

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора БелГИМ

Ю.В. Козак

« 18 »

2025 г.



ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ
по результатам метрологической экспертизы

Обозначение и наименование:

Извещение об изменении № 3 МВИ.МН 3951-2015 «Методика выполнения измерений содержания антибиотиков группы тетрациклинов в продукции животного происхождения с использованием тест-систем Ridascreen Tetracyclin и ПРОДОСКРИН Тетрациклин»

Разработчик: ОДО «КомПродСервис»

На метрологическую экспертизу представлены следующие документы:

- 1 Извещение об изменении № 3 МВИ.МН 3951-2015.
- 2 План проведения эксперимента по оценке показателей точности проекта изменений № 3 МВИ.МН 3951-2015.
- 3 Отчет об экспериментальных исследованиях метрологических характеристик для подтверждения вносимых измерений в МВИ.МН 3951-2015.
- 4 Копия МВИ.МН 3951-2015 в редакции с изменением № 2.

По результатам метрологической экспертизы установлено:

1 Изменения в МВИ.МН 3951-2015, вносимые по извещению об изменении № 3, не затрагивают область применения и рабочие характеристики методики (метода) измерений (включая показатели точности измерений).

2 Замечания и предложения в части метрологических норм и требований отсутствуют.

Начальник отдела
испытаний пищевой
и сельскохозяйственной продукции

Н.В. Вошула

УТВЕРЖДАЮ
Директор
Института биоорганической химии
НАН Беларуси


« 21 » 04 2025 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор
ОДО «КомПродСервис»

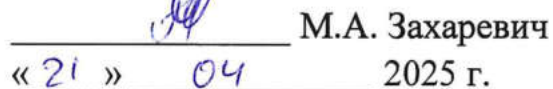

« 21 » 2025 г.

Извещение об изменении № 3 МВИ.МН 3951-2015

Методика выполнения измерений содержания антибиотиков
группы тетрациклинов в продукции животного происхождения с
использованием тест-систем Ridascreen® Tetracyclin и
ПРОДОСКРИН® Тетрациклин

Разработано:

ОДО «КомПродСервис»
Заведующая лабораторией


« 21 » 04 2025 г.

Институт биоорганической химии
НАН Беларуси
Заведующий лабораторией


« 21 » 04 2025 г.

ОДО «КомПродСервис» Институт биоорганической химии НАН Беларуси		Извещение № 3		Обозначение документа МВИ.МН 3951-2015			
ОДО «КомПродСервис» ИБОХ НАН Беларуси							
Дата выпуска		Срок изменения			Лист 2	Листов 2	
ПРИЧИНА		Изменение эксплуатационных документов на тест-систему «ПРОДОСКРИН® Тетрациклин»				КОД	
УКАЗАНИЕ О ЗАДЕЛЕ							
УКАЗАНИЕ О ВНЕДРЕНИИ							
ПРИМЕНЯЕМОСТЬ		При измерениях в сфере законодательной метрологии, а также вне ее					
РАЗОСЛАТЬ		Всем абонентам					
ПРИЛОЖЕНИЕ							
ИЗМ.		СОДЕРЖАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ					
1	Листы 2-35 заменить. Листы 36-39 ввести						
Составил				Согласовал			
Проверил				Н. контр.			
Изменение внес							

СОДЕРЖАНИЕ

Вводная часть.....	3
1 Нормативные ссылки	3
2 Показатели точности измерений.....	5
3 Требования к средствам измерений, программному обеспечению, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам	7
3.1 Требования к средствам измерений.....	8
3.2 Требования к программному обеспечению, вспомогательным устройствам	9
3.3 Требования к материалам, реактивам.....	10
4 Метод измерений.....	11
5 Требования безопасности, охраны окружающей среды и требования к квалификации операторов.....	11
5.1 Требования безопасности, охраны окружающей среды.....	11
5.2 Требования к квалификации операторов	11
6 Требования к условиям измерений.....	12
7 Требования к условиям инкубации микротитровальных планшетов в помещении.....	12
8 Требования к условиям хранения тест-систем	12
9 Подготовка к выполнению измерений	12
9.1 Отбор и хранение образцов	12
9.2 Подготовка лабораторной посуды.....	12
9.3 Приготовление растворов.....	13
9.4 Подготовка тест-систем	14
9.5 Подготовка проб.....	17
10 Порядок выполнения измерений	24
10.1 Общие требования.....	24
10.2 Последовательность операций при выполнении измерений.....	24
11 Обработка результатов измерений	26
11.1 Расчет и интерпретация окончательного результата измерений.....	26
11.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости.....	27
12 Форма представления результатов измерений.....	27
12.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности.....	27
12.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов с использованием нижней границы диапазона измерений.....	28
12.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов с использованием значения верхней границы диапазона измерений.....	28
13 Контроль точности результатов измерений.....	28
13.1 Периодичность проведения контроля точности.....	28
13.2 Контроль результатов измерений, полученных в условиях повторяемости	28
13.3 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности	29
13.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости	29
13.5 Контроль правильности	30
13.6 Контроль стабильности результатов измерений с применением контрольных карт Шухарта.....	32
Приложение А (справочное) Метрологические характеристики средств измерений	35
Приложение Б (справочное) Составы тест-систем	36
Приложение В (справочное) Специфичность тест-систем	37
Библиография.....	38

Вводная часть

Настоящий документ устанавливает методику измерений (далее – методика) массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в сыром, пастеризованном, стерилизованном, сухом восстановленном и сгущенном молоке, восстановленных сухих молочных смесях для детского питания, молочной сыворотке, восстановленной сухой молочной сыворотке, твороге и творожных продуктах, кисломолочных продуктах (йогурте, сметане, кефире, пахте и т.п.), мороженом на молочной основе, сыре (мягком, полутвердом, твердом, сверхтвердом), масле сливочном, мясе, готовых мясных продуктах, консервах мясных и мясорастительных, жирах животных, шпике, субпродуктах, рыбе и продуктах из рыбы, яйцах, порошке яичном¹, меде.

Методика предназначена для применения при измерении массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов с использованием тест-систем Ridascreen®Tetracyclin и ПРОДОСКРИН®Тетрациклин.

Массовая доля антибиотиков группы тетрациклинов в соответствии с данной методикой определяется как сумма массовых долей следующих антибиотиков в пересчете на тетрациклин с учетом перекрестной чувствительности, специфицируемой производителем тест-систем:

- тетрациклина, хлортетрациклина, ролитетрациклина, демеклоциклина, окситетрациклина при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin;

- тетрациклина, хлортетрациклина, окситетрациклина, доксициклина при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин.

Диапазоны измерений массовой доли тетрациклинов, а также пределы измерений, определяемые как нижняя граница диапазона измерений, приведены в таблицах 1 и 2.

Настоящая методика разработана в соответствии с требованиями ГОСТ 8.010 и может применяться при измерениях в сфере законодательной метрологии, а также вне ее, в том числе в следующих областях:

- обеспечение защиты жизни и охрана здоровья человека;
- проведение испытаний и осуществление контроля за соответствием продукции и сырья требованиям законодательства;
- проведение лабораторно-диагностических исследований.

Методика может применяться в испытательных лабораториях любой принадлежности при испытаниях согласно указанной выше области применения с целью измерения в продукции животного происхождения антибиотиков группы тетрациклинов при оценке соответствия требованиям технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА) и для иных целей.

1 Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие ТНПА:

СТБ 1036-97	Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности;
СТБ ISO 5725-2-2022	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2 Основной метод измерения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений;
СТБ ISO 5725-4-2022	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4 Основные методы определения правильности стандартного метода измерений;

¹ Результат измерений массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в яичном порошке относится к восстановленному согласно ГОСТ 30364.0 продукту

СТБ ИСО 5725-6-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6 Использование значений точности на практике;
ГОСТ 8.010–2013	Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения;
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 OIML R 76-1-2011	Весы лабораторные. Общие технические требования;
ГОСТ 245-76	Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия;
ГОСТ 1770-74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;
ГОСТ 3118-77	Реактивы. Кислота соляная. Технические условия;
ГОСТ 3652-69	Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия;
ГОСТ 4172-76	Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-водный. Технические условия;
ГОСТ 4233-77	Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия;
ГОСТ 4328-77	Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия;
ГОСТ 6341-75	Реактивы. Кислота янтарная. Технические условия;
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная. Технические условия;
ГОСТ 6995-77	Реактивы. Метанол-яд. Технические условия;
ГОСТ 11773-76	Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия;
ГОСТ 12026-76	Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия;
ГОСТ 24104-2001	Весы лабораторные. Общие технические требования;
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 30364.0-97	Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа.

Примечание – При пользовании настоящей методикой целесообразно проверить действие ссылочных ТНПА на официальном сайте Национального фонда ТНПА в глобальной компьютерной сети Интернет.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящей методикой следует руководствоваться действующими взамен ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

2 Показатели точности измерений

Настоящая методика обеспечивает измерение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в диапазонах и с показателями прецизионности, приведенными в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Относительные значения показателей повторяемости и воспроизводимости при использовании тест-систем Ridascreen® Tetracyclin

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R , %
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, мороженое на молочной основе, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания	от 1,0 до 18,0 включ.	4,8	7,1
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка	от 3,0 до 36,0 включ.		
Кисломолочные продукты	от 2,0 до 18,0 включ.		
Сыр	от 4,0 до 43,2 включ.	7,4	11
Масло сливочное	от 2,9 до 45,0 включ.		
Творог, творожные продукты	от 2,0 до 18,0 включ.	3,4	8,9
Сгущенное молоко	от 4,0 до 72,0 включ.		
Яйца, порошок яичный	от 6,0 до 108,0 включ.		
Мясо, рыба, продукты из рыбы	от 2,0 до 18,0 включ.	4,4	7,8
Готовые мясные продукты, консервы мясные и мясо-растительные, жиры животные, шпик, субпродукты	от 5,0 до 36,0 включ.		
Мед	от 4,0 до 90,0 включ.		

Таблица 2 – Относительные значения показателей повторяемости и промежуточной прецизионности при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности $\sigma_{I(PO)}$, %
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, мороженое на молочной основе, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания	от 0,5 до 18,0 включ.	5,3	5,9
Мясо, рыба, продукты из рыбы	от 2,0 до 18,0 включ.		
Готовые мясные продукты, консервы мясные и мясорастительные, жиры животные, шпик, субпродукты	от 5,0 до 36,0 включ.		
Масло сливочное	от 3,0 до 45,0 включ.		
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка	от 3,0 до 36,0 включ.	4,7	5,7
Кисломолочные продукты	от 2,0 до 18,0 включ.		
Сыр	от 4,0 до 43,2 включ.		
Творог, творожные продукты	от 2,0 до 18,0 включ.		
Сгущенное молоко	от 4,0 до 72,0 включ.		
Яйца, порошок яичный	от 6,0 до 108,0 включ.		
Мед	от 4,0 до 90,0 включ.		

