

## Приложение А

Технический отчет по валидации тест-наборов «Garant Ultra», «Garant 4 Ultra milk» и «Garant QMLE» компании Ring Biotechnology Co Ltd, Китай

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ»  
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

УТВЕРЖДАЮ

Врио директора ФГАНУ «ВНИМИ»

Д.Т.Н.



Д.В. Харитонов

2018

**ТЕХНИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ**  
**по валидации тест-наборов**  
**«Garant Ultra», «Garant 4 Ultra milk» и «Garant QMLE»**  
**производства компании**  
**Ring Biotechnology Co Ltd, Китай**

Заказчик: ООО «Технологии Инновации Аналитика Наука-Трейд»

Объекты валидации:

- тест-набор по определению наличия остаточного содержания  $\beta$ -лактамной и тетрациклиновой групп антибиотиков в молоке «GARANT ULTRA»;
- тест-набор по определению наличия остаточного содержания  $\beta$ -лактамной, тетрациклиновой групп антибиотиков, стрептомицина и хлорамфеникола в молоке «GARANT 4 ULTRA MILK»;
- тест-набор по определению наличия остаточного содержания антибиотиков групп хинолонов, макролидов (в т.ч. эритромицина) и линкомицина в молоке «GARANT QMLE»

г. Москва

2018г

### **А.1 Назначение и область применения тест-наборов**

Тест-наборы «Garant ultra», «Garant 4 ultra milk», «Garant QMLE» производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай) предназначены для одновременного определения наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром.

Метод основан на связывании антибиотиков, находящихся в анализируемом продукте, с антителами, вызывающими окрашиваемую иммунохроматографическую реакцию с последующим определением интенсивности окраски продуктов биохимической реакции визуальным методом или инструментально с помощью специального считывающего устройства – ридера.

Наличие антибиотиков устанавливается в результате сравнения интенсивности окрашивания зоны тест-полоски, соответствующей анализируемому продукту, с интенсивностью окрашивания контрольной зоны тест-полоски.

### **А.2 Описание тест-наборов «Garant» производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай)**

#### **А.2.1 Описание тест-набора «Garant ultra»**

Тест-набор «Garant ultra» предназначен для одновременного определения в молоке наличия остаточного содержания антибиотиков  $\beta$ -лактамной и тетрациклиновой групп. Предел обнаружения остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром представлен в таблице А.1.

Таблица А.1

<b>Наименование антибиотика</b>	<b>Предел обнаружения, мкг/дм<sup>3</sup></b>
<b>Антибиотики <math>\beta</math>-лактамной группы</b>	
Пенициллин G	1,5
Ампициллин	3-4
Амоксициллин	3-4

Продолжение Таблицы А.1

Наименование антибиотика	Предел обнаружения, мкг/дм <sup>3</sup>
Оксациллин	6
Клоксациллин	6
Диклоксациллин	4
Нафциллин	20-30
Цефкином	15-20
Цефакетрил	40-50
Цефалониум	2
Цефазолин	50
Цефапирин	10
Цефтиофур	90-100
<b>Антибиотики тетрациклиновой группы</b>	
Тетрациклин	2
Окситетрациклин	2
Доксициклин	3
Хлортетрациклин	3

### А.2.2 Описание тест-набора «Garant 4 ultra milk»

Тест-набор «Garant 4 ultra milk» предназначен для одновременного определения в молоке наличия остаточного содержания четырех групп антибиотиков – β-лактамной группы, тетрациклиновой группы, стрептомицина и хлорамфеникола. Предел обнаружения остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром представлен в таблице А.2.

Таблица А.2

Наименование антибиотика	Предел обнаружения, мкг/дм <sup>3</sup>
<b>Антибиотики β-лактамной группы</b>	
Пенициллин G	1,5
Ампициллин	3-4
Амоксициллин	3-4
Оксациллин	6
Клоксациллин	6
Диклоксациллин	4
Нафциллин	20-30
Цефкином	15-20
Цефакетрил	40-50
Цефалониум	2
Цефапирин	10
Цефтиофур	90-100
<b>Антибиотики тетрациклиновой группы</b>	
Тетрациклин	2
Окситетрациклин	2
Доксициклин	3
Хлортетрациклин	3
<b>Стрептомицин</b>	60-80
Дигидрострептомицин	60-80
<b>Хлорамфеникол</b>	0,3

### А.2.3 Описание тест-набора «Garant QMLE»

Тест-набор «Garant QMLE» предназначен для одновременного определения в молоке наличия остаточного содержания антибиотиков группы хинолонов, макролидов, эритромицина и линкомицина. Предел обнаружения остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром представлен в таблице

А.3.

