

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению тест-набора Rapid Test Strip for MILK-BTCS (Kwinbon Biotechnology Co., Ltd) для определения остаточного количества **бета-лактамов, тетрациклинов, хлорамфеникола (левомицетина) и стрептомицина** в сыром, пастеризованном, стерилизованном, предварительно восстановленном сухом молоке и молочной сыворотке

## 1. Общие сведения

1.1 Тест-набор предназначен для качественного экспресс-анализа по одновременному определению остаточного количества бета-лактамов, тетрациклинов, хлорамфеникола и стрептомицина в сыром, пастеризованном, стерилизованном, предварительно восстановленном сухом молоке и молочной сыворотке. Предел обнаружения находится на уровне не выше установленного в ТР ТС 033/2013 и Перечне, утвержденном Решением № 28 Коллегии ЕЭК от 13 февраля 2018 г.

Таблица 1. Наименьший предел определения антибиотиков в образцах

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения, мкг/кг(дм <sup>3</sup> ) <sup>1</sup> , ppb	Наименование антибиотика	Наименьший предел определения, мкг/кг(дм <sup>3</sup> ), ppb
<b>Пенициллин G</b>	2 – 3	Цефалексин	1000
Ампициллин	3 – 4	Цефепим	3 - 4
Амоксициллин	3 – 4	Цефазолин	50
Бензиллин	3 – 4	Цефоперазон	3 - 4
Диклосациллин	4 – 5	Цефкином	10 - 12
Клоксациллин	4 – 5	Цефтиофур	60 - 80
Нафциллин	14 – 16	Цефалирин	15 - 20
Оксациллин	5 – 6	Цефтриаксон	55 - 60
Цефазетрил	35 – 40	Цефрадин	100 - 120
Цефалониум	3 – 4	Цефадроксил	80 - 100
<b>Тетрациклин</b>	4 – 6	<b>Хлорамфеникол</b>	0.2 - 0.3
Доксициклин	8 – 10	<b>Стрептомицин</b>	40 - 100
Окситетрациклин	4 – 6	Дигидрострептомицин	40 - 60
Хлортетрациклин	4 – 6		

1.2 Тест-набор рассчитан для проведения анализов 96 проб молока, молочной сыворотки и включает:

- пластиковые тубы с 8 микролунками и 8 тест-полосками (12 туб);
- пластиковые наконечники для дозатора (200 мкл, 96 шт.);
- отрицательный контроль – сухое молоко, не содержащее антибиотиков (1 банка);
- положительный контроль – сухой порошок, содержащий 3 мкг/дм<sup>3</sup> (ppb) пенициллина G, 40 мкг/дм<sup>3</sup> стрептомицина, 10 мкг/дм<sup>3</sup> (ppb) тетрациклина, 0,3 мкг/дм<sup>3</sup> хлорамфеникола (металлизированное саше с 8 микролунками);
- пластиковую подставку для микролунок (1 шт.);
- инструкцию по применению тест-набора (1 шт.);
- сертификат соответствия надлежащего производственного контроля (1 шт.).

## 2. Принцип действия

2.1 Тест-набор MILK-BTCS основан на иммунохроматографической технологии с использованием коллоидного золота. Каждая микролуночка содержит определенное количество специфических антител к бета-лактамам, тетрациклинам, хлорамфениколу и стрептомицину, конъюгированных с частицами золота. Если в лунку внесено молоко, не содержащее антибиотиков, антитела, меченные золотом, мигрируют по хроматографической полоске, помещенной в лунку с пробой, взаимодействуют с нанесенным на полоску антигеном и образуют цветные линии, соответствующие антибиотикам. Если в молоке присутствуют один или несколько антибиотиков, они реагируют с антителами, конъюгированными с частицами золота, в следствие чего окрашивание линий антибиотиков не происходит или интенсивность их окраски меньше, чем контрольной линии.

## 3. Порядок применения

3.1 Для проведения анализа используйте инкубатор-термостат (твердотельный термостат) с рабочей температурой (+45±2 °С) или твердотельный термостат с лунками, обеспечивающими плотный контакт с микролунками тест-набора.

3.2 Перед началом исследования достаньте требуемое количество микролунок и тест-полосок из холодильника и выдержите их при комнатной температуре (до достижения температуры окружающей среды). Тест-полоски необходимо использовать в течение 24 часов после извлечения их из холодильника. Не проводите одновременный анализ более 8 проб.

3.3 Включите инкубатор-термостат и ожидайте когда температура достигнет +45 °С.

3.4 Тщательно размешайте пробы молока или молочной сыворотки до однородной консистенции. Для исследования сухого продукта необходимо в чистой емкости смешать 10 г сухого молока с 90 мл теплой (+45 °С) дистиллированной воды или 12,5 г сухой молочной сыворотки с 87,5 мл теплой (+45 °С) дистиллированной воды до полного растворения продукта. Значение pH молочной сыворотки не должно быть менее 6, в противном случае значение pH необходимо довести до 6–7, добавляя раствор гидроксида натрия молярной концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup>.

3.5 При открытии новой упаковки тестов проведите исследование отрицательного и положительного контролей.