В результате оценки показателя правильности для данной методики была установлена незначимость смещения для всех видов продукции во всем диапазоне измерений, за исключением мяса, рыбы, продуктов из рыбы, масла сливочного при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин. Статистическая значимость смещения учтена при оценивании неопределенности для результатов измерений, получаемых для вышеуказанных видов продукции при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин.

Значения оценок относительной суммарной стандартной неопределенности и относительной расширенной неопределенности приведены в таблицах 3, 4.

Указанные в таблицах 1–4 метрологические характеристики получены на основании данных эксперимента, проведенного в соответствии с

- показатели прецизионности – СТБ ISO 5725-2;
- показатели правильности – СТБ ISO 5725-4, [1].
- оценки неопределенности – [1, 2].

Таблица 3 – Оценки неопределенности результатов измерений, выполняемых в соответствии с методикой при использовании тест-систем Ridascreen® Tetracyclin

Виды продукции	Относительная суммарная стандартная неопределенность u_c , %	Относительная расширенная неопределенность U , %, $K = 2, P = 95 \%$
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, мороженое на молочной основе, сухие восстановленные молочные смеси для детского питания	8	16
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка		
Кисломолочные продукты		
Сыр	12	24
Масло сливочное		
Творог, творожные продукты	11	22
Сгущенное молоко		
Яйца, порошок яичный		
Мясо, рыба, продукты из рыбы	9	18
Готовые мясные продукты, консервы мясные и мясорастительные, жиры животные, шпик, субпродукты		
Мед		

Таблица 4 – Оценки неопределенности результатов измерений, выполняемых в соответствии с методикой при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин

Виды продукции	Относительная суммарная стандартная неопределенность u_c , %	Относительная расширенная неопределенность U , %, $K = 2, P = 95 \%$
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, мороженое на молочной основе, сухие восстановленные молочные смеси для детского питания	9	18
Готовые мясные продукты, консервы мясные и мясорастительные, жиры животные, шпик, субпродукты		
Мясо, рыба, продукты из рыбы		
Масло сливочное		
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка	8	16
Кисломолочные продукты		
Сыр		
Творог, творожные продукты		
Сгущенное молоко		
Яйца, порошок яичный		
Мед		

3 Требования к средствам измерений, программному обеспечению, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

3.1 Требования к средствам измерений

При выполнении измерений применяют средства измерений, сведения о которых

указаны в таблице 5.

Таблица 5 – Применяемые средства измерений

Тип средства измерений; модификация средства измерений	Метрологические и технические характеристики
Фотометры универсальные Ф300; Фотометр универсальный Ф300ТП	– диапазон измерения оптической плотности: от 0,0 до 1,5 Б на длинах волн от 340 до 400 нм; от 0 до 2,5 Б на длинах волн от 401 до 700 нм; – пределы допускаемой абсолютной погрешности при измерении оптической плотности для диапазона от 0 до 0,400 Б: $\pm 0,020$ Б; – пределы допускаемой относительной погрешности при измерении оптической плотности для диапазона от 0,401 до 2,500 Б: $\pm 5,0$ %; – пределы допускаемого среднего квадратического отклонения случайной составляющей погрешности при измерении оптической плотности для диапазона от 0 до 0,400 Б: $\pm 0,006$ Б; – пределы допускаемого среднего квадратического отклонения случайной составляющей погрешности при измерении оптической плотности для диапазона от 0,401 до 2,500 Б: $\pm 1,5$ %; – номинальная цена единицы младшего разряда результата измерений – 0,001 Б.
Весы лабораторные электронные PS; Весы лабораторные электронные PS 360/C/2/N	– класс точности весов по ГОСТ OIML R 76-1: высокий; – максимальная нагрузка: 360 г; – минимальная нагрузка: 0,02 г; – действительная цена деления: 1 мг; – пределы допускаемой погрешности весов, в интервалах взвешивания от 0,02 г до 50 г включ., св. 50 г до 200 г включ., св. 200 г до 360 г включ.: $\pm 5,0$ мг; $\pm 10,0$ мг; $\pm 15,0$ мг.
Термометры стеклянные лабораторные ТЛ-2; Термометр стеклянный лабораторный ТЛ-2 №1	– диапазон измеряемых температур: от минус 30 °С до 70 °С; – цена деления: 1,0 °С; – пределы допускаемой абсолютной погрешности: $\pm 1,0$ °С.
Приборы измерительные ПИ-002; Прибор измерительный ПИ-002/1А	– диапазон измерений температуры: от 5 °С до 40 °С; – диапазон измерений относительной влажности: от 5 % до 98 %; – пределы допускаемой абсолютной погрешности измерения температуры: $\pm 0,5$ °С; – пределы допускаемой абсолютной погрешности измерения относительной влажности: ± 3 %.
рН-метры HI рН-метр HI 2211 с датчиком температуры HI 7662 и электродом HI 1131	– диапазон измерений рН: от 0,0 до 14,0; – пределы допускаемой абсолютной погрешности рН-метра при измерении рН для дискретности отсчета 0,01: $\pm 0,08$; – диапазон измерений окислительно-восстановительного потенциала, мВ: от минус 1999 до плюс 1999; – пределы допускаемой погрешности вторичного преобразователя при измерении окислительно-восстановительного потенциала, мВ: $\pm 3,0$; – диапазон измерений температуры раствора, °С: от 15 до 70; – пределы допускаемой абсолютной погрешности рН-метра при измерении температуры раствора, °С: $\pm 1,0$.
Дозаторы механические Acura manual; Дозаторы механические Acura manual 825, Acura manual 835, Acura manual 855	см. приложение А

Допускается применение других средств измерений с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных ниже:

а) фотометр для микропланшетов, обеспечивающий измерение на длине волны 450 нм с пределами погрешности измерения оптической плотности $\pm 0,02$ Б в диапазоне измерений от 0 до 0,4 Б и пределами относительной погрешности измерения оптической плотности ± 5 % в диапазоне измерений свыше 0,4 Б;

б) весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 высокого класса точности с наибольшим пределом взвешивания не менее 200 г, пределами допускаемой погрешности $\pm 0,01$ г;

в) средство измерений для измерения температуры и влажности воздуха:

- с диапазоном измерений температуры, включающим диапазон от 15 °С до 25 °С, и пределами относительной погрешности измерений температуры ± 1 °С;

- с диапазоном измерений относительной влажности, включающим диапазон от 15 % до 80 %, и пределами относительной погрешности измерений относительной влажности ± 3 %;

г) термометр лабораторный частичного погружения с ценой деления 1 °С с диапазоном измерений, включающим в себя диапазон значений от минус 18 °С до 25 °С;

д) рН-метр с диапазоном измерений от 1 рН до 14 рН и пределами погрешности измерений рН $\pm 0,1$ в комплекте с электродом

е) дозаторы пипеточные:

- с диапазоном объемов дозирования от 20 мм³ до 200 мм³ и пределами относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 3,0$ %;

- с диапазоном объемов дозирования от 100 мм³ до 1000 мм³ и пределами относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 1,5$ %;

- с диапазоном объемов дозирования от 1 см³ до 10 см³ и пределами относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0$ %;

- многоканальные с диапазоном объемов дозирования от 50 мм³ до 300 мм³ и пределами относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 4,6$ % (при отсутствии автоматического устройства для отмывки иммунологических планшетов).

Для проведения работ согласно методике используют средства измерений, допущенные к применению в Республике Беларусь и прошедшие метрологическую оценку в установленном порядке.

3.2 Требования к программному обеспечению, вспомогательным устройствам

Программное обеспечение RIDA®SOFT, версия 7.01 и выше, разработанное Biopharm AG, Германия.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее 4000 g (при использовании ротора для пробирок вместимостью 15 см³ и 50 см³) и не менее 20000 g (при использовании ротора для пробирок вместимостью 1,5 см³ или 2 см³), а также охлаждение до 4 °С.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры 40 °С и 50 °С при отклонениях от номинального значения в пределах $\pm 5,0$ °С.

Холодильник бытовой, позволяющий поддерживать температуру от 2 °С до 8 °С в холодильной камере и не выше минус 18 °С в морозильной камере.

Лабораторный вортекс, обеспечивающий частоту вращения не менее 1800 об/мин.

Лабораторный шейкер, обеспечивающий частоту вращения до 300 об/мин.

Лабораторный ротатор, обеспечивающий частоту вращения не менее 60 об/мин.

Лабораторный миксер, обеспечивающий частоту вращения от 100 об/мин до 200 об/мин, или гомогенизатор (диспергатор) типа «Ultra turrax». Допускается использовать бытовой погружной блендер с плавной регулировкой скорости вращения или миксер с частотой вращения насадки до 200 об/мин.

Использование следующего оборудования не является обязательным, но рекомендуется для увеличения производительности и повышения точности измерений:

- инкубатор для микротитровальных планшетов, обеспечивающий поддержание температуры от 20 °С до 25 °С с точностью ± 1 °С;

- устройство отмывки иммунологических планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую микроювету от 100 мм³ до 350 мм³.

Допускается применение других вспомогательных устройств с техническими характеристиками не хуже указанных.

3.3 Требования к материалам, реактивам

Пленка «парафильм» или скотч.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026

Шпатели пластиковые.

Штатив для пробирок.

Пипетки Пастера.

Флаконы из темной пластмассы вместимостью 20 см³.

Пробирки для центрифугирования с крышкой (типа Эппендорф) из полипропилена вместимостью 2 см³ или 1,5 см³.

Пробирки полипропиленовые для центрифугирования вместимостью 15 см³, 50 см³.

Пробирки с завинчивающимися крышками из стекла или полистирола вместимостью 80 см³.

Пробирки стеклянные вместимостью 5 см³ или 10 см³ по ГОСТ 1770.

Колбы мерные вместимостью 100 см³, 1000 см³ типа 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 100 см³, 250 см³, 500 см³ типа Кн-1 100-29/32 ТС, Кн-1-250-29/32 ТС, Кн-1-500-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Воронки типа В-56-80 ХС, В-75-110 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы Н-1-100 или Н-1-150, Н-2-1000 по ГОСТ 25336.

Цилиндры мерные вместимостью 25 см³, 50 см³, 250 см³ типа 3-25-2, 3-50-2, 3-250-2 по ГОСТ 1770.

Шприц-фильтр или шприц и фильтрующая насадка на шприц диаметром 15 мм и диаметром пор 0,45 мкм на основе целлюлозы.

Кислота лимонная ч. по ГОСТ 3652.

Метанол ч.д.а по ГОСТ 6995.

н-Гексан ч. по [3].

Натрия фосфат двухосновной дигидрат ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), каталожный номер Fluka 71645 или натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-водный ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ч.д.а по ГОСТ 4172.

