрациклин	0,019
	Тетрациклин	0,006
	4-эпитетрациклин	0,0235
	Хлортетрациклин	0,0085
	4-эпихлортетрациклин	0,0075
Тилдипирозин	Тилдипирозин	0,0013
	Тилмикозин	0,005
Тилозины	Тилозин А	0,006
	Тилмикозин	0,008
Тобрамицин	Канамицин	0,030
Толфенамовая кислота	Толфенамовая кислота	0,0025
	Флуниксин	0,0019
	5-гидроксифлуниксин	0,055
Триметоприм	Триметоприм	0,002
Трипиленамин	Трипиленамин	0,005
Фенилбутазоны	Фенилбутазон	0,00275
	Оксифенбутазон	0,003
Хинолоны	Данофлоксацин	0,003
	Дифлоксацин	0,0015
	Марбофлоксацин	0,0025
	Норфлоксацин	0,001
	Оксолиновая кислота	0,003
	Офлоксацин	0,002
	Пефлоксацин	0,001
	Флумеквин	0,005
	Ципрофлоксацин	0,004
	Энрофлоксацин	0,0015
Хлормадинон	Хлормадинон	0,008
Цефалексин	Цефалексин	0,005
Цефуроксим	Цефуроксим	0,007
Эритромицины	Эритромицин	0,004
	Гамитромицин	0,6
	Олеандомицин	1,5
	Тулатромицин	1,1

12 Требования, обеспечивающие безопасность

12.1 При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с требованиями ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных требованиями ГОСТ 12.1.005;

- помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009;

- 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.

12.2 Требования к оператору

Выполнение измерений проводит специалист, имеющий специальное образование и освоивший метод в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

Приложение А
(справочное)

Примерный перечень применяемого оборудования и тест-систем

А.1 Анализатор биочипов иммунохимический полуавтоматический типа Evidence Investigator (Randox Laboratories Ltd., Великобритания) *.

А.2 Анализатор биочипов иммунохимический автоматический типа Evidence MultiSTAT (Randox Laboratories Ltd., Великобритания) *.

А.3 Тест-система N 1 типа "lnfiniPlex for milk" для определения антибиотиков в молоке и молочных продуктах с применением полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов *, включающая:

---

* Данная информация не является рекламой и приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- 54 биочипа, расположенных на кассете (шесть кассет по девять биочипов);

- аналитический буферный раствор для разведения;

- контрольный раствор "Аналитический стандарт" лиофилизированный;

- раствор люминола;

- раствор перекиси водорода;

- концентрат буферного раствора для промывания биочипов;

- раствор ферментного конъюгата.

А.4 Тест-система N 2 типа "lnfiniPlex for milk II" для определения антибиотиков в молоке и молочных продуктах с применением полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов *, включающая:

---

* Данная информация не является рекламой и приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- 54 биочипа, расположенных на кассете (шесть кассет по девять биочипов);

- аналитический буферный раствор для разведения;

- контрольный раствор "Аналитический стандарт" лиофилизированный;

- раствор люминола;

- раствор перекиси водорода;

- концентрат буферного раствора для промывания биочипов;

- раствор ферментного конъюгата.

А.5 Тест-система N 3 типа "lnfiniPlex for milk" для определения антибиотиков в молоке и молочных продуктах с применением автоматического иммунохимического анализатора биочипов *, включающая:

---

* Данная информация не является рекламой и приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- 12 картриджей с биочипами, содержащих комплекс реагентов, необходимых для проведения

иммуноферментного анализа;

- 12 картриджей с наконечниками для дозаторов;

- контрольный раствор "Положительный стандарт" лиофилизированный;

- буферный раствор для восстановления.

Приложение Б
(справочное)

Схема заполнения кассеты с биочипами

Б.1 Схема заполнения кассеты с биочипами приведена в Б.1.1-Б.1.3.

Б.1.1 Расположение биочипов (лунок) на кассете для полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов - в соответствии с рисунками Б.1, Б.2.