Таблица А.3

Наименование антибиотика	Предел обнаружения, мкг/дм <sup>3</sup>
<b>Антибиотики группы хинолонов</b>	
Энрофлоксацин	8-10
Даннофлоксацин	8-12
Флюмеквин	40-50
Дифлоксацин	20
Норфлоксацин	8
Оксолиновая кислота	70-90
Марбофлоксацин	10
Эноксацин	25
Сарафлоксацин	55
Офлоксацин	20
Ципрофлоксацин	6-8
Пефлоксацин	20
Ломефлоксацин	10-15
Флеороксацин	20
<b>Антибиотики группы макролидов</b>	
Тилмикозин	50
Тилозин	5
Эритромицин	3
Линкомицин	2

### А.3 Заключение о наличии условий, необходимых для проведения испытания

Испытания проводились в Лаборатории Технохимического контроля Федерального государственного автономного научного учреждения

«Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности».

Лаборатория Технохимического контроля отвечает требованиям ГОСТ 8.395, определяющим условия проведения работ.

#### **А.4 Сведения об образцах, используемых при оценивании чувствительности тест-наборов «Garant»**

А.4.1 Определение чувствительности тест-наборов «Garant ultra», «Garant 4 ultra milk», «Garant QMLE» проводилось на образцах сырого молока, не содержащих антибиотиков, и на образцах сырого молока с внесением известных концентраций антибиотиков.

А.4.2 В качестве исходного молока использовали образцы молока сырого, не содержащего антибиотиков, со следующими физико-химическими показателями:

- |    |                          |         |
|----|--------------------------|---------|
| 1) | - кислотность, °Т        | - 17,2; |
|    | - массовая доля жира, %  | - 4,21; |
|    | - массовая доля белка, % | - 3,20. |
| 2) | - кислотность, °Т        | - 17,8; |
|    | - массовая доля жира, %  | - 4,20; |
|    | - массовая доля белка, % | - 3,20. |
| 3) | - кислотность, °Т        | - 18,2; |
|    | - массовая доля жира, %  | - 4,12; |
|    | - массовая доля белка, % | - 3,29. |
| 4) | - кислотность, °Т        | - 16,2; |
|    | - массовая доля жира, %  | - 4,02; |
|    | - массовая доля белка, % | - 3,42. |
| 5) | - кислотность, °Т        | - 17,4; |
|    | - массовая доля жира, %  | - 3,80; |
|    | - массовая доля белка, % | - 3,48. |
| 6) | - кислотность, °Т        | - 16,4; |

- массовая доля жира, % – 3,84;
- массовая доля белка, % – 3,46.
- 7) - кислотность, °Т – 17,5;
- массовая доля жира, % – 4,12;
- массовая доля белка, % – 3,29.
- 8) - кислотность, °Т – 17,0;
- массовая доля жира, % – 3,44;
- массовая доля белка, % – 3,18.
- 9) - кислотность, °Т – 18,6;
- массовая доля жира, % – 3,72;
- массовая доля белка, % – 3,27.
- 10) - кислотность, °Т – 17,7;
- массовая доля жира, % – 4,13;
- массовая доля белка, % – 3,21.
- 11) - кислотность, °Т – 16,3;
- массовая доля жира, % – 4,00;
- массовая доля белка, % – 3,26.
- 12) - кислотность, °Т – 17,5;
- массовая доля жира, % – 3,36;
- массовая доля белка, % – 3,28.
- 13) - кислотность, °Т – 18,4;
- массовая доля жира, % – 4,70;
- массовая доля белка, % – 3,27.
- 14) - кислотность, °Т – 16,5;
- массовая доля жира, % – 3,68;
- массовая доля белка, % – 3,24.
- 15) - кислотность, °Т – 16,6;
- массовая доля жира, % – 4,38;
- массовая доля белка, % – 3,52.
- 16) - кислотность, °Т – 17,6;

- массовая доля жира, % – 3,48;
- массовая доля белка, % – 3,15.
- 17) - кислотность, °Т – 18,4;
- массовая доля жира, % – 3,46;
- массовая доля белка, % – 3,11.

А.4.3 В качестве образцов антибиотиков для внесения в молоко использовали растворы «Положительный контроль», входящие в тест-наборы.

#### А.4.3.1 Тест-набор «Garant ultra»

Раствор «Положительный контроль» содержит антибиотики в следующих концентрациях:

- пенициллин G – 1,5 мкг/кг;
- тетрациклин – 2 мкг/кг.

#### А.4.3.2 Тест-набор «Garant 4 ultra milk»

Раствор «Положительный контроль» содержит антибиотики в следующих концентрациях:

- пенициллин G – 1,5 мкг/кг;
- тетрациклин – 2 мкг/кг;
- стрептомицин – 80 мкг/кг;
- хлорамфеникол – 0,3 мкг/кг.