Натрия фосфат одноосновной моногидрат ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), каталожный номер Sigma-Aldrich 71504 или натрий фосфорнокислый однозамещенный, 2-водный ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ч.д.а по ГОСТ 245.

Натрий хлористый ч.д.а. по ГОСТ 4233.

Натрия гидроокись х.ч. по ГОСТ 4328.

Кислота янтарная ч.д.а. по ГОСТ 6341.

Кислота соляная х.ч. по ГОСТ 3118.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Лабораторный детергент, например Triton X-100.

Набор (компоненты) для приготовления раствора для внесения добавок тетрациклина (spike-раствор), поставляемый производителем тест-систем и обеспечивающий соответствие требованиям п. 13.4.1.

Тест-система Ridascreen®Tetracyclin производства R-Biopharm AG, Германия, тест-система ПРОДОСКРИН®Тетрациклин по [4] в составах, указанных в приложении Б и специфичностью, указанной в приложении В.

Допускается использовать другие материалы и реактивы по качеству не хуже указанных, а также тест-системы, имеющие комплектацию и характеристики, аналогичные указанным. Замена отдельных реагентов на реагенты из тест-систем других партий не допускается.

4 Метод измерений

Измерения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов выполняют методом иммуноферментного анализа.

Лунки микротитровального планшета, покрыты конъюгатом тетрациклина с белком (тест-система Ridascreen®Tetracyclin) или антителами к тетрациклину (тест-система ПРОДОСКРИН®Тетрациклин). В начале анализа в лунки вносят градуировочные растворы тетрациклина или растворы проб, после чего добавляют антитела к тетрациклину (тест-система Ridascreen®Tetracyclin) или конъюгат тетрациклина с пероксидазой (тест-система ПРОДОСКРИН®Тетрациклин). При инкубации растворов в лунках свободный тетрациклин и тетрациклин, связанный с белком (тест-система Ridascreen®Tetracyclin) или пероксидазой (тест-система ПРОДОСКРИН®Тетрациклин), конкурируют за центры связывания антител (конкурентный ИФА).

После завершения инкубации несвязанные компоненты удаляют из лунок микропланшета на стадии промывки. В лунки добавляют ферментно маркированные вторичные антитела, которые связываются с антителами к тетрациклину (тест-система Ridascreen®Tetracyclin), после чего несвязанный ферментный конъюгат удалится при промывке. Для тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин данные операции не проводят.

Затем в лунки микропланшета добавляют раствор субстрата/хромогена. Связанный конъюгат фермента превращает хромоген в голубой продукт, который при добавлении стоп-реагента меняет свой цвет на желтый. Измеренная при 450 нм оптическая плотность обратно пропорциональна массовой доле антибиотиков группы тетрациклинов в растворе. Массовая доля антибиотиков группы тетрациклинов в пробе определяют по градуировочной зависимости, построенной по шести градуировочным растворам.

5 Требования безопасности, охраны окружающей среды и требования к квалификации операторов

5.1 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении работ по определению массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов соблюдают требования:

- электробезопасности по ГОСТ 12.2.003;
- пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004;
- техники безопасности при работе в химической лаборатории в соответствии с инструкциями, утвержденными в установленном порядке;
- техники безопасности, изложенные в инструкциях по эксплуатации средств измерений и оборудования, применяемых при проведении измерений;
- инструкции (или иного документа) по сбору и утилизации использованных веществ, действующий в организации, использующей методику.

Персонал, работающий с метанолом и его растворами, должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования инструкции по технике безопасности при работе с метанолом, утвержденной в установленном порядке. Все работы с метанолом и его растворами должны проводиться строго в вытяжном шкафу с использованием средств индивидуальной защиты (фартуки, перчатки, очки). Запрещается работать с метанолом при выключенной приточно-вытяжной вентиляции и без применения средств индивидуальной защиты.

5.2 Требования к квалификации операторов

К проведению работ по данной методике допускаются лица, имеющие высшее специальное или среднее специальное образование по профилю выполняемых работ,

прошедшие обучение приемам работы на оборудовании, освоившие выполнение всех операций, предусмотренных методикой, владеющие техникой постановки иммуноферментного анализа.

6 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С.

7 Требования к условиям инкубации микротитровальных планшетов в помещении

При отсутствии инкубатора микротитровальные планшеты могут инкубироваться в помещении при выполнении следующих условий:

- температура окружающего воздуха должна быть от 20 °С до 25 °С;
- не должно происходить попадание прямых солнечных лучей на планшет;
- планшет не должен подвергаться воздействию сильных естественных или искусственных потоков воздуха, вызванных, например, принудительной вентиляцией;
- с целью устранения воздействия холодной поверхности стола, на котором находится планшет, рекомендуется помещать под него теплоизоляционный материал, например, сложенное в несколько слоев бумажное полотенце.
- при низкой относительной влажности воздуха и наличии воздушных потоков с целью устранения возможности испарения содержимого лунок рекомендуется покрывать планшет пленкой «парафилм» или заклеивать скотчем.
- в особых случаях, которые оговорены по тексту методики измерений, требуется помещать планшет в защищенное от света место, например в ящик стола.

8 Требования к условиям хранения тест-систем

Хранение тест-систем осуществляется в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С в оригинальных флаконах и упаковке. Не допускается замораживание реагентов с целью увеличения их срока хранения и использование тест-систем или их отдельных компонентов по истечении срока хранения, установленного изготовителем.

Хранение неиспользованных стрипов (лунок) осуществляется в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С в плотно закрытом оригинальном фольгированном пакете.

Необходимо исключить прямое попадание солнечных лучей на светочувствительные растворы субстрата/хромогена, хромогена и субстрата.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Отбор и хранение образцов

Отбор образцов для анализа проводят по СТБ 1036 или другим ТНПА на конкретные виды продукции. Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 4 °С в течение 2 сут или в замороженном виде при температуре не выше минус 18 °С в течение 14 сут. Перед проведением подготовки проб по п. 9.4.5 замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от 2 °С до 8 °С.

9.2 Подготовка лабораторной посуды

Сильнозагрязненную лабораторную посуду предварительно обрабатывают хромовой смесью. Лабораторную посуду после мойки в растворе специализированного моющего средства промывают водопроводной, ополаскивают дистиллированной водой два раза и высушивают.

Запрещается:

- многократное использование одноразовой лабораторной посуды;

–использование бытовых моющих средств для мойки лабораторной посуды.

9.3 Приготовление растворов

9.3.1 Приготовление 30 % раствора гидроокиси натрия

Навеску гидроокиси натрия массой 15,0 г, взвешенную с точностью до 0,1 г, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³. В колбу приливают 35 см³ дистиллированной воды, отмеренной мерным цилиндром. После растворения гидроокиси натрия раствор охлаждают до температуры от 20 °С до 25 °С.

После приготовления раствора его переносят в полиэтиленовую или фторопластовую посуду и хранят при температуре от 20 °С до 25 °С не более трех месяцев.

9.3.2 Приготовление 20 мМ фосфатного буфера

Навески натрия фосфата одноосновного моногидрата массой 0,55 г (или натрия фосфорнокислого однозамещенного 2-водного массой 0,62 г), натрия фосфата двуосновного дигидрата массой 2,85 г (или натрия фосфорнокислого двухзамещенного 12-водного массой 5,73 г), хлористого натрия массой 9,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ добавляют такое количество дистиллированной воды, чтобы колба заполнилась примерно до половины своей вместимости, перемешивают до полного растворения и доводят до метки дистиллированной водой. После приготовления раствора его переносят в стакан вместимостью 1000 см³ и доводят рН раствора до 7,4, добавляя по каплям 30 % раствор гидроокиси натрия, приготовленный по п. 9.3.1. рН раствора проверяют с помощью рН-метра. Раствор хранят при температуре от 20 °С до 25 °С не более одного месяца.

9.3.3 Приготовление раствора метанола (1:9 по объему)

В коническую колбу вместимостью 500 см³ приливают 225 см³ дистиллированной воды, отмеренные мерным цилиндром, затем приливают отмеренные мерным цилиндром 25 см³ метанола и перемешивают. Хранят раствор при температуре от 20 °С до 25 °С в плотно закрытой посуде из темного стекла не более одного месяца в соответствии с установленными правилами хранения метанола и его растворов.

9.3.4 Приготовление раствора метанола (2:8 по объему)

В коническую колбу вместимостью 500 см³ приливают 200 см³ дистиллированной воды, отмеренные мерным цилиндром, затем приливают отмеренные мерным цилиндром 50 см³ метанола и перемешивают. Хранят раствор при температуре от 20 °С до 25 °С в плотно закрытой посуде из темного стекла не более одного месяца в соответствии с установленными правилами хранения метанола и его растворов.

9.3.5 Приготовление 50 мМ раствора янтарной кислоты

Навеску янтарной кислоты массой 5,90 г, взвешенную с точностью до 0,01 г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, добавляют такое количество дистиллированной воды, чтобы колба заполнилась примерно до половины своей вместимости, перемешивают до полного растворения и доводят до метки дистиллированной водой. После приготовления раствора его переносят в стакан вместимостью 1000 см³ и доводят рН раствора до 4,0, добавляя по каплям 30 % раствор гидроокиси натрия, приготовленный по п. 9.3.1. рН раствора проверяют с помощью рН-метра. Раствор хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С в закрытой посуде из химически стойкого стекла не более одного месяца.

9.3.6 Приготовление 0,1 М раствора цитрата натрия

Навеску 5,3 г кислоты лимонной моногидрата (или 4,8 г кислоты лимонной безводной), взвешенную с точностью до 0,1 г, растворяют в 200 см³ дистиллированной воды. Добавляют 7,0 см³ 30 % раствора гидроокиси натрия, приготовленного по п. 9.3.1.

Значение рН раствора доводят до 6,5-7,5 30 % раствором гидроокиси натрия, приготовленного по п. 9.3.1, или соляной кислотой. Затем объем раствора доводят до 250 см³ дистиллированной водой. Хранят раствор при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного месяца.

9.3.7 Приготовление смеси метанола с 0,1 М раствором цитрата натрия (1:9 по объему)

К отмеренному объему 0,1 М раствора цитрата натрия, приготовленному по п.9.3.6, добавляют в 9 раз меньший объем метанола и перемешивают. Например, к 225 см³ 0,1 М раствора цитрата натрия с рН 7,0, отмеренным мерным цилиндром, приливают отмеренные мерным цилиндром 25 см³ метанола. Раствор используют свежеприготовленным.

