

**2018**

Krmiva: Metody vzorkování a analýz -  
Detekce tylosinu, spiramycinu a virginiamycinu - Chromatografie na  
tenké vrstvě a bioautografie

ČSN  
EN 16939  
46 7086

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis - Detection of tylosin, spiramycin and virginiamycin - Thin Layer Chromatography and bioautography

Aliments pour animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Détection de tylosine, spiramycine et virginiamycine - Chromatographie sur couche mince et bioautographie

Futtermittel - Probenahme- und Untersuchungsverfahren - Nachweis von Tylosin, Spiramycin und Virginiamycin - Dünnschichtchromatographie und Bioautographie

Tato norma je českou verzí evropské normy EN 16939:2017. Překlad byl zajištěn Českou agenturou pro standardizaci. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN 16939:2017. It was translated by the Czech Standardization Agency. It has the same status as the official version.

Nahrazení předchozích norem

Touto normou se nahrazuje ČSN EN 16939 (46 7086) z února 2018.

Národní předmluva

Změny proti předchozí normě

Proti předchozí normě dochází ke změně způsobu převzetí EN 16939 do soustavy norem ČSN. Zatímco ČSN EN 16939 z února 2018 převzala EN 16939:2017 schválením k přímému používání jako ČSN oznámením ve Věstníku ÚNMZ, tato norma ji přejímá překladem.

Informace o citovaných dokumentech

EN ISO 6498 zavedena v ČSN EN ISO 6498 (46 7004) Krmiva - Pokyny pro přípravu vzorku

Související ČSN

ČSN EN ISO 6497 (46 7003) Krmiva - Odběr vzorků

ČSN EN ISO 4833-1 (56 0083) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro

stanovení počtu mikroorganismů - Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C

ČSN EN ISO 4833-2 (56 0083) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů - Část 2: Technika roztěrem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C

ČSN EN ISO 7218 (56 0103) Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení

ČSN EN ISO 11133 (56 0099) Mikrobiologie potravin, krmiv a vody - Příprava, výroba, uchovávání a zkoušení výkonnosti kultivačních půd

Souvisící právní předpisy

Nařízení Komise (ES) č. 152/2009 ze dne 27. ledna 2009, kterým se stanoví metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv

Vypracování normy

Zpracovatel: Kateřina Šléglová, IČO 76130509

Pracovník České agentury pro standardizaci: Ing. Radmila Foretová

Česká agentura pro standardizaci je státní příspěvková organizace zřízená Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví na základě ustanovení § 5 odst. 2 zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

EVROPSKÁ NORMA	EN 16939
EUROPEAN STANDARD	
NORME EUROPÉENNE	
EUROPÄISCHE NORM	Srpen 2017

ICS 65.120

### **Krmiva: Metody vzorkování a analýz - Detekce tylosinu, spiramycinu a virginiamycinu - Chromatografie na tenké vrstvě a bioautografie**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis - Detection of tylosin, spiramycin and virginiamycin - Thin Layer Chromatography and bioautography

Aliments pour animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Détection de tylosine, spiramycine et virginiamycine - Chromatographie sur couche mince et bioautographie	Futtermittel - Probenahme- und Untersuchungsverfahren - Nachweis von Tylosin, Spiramycin und Virginiamycin - Dünnschichtchromatographie und Bioautographie
--	--

Tato evropská norma byla schválena CEN dne 2017-04-24.

Členové CEN jsou povinni splnit vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací uděluje status národní normy.

Aktualizované seznamy a bibliografické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídicím centru CEN-CENELEC nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídicímu centru CEN-CENELEC, má stejný status jako oficiální verze.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, Bývalé jugoslávské republiky Makedonie, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédska, Švýcarska a Turecka.



**Evropský výbor pro normalizaci**

**European Committee for Standardization**

**Comité Européen de Normalisation**

**Europäisches Komitee für Normung**

**Řídicí centrum CEN-CENELEC: Avenue Marnix 17, B-1000 Brusel**

© 2017 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoli formě a jakýmikoli prostředky

Ref. č. EN 16939:2017 E

jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

# Obsah

Strana

Evropská předmluva.....	5
<b>1.....</b> Předmět normy.....	6
<b>2.....</b> Citované dokumenty.....	6
<b>3.....</b> Termíny a definice.....	6
<b>4.....</b> Princip.....	7
<b>5.....</b> Chemikálie a kultivační média.....	8
<b>5.1.....</b> Obecně.....	8
<b>6.....</b> Přístroje.....	11
<b>7.....</b> Vzorkování.....	11
<b>8.....</b> Příprava zkušebních vzorků.....	11
<b>9.....</b> Postup.....	11
<b>9.1.....</b> Extrakce.....	11

