

СКРИНІНГ-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКІВ АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ У ТУШАХ ТВАРИН

В. П. Музика, Т. І. Стецько, Л. О. Святоцька, Г. П. Узрин, Р. В. Камінський, В. Н. Падовський

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

Стаття присвячена проблемі контролю якості сировини та продукції тваринного походження, а саме розробленню та впровадженню у практику ветеринарно-санітарного нагляду ефективних методів визначення антимікробних речовин у продукції тваринництва. У статті наведені результати апробування якісного мікробіологічного скринінг-методу визначення залишків антимікробних препаратів у тушах продуктивних тварин. Отримані дані показали, що цей метод дозволяє визначити залишки антимікробних препаратів принаймні чотирьох фармацевтичних груп (бета-лактамів, тетрациклінів, макролідів, сульфаніламідів) упродовж 2–3 діб після останнього їх застосування у терапевтичних дозах та у концентраціях рівних або вищих за гранично допустимі рівні.

Забезпечення безпеки здоров'я населення у значній мірі залежить від безпечності продуктів харчування. Актуальною проблемою сьогодні залишається ефективний контроль якості харчових продуктів. Левову частку в споживчому кошику людини займає продукція тваринництва. Одним з основних показників, які характеризують безпечність тваринницької продукції, є відсутність або присутність у концентраціях, нижчих за допустимі норми, залишків антимікробних препаратів. Важливість контролю продукції тваринництва за цим показником обумовлена тим, що антибіотики, потрапляючи через харчовий ланцюг в організм людини, можуть викликати дисбактеріоз, токсикоз, алергічні прояви, порушення мінерального обміну тощо [1]. Присутність антибіотиків та сульфаніламідів у тваринній сировині знижує якість продукції, в першу чергу, сирокочених ковбас та молочно-кислих продуктів, а також ускладнює проведення бактеріологічних досліджень при їх ветеринарно-санітарній оцінці [2]. Окрім цього, негативним наслідком споживання тваринницької продукції з надлишковим вмістом антибіотиків є розвиток авнтибіотикорезистентності мікрофлори людини, що у подальшому приводить до послаблення загальної резистентності людського організму до різних патогенних агентів бактеріальної етіології, а відтак до зниження ефективності антибіотикотерапії в гуманній медицині [3, 4].

Для визначення залишків антимікробних препаратів у сировині та продуктах тваринного походження застосовують різні методи: фізико-хімічні, імунологічні, біологічні тощо. Мікробіологічні методи сьогодні залишаються одними з найефективніших, простих у виконанні та відносно недорогих методів визначення залишків антимікробних препаратів у сировині та продуктах тваринного походження. У більшості випадків вони дають можливість встановити відсутність в їх складі широкого спектру антимікробних речовин, або присутність антибіотиків у концентраціях, рівних або нижчих за встановлені гранично допустимі норми для конкретного виду продукції [5].

Метою нашої роботи було апробувати мікробіологічний скринінг-метод визначення залишків антимікробних препаратів у тушах тварин за допомогою скринінг-тесту STOR, розробленого американськими вченими, і який широко застосовується в США на м'ясопереробних підприємствах та бойнях [6].

Матеріали і методи. Ми поставили моделюючий дослід на курах-бройлерах віком 30 днів, яким перорально вводили терапевтичні дози антибіотиків різних груп. Було сформовано 5 груп птиці по 5 голів у кожній. Перша група була контрольною. Птиці другої дослідної групи задавали *рег ос* з питною водою препарат оксацилін, виробництва фірми Альфарма (Бельгія), в 1 г якого міститься 800 мг діючої речовини (бета-лактамного антибіотика амоксициліну тригідрату). Препарат вводили у дозі 20 мг діючої речовини на

1 кг живої маси тіла або у розрахунку 0,15 г препарату на 1 л води впродовж 5 днів. Курам-бройлерам третьої дослідної групи згодовували з кормом препарат Біоліт-80 (порошок) виробництва ЗАТ "Біолік" (Україна), 1 г якого містить 80 мг антибіотика тетрациклінового ряду хлортетрацикліну, терапевтична доза якого становить 0,5 г на кг живої маси тіла, а тривалість лікування — 5 днів. Четверта дослідна група птиці отримувала препарат Т.С.-Сол (оральний розчин), виробництва фірми Дофарма Б.В. (Нідерланди). У 1 мл цього препарату міститься 80 мг сульфаніламід сульфаметоксазолу і 20 мг триметоприму. Препарат птиці задавався з питною водою з розрахунку 2 мл на 1 л води впродовж 5 днів. Птиці п'ятої дослідної групи вводили препарат тилозин 20 % виробництва фірми Сінтофарм (Італія). 1 мл цього орального розчину містить 200 мг макролідного антибіотика тилозину тартрату. Терапевтична доза препарату становить 1,25 мл на 10 кг маси тіла. Препарат задавали з питною водою протягом 5 днів.