9.3.8 Приготовление смеси метанола с буфером Макилвейна (1:1 по объему)

Для приготовления буфера Макилвейна в стакан вносят навеску 17,8 г натрия фосфата двухосновного дигидрата (или натрия фосфорнокислого двухзамещенного 12-водного массой 35,8 г), взвешенную с точностью до 0,1 г, и навеску 10,5 г кислоты лимонной моногидрата (или 9,6 г кислоты лимонной безводной), взвешенную с точностью до 0,1 г. Содержимое стакана растворяют в 800 см³ дистиллированной воды, проверяют рН, при необходимости доводят рН до значения 7,0 с помощью соляной кислоты или 30 % раствора гидроокиси натрия, приготовленного по п. 9.3.1. Дистиллированной водой доводят объем раствора до 1000 см³ и перемешивают. Буфер Макилвейна хранят при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного месяца.

Для приготовления смеси буфера Макилвейна с метанолом (1:1 по объему) к отмеренному объему буфера Макилвейна добавляют равный объем метанола и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

9.4 Подготовка тест-систем

9.4.1 Предварительная подготовка и правила обращения с тест-системами

Тест-систему извлекают из холодильника, не открывая упаковку микротитровального планшета, выдерживают при температуре от 20 °С до 25 °С от 0,5 до 1 ч, доводят температуру остальных реагентов до значений от 20 °С до 25 °С.

Растворы из тест-системы следует готовить непосредственно перед проведением ИФА. Перед использованием реагенты необходимо аккуратно перемешать круговыми движениями флаконов.

Замена отдельных реагентов на реагенты из тест-систем других партий не допускается.

Не допускается использование реагентов, имеющих следующие признаки распада:

- голубая окраска раствора хромогена до внесения его в лунки;
- оптическая плотность, измеренная в лунке, в которую вносился градуировочный раствор № 1 с концентрацией 0 мкг/дм³, меньше 0,6.

9.4.2 Подготовка микротитровального планшета

Количество лунок микротитровального планшета, необходимых для проведения измерений N_w , рассчитывается по формуле

$$N_w = 12 + 2N_{SMP} \quad (1)$$

где N_{SMP} – количество образцов;

12 – количество лунок для градуировочных растворов.

Микротитровальный планшет со стрипами, предварительно подготовленными в соответствии с п. 9.4.1, вынимают из упаковки. В микротитровальный планшет помещают необходимое количество стрипов, рассчитанное исходя из требуемого для проведения

измерений количества лунок N_w . Оставшиеся стрипы сразу же помещают в упаковку, закрывают и хранят в соответствии с разделом 8.

Размечают положения лунок, предназначенных для градуировочных растворов и растворов проб, согласно рисунку 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C-1	C-1	П-3	П-3	П-11	П-11						
B	C-2	C-2	П-4	П-4	П-12	П-12						
C	C-3	C-3	П-5	П-5	П-13	П-13						
D	C-4	C-4	П-6	П-6	П-14	П-14						
E	C-5	C-5	П-7	П-7	П-15	П-15						
F	C-6	C-6	П-8	П-8	П-16	П-16						
G	П-1	П-1	П-9	П-9	П-17	П-17						
H	П-2	П-2	П-10	П-10	П-18	П-18						

C-1, C-2, ... C-6 — градуировочные растворы; П-1, П-2, ... П-18 — анализируемые пробы;

1,2,3.... 12 — номера стрипов в планшете; A, B,... H — обозначения лунок в стрипах

Рисунок 1 – Схема расположения лунок для градуировочных растворов и растворов проб

При необходимости одновременно использовать более 6-ти стрипов рекомендуется выполнять анализ в несколько этапов.

9.4.3 Приготовление градуировочных растворов тетрациклина

Градуировочные растворы тетрациклина готовят непосредственно перед выполнением ИФА путем разбавления их концентратов при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin или из восстановленного лиофилизированного стандарта¹ при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин, подготовленных по п. 9.4.1.

9.4.3.1 Приготовление градуировочных растворов тетрациклина из их концентратов при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

В шесть стеклянных пробирок вместимостью 5 см³ или пробирок для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³, промаркированных номерами приготавливаемых градуировочных растворов (от 1 до 6), дозатором приливают 450 мм³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб. При анализе проб молока, мороженого, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, кисломолочных продуктов, творога и творожных продуктов вместо буфера №1 используют буфер №2.

Отбирают дозатором по 50 мм³ каждого концентрата градуировочного раствора и переносят в соответствующую пробирку. Тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе. Для каждого раствора используют новый наконечник дозатора. После отбора аликвот флаконы с концентратами градуировочных растворов убирают в холодильник и хранят в соответствии с п. 8.

9.4.3.2 Приготовление градуировочных растворов тетрациклина из лиофилизированного стандарта тетрациклина при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин

К содержимому флакона с лиофилизированным стандартом тетрациклина¹, входящим в состав тест-систем, добавляют отмеренные дозатором 2 см³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб. При анализе проб молока, мороженого, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, кисломолочных продуктов, творога и творожных продуктов вместо буфера №1 используют

¹ Лيوфилизированный стандарт тетрациклина с концентрацией 1,80 мкг/дм³ в восстановленном виде входит в состав тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин

буфер №2. Содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Полученный раствор является градуировочным раствором С-6, в котором массовая концентрация антибиотиков группы тетрациклинов в пересчете на тетрациклин составляет 1,80 мкг/дм³.

Градуировочные растворы С-2 – С-5 готовят путем последовательного разбавления градуировочного раствора С-6 следующим образом. В пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³ или стеклянные пробирки вместимостью 5 см³ вносят аликвоту буфера № 1 или буфера № 2 и аликвоту исходного градуировочного раствора. Исходный градуировочный раствор, от которого отбирается аликвота, и объемы аликвот, используемые для приготовления градуировочных растворов С-2 – С-5, указаны в таблице 6.

Содержимое пробирок перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Таблица 6 – Схема приготовления градуировочных растворов из лиофилизированного стандарта тетрациклина после его восстановления

Градуировочный раствор				Объем буфера №1 или буфера №2, мм ³
приготавливаемый		исходный		
обозначение	концентрация тетрациклина, мкг/дм ³	обозначение	объем, мм ³	
С-6	1,80	-	-	-
С-5	0,60	С-6	300	600
С-4	0,30	С-5	300	300
С-3	0,15	С-4	300	300
С-2	0,05	С-3	300	600

В качестве градуировочного раствора С-1 используют буфер №1 или №2, приготовленный по п. 9.4.1.

Приготовленные градуировочные растворы С-2 – С-6 хранят при температуре не выше минус 18 °С не более 30 сут и размораживают в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С. Размороженные растворы повторному замораживанию не подлежат.

9.4.4 Приготовление раствора конъюгата

9.4.4.1 Приготовление раствора конъюгата при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

Конъюгат подготавливают по п.9.4.1. Конъюгат входит в состав тест-систем Ridascreen®Tetracyclin в готовом к применению виде.

9.4.4.2 Приготовление раствора конъюгата при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

К содержимому флакона с лиофилизированным конъюгатом добавляют отмеренные дозатором 6 см³ раствора для разведения конъюгата. Содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Полученный раствор является раствором конъюгата.

Приготовленный раствор конъюгата хранят при температуре не выше минус 18 °С не более 3 мес и перед использованием сначала размораживают в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С, а затем доводят его температуру до значений от 20 °С до 25 °С. Размороженные растворы могут быть повторно заморожены.

9.4.5 Приготовление моющего буфера

9.4.5.1 Приготовление моющего буфера при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

В зависимости от планируемого срока использования моющий буфер готовят двумя приведенными ниже способами.

Способ 1. Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Добавляют 50-100 см³

дистиллированной воды, содержимое колбы перемешивают до полного растворения осадка, после чего доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С не более 6 нед в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

Способ 2. Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Добавляют 50-60 см³ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения осадка и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный концентрированный раствор (10-кратное концентрирование) хранят при температуре от 20 °С до 25 °С не более 12 нед. Для приготовления готового раствора моющего буфера 10 см³ концентрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой.

9.4.5.2 Приготовление моющего буфера при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Содержимое флакона с концентратом моющего буфера интенсивно встряхивают в течение (10-20) с, в случае образования кристаллов – подогревают на водяной бане при температуре 50 °С. Отмеренный мерным цилиндром необходимый объем концентрата наливают в стакан вместимостью 1000 см³, после чего в стакан наливают в 9 раз больший объем дистиллированной воды и перемешивают. Полученный раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 мес в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

9.4.6 Приготовление раствора субстрата/хромогена при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Раствор субстрата/хромогена готовят непосредственно перед использованием в ИФА из растворов субстрата и хромогена, подготовленных по п. 9.4.1. Посуда, используемая при приготовлении раствора субстрата/хромогена, моется без применения синтетических моющих средств.

В чистый флакон из темной пластмассы вместимостью 20 см³ приливают необходимое количество субстрата, отмеренного дозатором и добавляют в 20 раз меньшее по объему количество раствора хромогена, интенсивно перемешивают в течение (30-40) с. Приготовленный раствор необходимо предохранять от воздействия света. Приготовленный раствор хранению не подлежит.

Объем используемой аликвоты V_h , см³, раствора хромогена рассчитывается на основании количества используемых в анализе лунок микротитровального планшета N_w , по формуле

$$V_h = \frac{0,1 \cdot N_w + V_{h1}}{21}, \quad (2)$$

где V_{h1} – объем раствора субстрата/хромогена, приготавливаемого в запас, см³ (не менее 0,1 см³).

9.5 Подготовка проб

9.5.1 Подготовка проб сырого, стерилизованного, пастеризованного и восстановленного сухого молока, мороженого

9.5.1.1 Восстановление сухого молока, сухих молочных смесей для детского питания

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды.

В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³ помещают две параллельные навески образца сухого молока, взвешенные с точностью до 0,1 г. Массы навесок в зависимости от содержания жира составляют:

- 9,0 г сухого обезжиренного молока;

- 12,0 г сухого молока с содержанием жира 20 %;
- 12,5 г сухого молока с содержанием жира 25 %;
- 10,0 г сухого молока с содержанием жира, отличным от перечисленного выше.

Затем в стаканы с навесками порциями по 5-10 см³ приливают дистиллированную воду, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения сухого молока растворы из стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 см³, выдерживают в течение 15 мин, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Восстановление проб сухих смесей для детского питания производят по приведенной выше схеме, используя отношение массы смеси к объему воды, указанное в инструкции производителя.

Далее пробы подвергают процедуре обезжиривания, описанной в п. 9.5.1.2, пробы сухого обезжиренного молока обезжириванию не подлежат.

9.5.1.2 Получение проб обезжиренного сырого, стерилизованного, пастеризованного, восстановленного сухого молока, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания и мороженого

Для подготовки проб используют образец сырого, стерилизованного, пастеризованного молока или мороженого, отобранный в соответствии с п. 9.1. От образца мороженого предварительно отделяют твердые немолочные компоненты и отбрасывают. Температуру образца доводят от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды. Перед взятием аликвоты образец перемешивают путем встряхивания и переворачивания упаковки. Затем его переносят в коническую колбу вместимостью 100 см³ в таком количестве, чтобы колба заполнилась примерно до половины своей вместимости, и тщательно перемешивают на вортексе.

