

УДК 636.5.087.69

06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология (ветеринарные науки)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ВРЕМЕНИ АНАЛИЗА МЕТОДИКИ ВЫЯВЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИБАКТРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В СЫРОМ МЯСЕ НА ОСНОВЕ ИММУНОМИКРОЧИПОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Попов Петр Александрович
д.в.н., главный научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 3277-0221
ORCID 0000-0003-4155-0386
popov.petr18@gmail.com

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» 123022, Российская Федерация, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5

Лавина Светлана Алексеевна
Д.б.н., ведущий научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 6236-8750
ORCID 0000-0002-7264-9744
Sw_lavina@mail.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5

Бабунова Вероника Сергеевна
к.в.н., ведущий научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 5141-3870
ORCID 0000-0001-5506-9337
veronikavniivs@mail.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5

UDC 636.5.087.69

06.02.02 - Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology (veterinary sciences)

DETERMINATION OF THE SENSITIVITY AND TIME OF THE ANALYSIS OF THE METHOD FOR DETECTING ANTIBACTERIAL DRUGS RESIDUES IN RAW MEAT ON THE BASIS OF IMMUNE MICROCHIP TECHNOLOGY

Popov Petr Alexandrovich
Doctor of Sciences, Chief Researcher
RSCI SPIN code: 3277-0221
ORCID 0000-0003-4155-0386
popov.petr18@gmail.com

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences" 123022, Russian Federation, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5

Lavina Svetlana Alekseevna
Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher
RSCI SPIN code: 6236-8750
ORCID 0000-0002-7264-9744
Sw_lavina@mail.ru

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences" 123022, Russian Federation, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5

Babunova Veronika Sergeevna
Cand.Vet.Sci., Leading Researcher
RSCI SPIN code: 5141-3870
ORCID 0000-0001-5506-9337
veronikavniivs@mail.ru

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences" 123022, Russian Federation, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5

Осипова Ирина Сергеевна
к.в.н., ведущий научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 5327-1933
ORCID 0000-0002-6845-6173
irishka21062801@mail.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5

Osipova Irina Sergeevna
Cand.Vet.Sci., Leading Researcher
RSCI SPIN code: 5327-1933
ORCID 0000-0002-6845-6173
irishka21062801@mail.ru

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences" 123022, Russian Federation, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5

Тимофеева Ирина Владимировна
научный сотрудник
РИНЦ SPIN-код: 1518-6122

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5

Timofeeva Irina Vladimirovna
Researcher
RSCI SPIN code: 1518-6122

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences" 123022, Russian Federation, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5

В статье представлены результаты проведенных исследований и определены оптимальные параметры обнаружения в мясе и мясопродуктах антибиотиков и сульфаниламидов с помощью метода иммуномикрочиповых технологий, с помощью панели Antimicrobial Array I Ultra (EV3843) определены в одном образце остаточные количества одновременно 24 антибиотических препаратов. Предел обнаружения которых от 1,6 до 6,5 мкг/г при детекции в мясной продукции С помощью панели Antimicrobial Array II (EV3524) определены остаточные количества 35 антибиотических препаратов. Предел обнаружения в мясе от 0,9 до 16,0 мкг/г.

The article presents the results of the studies and determined the optimal parameters for the detection of antibiotics and sulfonamides in meat and meat products using the immune microchip technology method, using the Antimicrobial Array I Ultra (EV3843) panel, residual amounts of 24 antibiotic preparations were simultaneously determined in one sample. The detection limit of which is from 1.6 to 6.5 µg/g when detected in meat products Using the Antimicrobial Array II panel (EV3524), 35 antibiotic drug residues were determined. The detection limit in meat is from 0.9 to 16.0 µg/g

Ключевые слова. АНТИМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, МЯСО, ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕТОДА, ОСТАТОЧНЫЕ КОЛИЧЕСТВА

Keywords: ANTIMICROBIALS, MEAT, METHOD SENSITIVITY, RESIDUES

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-178-014>

Введение. В перерабатывающей промышленности агропромышленного комплекса антибиотики используются при различных технологических процессах для увеличения сроков хранения готовой продукции.

<http://ej.kubagro.ru/2022/04/pdf/14.pdf>

Неоправданное применение антибиотиков в животноводческих хозяйствах, на перерабатывающих предприятиях, нарушение сроков выдержки животных после лечения антибиотиками, использование запрещенных антибактериальных препаратов, замалчивание информации о применении составляют фактор риска безопасного питания человека [1].