На наступну добу після останнього введення препаратів та через кожні чотири наступні доби здійснювали забій тварин (кожну добу знекровлювали по 1 гол птиці з кожної групи). Після розтину курей у розріз м'язів, печінки та нирки вставляли ватний тампон на 30 хвилин. Тканини навколо тампону стискали так, щоб у тампон всмокталася тканинна рідина. Для м'язової тканини тампон перед використанням змочували дистильованою водою. Після цього тампони щільно накладали на агарову пластину чашки Петрі, засіяну спорами тест-мікроорганізму *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Для контролю якості поживного середовища та тест-культури на агарову пластину також клали стандартний диск з неоміцином (5 мг). Після інкубації чашок Петрі впродовж 18 год за температури 29 °С визначали розміри зон затримки росту тест-культури навколо тампонів та диску з неоміцином (діаметр зони затримки росту навколо диску повинен становити 20–26 мм). Якщо спостерігалась зона інгібіції навколо тампону, результат тесту вважався позитивним, тобто в тушці птиці присутня речовина — інгібітор росту тест-мікроорганізму. Тест вважався негативним, коли зона інгібіції не спостерігалась, що свідчило про відсутність у тушці птиці залишків антимікробних препаратів чи про їх присутність в концентраціях, нижчих за нижній рівень чутливості методу.

Паралельно визначали присутність антимікробних речовин у тушах птиці скринінг-методом за допомогою тест-системи Премі Тест, виробництва фірми DSM Venturing Development (Нідерланди), суть якого полягає у зміні кольору індикатора бромкрезол пурпурового, внесеного в засіяне спороутворюючим тест-мікроорганізмом *Bacillus stearothermophilus* агарового середовища за умов інкубації при температурі 64 °С протягом 3 годин. При підвищенні температури спори швидко розмножуються і продукують фермент, який розщеплює глюкозу з утворенням кислоти, збільшення концентрації якої до певної кількості приводить до зміни рН поживного середовища і викликає відповідно зміну забарвлення рН-індикатора (бромкрезолу пурпурового) з фіолетового на жовтий. При наявності у зразку залишків антимікробних речовин, вони дифундують в агарове середовище, і, коли їх концентрація стає досить високою, вони починають інгібувати процес розмноження бактерій, відповідно, і утворення кислоти. рН середовища не змінюється, а відтак, не змінюється і колір індикатора — він залишається фіолетовим [7].

Результати та обговорення. Результати апробування мікробіологічного скринінг-методу визначення залишків антимікробних препаратів на тушках курей-бройлерів за допомогою скринінг-тесту STOP та тест-системи Премі Тест наведені у таблиці.

Таблиця

Результати визначення присутності антимікробних речовин в тушках бройлерів за допомогою скринінг-тесту STOP та тест-системи Премі Тест

Групи тварин	Доби	STOP			Премі Тест		
		м'язи	печінка	нирки	м'язи	печінка	нирки
І (контрольна)	1	–	–	–	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–

	3	–	–	–	–	–	–
	4	–	–	–	–	–	–
	5	–	–	–	–	–	–
II (дослідна)	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
	3	–	+	+	–	–	–
	4	–	–	–	–	–	–
	5	–	–	–	–	–	–
III (дослідна)	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	–	+	+	–	+
	3	–	–	+	–	–	–
	4	–	–	–	–	–	–
	5	–	–	–	–	–	–
IV (дослідна)	1	+	+	+	+	+	+
	2	–	+	+	+	–	+
	3	–	–	–	–	–	–
	4	–	–	–	–	–	–
	5	–	–	–	–	–	–
V (дослідна)	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
	3	–	+	–	+	–	–
	4	–	–	–	–	–	–
	5	–	–	–	–	–	–

Примітка: “–” — негативний результат (відсутні залишки автимикробних препаратів);
“+” — позитивний результат (присутні залишки антимікробних препаратів).

З результатів, наведених у таблиці, випливає, що чутливість мікробіологічного скринінг-методу визначення залишків антимікробних препаратів STOP у тушах тварин дає можливість встановити присутність антибіотичних речовин хоча б чотирьох фармацевтичних груп (бета-лактамів, тетрациклінів, макролідів, сульфаніламідів) протягом 2–3 діб після останнього їх введення сільськогосподарській птиці у терапевтичних дозах. Результати показали, що чутливість методу є різною для кожного антимікробного препарату в залежності від їх фармакокінетичних властивостей (біодоступності, ступеня сполучення з білками, шляхів та швидкості виведення з організму тварини тощо). Враховуючи термін каренції для тих активно діючих антимікробних речовин, які були використані в досліді, можна стверджувати, що в цілому цим методом можна встановити їх присутність у тушках птиці протягом періоду їх виведення, оскільки термін каренції тилозину, хлортетрацикліну та сульфаметоксазолу+триметоприм з організму птиці становить 2 доби, за винятком амоксициліну, період виведення якого з м'яса птиці становить 8 діб.