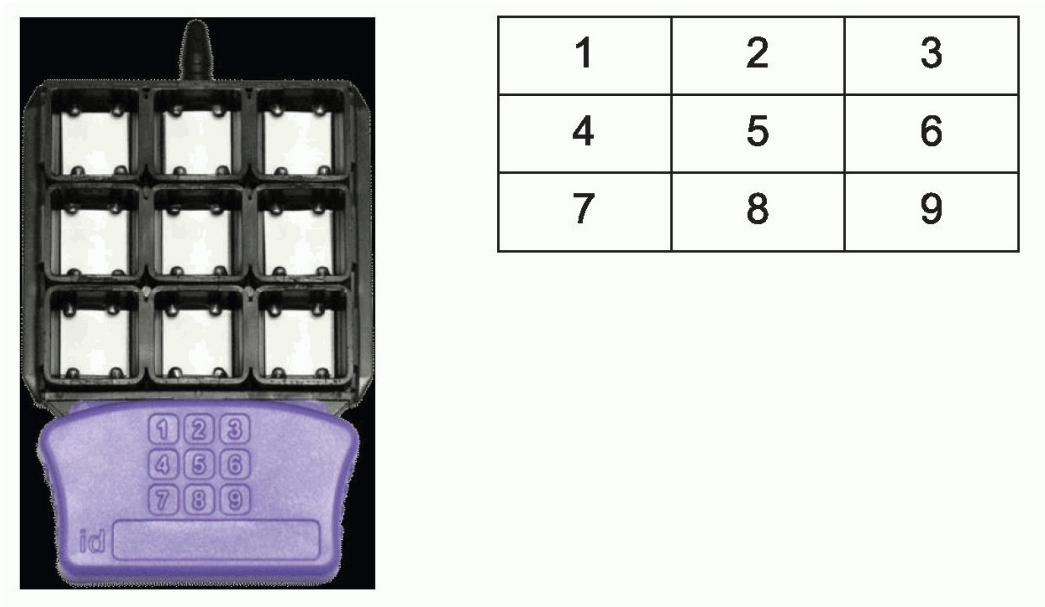

Рисунок Б.1 - Расположение биочипов (лунок) на кассете для полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов

Б.1.2 Внесение анализируемой пробы продукта и реагентов на биочипы (лунки) кассеты для полуавтоматического иммунохимического анализатора биочипов следует проводить согласно следующей схеме:

лунки 1-9 - для аналитического буферного раствора для разведения (5.2.2, 5.3.2);

лунка 1 - для контрольного раствора "Аналитический стандарт" (7.1.1);

лунки 2-9 - для анализируемой пробы продукта;

лунки 1-9 - для раствора ферментного конъюгата (5.2.7, 5.3.7);

лунки 1-9 - для рабочего раствора субстрата (7.1.3).

Б.1.3 Внесение анализируемой пробы продукта или контрольного раствора "Положительный стандарт" (7.1.2) на биочип (лунку) кассеты для автоматического иммунохимического анализатора биочипов.

Рисунок Б.2 - Внесение анализируемой пробы продукта или контрольного раствора "Положительный стандарт" (7.1.2) на биочип (лунку)

Приложение В
(справочное)

Варианты отображения результатов анализа на иммунохимическом анализаторе биочипов

В.1 В зависимости от версии программного обеспечения иммунохимических анализаторов возможна иная обработка результатов анализа.

В.2 Если анализируемая проба продукта определена как отрицательная, программное обеспечение отображает значение "n.d."/"Н.О." (не обнаружено). Это означает, что ветеринарные препараты и химиотерапевтические лекарственные средства в анализируемой пробе продукта отсутствуют или их массовая концентрация менее предела обнаружения.

В.3 Если анализируемая проба продукта определена как положительная, программное обеспечение анализатора может отображать один из приведенных ниже вариантов обработки результатов:

"Positive (+)"/"Обнаружено (+)"

"Positive (++)"/"Обнаружено (++)"

"Positive (+++)"/"Обнаружено (+++)".

При получении любого варианта обработки результатов массовая концентрация определяемых ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в анализируемой пробе продукта более или равна пределу обнаружения. Количество знаков "+" в отображаемом результате зависит от массовой концентрации обнаруженного химиотерапевтического лекарственного средства в анализируемой пробе продукта.

Приложение Г
(справочное)

Дополнительная информация по применению иммунохимического анализатора биочипов для определения наличия ветеринарных препаратов и химиотерапевтических лекарственных средств в пастеризованном молоке, обезжиренном молоке, концентрированном молоке и молочной сыворотке

Г.1 Подготовку анализируемых проб пастеризованного молока, обезжиренного молока и молочной сыворотки проводят по 7.3 настоящего стандарта.

Г.2 Подготовка анализируемых проб концентрированного молока

Г.2.1 Подготовка анализируемой пробы продукта при применении тест-системы N 1 и тест-системы N 3

В пробирку вместимостью 15 см ^{3} помещают (0,50 $\pm$ 0,01) г анализируемой пробы продукта, добавляют (9,00 $\pm$ 0,01) г теплой (40 $\pm$ 2) °С дистиллированной воды, не содержащей антибиотики, и аккуратно перемешивают, не допуская образования пены.

После восстановления анализируемую пробу продукта выдерживают при комнатной температуре в течение 20 мин. После этого анализируемая проба продукта подготовлена для проведения измерений.

Г.2.2 Подготовка анализируемой пробы продукта при применении тест-системы N 2

Анализируемую пробу продукта восстанавливают по Г.2.1. Затем восстановленную анализируемую пробу продукта подготавливают по 7.3.2 настоящего стандарта.

Библиография

[1]	Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013	О безопасности молока и молочной продукции