От образца сырого, стерилизованного, пастеризованного молока, подготовленного как описано выше, или восстановленного сухого молока, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, приготовленных по п. 9.5.1.1, с помощью дозатора отбирают две параллельные пробы объемом 10 см³ и помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. От образца мороженого отбирают параллельные навески массой 10,0 г и помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. Центрифугируют пробы в следующем режиме: 10 °С, 3000 g, 10 мин.

При отсутствии центрифуги с охлаждением пробы перед центрифугированием выдерживают в морозильной камере холодильника в течение 10–15 мин, охлаждая их до температуры от 2 °С до 4 °С, контролируя температуру термометром.

Шпателем или пипеткой Пастера удаляют верхний жировой слой, образовавшийся на поверхности после центрифугирования.

Отбирают по 2 см³ обезжиренной пробы из каждой пробирки и переносят в чистые пробирки (перед тем как вылить молоко в пробирку, наконечник дозатора вытирают фильтровальной бумагой для удаления следов жира). При необходимости пробы хранят в соответствии с п. 9.1.

Для обезжиренного молока описанную выше процедуру по удалению жира не производят.

9.5.1.3 Получение растворов проб молока, мороженого, молочных смесей

В стеклянные пробирки вместимостью 5 см³ или в пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³ вносят отобранные дозатором 450 мм³ буфера №2 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб. Из каждой пробы, подготовленной по п. 9.5.1.1 или п. 9.5.1.2, отбирают дозатором по 50 мм³ и переносят в пробирки с буфером, предварительно очистив наконечник дозатора фильтровальной бумагой от следов жира. Содержимое пробирок перемешивают на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.2 Подготовка проб молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки

9.5.2.1 Восстановление сухой молочной сыворотки

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды.

В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³ помещают две параллельные навески образца массой 12,5 г, взвешенные с точностью до 0,1 г.

Затем приливают небольшими порциями по 10-20 см³ дистиллированную воду, нагретую до температуры (40 ± 5) °С, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения навески растворы из стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

9.5.2.2 Получение растворов проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки

Для получения растворов проб используют образец молочной сыворотки, отобранный в соответствии с п. 9.1, температуру которого доводят от 20 °С до 25 °С, выдерживая при температуре окружающей среды.

В стаканы вместимостью 150 см³ наливают по 70–90 см³ проб молочной сыворотки, подготовленных как описано выше, или проб восстановленной сухой молочной сыворотки, приготовленных по п. 9.5.2.1, и доводят их рН до 7,0 добавляя по каплям 30 % раствор гидроксида натрия, приготовленный по п. 9.3.1.

Дозатором отбирают 950 мм³ буфера №2 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб и переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 см³ или пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. В пробирки с буфером переносят из стаканов с помощью дозатора по 50 мм³ каждой пробы с доведенным рН. Содержимое пробирок перемешивают на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.3 Подготовка проб меда

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды. От образца меда отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки с закручивающимися крышками из стекла или полистирола вместимостью 80 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные мерным цилиндром 49,0 см³ 20 мМ фосфатного буфера, приготовленного по п. 9.3.2. Содержимое пробирок растворяют путем интенсивного встряхивания, после чего дополнительно перемешивают на вортексе 2 мин.

Допускается использовать для растворения меда конические колбы вместимостью 100 см³.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

Перед отбором аликвот для проведения ИФА растворы перемешивают путем переворачивания пробирок несколько раз.

9.5.4 Подготовка проб мяса, рыбы, продуктов из рыбы

9.5.4.1 Получение экстрактов проб мяса, рыбы, продуктов из рыбы

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды, после чего гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ и в каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 9 см³ 20 мМ фосфатного буфера, приготовленного по п. 9.3.2. Перемешивают содержимое пробирок, после чего интенсивно встряхивают на шейкере (200–300 об/мин) или ротаторе (50–60 об/мин) в течение 10 мин. Центрифугируют пробирки при температуре от 20 °С до 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.4.2 Получение растворов проб мяса, рыбы, продуктов из рыбы

После центрифугирования переносят по 1 см³ надосадочной жидкости в новые пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³.

При анализе проб рыбы с высоким содержанием жира или проб мяса проводят дополнительное обезжиривание проб. Для этого в пробирки добавляют отобранные дозатором 2 см³ гексана и перемешивают их содержимое на вортексе в течение 10 с. Центрифугируют пробирки при температуре от 20 °С до 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин. Осторожно удаляют верхний гексановый слой с помощью пипетки Пастера или дозатором.

Полученные водные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.5 Подготовка проб готовых мясных продуктов, консервов мясных и мясорастительных, жиров животных, шпика, субпродуктов

9.5.5.1 Получение экстрактов проб готовых мясных продуктов, консервов мясных и мясорастительных, жиров животных, шпика, субпродуктов

Доводят температуру образцов, отобранных в соответствии с п. 9.1, от 20 °С до 25 °С, выдерживая их при температуре окружающей среды, после чего гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 3,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в стаканы вместимостью 150 см³ или в контейнеры, входящие в комплект миксера. К навескам добавляют отмеренные дозатором 30 см³ 20 мМ фосфатного буфера, приготовленного по п. 9.3.2. Стаканы с пробами жиров животных, шпика нагревают до температуры (40 ± 5) °С при помешивании. Смесь гомогенизируют с помощью лабораторного миксера, не допуская ее разбрызгивания. Гомогенизация также может быть проведена с использованием гомогенизатора в соответствии с его эксплуатационными документами.

Гомогенизированную смесь переносят в пробирки для центрифугирования вместимостью 50 см³ и центрифугируют в следующем режиме: 10 °С, 4000 g, 10 мин.

9.5.5.2 Получение обезжиренных проб готовых мясных продуктов, консервов мясных и мясорастительных, жиров животных, шпика, субпродуктов

При анализе проб с высоким содержанием жира проводят их обезжиривание гексаном. Для этого переносят по 1 см³ надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.5.1 в новые пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. В пробирки добавляют отобранные дозатором 2 см³ гексана и перемешивают их содержимое на вортексе в течение 10 с. Центрифугируют пробирки при температуре от 20 °С до 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин. Осторожно удаляют верхний гексановый слой с помощью пипетки Пастера или дозатором.

9.5.5.3 Получение растворов проб готовых мясных продуктов, консервов мясных и мясорастительных, жиров животных, шпика, субпродуктов

Переносят по 200 мм³ надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.5.1 или

п. 9.5.5.2, в пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. В каждую пробирку добавляют отобранные дозатором 200 мм³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб и перемешивают содержимое пробирок на вортексе в течение 10 с.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.6 Подготовка проб сыра

9.5.6.1 Получение экстрактов проб сыра

Доводят температуру образца сыра, отобранного в соответствии с п. 9.1, от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды. Отделяют тесто от корки, полимерно-парафинового или воскового сплава, измельчают тесто с помощью терки и перемешивают.

От измельченного образца сыра отбирают две параллельные навески массой 15,0 г, взвешенные с точностью до 0,1 г. Навески помещают в стаканы вместимостью 150 см³ или в контейнеры, входящие в комплект миксера. К навескам сыра добавляют отмеренные дозатором следующие растворы:

- при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – 30 см³ раствора метанола (1:9 по объему), приготовленного по п. 9.3.3;

- при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин – 30 см³ смеси метанола с раствором цитрата натрия с (1:9 по объему), приготовленного по п. 9.3.7.

Смесь гомогенизируют с помощью лабораторного миксера, не допуская ее разбрызгивания.

Переносят гомогенизированную смесь в пробирку для центрифугирования вместимостью 50 см³ и выдерживают пробирку на водяной бане при температуре (40 ± 5) °С в течение 10 мин. За это время смесь перемешивают три раза, энергично встряхивая пробирку.

Центрифугируют пробирку при 4 °С, 3000 g, в течение 15 мин.

Переносят дозатором 1 см³ среднего водного слоя в пробирку для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. Пробирку центрифугируют при температуре от 20 °С до 25 °С, 20000 g, в течение 5 мин.

При отсутствии центрифуги, обеспечивающей режим центрифугирования 20000 g, удаляют верхний слой жира пластиковым шпателем, после чего фильтруют оставшийся водный слой через складчатый фильтр.

9.5.6.2 Получение растворов проб сыра

Отбирают дозатором 50 мм³ надосадочного слоя или фильтрата по п. 9.5.6.1, переносят в стеклянную пробирку вместимостью 5 см³ или пробирку для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. Затем в пробирку дозатором добавляют 450 мм³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб и тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.7 Подготовка проб масла

9.5.7.1 Подготовка проб масла при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

9.5.7.1.1 Получение экстрактов проб масла при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

Образец масла, отобранный в соответствии с п. 9.1 и охлажденный до температуры не выше минус 10 °С, измельчают с помощью терки и перемешивают. Доводят температуру

образца масла от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды.

От образца масла отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, и помещают их в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. Выдерживают пробирки на водяной бане при температуре (40 ± 5) °С до полного расплавления навески масла.

Сразу же после расплавления масла в пробирки с пробами добавляют 1 см³ гексана, отмеренного дозатором, и интенсивно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Добавляют в пробирки отмеренный дозатором 1 см³ раствора метанола (2:8 по объему), приготовленного по п. 9.3.4. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают на вортексе в течение 10 с, после чего продолжают перемешивание при переворачивании на ротаторе при 50-60 об/мин в течение 10 мин.

Центрифугируют пробирки при 4 °С, 2000 g, в течение 10 мин. Осторожно удаляют верхний гексановый слой с помощью пипетки Пастера.

В пробирки с пробами снова добавляют 1 см³ гексана, отмеренного дозатором, и интенсивно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Повторяют центрифугирование при 4 °С, 2000 g, в течение 10 мин, после чего осторожно удаляют верхний гексановый слой пипеткой Пастера.

1 см³ водного слоя переносят дозатором в пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. Пробирки помещают на лед и выдерживают в течение 15 мин. После этого проводят центрифугирование при температуре от 20 °С до 25 °С, 20000 g, в течение 5 мин. При отсутствии центрифуги, обеспечивающей вышеуказанный режим, вместо центрифугирования проводят фильтрование через шприц-фильтр.

9.5.7.1.2 Получение растворов проб масла при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

Отбирают дозатором 50 мм³ водной фазы по п. 9.5.7.1.1 и переносят в стеклянную пробирку вместимостью 5 см³. Затем в пробирку дозатором добавляют 800 мм³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб и тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1ч.

9.5.7.2 Подготовка проб масла при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

9.5.7.2.1 Получение экстрактов проб масла при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Образец масла, отобранный в соответствии с п. 9.1 и охлажденный до температуры не выше минус 10 °С, измельчают с помощью терки и перемешивают. Доводят температуру образца масла от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды.