Антибиотики подавляют микрофлору желудочно-кишечного тракта, что приводит к снижению иммунитета, восприимчивости человеческого организма к различным видам инфекций. Также происходит развитие резистентности микроорганизмов к антибактериальным лекарственным препаратам [1-12].

В Российской Федерации остаточное количество биоцидных препаратов в мясопродуктах, нормируется Техническим регламентом Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции» (ТР ТС 034/2013) [3-4].

Для скрининговых исследований биоцидов применяются иммуноферментный метод анализа (ИФА, ELISA), являющийся методом контроля, внесенным в государственный реестр методов исследований продуктов животного происхождения. Для этого используется ВЭЖХ с различными видами детекторов, надежный, но этот метод очень трудоемкий при экспресс анализе большого количества проб. Использование запатентованной технологии Randox[®] Biochip в качестве методики детекции фоновых количеств антибиотиков в молоке и молочной продукции позволяет определять в одной пробе до 25 антибактериальных веществ, в том числе не часто используемых в ветеринарной практике. Наряду с высокотехнологичными методами исследований применяются различные варианты микробиологического метода обнаружения антибактериальных веществ.

Целью данной работы было: изучение возможности применения различных методов, детекции фоновых количеств антибактериальных

препаратов веществ в мясном сырье и мясной продукции с целью оценки ее санитарного качества.

Материалы и методы исследований.

В опытах использовали: хемиллюминометр и инкубатор, встряхиватель «Vortex G-560E», гомогенизатор лабораторный ГЛ-П 300 (10000 об/мин), центрифуга СМ-12, деионизатор воды, поверенные автоматические дозаторы переменного объема Ленпипет, поверенные весы SPX422 неавтоматического действия Scout Pro (фирма «Ohaus», США), баня водяная лабораторная ПЭ 4300 (Россия), термостат ТС-80 (Россия), роторный испаритель Rotary Evaporator RE-52AA, холодильник с морозильной камерой.

С использованием тест-панели Antimicrobial Array II (EV3524) определены остаточные содержания 35 фармакологических антибактериальных препаратов. Предел обнаружения в мясной продукции составляет от 0,9 до 16,0 мкг/г.

Результаты исследований

Определение чувствительности Anti Microbial Array I и II, (заявленная производителем в сравнении с полученными в лаборатории) и спектр выявляемых с их помощью антимикробных веществ представлен в таблице 1.

Таблица 1. Результаты обнаружения антибиотиков с применением тест-систем на основе иммуномикрочиповой технологии

Anti Microbial Array I и II в мясе

Антибактериальные препараты	Предел детекции (по паспорту производителя), мкг/л	Предел установленный в нашей лаборатории, мкг/л	Коэффициент вариации %
дапсон	3,5	3,49±0,04	1,26
стрептомицин	14,0	14,09±0,03	5,15
Сульфадиазин	3,0	3,10±0,02	2,3
Сульфадиметоксин	6,5	6,37±0,03	0
Сульфадоксин	3,2	3,112±0,05	1,3
Сульфакуиноксалин	2,0	1,97±0,03	1,91
Сульфамеразин	2,0	2,0±0,02	9,14
Сульфаметазин	3,2	3,13±0,05	1,8
Сульфаметизол	3,2	3,16±0,03	2,38
Сульфаметоксазол	1,6	1,425±0,06	1,61
сульфапиридин	3,2	3,08±0,12	1,81
Сульфатиазол	2,0	1,96±0,04	3,05
Сульфаксидимид	2,0	1,87±0,03	4,22
Сульфизаксазол	2,0	2,12±0,02	3,07
тетрациклины	4,8	4,78±0,02	1,16
тиамфеникол	1,3	1,27±0,06	1,35
тилозин	0,9	0,8±0,03	1,25
триметоприм	3,0	2,88±0,10	1,93
хинолоны	5,0	4,88±0,03	1,51
цефтиофур	4,6	4,53±0,04	1,125

Результаты определения антибиотиков и сульфаниламидов в исследуемых образцах приводятся в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. Результаты определения антибиотиков в образцах говядины, свинины и курице методом иммуномикрочиповой технологии

Образцы мяса № п/п	Определяемые антибиотики, мкг/кг					
	QNL	CEFT	TAF	STR	TYL	TCN
Говядина						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	<0	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0
Свинина						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	<0	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0
Птица (курица)						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	<0	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0

Таблица 3. Результаты определения сульфаниламидов в образцах говядины, свинины и курицы методом иммуномикрочиповой технологии

Образцы мяса № п/п	Определяемые сульфаниламидов, мкг/кг					
	SDM	SZ	SD	SMZ	SMT	SP
Говядина						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	0,02	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0
Свинина						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	<0	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0
Птица (курица)						
1	<0	<0	<0	<0	<0	<0
2	<0	<0	<0	<0	<0	<0
3	<0	<0	<0	<0	<0	<0