#### А.4.3.3 Тест-набор «Garant QMLE»

Раствор «Положительный контроль» содержит антибиотики в следующих концентрациях:

- линкомицин – 2 мкг/кг;
- тилозин – 5 мкг/кг;
- норфлоксацин – 8 мкг/кг;
- эритромицин – 3 мкг/кг.



А.4.4 Для исследования чувствительности тест-наборов «Garant» по определению наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром были приготовлены образцы молока сырого, содержащие антибиотики.

#### А.4.4.1 Исследование чувствительности тест-набора «Garant ultra»

Для приготовления образцов молока, содержащих антибиотики к молоку сырому, не содержащему антибиотиков, вносили раствор «Положительный контроль» в количествах, обеспечивающих содержание антибиотика в концентрациях, приведенных в таблице А.4.

Таблица А.4

Номер раствора:	Содержание антибиотиков, мкг/кг, от значения Предела обнаружения (ПО):
1-й раствор	ПО
2-й раствор	2 ПО
3-й раствор	1/2 ПО
4-й раствор	1/4 ПО
5-й раствор	1/8 ПО
6-й раствор	1/16 ПО
7-й раствор	1/32 ПО

#### А.4.4.2 Исследование чувствительности тест-набора «Garant 4 ultra milk»

Для приготовления образцов молока, содержащих антибиотики к молоку сырому, не содержащему антибиотиков, вносили раствор «Положительный контроль» в количествах, обеспечивающих содержание антибиотика в концентрациях, приведенных в таблице А.5.

Таблица А.5

Номер раствора:	Содержание антибиотиков, мкг/кг, от значения Предела обнаружения (ПО):
1-й раствор	ПО
2-й раствор	2 ПО
3-й раствор	1/2 ПО
4-й раствор	1/4 ПО
5-й раствор	1/8 ПО
6-й раствор	1/16 ПО
7-й раствор	1/32 ПО
8-й раствор	1/64 ПО

#### А.4.4.3 Исследование чувствительности тест-набора «Garant QMLE»

Для приготовления образцов молока, содержащих антибиотики к молоку сырому, не содержащему антибиотиков, вносили раствор «Положительный контроль» в количествах, обеспечивающих содержание антибиотика в концентрациях, приведенных в таблице А.6.

Таблица А.6

Номер раствора:	Содержание антибиотиков, мкг/кг, от значения Предела обнаружения (ПО):
1-й раствор	ПО
2-й раствор	2 ПО
3-й раствор	1/2 ПО
4-й раствор	1/4 ПО
5-й раствор	1/8 ПО
6-й раствор	1/16 ПО
7-й раствор	1/32 ПО

### А.5 Сведения о средствах измерений, вспомогательных устройствах и материалах, применяемых при испытании

А.5.1 Тест-набор «Garant ultra» для определения наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай), включающий:

- пластины с микролунками;
- тест-полоски;
- планшет на 96 микролунок;
- микролунки, содержащие «Положительный контроль», включающий пенициллин G (1,5 мкг/кг) и тетрациклин (2 мкг/кг);
- микролунки, содержащие «Отрицательный контроль», включающий сухое молоко, свободное от антибиотиков.

А.5.2 Тест-набор «Garant 4 ultra milk» для определения наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай), включающий:

- пластины с микролунками;
- тест-полоски;

- планшет на 96 микролунок;
- микролунок, содержащие «Положительный контроль», включающий пенициллин G (1,5 мкг/кг), тетрациклин (2 мкг/кг), стрептомицин (80 мкг/кг) и хлорамфеникол (0,3 мкг/кг);
- микролунок, содержащие «Отрицательный контроль», включающий сухое молоко, свободное от антибиотиков.

А.5.3 Тест-набор «Garant QMLE» для определения наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай), включающий:

- пластины с микролунками;
- тест-полоски;
- планшет на 96 микролунок;
- микролунок, содержащие «Положительный контроль», включающий линкомицин (2 мкг/кг), тилозин (5 мкг/кг), норфлоксацин (8 мкг/кг), эритромицин (3 мкг/кг);
- микролунок, содержащие «Отрицательный контроль», включающий сухое молоко, свободное от антибиотиков.

А.5.4 Термометр лабораторный жидкостной диапазоном измерения от 0 до 100 °С, ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

А.5.5 Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

А.5.6 Дозаторы пипеточные (пипет-дозаторы) переменного объема дозирования в диапазоне 0,1-1,0 см<sup>3</sup> с наконечниками.

А.5.7 Баня водяная термостатируемая.

А.5.8 стакан В-1-50, В-1-150 ТС по ГОСТ 25336.

А.5.9 Палочки стеклянные оплавленные.