От образца масла отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, и помещают их в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. Добавляют в пробирки отмеренный дозатором 1,5 см³ раствора метанола (2:8 по объему), приготовленного по п. 9.3.4, и выдерживают на водяной бане при температуре (40 ± 5) °С в течение 10 мин. За это время смесь перемешивают три раза, энергично встряхивая пробирку.

Центрифугируют пробирку при 4 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.7.2.2 Получение растворов проб масла при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Отбирают дозатором 50 мм³ среднего водного слоя по п. 9.5.7.2.1 и переносят в стеклянную пробирку вместимостью 5 см³. Затем в пробирку дозатором добавляют 450 мм³ буфера №1 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб и тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.8 Подготовка проб сгущенного молока

9.5.8.1 Получение восстановленного сгущенного молока

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды и тщательно перемешивают.

В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³ помещают две параллельные навески образца массой 25,0 г, взвешенные с точностью до 0,1 г.

Затем в стаканы с навесками порциями по 5–10 см³ приливают дистиллированную воду, нагретую до температуры 30 °С, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения образца содержимое стаканов количественно переносят в индивидуальные мерные колбы вместимостью 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Далее пробы восстановленного сгущенного молока подвергают процедуре обезжиривания, описанной в п. 9.5.8.2, для проб восстановленного обезжиренного сгущенного молока эту процедуру не производят.

9.5.8.2 Получение обезжиренного восстановленного сгущенного молока

С помощью дозатора отбирают пробы восстановленного сгущенного молока, приготовленные по п. 9.5.8.1, объемом 10 см³ и помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. Центрифугируют пробы в следующем режиме: 10 °С, 3000 g, 10 мин.

При отсутствии центрифуги с охлаждением пробы перед центрифугированием выдерживают в морозильной камере холодильника в течение 10–15 мин, охлаждая их до температуры от 2 °С до 8 °С, контролируя температуру термометром.

Шпателем или пипеткой Пастера удаляют верхний жировой слой, образовавшийся на поверхности после центрифугирования.

Отбирают по 2 см³ обезжиренной пробы и переносят в чистые пробирки (перед тем как вылить пробу в пробирку, наконечник дозатора вытирают фильтровальной бумагой для удаления следов жира). При необходимости пробы хранят в соответствии с п. 9.1.

9.5.8.3 Получение растворов проб сгущенного молока

В стеклянные пробирки вместимостью 5 см³ вносят отобранные дозатором 450 мм³ буфера №2 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб. Из каждой пробы, подготовленной по п. 9.5.8.1 или 9.5.8.2, отбирают дозатором по 50 мм³ и переносят в пробирки с буфером, предварительно очистив наконечник дозатора фильтровальной бумагой от следов жира. Содержимое пробирок перемешивают на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.9 Подготовка проб яиц, яичного порошка

9.5.9.1 Получение экстрактов проб яиц, яичного порошка

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды.

Образец яичного порошка перемешивают и восстанавливают в соответствии с п. 5.2.2 ГОСТ 30364.0. Перед отбором навесок восстановленный яичный порошок тщательно перемешивают. Яйца освобождают от скорлупы и гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

От гомогенизированного образца яиц или восстановленного яичного порошка отбирают две параллельные навески массой 4,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 50 см³ и в каждую

пробирку добавляют отмеренные дозатором следующие растворы:

- при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – 20 см³ 50 мМ раствора янтарной кислоты, приготовленного по п. 9.3.5;
- при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин – 20 см³ смеси метанола с буфером Макилвейна (1:1 по объему), приготовленного по п. 9.3.8.

Содержимое пробирок перемешивают путем встряхивания на шейкере или переворачивания на ротаторе в течение 15 мин.

Затем пробирки центрифугируют при температуре от 20 °С до 25 °С, 4000 g в течение 15 мин.

9.5.9.2 Получение растворов проб яиц, яичного порошка

Отбирают дозатором 100 мм³ надосадочного слоя по п. 9.5.9.1 и переносят в стеклянную пробирку вместимостью 5 см³. Затем в пробирку дозатором добавляют

- при использовании Ridascreen®Tetracyclin – 900 мм³ 20 мМ фосфатного буфера, приготовленного по п. 9.3.2;
- при использовании ПРОДОСКРИН®Тетрациклин – 900 мм³ буфера 1.

Тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

9.5.10 Подготовка проб творога, творожных продуктов, кисломолочных продуктов

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от 20 °С до 25 °С, выдерживая его при температуре окружающей среды, после чего перемешивают. При наличии в образце немолочных компонентов, в т.ч. глазури, их отбрасывают. Образцы творога, творожных продуктов гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 5,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³. Пробирки выдерживают на водяной бане при температуре 50 °С в течение 15 мин, после чего сразу же перемешивают на вортексе до образования гомогенной смеси.

Пробирки центрифугируют в следующем режиме: 10 °С, 4000 g, 10 мин. Переносят по 100 мм³ надосадочной жидкости в новые пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 см³ или 2 см³. В каждую пробирку добавляют отобранную дозатором аликвоту буфера №2 для разбавления градуировочных растворов и растворов проб следующим объемом:

- 1000 мм³ – для проб сметаны жирностью выше 15 % и творога (творожных продуктов) жирностью выше 5 %;
- 900 мм³ – для остальных проб.

Перемешивают содержимое пробирок на вортексе в течение 10 с.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от 20 °С до 25 °С не более 1 ч.

10 Порядок выполнения измерений

10.1 Общие требования

Для проведения измерений используют пробы, подготовленные в соответствии с п. 9.5. Компоненты тест-систем подготавливают в соответствии с п. 9.4.

10.2 Последовательность операций при выполнении измерений

10.2.1 В лунки микротитровального планшета, размеченного согласно п. 9.4.2, вносят отобранные дозатором две аликвоты объемом 50 мм³ каждого градуировочного раствора. Каждую аликвоту вносят в отдельную лунку, внесение производится в порядке

возрастания концентраций градуировочных растворов (т.е. 0; 0,05; 0,15; 0,30; 0,60; 1,80 мкг/дм³).

10.2.2 В соответствующие лунки микротитровального планшета вносят отобранные дозатором аликвоты объемом 50 мм³ двух параллельных проб каждого образца, приготовленных по п. 9.5.

10.2.3 В каждую лунку микротитровального планшета вносят

– при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – отобранные дозатором 50 мм³ раствора антител;

– при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин – отобранные дозатором 50 мм³ раствора конъюгата, приготовленного по п. 9.4.4.2.

Аккуратными круговыми движениями планшета по поверхности стола перемешивают содержимое лунок. Встряхивания, постукивания планшетом по столу не допустимы.

10.2.4 Помещают планшет в инкубатор при температуре от 20 °С до 25 °С и инкубируют в течение 60 мин. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет инкубируют в течение 60 мин в защищенном от света месте при условиях, указанных в разделе 7.

10.2.5 По окончании инкубации жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета.

10.2.6 Промывают планшет три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки планшета по 250 мм³ моющего буфера, приготовленного по п. 9.4.5, и затем выливая его резким переворачиванием планшета. После последнего промывания планшет переворачивают и удаляют остатки жидкости путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому листом сухой фильтровальной бумаги.

Примечание – В процессе работы следует избегать высыхания лунок в перерывах между отдельными этапами работы и увеличения перерывов. Точность результатов измерений зависит от равномерного промывания лунок, поэтому следует точно соблюдать процесс промывки. Рекомендуется проводить процедуру промывки планшета с помощью устройства для промывки планшетов, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки – 3, объем используемого промывочного раствора – 250 мм³.

10.2.7 При использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – в каждую лунку вносят дозатором по 100 мм³ раствора конъюгата вторичных антител с пероксидазой и аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

При использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин – переходят к выполнению действий согласно п. 10.2.11.

10.2.8 При использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – помещают планшет в инкубатор при температуре от 20 °С до 25 °С и инкубируют в течение 15 мин. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет инкубируют в течение 15 мин при условиях, указанных в разделе 7.

10.2.9 При использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – по окончании инкубации жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета.

10.2.10 При использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin – промывают планшет три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки планшета по 250 мм³ моющего буфера, приготовленного по п. 9.4.5, и затем выливая его резким переворачиванием планшета. После последнего промывания планшет переворачивают и удаляют остатки жидкости путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому листом сухой фильтровальной бумаги.

10.2.11 В каждую лунку планшета дозатором вносят по 100 мм³ раствора субстрата/хромогена. Аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

10.2.12 Помещают планшет в инкубатор при температуре от 20 °С до 25 °С и инкубируют в течение 15 мин. Отсчет времени инкубации начинают немедленно после

окончания внесения раствора субстрата/хромогена. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет выдерживают в течение 15 мин в защищенном от света месте, при условиях, указанных в разделе 7.

10.2.13 Сразу же после окончания инкубации в каждую лунку планшета дозатором вносят по 100 мм³ раствора стоп-реагента в той же последовательности и с той же скоростью, которые использовались при добавлении раствора субстрата/хромогена и аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

10.2.14 В течение 15 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке планшета на автоматическом микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм. Измерения проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

10.2.15 Регистрацию промежуточных измерений проводят в журнале по форме, предусмотренной системой менеджмента лаборатории.

11 Обработка результатов измерения

11.1 Расчет и интерпретация окончательного результата измерений

Обработка результатов измерений оптической плотности производится с помощью программного обеспечения "RIDA®Soft", разработанного R-Biopharm AG (Германия), далее «программное обеспечение».

Примечание – техническая помощь и поддержка программного обеспечения осуществляется официальным представителем компании R-Biopharm в РФ – ОДО «КомПродСервис» при предоставлении протоколов, выданных вышеуказанным программным обеспечением.

Программное обеспечение автоматически осуществляет:

- построение градуировочной зависимости концентрация-относительная оптическая плотность ($100 \cdot B_i / B_1$), где B_i – оптическая плотность i -го градуировочного раствора ($i = 2..6$), B_1 – оптическая плотность 1-го градуировочного раствора, содержащего 0 мкг/кг тетрациклина;

- расчет фактического значения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробах на основании рассчитанного значения относительной оптической плотности и задаваемого оператором фактора разбавления.

Для получения результата измерений задают следующие настройки:

- фактор разбавления (Samples→Dilution factor) согласно таблице 7;
- количество параллельных определений образца (Samples→Replicates) – 1;
- количество параллельных определений градуировочного раствора (Standards→Replicates) – 2.

За окончательный результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух измерений параллельных проб при выполнении условия повторяемости по п. 11.2

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (3)$$

где X_1 , X_2 – результаты двух измерений массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в параллельных пробах, мкг/кг, полученные при помощи программного обеспечения.