Заключение. Неоправданное применение антибиотиков в животноводческих хозяйствах, на перерабатывающих предприятиях, нарушение сроков выдержки животных после лечения антибиотиками, использование запрещенных антибактериальных препаратов, замалчивание информации о применении составляют фактор риска безопасного питания человека и как результат, может вызывать антибиотикорезистентность как у сельскохозяйственных животных, так и у человека

Подавление микрофлоры желудочно-кишечного тракта приводит к снижению иммуно-биологической резистентности, восприимчивости человеческого организма к различным видам инфекций. Также происходит развитие резистентности микроорганизмов к антибактериальным лекарственным препаратам

Таким образом в перерабатывающей промышленности агропромышленного комплекса можно с высокой степенью достоверности контролировать методом иммуномикрочиповой технологии при помощи тест-панелей фирмы Randox[®] Biochip.

В результате проведенных исследований были определены оптимальные параметры детекции мясном сырье и мясопродуктах антибиотикерезистентных препаратов и препаратов сульфаниламидного ряда с использованием иммуномикрочиповой технологии.

В результате проведенных исследований, с использованием тест-панели Antimicrobial Array I Ultra (EV3843) было статистически достоверно определено.

А с помощью тест-панели Antimicrobial Array II (EV3524) было определено в одном образце остаточные количества одновременно 35

антибиотических препаратов. Предел обнаружения которых в мясе и мясном сырье составил от 0,9 до 16,0 мкг/г.

Литература.

1. Бутко М.П. НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ПОЛУЧЕНИИ БИОЦИДОВ И ИХ ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ. /Бутко М.П., Фролов В.С., Попов П.А., Лемясева С.В.//Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2014. № 2 (12). С. 6-10.
2. Бутко М.П. ФАЛЬСИФИКАЦИЯ ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ /Бутко М.П., Попов П.А., Лемясева С.В., Онищенко Д.А.// Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2017. № 3 (23). С. 17-23.
3. Бутко М.П. ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ / Герасимов А.С., Посконная Т.Ф., Попов П.А., Ивчина Е.Ю., Лемясева С.В., Онищенко Д.А.// Москва, 2017.
4. Бутко М.П. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА "АНОЛИТ АНК- СУПЕР"//Бутко М.П., Попов П.А., Лемясева С.В., Онищенко Д.А.//Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2015. № 4 (16). С. 31-38.
5. Попов П.А. МЕТОДЫ ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ ПРОДУКТОВ УБОЯ ЖИВОТНЫХ НА ОСТАТОЧНЫЕ КОЛИЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ КОРМОВЫХ ДОБАВОК/ Попов П.А., Бабунова В.С., Осипова И.С., Лавина С.А., Денисова Е.А., Горяинова Г.М., Арсеньева Л.В.//Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2019. № 3 (31). С. 272-280.

References

1. Butko M.P. NEW DIRECTION IN OBTAINING BIOCIDES AND THEIR APPLIED SIGNIFICANCE. /Butko M.P., Frolov V.S., Popov P.A., Lemyaseva S.V.//Russian journal Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2014. No. 2 (12). pp. 6-10.
2. Butko M.P. FALSIFICATION OF PRODUCTS OF ANIMAL ORIGIN /Butko M.P., Popov P.A., Lemyaseva S.V., Onishchenko D.A.// Russian journal Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2017. No. 3 (23). pp. 17-23.
3. Butko M.P. VETERINARY AND SANITARY REQUIREMENTS TO ENSURE THE SAFETY OF MEAT AND MEAT PRODUCTS PRODUCTION / Gerasimov A.S., Poskonnaya T.F., Popov P.A., Ivchina E.Yu., Lemyaseva S.V., Onishchenko D.A.// Moscow , 2017.
4. Butko M.P. DETERMINATION OF THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF THE NEW DISINFECTANT "ANOLYTE ANK-SUPER"//Butko M.P., Popov P.A., Lemyaseva S.V., Onishchenko D.A.//Russian journal Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2015. No. 4 (16). pp. 31-38.
5. Popov P.A. METHODS OF VETERINARY AND SANITARY EXAMINATION OF ANIMAL Slaughter PRODUCTS FOR RESIDUE QUANTITIES OF MEDICINAL SUBSTANCES IN THE COMPOSITION OF FEED ADDITIVES / Popov P.A., Babunova V.S., Osipova I.S., Lavina S.A., Denisova E.A., Goryainova G.M., Arsenyeva L.V.//Russian

Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. 2019. No. 3 (31). pp. 272-280.