<b>9.2.....</b> Slepý vzorek krmiva obohacený 1 mg/kg spiramycinu a 0,5 mg/kg tylosinu (mikrobiologická aktivita).....	11
<b>9.3.....</b> Slepý vzorek krmiva obohacený 1 mg/kg virginiamycinu (mikrobiologická aktivita).....	11
<b>9.4.....</b> Čištění a koncentrace.....	12
<b>9.5.....</b> Tenkovrstvá chromatografie.....	12
<b>9.5.1...</b> Nanesení extraktů krmiv a extraktů obohacených krmiv.....	12
<b>9.5.2...</b> Chromatografie.....	12
<b>9.6.....</b> Bioautografie.....	12
<b>9.6.1...</b> Obecně.....	12
<b>9.6.2...</b> Postup pro spiramycin a tylosin.....	12
<b>9.6.3...</b> Postup pro virginiamycin.....	13
<b>10.....</b> Výsledky.....	13
<b>10.1....</b> Pozorování inhibičních zón.....	13
<b>10.2....</b> Interference.....	14
<b>11.....</b> Preciznost.....	14

<b>11.1....</b> Mezilaboratorní studie.....	14
<b>11.2....</b> Opakovatelnost.....	14
<b>11.3....</b> Reprodukovatelnost.....	14
<b>12.....</b> Protokol o zkoušce.....	14
<b>Příloha A</b> (informativní) Látky tvořící inhibiční zóny.....	15
<b>Příloha B</b> (informativní) Výsledky mezilaboratorní studie.....	16
<b>B.1....</b> Obecně.....	16
<b>B.2....</b> Materiály.....	16
<b>B.3....</b> Statistika.....	17
<b>B.4....</b> Výsledek a interpretace.....	17
<b>Příloha C</b> (informativní) Příprava bakteriálních suspenzí.....	21
<b>C.1....</b> Obecně.....	21
<b>C.2....</b> Klasická/zastaralá příprava.....	21
<b>C.2.1..</b> Udržování zásobní kultury.....	21

<b>C.2.2.. Příprava bakteriální suspence.....</b>	<b>21</b>
<b>C.2.3.. Chemikálie.....</b>	<b>21</b>
<b>C.3..... Alternativní příprava bakteriální suspence.....</b>	<b>22</b>
<b>C.4..... Počítání bakterií.....</b>	<b>22</b>
<b>C.5..... Skladování.....</b>	<b>22</b>
<b>Bibliografie.....</b>	<b>23</b>

# Evropská předmluva

Tento dokument (EN 16939:2017) vypracovala technická komise CEN/TC 327 *Krmiva - Metody odběru vzorků a analýzy*, jejíž sekretariát zajišťuje NEN.

Této evropské normě je nutno nejpozději do února 2018 udělit status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do února 2018.

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. CEN nelze činit odpovědným za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv.

Tento dokument byl vypracován na základě mandátu uděleného CEN Evropskou komisí a Evropským sdružením volného obchodu.

**UPOZORNĚNÍ Použití tohoto protokolu zahrnuje nebezpečné materiály, operace a vybavení. Tento protokol adresně neupozorňuje na všechny bezpečnostní problémy spojené s jeho používáním. Je odpovědností uživatele tohoto protokolu stanovit vhodné postupy v oblasti bezpečnosti a ochrany zdraví a určit použitelnost regulačních omezení před jeho použitím.**

Podle vnitřních předpisů CEN-CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační organizace následujících zemí: Belgie, Bulharska, Bývalé jugoslávské republiky Makedonie, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunsko, Řecko, Slovensko, Slovinsko, Spojeného království, Srbsko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.



# 1 Předmět normy

Tato metoda umožňuje detekci a identifikaci spiramycinu, tylosinu a virginiamycinu v krmivech (v krmných surovinách převážně rostlinného původu a krmných směsích) s výjimkou minerálních krmiv a premixů. Mez detekce pro spiramycin je asi 2 mg/kg, pro tylosin 1 mg/kg a pro virginiamycin 1 mg/kg. V některých mléčných náhražkách může být pro virginiamycin o něco vyšší než 1 mg/kg.

Uvedené meze detekce jsou pravděpodobně lehce nadhodnocené, ale byly plně validovány během společné studie (viz příloha B). Každodenně se v laboratořích analyzují slepé vzorky obohacené 1 mg/kg spiramycinu a virginiamycinu a 0,5 mg/kg tylosinu pro kontrolu nižších mezí detekce (viz 9.2 a 9.3). Tyto nižší meze detekce jsou dosažitelné, ale měly by být nejprve stanoveny interní validací.

Při detekci těchto 3 specifických makrolidových antibiotik mohou některá další antibiotika způsobovat interference. Tyto známé interference jsou specifikovány v příloze A této metody.

Tato metoda by měla být použita jako kvalitativní screeningová a/nebo post-screeningová metoda (například po mikrobiologické deskové zkoušce). Následné sledování přítomnosti antibiotik může být provedeno jinými analytickými technikami (technikami LC a/nebo LC-MS) ([4], [10]). Pro účely potvrzení je vyžadována metoda LCMS.

**Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.**