Окончательный результат измерений округляют до первого десятичного знака.

Если среднее арифметическое значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробах оказывается меньше значения нижней границы диапазона измерений, приведенного в разделе 2, то дается односторонняя оценка массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в образце согласно п. 12.2.

Если среднее арифметическое значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробах оказывается больше значения верхней границы диапазона измерений, приведенного в разделе 2, то дается односторонняя оценка массовой доли

антибиотиков группы тетрациклинов в образце согласно п. 12.3.

Таблица 7 - Факторы разбавления

Виды продукции	Значения фактора разбавления
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, восстановленные сухие смеси для детского питания, творог, творожные продукты, кисломолочные продукты, мороженое на молочной основе, мясо, рыба, продукты из рыбы	10
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, готовые мясные продукты, консервы мясные и мясорастительные, жиры животные, шпик, субпродукты	20
Сгущенное молоко	40
Сыр	24
Яйца, порошок яичный	60
Мед	50
Масло сливочное 50 % жирности	25*
Масло сливочное 65 %, 67 % жирности	22,5*
Масло сливочное 70 %, 72,5 % жирности	21,5*
Масло сливочное 75 %, 78 % жирности	20,5*
Масло сливочное 82,5 %, 84 % жирности	19,5*
Масло сливочное 50-84 % жирности	25**
* При использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin	
** При использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин	

11.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Рассчитывают расхождение между результатами измерений параллельных проб одного образца $|X_1 - X_2|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости r_{abs} . Если выполняется условие

$$|X_1 - X_2| \leq r_{abs}, \quad (4)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение $\bar{X}$, рассчитанное по формуле (3).

Абсолютное значение предела повторяемости r_{abs} , мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$r_{abs} = 0,1 \cdot r \cdot \bar{X}, \quad (5)$$

где $\bar{X}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений параллельных проб одного образца, мкг/кг;

r – относительное значение предела повторяемости, приведенное в таблицах 8 и 9, %.

При невыполнении условия (4) проводят повторные измерения согласно разделу 10.

Все результаты обработки результатов измерений, в том числе промежуточные, подлежат регистрации в соответствии с порядком, установленным в системе менеджмента лаборатории.

12 Форма представления результатов измерений

12.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности

Результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде

$$(\bar{X} \pm U(X)), \text{ мкг/кг}$$

при доверительной вероятности $P = 0,95$, $K=2$

где $\bar{X}$ – результат измерений, мкг/кг, полученный в соответствии с настоящей методикой и рассчитанный согласно разделу 11;

$U(X)$ – расширенная неопределенность результатов измерений, мкг/кг.

Расширенную неопределенность результата измерений $U(X)$, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$U(X) = 0,01 \cdot U \cdot \bar{X}, \quad (6)$$

где U – относительная расширенная неопределенность результата измерений, выполняемых в соответствии с методикой, %, приведенная в таблицах 3 и 4.

При необходимости может быть проведена оценка расширенной неопределенности измерений, выполняемых в соответствии с данной методикой при ее реализации в конкретной лаборатории.

12.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов с использованием нижней границы диапазона измерений

Если значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробах, полученное на основании значения относительной оптической плотности и заданного фактора разбавления, оказывается меньше значения нижней границы диапазона измерений, указанного в разделе 2, то дается односторонняя оценка массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в образце в виде

$$\text{менее } X_{LQ}, \text{ мкг/кг}$$

где X_{LQ} – значение нижней границы диапазона измерений, приведенное в разделе 2, мкг/кг.

12.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов с использованием значения верхней границы диапазона измерений

Если значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробах, полученное на основании значения относительной оптической плотности и заданного фактора разбавления, оказывается больше значения верхней границы диапазона измерений X_{HL} , указанного в разделе 2, то дается односторонняя оценка массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в образце в виде

$$\text{более } X_{HL}, \text{ мкг/кг}$$

где X_{HL} – значение верхней границы диапазона измерений, приведенное в разделе 2, мкг/кг.

13 Контроль точности результатов измерений

13.1 Периодичность проведения контроля точности

Контроль точности измерений выполняется с периодичностью, установленной системой менеджмента качества в лаборатории, но обязательно:

- при внедрении методики;
- при появлении факторов, влияющих на стабильность процесса по результатам анализа контрольных карт;
- при значимых изменениях в условиях измерений (другая партия реагентов, новые средства измерений, ремонт оборудования и т.д.);
- при любых выявленных несоответствиях в работе лаборатории, применительно к методике.

13.2 Контроль результатов, полученных в условиях повторяемости

Оперативный контроль повторяемости выполняется для каждой пробы после

измерения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов при расчете конечного результата измерений по результатам двух параллельных определений в соответствии с п. 11.2.

13.3 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности

Проверку приемлемости результатов измерений при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин, полученных в условиях промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами оператор-время, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Лаборатория получает два результата измерений $\bar{X}_1$, $\bar{X}_2$ согласно разделу 10, варьируя факторы промежуточной прецизионности (оператор, время) и обеспечивая контроль повторяемости по п. 11.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение двух результатов $\bar{X}_1$, $\bar{X}_2$

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2}, \quad (7)$$

при их соответствии условию (8)

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq CD_{abs}, \quad (8)$$

где CD_{abs} – абсолютное значение критической разности, мг/кг, рассчитываемое по формуле

$$CD_{abs} = 0,01 \cdot CD \cdot \bar{\bar{X}}, \quad (9)$$

где CD – относительное значение критической разности, приведенное в таблице 8, %.

Таблица 8 - Относительные значения предела повторяемости, критической разности и норматива контроля правильности при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Виды продукции	Предел повторяемости r , %	Критическая разность CD , %	Норматив контроля правильности K_{omn} , %
Мясо, рыба, продукты из рыбы, масло сливочное	15	13	16
Мясорастворительные консервы, готовые мясные продукты, жир, сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, молочные коктейли, мороженое, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания	15	13	14
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, сыр, стуженное молоко, творог, творожные продукты, кисломолочные продукты, яйца, порошок яичный, мед	13	13	14

13.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений при использовании тест-системы Ridascreen®Tetracyclin, полученных в условиях воспроизводимости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом

Каждая из двух лабораторий проводит измерения согласно разделу 10 и получает результат измерений, обеспечивая контроль повторяемости по п. 11.2.

Рассчитывают среднее арифметическое значение $\bar{\bar{X}}$, мкг/кг, результатов измерений

двух лабораторий $\bar{X}_1$ и $\bar{X}_2$ соответственно

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2}, \quad (10)$$

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами измерений $|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|$, полученными в двух лабораториях, значение которого сравнивают с абсолютным значением критической разности CD_{abs} . Если выполняется условие

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq CD_{abs}, \quad (11)$$

то оба конечных результата, полученные двумя лабораториями считаются приемлемыми и общее среднее значение $\bar{\bar{X}}$, рассчитанное по формуле (10) может быть использовано в качестве заявляемого результата.

Абсолютное значение критической разности CD_{abs} , мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$CD_{abs} = 0,01 \cdot CD \cdot \bar{\bar{X}}, \quad (12)$$

где $\bar{\bar{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений двух лабораторий, мкг/кг;

CD – относительное значение критической разности, %, приведенное в таблице 9.

При превышении значения критической разности для разрешения различий между результатами, полученными двумя лабораториями, используют процедуры, указанные в разделе 5 СТБ ИСО 5725-6.

Таблица 9 — Относительные значения предела повторяемости, критической разности и норматива контроля правильности при использовании тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

Виды продукции	Предел повторяемости r , %	Критическая разность CD , %	Норматив контроля правильности $K_{отп}$, %
Сырое, пастеризованное, стерилизованное, восстановленное сухое молоко, мороженое на молочной основе, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, кисломолочные продукты, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания	14	18	13
Сыр, масло сливочное	21	27	20
Творог, творожные продукты, сгущенное молоко, яйца, порошок яичный	10	24	17
Мясо, готовые мясные продукты, консервы мясные и мясорастительные, жиры животные, шпик, субпродукты, рыба, продукты из рыбы, мед	13	20	15

13.5 Контроль правильности

Контроль правильности определения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов производится путем анализа образцов для контроля (ОК) с заранее известным значением массовой доли вещества (рабочая проба с добавкой).

Контроль правильности проводится с использованием добавок тетрациклина. Неопределенность аттестованного значения массовой доли тетрациклина в ОК не должна превышать одной трети от значения неопределенности результата измерений.

13.5.1 Образцы для контроля, представляющим собой рабочие пробы с добавкой

Данные ОК представляют собой навеску пробы, массовая доля антибиотиков группы тетрациклинов в которой менее предела измерения данной методики измерений, в которую внесена добавка раствора тетрациклина. Добавка вносится непосредственно в пробирки с навесками (аликвотами) проб. Значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов X_{am} , мкг/кг, в пробе с добавкой рассчитывается по формуле

$$X_{am} = \frac{C_{ST} \cdot V_{ST}}{m}, \quad (13)$$

где C_{ST} – концентрация раствора тетрациклина, нг/см³;
 V_{ST} – объем раствора тетрациклина, см³;
 m – масса навески пробы, г.

Примечание – Принимается, что для сырого, пастеризованного, стерилизованного молока масса m численно равна объему аликвоты в см³.

Для внесения добавки используют раствор тетрациклина, приготовленный из набора (компонентов) для приготовления spike-раствора. Значение концентрации в растворе для добавки (spike-раствор) должно обеспечивать возможность внесения добавки тетрациклина ко всем видам продукции согласно области применения во всем диапазоне измерений методики. Относительная стандартная неопределенность массовой доли тетрациклина в растворе для добавки должна быть не более 3 %, относительная стандартная неопределенность добавляемого объема spike-раствора – не более 1,5%.

13.5.2 Проведение контрольной процедуры

При проведении контрольной процедуры для мяса, рыбы, продуктов из рыбы, масла сливочного при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин получают серию из шести результатов измерений ОК в условиях повторяемости в соответствии с требованиями раздела 10. При проведении контрольной процедуры для остальных видов продукции получают два результата измерений параллельных проб ОК в соответствии с требованиями раздела 10.

За результат контрольного измерения, $\overline{X}_K$, мкг/кг, принимают:

– при проведении контрольной процедуры для мяса, рыбы, продуктов из рыбы, масла сливочного при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН® Тетрациклин – результат измерения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в ОК, рассчитанный по формуле (14), при выполнении условия повторяемости по п. 12 с использованием вместо относительного предела повторяемости r , приведенного в таблице 9, значения $1,43 \cdot r$;

– при проведении контрольной процедуры в остальных случаях результат измерения массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в ОК рассчитанный по формуле (3) при выполнении условия повторяемости по п. 12.

$$\overline{X}_K = \frac{\sum_{i=1}^6 X_i}{6}, \quad (14)$$

где X_i – i -ый результат измерений ОК, мкг/кг.