3.5.1 **Отрицательный контроль:** в пластиковую банку с чистым сухим молоком добавьте 5 мл теплой (+45 °С) дистиллированной или деионизированной воды. Хорошо взболтайте смесь и подождите 1 мин 30 сек., после этого встряхните флакон в течение 10 секунд. Перейдите к п. 3.6.

<sup>1</sup> 1 мкг/кг = 0,001 мг/кг

Раствор отрицательного контроля хранится не более 24 часов (в темном месте при температуре от +2 °С до +8 °С и относительной влажности воздуха не более 85 %).

3.5.2 **Положительный контроль:** достаньте микролунку (белого цвета) с антибиотиками из металлизированного саше, добавьте в нее 200 мкл раствора из банки с отрицательным контролем (п. 3.5.1), помешайте раствор 3-5 раз с помощью дозатора до полного разбавления реагентов. Не добавляйте в микролунку с белым раствором тестовую полоску, перейдите к п. 3.6. Раствор положительного контроля хранится не более 24 часов (в темном месте при температуре от +2 °С до +8 °С и относительной влажности воздуха не более 85 %).

3.6 Откройте пластиковую тубу и извлеките панель с микролунками (фиолетового цвета). Снимите пластиковую крышку с микролунки и поместите ее в термостат (нагретый до температуры +45 °С).

3.6.1 Добавьте в микролунку из тубы 200 мкл пробы молока или отрицательного контроля (приготовленному по п. 3.5.1) или положительного контроля (приготовленному по п. 3.5.2). Размешайте пробу находящуюся в микролунке с помощью дозатора 3-5 раз до полного разбавления реагентов.

3.6.2 После смешивания компонентов нажмите на кнопку START (ЗАПУСК) инкубатора-термостата и проведите первую инкубацию в течение 3-х минут (до звукового сигнала).

3.6.3 По истечении 3-х минутной инкубации опустите в микролунку тест-полоску маленькой пористой подложкой снизу (опускаемый конец тест-полоски ориентирован ко дну пластиковой тубы).

3.6.4 Проведите вторую инкубацию с тест-полоской в течение 6 минут (до звукового сигнала). В течение этого времени происходит поднятие жидкости вверх по тест-полоске и на ней проявляются линии.

3.6.5 По истечении 6 минут (после звукового сигнала) достаньте тест-полоску из микролунки, удалите с нижней части губку (короткую пористую подложку), разместите тест-полоску на белом листе бумаги и прочитайте результат в течение 5 минут.



#### 4. Учет и интерпретация результатов

4.1 Учет результатов и их интерпретацию проводите только в том случае, если на тест-полосках видна верхняя контрольная линия и получены корректные результаты на тест-полосках с контролями: на полоске с отрицательным

контролем видны 5 линий, на тест-полоске с положительным контролем только одна верхняя линия или она ярче остальных.

4.2 Для чтения результат сравните линию антибиотика с контрольной линией, обращая внимание на наличие и интенсивность окраски линий. Толщина линий не имеет значения. Начните оценку с нижней линии β-лактамов.

Если линия антибиотика имеет более интенсивный цвет, чем контрольная линия, то результат **отрицательный**, исследуемая проба не содержит антибиотика или его концентрация ниже предела, указанного в таблице 1.

Если линия антибиотика такая же или светлее по цвету, чем контрольная линия или она отсутствует, то результат **положительный**, исследуемая проба содержит антибиотика на уровне или выше указанного в таблице 1.

Аналогично проведите оценку других линий антибиотиков. При получении сомнительного результата или необходимости подтверждения положительного результата проведите тест повторно.

4.3 Для определения наличия антибиотиков, учета и хранения результатов можно использовать считывающее устройство. Определение и учет результатов с использованием считывающего устройства необходимо провести в течение 5 минут после завершения теста.

#### 5. Указания по применению и меры безопасности

5.1 Тест-набор не содержит опасных компонентов. Использованные компоненты утилизируются в общем порядке.

5.2 Если в пластиковой тубе остаются реагенты, ее необходимо плотно закрыть крышкой. Не вскрывайте новую пластиковую тубу, не использовав полностью предыдущую.

5.3 Если для исследования предполагается использовать меньше 8 микролунок, отломите необходимое количество лунок, сохраняя на оставшихся микролунках крышки.

5.4 Тест-полоски можно сохранить. Для этого после окончания теста с нижней части удалите короткую пористую подложку и просушите тест-полоску.

5.5 Применяемые для определения антибиотиков оборудование, средства измерений, посуда, материалы и реактивы, не входящие в состав тест-систем, должны соответствовать нормативным актам и применяться в соответствии с документацией на них.

#### 6. Транспортировка и хранение

6.1 Перевозите тест-наборы любым видом транспорта в течение 2 суток при температуре не выше 25 °С.

6.2 Храните тест-наборы в сухом темном месте при температуре от +2 °С до +8 °С в течение срока годности.

6.3 Растворенные контрольные образцы хранятся не более 24 часов в сухом темном месте при температуре от +2 °С до +8 °С.

#### 7. Гарантии изготовителя

7.1 Завод-изготовитель гарантирует соответствие тест-набора требованиям технических условий при соблюдении потребителем условий транспортирования, хранения и эксплуатации.