Результати визначення залишків антимікробних препаратів за допомогою Премі Тесту корелюють з результатами, отриманими з використанням скринінг-тесту STOP. Це можна пояснити тим, що в обох тестах використовуються в якості тест-культури мікроорганізми роду *Bacillus*, і спектр та рівень чутливості *Bacillus subtilis* і *Bacillus stearothermophilus* до антибіотичних речовин приблизно однаковий. Беручи до уваги те, що межа чутливості скринінг-методу з використанням тест-системи Премі Тест у м'ясі птиці є встановленою і становить: для амоксициліну — 5 мкг/кг (гранично допустима концентрація (ГДК) бета-лактамів — 50 мкг/кг), для тилозину — 50 мкг/кг (ГДК макролідів — 100 мкг/кг), для хлортетрацикліну — 100 мкг/кг (ГДК тетрациклінів — 100 мкг/кг), для сульфаніламідів — 75 мкг/кг (ГДК сульфаніламідів — 75–100 мкг/кг) [8], можна констатувати, що, відповідно рівень чутливості скринінг-тесту STOP для цих груп антимікробних речовин у більшості випадків є не нижчим, ніж рівень чутливості скринінг-методу з використанням тест-системи Премі Тест.

ВИСНОВКИ

Мікробіологічний скринінг-метод визначення залишків антимікробних препаратів за допомогою тесту STOP є ефективним скринінг-методом, який дає можливість

встановити присутність антибіотичних речовин у тушах продуктивних тварин після їх забою у концентраціях, рівних або вищих за гранично допустимі рівні.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення нових високоефективних методів контролю якості тваринницької сировини та продукції за показником вмісту залишків антимікробних речовин сприятиме підвищенню безпечності харчових продуктів тваринного походження, а відтак забезпеченню безпеки здоров'ю їх споживачів.

СКРИНИНГ-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТУШАХ ЖИВОТНЫХ

В. П. Музыка, Т. И. Стецко, Л. О. Святоцкая, Г. П. Угрин, Р. В. Каминский, В. Н. Падовский

А Н Н О Т А Ц И Я

Статья посвящена проблеме контроля качества сырья и продукции животного происхождения, а именно разработке и внедрению в практику ветеринарно-санитарного надзора эффективных методов определения антимикробных веществ в продукции животноводства. В статье приведены результаты апробирования качественного микробиологического скрининг-метода определения остаточных количеств антимикробных препаратов в тушах продуктивных животных. Полученные результаты показали, что этот метод даёт возможность определить остаточные количества антимикробных препаратов по крайней мере четырех фармацевтических групп (бета-лактамов, тетрациклинов, макролидов, сульфаниламидов) на протяжении 2–3 суток после последнего их использования в терапевтических дозах и в концентрациях, которые равны или превышают допустимые уровни.

SCREENING-METHOD OF DEFINITION OF ANTIMICROBIAL PREPARATIONS RESIDUAL QUANTITIES IN HULKS OF ANIMALS

V. P. Muzyka, T. I. Stetsko, L. O. Svyatotska, G. P. Ugrin, R. V. Kaminsky, V. N. Padovsky

S U M M A R Y

Article is devoted to a problem of raw materials and production of an animal origin quality assurance, namely in the development and the introduction into practice of veterinary-sanitary inspection of effective definition methods of antimicrobial substances in animal industries production. In article approbation results of a qualitative microbiological screening-method of antimicrobial preparations definition of residual quantities in hulks of productive animals are resulted. The received results show, that this method gives possibility to define residual quantities of antimicrobial preparations of at least four pharmaceutical groups (beta-laktames, tetracyclines, macroleads, sulfanilamidums) throughout 2–3 days after their last use in therapeutic doses and in concentration which are equal or exceed admissible levels.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Swartz M. N.* Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin // Clin. Infect. Dis. — 2002. — V. 34, № 13. — P. 111–122.
2. *Ковалёв В. Ф.* Антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны в ветеринарии / В. Ф. Ковалёв, И. Б. Волков, Б. В. Виолин и др. — М. : Агропромиздат. 1988. — 223 с.
3. *Косенко М. В.* Раціональне використання антимікробних препаратів як фактор стримування антибіотикорезистентності / Косенко М. В., Музыка В. П., Косенко Ю. М. // Ветеринарна медицина України. — 2007. — № 8. — С. 40–41.

4. *Ковалец Магдалена*. Антибіотики — бомба уповільненої дії // Лабораторна діагностика. — 2002. — № 3. — С. 29–31.
5. *Korsrud G. O.* Bacterial inhibition tests used to screen for antimicrobial Veterinary Drug Residues in Slaughtered Animals // Journal of AOAC International. — 1998. — Vol. 81, № 1. — P. 21–24.
6. Detection of antimicrobial residues by swab test on premises (STOP) // USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook, 1998, 3rd Edition.
7. *Beverley S.* Improvement to the screening of antimicrobial drug residues in food by the use of Premi Test / *Beverley S., Sharman M.* // Veterinary Science. — 2001. — Vol. 70, № 4. — P. 29–32.
8. *Косенко М. В.* Експрес-методи визначення залишків антибіотиків у продукції тваринництва / *Косенко М. В., Косенко Ю. М., Музика В. П., Стецько Т. І.* // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — 2005. — Вип. 6, № 3, 4. — С. 173–179.

Рецензент: доктор ветеринарних наук, професор, членкор УААН М. В. Косенко, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.