А.5.10 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.











































Таблица А.45. Молоко сырое (кислотность 17,7 °Т, массовая доля жира 4,13 %, массовая доля белка 3,21 %)

№ образ-ца	Содержание тилозина, мкг/кг	Результаты измерений							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	отсутствует	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,30	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,62	+	+	+	+	+	+	+	+
5	1,25	+	+	+	+	+	+	+	+
6	2,50	+	+	+	+	+	+	+	+
7	5,00 (ПО)	+	+	+	+	+	+	+	+
8	10,00	+	+	+	+	+	+	+	+

Таблица А.46. Молоко сырое (кислотность 16,4 °Т, массовая доля жира 3,84 %, массовая доля белка 3,46 %)

№ образ-ца	Содержание тилозина, мкг/кг	Результаты измерений							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	отсутствует	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,30	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,62	+	+	+	+	+	+	+	+
5	1,25	+	+	+	+	+	+	+	+
6	2,50	+	+	+	+	+	+	+	+
7	5,00 (ПО)	+	+	+	+	+	+	+	+
8	10,00	+	+	+	+	+	+	+	+

А.6.3.3 Результаты исследований чувствительности тест-набора «Garant QMLE» для определения наличия остаточного содержания норфлоксацина в молоке сыром представлены в таблицах А.47-А.51.











Таблица А.55. Молоко сырое (кислотность 17,7 °Т, массовая доля жира 4,13 %, массовая доля белка 3,21 %)

№ образца	Содержание эритромицина, мкг/кг	Результаты измерений							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	отсутствует	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,38	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,75	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1,50	+	+	+	+	+	+	+	+
7	3,00 (ПО)	+	+	+	+	+	+	+	+
8	6,00	+	+	+	+	+	+	+	+

Таблица А.56. Молоко сырое (кислотность 16,4 °Т, массовая доля жира 3,84 %, массовая доля белка 3,46 %)

№ образца	Содержание эритромицина, мкг/кг	Результаты измерений							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	отсутствует	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,38	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,75	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1,50	+	+	+	+	+	+	+	+
7	3,00 (ПО)	+	+	+	+	+	+	+	+
8	6,00	+	+	+	+	+	+	+	+

## А.7 Заключение

А.7.1 Работа по валидации и подтверждению чувствительности тест-наборов «Garant» для одновременного определения наличия остаточного содержания антибиотиков в молоке сыром производства компании Ring

Biotechnology Co Ltd (Китай) выполнена в полном объеме.

А.7.2 Подтверждение чувствительности тест-набора «Garant ultra» для одновременного определения наличия остаточного содержания антибиотиков  $\beta$ -лактамной и тетрациклиновой групп в молоке сыром.

А.7.2.1 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания пенициллина G в молоке сыром с применением тест-набора «Garant ultra» составляют 0,2 мкг/кг.

А.7.2.2 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания тетрациклина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant ultra» составляют 0,3 мкг/кг.

А.7.3 Подтверждение чувствительности тест-набора «Garant 4 ultra milk» для одновременного определения наличия остаточного содержания антибиотиков  $\beta$ -лактамной группы, тетрациклиновой группы, стрептомицина и хлорамфеникола в молоке сыром.

А.7.3.1 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания пенициллина G в молоке сыром с применением тест-набора «Garant 4 ultra milk» составляют 0,1 мкг/кг.

А.7.3.2 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания тетрациклина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant 4 ultra milk» составляют 0,2 мкг/кг.

А.7.3.3 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания стрептомицина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant 4 ultra milk» составляют 2,5 мкг/кг.

А.7.3.4 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания хлорамфеникола в молоке сыром с применением тест-набора «Garant 4 ultra milk» составляют 0,02 мкг/кг.

А.7.4 Подтверждение чувствительности тест-набора «Garant QMLE» для одновременного определения наличия остаточного содержания антибиотиков группы хинолонов, макролидов, эритромицина и линкомицина в молоке сыром

А.7.4.1 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания линкомицина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant QMLE» составляют 0,3 мкг/кг.

А.7.4.2 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания тилозина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant QMLE» составляют 0,7 мкг/кг.

А.7.4.3 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания норфлоксацина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant QMLE» составляют 1,0 мкг/кг.

А.7.4.4 По полученным данным предел обнаружения остаточного содержания эритромицина в молоке сыром с применением тест-набора «Garant QMLE» составляют 0,5 мкг/кг.

А.7.5 В результате проведенной работы было полностью подтверждено соответствие тест-наборов «Garant ultra», «Garant 4 ultra milk», «Garant QMLE» производства компании Ring Biotechnology Co Ltd (Китай) заявленным характеристикам, а также соответствие требованиям ГОСТ 32219-2013 «Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков» и ГОСТ 32254-2013 «Молоко. Инструментальный экспресс-метод определения антибиотиков».

Зав. лабораторией  
Технохимического контроля  
ФГАНУ «ВНИМИ», к.т.н.



Е.А. Юрова