Критерием приемлемости является условие

$$|\overline{X}_K - X_{am}| \leq 0,01 \cdot K_{отн.} \cdot X_{am}, \quad (15)$$

где $K_{отн.}$ – относительный норматив контроля правильности, %, приведенный в таблицах 8 и 9.

X_{am} – установленное значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в ОК, мкг/кг.

При невыполнении данного условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (15) выясняют причины, приводящие к

неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.6 Контроль стабильности результатов измерений с применением контрольных карт Шухарта

С помощью контрольных карт Шухарта (КК) контролируют следующие показатели точности:

- повторяемость (R-карта или карта размахов);
- наличие смещения или правильность (Recovery-карта).

Подготовка и оформление исходных данных, расчеты параметров КК, ведение, управление и интерпретация КК должны осуществляться в соответствии с требованиями [5] и СТБ ИСО 5725-6, раздел 6.

Для проверки стабильности соответствия результатов испытаний показателям повторяемости, установленным данной методикой, применяются КК с заданными стандартными значениями. В этом случае для построения КК используют показатели повторяемости в соответствии с таблицами 1 и 2.

Примечание – При применении КК в течение длительной времени, для расчета границ КК могут быть использованы данные измерений, накопленные в процессе ведения и обработки КК. Однако соответствие результатов измерений требованиям данной методики может быть заявлено только в том случае, если показатель повторяемости, рассчитанный по накопленным лабораторией данным, статистически не превышает установленных методикой значений.

Для построения и ведения R-карт в качестве ОК могут использоваться рабочие образцы.

Для построения и ведения Recovery-карт используются ОК, представляющие собой рабочие пробы с добавками раствора тетрациклина, приготовленного из тетрациклина гидрохлорида в соответствии с прилагаемой к нему инструкцией. Предварительно установленная массовая доля антибиотиков группы тетрациклинов в данных пробах без добавки должна быть менее предела измерения данной методики. Рекомендуется вносить добавку тетрациклина в образцы для контроля на уровне массовых долей в рабочих пробах.

13.6.1 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация контрольных карт Шухарта размахов для контроля стабильности среднего квадратического отклонения повторяемости

Рассчитываются значения центральной линии, границ регулирования и предупреждающих границ по формулам

- Центральная линия

$$d_2 \cdot \sigma_r = 1,128 \cdot \sigma_r, \quad (16)$$

где σ_r – относительное стандартное отклонение повторяемости, %, приведенное в таблицах 1 и 2.

- Предупреждающие границы

$$UCL_1 = D_2^1 \cdot \sigma_r = 2,834 \cdot \sigma_r, \quad (17)$$

- Границы регулирования

$$UCL_2 = D_2 \cdot \sigma_r = 3,686 \cdot \sigma_r, \quad (18)$$

Графическое построение КК состоит в проведении на выбранной шкале центральной линии и контрольных границ.

Ведение КК предусматривает набор данных X_1, X_2 при выполнении испытаний ОК в условиях повторяемости в полном соответствии с методикой, расчета фактических относительных значений размаха W по формуле (19), оформлении Листа данных КК и нанесения данных на КК.

$$W = \frac{200 \cdot |X_1 - X_2|}{X_1 + X_2}, \quad (19)$$

где X_1, X_2 – значения результатов измерений, полученных в условиях повторяемости.

Интерпретация данных КК осуществляется в соответствии с [5], п. 7.

Оценку стандартного отклонения повторяемости S_r за контролируемый период получают по формулам (19), (20)

$$S_r = \frac{\sum_{i=1}^N W_i / N}{d_2}, \quad (20)$$

где N – общее число измерений (точек) на КК, для получения значений центральной линии и границ необходимо, чтобы $N = 15..20$;

d_2 – коэффициент, $d_2 = 1,128$.

13.6.2 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация Recovery-карт для контроля стабильности правильности

Рассчитываются значения центральной линии, границ регулирования и предупреждающих границ по формулам

– Центральная линия

$$\overline{Rec} = \frac{\sum_{i=1}^N Rec_i}{N}, \quad (21)$$

где N – количество измерений для расчета значений центральной линии и границ КК;

Rec_i – значение извлечения (Recovery), %, рассчитываемое по результатам i -го измерения пробы с добавкой тетрациклина, по формуле

$$Rec_i = \frac{X_i}{X_{exp}} \cdot 100, \quad (22)$$

где X_i – массовая доля антибиотиков группы тетрациклинов в пробе с добавкой, полученное для i -го измерения, мкг/кг;

X_{exp} – рассчитанное значение массовой доли антибиотиков группы тетрациклинов в пробе с добавкой, мкг/кг.

– Предупреждающие границы

$$UCL_1 = \overline{Rec} + 2 \cdot S_{REC}, LCL_1 = \overline{Rec} - 2 \cdot S_{REC}, \quad (23)$$

– Границы регулирования

$$UCL_2 = \overline{Rec} + 3 \cdot S_{REC}, LCL_2 = \overline{Rec} - 3 \cdot S_{REC}, \quad (24)$$

где S_{REC} – стандартное отклонение извлечения, %, рассчитываемое по формуле

$$S_{REC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\overline{Rec} - Rec_i)^2}{N - 1}}. \quad (25)$$

Графическое построение КК состоит в проведении на выбранной шкале центральной линии и контрольных границ.

Ведение КК предусматривает набор данных единичных измерений X_i , при выполнении испытаний ОК в соответствии с методикой, расчета фактических значений

коэффициента извлечения Res_i , по формуле (22), оформлении Листа данных нанесения данных КК и нанесения данных на КК.

Интерпретация данных КК осуществляется в соответствии с [5], п. 7.

Приложение А
(справочное)
Метрологические характеристики средств измерений

Таблица А.1 – Метрологические характеристики дозаторов

Диапазон показаний объемов дозирования, мм ³	Диапазон измерения объемов дозирования, мм ³	Номинальный объем дозы, мм ³	Пределы допускаемого относительного отклонения среднего арифметического значения фактического объема дозы от номинального, %	Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы при доверительной вероятности P=0,95, %	Дискретность установки объема дозы, мм ³
Acura manual 825					
от 20,0 до 200,0	20,0	±2,0	3,0	0,2	
	100,0	±1,5	2,0		
	200,0	±1,5	2,0		
от 100 до 1000	100	±1,5	2,0	1	
	500	±1,0	1,0		
	1000	±1,0	1,0		
Acura manual 835					
от 1000 до 10000	1000	±2,0	1,0	10	
	5000	±1,1	1,0		
	10000	±1,0	1,0		
Acura manual 855					
от 40,0 до 350,0	40,0	±2,0	3,0	0,4	
	175,0	±1,5	2,0		
	350,0	±1,5	2,0		

Приложение Б
(справочное)
Составы тест-систем

Таблица Б.1 – Состав тест-системы Ridascreen®Tetracyclin

Компонент тест-системы	Количество в комплекте, шт.
Микротитровальный планшет (12 стрипов по 8 лунок, покрытых конъюгатом тетрациклина с белком)	1
Концентраты для приготовления градуировочных растворов: водные растворы тетрациклина с концентрацией 0 мкг/дм ³ , 0,5 мкг/дм ³ , 1,5 мкг/дм ³ , 3,0 мкг/дм ³ , 6,0 мкг/дм ³ , 18,0 мкг/дм ³ , объем 1,3 см ³	6
Конъюгат вторичных антител с пероксидазой (раствор, готовый к применению), объем 10 см ³	1
Антитела к тетрациклину (раствор, готовый к применению), объем 6 см ³	1
Субстрат/хромоген, раствор, окрашенный в красный цвет, содержит тетраметилбензидин, объем 10 см ³	1
Стоп-реагент, содержит 1 н серную кислоту, объем 14 см ³	1
Буфер №1, готовый к применению, используется для разбавления градуировочных растворов и растворов проб, объем 60 см ³	1
Буфер №2, готовый к применению, используется для разбавления градуировочных растворов и растворов проб при анализе молочных продуктов, объем 60 см ³	1
Моющий буфер, соль для приготовления 10 мМ фосфатного буфера (pH 7,4), содержит 0,05 % твина-20	1

Таблица Б.2 – Состав тест-системы ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Компонент тест-системы	Количество в комплекте, шт.
Микротитровальный планшет (12 стрипов по 8 лунок, покрытых антителами к тетрациклину)	1
Лиофилизированный стандарт тетрациклина с концентрацией 1,8 мкг/дм ³ в восстановленном стандарте	3
Конъюгат тетрациклина с пероксидазой, лиофилизированный	1
Раствор для разведения конъюгата, готовый к применению, объем 14 см ³	1
Субстрат, объем 14 см ³	1
Хромоген, раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ), объем 0,7 см ³	1
Стоп-реагент, содержит 1 н серную кислоту, объем 14 см ³	1
Буфер №1, готовый к применению, используется для приготовления градуировочных растворов и растворов проб, объем 60 см ³	1
Буфер №2, готовый к применению, используется для приготовления градуировочных растворов и растворов проб при анализе молочных продуктов, объем 60 см ³	1
Моющий буфер, 10-кратный концентрат, объем 50 см ³	1

Примечание – В состав тест-системы ПРОДОСКРИН®Тетрациклин вместо растворов хромогена и субстрата может быть включен субстрат/хромоген в виде готового к использованию раствора, объем 14 см³, 1 шт.

Приложение В
(справочное)
Специфичность тест-систем

Таблица В.1 – Специфичность тест-систем Ridascreen®Tetracyclin

Антибиотик	Кросс-реактивность, %
Тетрациклин	100
Хлортетрациклин	70
Ролитетрациклин	34
Демеклоциклин	26
Окситетрациклин	13
Миноциклин	3
Доксициклин	2

Таблица В.2 – Специфичность тест-систем ПРОДОСКРИН®Тетрациклин

Антибиотик	Кросс-реактивность, %
Тетрациклин	100
4-Эпитетрациклин	87
Окситетрациклин	52
Хлортетрациклин	51
4-Эпиокситетрацилин	49
Демеклоциклин	41
4-Эпихлортетрациклин	33
Доксициклин	23

Библиография

- [1] VAM Project 3.2.1 Development and Harmonization of Measurement Uncertainty Principles. Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data, V.J. Barwick, and S.I.R. Ellison, LGC/VAM/1998/088
(Проект VAM 3.2.1 Развитие и гармонизация принципов неопределенности измерений. Часть (d): Протокол для оценки неопределенности по данным валидации)
- [2] ISO 21748:2017 Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценивании неопределенности измерения
- [3] ТУ 6-09-3375-78 н-Гексан
- [4] ТУ ВУ 100185129.149-2015 Тест-системы для определения антибиотиков группы тетрациклинов методом иммуноферментного анализа
- [5] ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта

