

ПРОБЛЕМНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ В ПРОДУКТАХ ПТАХІВНИЦТВА

І. В. Забарна, аспірант

О. М. Якубчак, доктор ветеринарних наук, професор

У статті наведено результати дослідження м'язів птиці та печінки трьох торгових марок з виробництва курятини в Україні на залишки антибактеріальних препаратів методом імуноферментного аналізу (ELISA) та рідинної хроматографії (LC-MS/MS). Надано рекомендації щодо внесення змін до Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та інших забруднювачів у живих тваринах, необроблених харчових продуктах тваринного походження та правил відбору птиці для дослідження.

Імуноферментний аналіз (ELISA), рідинна хроматографія (LC-MS/MS), птахівництво, моніторинг, антибактеріальні субстанції.

Птахівництво є одним з найперспективніших напрямків діяльності галузі тваринництва не лише в Україні, а й у світі. Продукція птахівництва спрямована на забезпечення харчових потреб населення і, нині, є головною ланкою м'ясної індустрії. У птахівництві антибактеріальні препарати використовують з лікувальною і профілактичною метою за пулорозу, сальмонельозу, колібактеріозу, колісептицемії курей, мікоплазмозу, лептоспірозу, кокцидіозу, сечокислового діатезу та інших захворюваннях [2].

Останнім часом, підвищення вимог з боку споживачів до якості та безпечності продуктів птахівництва призвело до виникнення проблеми із забезпеченням державного контролю за показниками безпеки харчового ланцюга. Необхідно зазначити, що в Україні, щорічно, сотні людей хворіють на вторинні грибові інфекції, спостерігається пригнічення мікрофлори кишечника, дисбактеріози, прояви алергічного характеру, зниження опірності організму, порушення функції нирок і кровотворних органів.

Виражені побічні явища, що характерні для більшості антибактеріальних препаратів, призвели до заборони деяких у використанні під час виготовлення харчових продуктів, що призначені для споживання людиною. Тому, в першу чергу, необхідно проводити оцінку й моніторинг показників безпечності для здоров'я споживачів, що пов'язані з сировиною, процесом виробництва й переробкою.

В організмі тварин група нітрофуранів розпадається дуже швидко; через короткий час після лікування нітрофурану вже не виявляються, тому методи визначення нітрофуранів базуються на виявленні їх метаболітів, які довгий час затримуються в тканинах. У зв'язку з цим, антибактеріальні субстанції в різних частинах тушок курей можуть знаходитись в нерівній кількості, тому слід приділити увагу ретельному відбору проб з метою формування середньої проби птиці для дослідження, щоб отримати достовірні результати [4].

Хлорамфенікол та нітрофурани, а також їх метаболіти, відносяться до заборонених ветеринарних препаратів у Європейському Союзі під час вирощування птиці. Відповідно до директиви 96/23/ЕС від 29 квітня 1996 року [1] та згідно з Рішенням Європейської Комісії 2002/657/ЕС від 12 серпня 2002 року [6] для заборонених ветеринарних препаратів або недозволених аналітів встановлений мінімальний відносний дозволений рівень (МВДР).

Мета роботи – дослідити м'язи птиці та печінку трьох торгових марок з виробництва курчат-бройлерів в Україні на залишки антибактеріальних препаратів методом імуноферментного аналізу (ELISA) та рідинної хроматографії (LC-MS/MS). Проаналізувати дані, дати рекомендації щодо внесення змін до Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та інших забруднювачів у живих тваринах, необроблених харчових продуктах тваринного походження та правил відбору птиці для дослідження.

Матеріали та методи. Визначення залишкових кількостей антибактеріальних препаратів в зразках м'язів курчат-бройлерів та печінці проводили методом ІФА на імуноферментному аналізаторі «Tescan Sunrise» (виробництво фірма «Sunrise», Австрія) за допомогою тест-систем для конкурентного імуноферментного аналізу RIDASCREEN® (виробництво фірма R-Biopharm, Німеччина). Дослідження антибактеріальних субстанцій проводили методом рідинної хроматографії з подвійним маспектрометричним детектором на рідинному хроматографі WATERSLC-MS-MSACQUITYTQP.

Результати дослідження. На базі науково-дослідного відділу ветеринарно-санітарної експертизи ДНДІЛДВСЕ було проведено дослідження грудних м'язів (білі), м'язів спини, стегнових м'язів (червоні) та печінки відомих торгових марок з виробництва курчат-бройлерів в Україні. Методом ІФА м'язи та печінку досліджували на залишки хлорамфеніколу, нітрофуранів, а точніше їх метаболітів: фуразолідон, який метаболізується в 3-аміно-2-оксазолідинон (АОЗ), фуралтадон – в 3-аміно-5-морфолінометил-2-оксазолідинон (АМОЗ), нітрофурантоїн – в 1-аміногідантоїн (АГД) і нітрофуразон – в семикарбазид (СЕМ) [3]. Назву відомих торгових марок за кодуємо під №1, №2, №3. Результати, щодо визначення залишків заборонених ветеринарних препаратів методом ІФА в зразках птиці, наведено в таблиці 1.

1. Результати дослідження м'язів та печінки курчат-бройлерів методом імуноферментного аналізу

Номер торгової марки	Назва матриці	Ветеринарні препарати				
		Нітрофурани, мкг/кг				Хлорамфенікол, мкг/кг
		АОЗ	АМОЗ	АГД	СЕМ	
№1	М'язи грудей	0,045	0,177	0,152	0,160	0,212
	М'язи стегна	0,243	0,290	0,206	0,230	0,243
	М'язи спини	0,180	0,230	0,192	0,320	0,230
	Печінка	0,236	0,286	0,088	0,090	-
№2	М'язи грудей	0,090	0,162	0,170	0,166	0,150
	М'язи стегна	0,220	0,240	0,200	0,265	0,146
	М'язи спини	0,135	0,185	0,205	0,253	0,163
	Печінка	0,194	0,236	0,132	0,126	-
№3	М'язи грудей	0,035	0,143	0,162	0,148	0,180
	М'язи стегна	0,316	0,305	0,250	0,192	0,162
	М'язи спини	0,110	0,210	0,230	0,218	0,133
	Печінка	0,252	0,269	0,074	0,170	-

Межа детектування хлорамфеніколу скринінгового методу в м'язах птиці становить 0,18 мкг/кг. Межа детектування підтверджуючого методу хлорамфеніколу в м'язах птиці – 0,3 мкг/кг. Межа детектування нітрофуранів скринінгового методу для м'язів птиці становить 0,6 мкг/кг, для метаболіту АОЗ – 0,7 мкг/кг. Межа детектування підтверджуючого методу нітрофуранів для м'язів птиці – 1 мкг/кг [5].

За результатами досліджень, нітрофурани не перевищують межу детектування, але їх залишки виявлено в м'язах птиці та печінці в різній кількості. Результати досліджень усіх торгових марок свідчать про те, що найбільшу залишкову кількість метаболітів нітрофуранів виявлено в стегнових м'язах, а найменше – у грудних м'язах.

В торговій марці №1, за результатами дослідження, в усіх м'язах виявлено перевищення межі детектування скринінгового методу хлорамфеніколу, а найбільша кількість залишків препарату зосереджена в стегнових м'язах. В торгових марках №2 та №3 найбільше залишкової кількості хлорамфеніколу виявлено в м'язах спини та грудей.

На базі науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу в лабораторії рідинної хроматографії було проведено дослідження м'язів птиці та печінки наступних антибактеріальних субстанцій: стрептоміцин, тилозин, пеніцилін та антибіотиків тетрациклінової групи. Результати дослідження, щодо визначення антибактеріальних субстанцій методом рідинної хроматографії, наведені у таблиці 2.

Згідно з директивою 96/23/ЕС від 29 квітня 1996 року [1] та Рішенням Європейської Комісії 2002/657/ЕС від 12 серпня 2002 року [6] тилозин в м'язах птиці не допускається, межа детектування підтверджуючого методу тилозину становить 25 мкг/кг, а для антибіотиків тетрациклінового ряду – 10 мкг/кг. Рівень межі для групи тетрациклінів становить 100 мкг/кг.

2. Результати дослідження м'язів та печінки курчат-бройлерів методом рідинної хроматографії

Номер торгової марки	Назва матриці	Ветеринарні препарати						
		Стрептоміцин, мкг/кг	Тилозин, мкг/кг	Пеніцилін, мкг/кг	Окситетрациклін, мкг/кг	Тетрациклін, мкг/кг	Докситетрациклін, мкг/кг	Хлортетрациклін, мкг/кг
№1	М'язи грудей	-	8,9	-	11,0	-	-	5,6
	М'язи стегна	-	14,5	-	19,0	-	-	4,4
	М'язи спини	101,0	17,0	-	4,8	-	-	4,2
	Печінка	139,0	19,0	-	4,0	-	-	4,3
№2	М'язи грудей	35,2	5,8	3,3	21,0	22,0	-	8,8
	М'язи стегна	52,5	11,2	4,8	18,0	43,0	11,8	10,3
	М'язи спини	135,0	13,0	-	3,2	-	-	15,6
	Печінка	158,0	16,4	-	6,7	-	-	6,3
№3	М'язи грудей	-	3,2	5,2	34,4	-	-	7,3

М'язи стегна	-	19,6	8,7	5,9	9,8	-	6,2
М'язи спини	103,0	9,3	-	9,3	-	-	4,1
Печінка	125,6	8,8	-	8,6	-	-	4,3

План державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів взагалі не передбачає дослідження печінки курчат-бройлерів на антибактеріальні субстанції, а м'язів птиці – на стрептоміцин і пеніцилін. Нами були проведені дані дослідження, і перевищення вмісту стрептоміцину було виявлено в м'язах спини та в печінці усіх трьох торгових марок. Тилозин не перевищує межу детектування, але його залишки найбільш зосереджені в печінці курчат-бройлерів та в стегових м'язах. Залишкову кількість пеніциліну було виявлено в грудних і стегових м'язах.

З групи антибіотиків тетрациклінового ряду досліджували наступні: окситетрациклін, тетрациклін, докситетрациклін, хлортетрациклін. Перевищення межі детектування окситетрацикліну та тетрацикліну найбільше виявлено в грудних і стегових м'язах птиці. В торговій марці №3 в грудних м'язах залишкова кількість окситетрацикліну складала 34,4 мкг/кг. Тетрацикліну було виявлено в стегових м'язах 43,0 мкг/кг, а в грудних – 22,0 мкг/кг. Докситетрациклін виявлено лише в стегових м'язах – 11,8 мкг/кг. Перевищення межі детектування хлортетрацикліну було виявлено в торговій марці №2 в стегових м'язах – 10,3 мкг/кг і в м'язах спини – 15,6 мкг/кг.

Висновки

1. Методом імуноферментного аналізу було досліджено м'язи птиці та печінку курчат-бройлерів на заборонені ветеринарні препарати: хлорамфенікол, нітрофурани та їх метаболіти. В результаті дослідження, найбільшу залишкову кількість ветеринарних препаратів було виявлено в стегнових м'язах, також в м'язах спини та грудей.

2. Антибактеріальні субстанції: стрептоміцин, тилозин, пеніцилін та антибіотики тетрациклінової групи було досліджено методом рідинної хроматографії. Залишки антибактеріальних субстанцій найбільше виявлено в стегнових та грудних м'язах.

3. Згідно проведених досліджень, спостерігається тенденція порушення правил застосування антибіотиків: недотримання доз лікування або терміну, недотримання періоду виведення антибіотиків з організму при забої тушок курей. А це, неминуче, супроводжується накопичення залишків антибіотиків у продуктах птахівництва. Тому слід приділити увагу правилам відбору проб для дослідження. Обсяг проб, що відбираються, повинен враховувати стать, вік, вид, групу тварин, інформацію щодо неправильного застосування або ж зловживання хімічними засобами. Оскільки в результаті наших досліджень стало відомо, що антибіотики можуть міститись в м'язах птиці та печінці в різній кількості. То може слід ввести в план державного моніторингу конкретику щодо м'язів птиці, де вірогідність знайти залишки антибактеріальних препаратів є найвищою.

4. Згідно з результатами дослідження, рекомендуємо до списку речовин, на присутність яких потрібно щорічно досліджувати птицю, внести стрептоміцин та пеніцилін, оскільки ці препарати широко застосовуються в птахівництві й їх залишки можуть накопичуватись як в м'язах птиці, так і в печінці.

Список літератури

1. Директива Совета 96/23/ЕЕС от 29 апреля 1996 года, о мерах по контролю отдельных веществ и их остаточного содержания в не забитых животных и продуктах животного происхождения, принятая в отмену действий Директив 85/358/ЕЕС и 86/469/ЕЕС и Постановлений 89/187/ЕЕС и 91/664/ЕЕС // Official Journal of the European Communities. – L. 125, 23.5.1996. – с. 10.

2. Кальницкая О. И. Проблемные аспекты использования антибиотиков в ветеринарии и животноводстве / О. И. Кальницкая // Состояние и проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии в животноводстве: Материалы международной научно-практической конференции. – Чебоксары. – 2004. – С. 4-8.

3. Методичні вказівки по кількісному визначенню нітрофурану (АОЗ) у зразках м'яса, креветках, молоці та меді за допомогою тест-системи РІДАСКРИН® НІТРОФУРАН (АОЗ) (RIDASCREEN® NITROFURAN (AOZ)). – Львів : ПП «Біола», 2008. (не вказані сторінки)

4. Методичні вказівки щодо організації та виконання Плану державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та інших забруднювачів у необроблених харчових продуктах, живих тваринах та кормах / А. В. Абрамов, С. І. Чернявський, Т. П. Кулеша та ін. – К. : ДНДІЛДВСЕ. – 2010. – 23 с.

5. План державного моніторингу залишків ветеринарних препаратів та забруднювачів у живих тваринах і необроблених харчових продуктах тваринного походження на 2012 рік // Наказ Державного комітету ветеринарної медицини України від 22 грудня 2011 року № 143.

6. Решение комиссии 657/2002 от 12 августа 2002 года, обеспечивающее выполнение Директивы Совета 96/23/ЕС касательно эффективности аналитических методов и интерпретации результатов // SANCO. – 2004. – 2726 rev.1.

В статье приведены результаты исследования мышц птицы и печени трех торговых марок по производству курятины в Украине на остатки антибактериальных препаратов методом иммуноферментного анализа (ELISA) и жидкостной хроматографии (LC-MS/MS). Сделаны рекомендации по внесению изменений в План государственного мониторинга остатков ветеринарных препаратов и других загрязнителей в живых животных, необработанных пищевых продуктах животного происхождения и правил отбора птицы для исследования.

Иммуноферментный анализ (ELISA), жидкостная хроматография (LC-MS/MS), птицеводство, мониторинг, антибактериальные субстанции.

The results of the researches of muscle and liver of poultry three brands on the production of poultry in Ukraine for residues of antibacterial drugs by enzyme immunoassay (ELISA) and liquid chromatography (LC-MS/MS). Recommendations were made for changes to the plan of government monitoring of residues of veterinary drugs and other contaminants in alive animals and unprocessed foods of animal origin and selection rules for poultry research.

Enzyme immunoassay (ELISA), liquid chromatography (LC-MS/MS), poultry, monitoring, anti-bacterial substance.