

УДК 638.162.3:638.154.3

© 2020

## УМІСТ АНТИБІОТИКІВ У МЕДУ ЗА УМОВИ ОБРОБКИ НИМИ БДЖОЛИНИХ СІМЕЙ

К.С. Мягка<sup>1</sup>, Т.М. Єфіменко<sup>2</sup>, Г.В. Односум<sup>3</sup>

<sup>2</sup>кандидат біологічних наук

<sup>3</sup>кандидат ветеринарних наук

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

<sup>2,3</sup>ННЦ «Інститут бджільництва імені П.І. Прокоповича»

вул. Академіка Заболотного, 19, м. Київ, 03143, Україна

e-mail: <sup>1</sup>katerina\_miyaka@meta.ua, <sup>2</sup>yefimenkotatiana@gmail.com, <sup>3</sup>odnosum.anna@gmail.com

ORCID: <sup>1</sup>0000-0002-3089-4012, <sup>2</sup>0000-0001-9611-6769, <sup>3</sup>0000-0001-5126-4952

Надійшла 4.02.2020

**Мета.** Визначити у меду вміст хлорамфеніколу, нітрофурану (АОЗ), неоміцину та флорфеніколу до 120-ї доби зберігання за умови одноразової обробки ними бджолиних сімей способом обприскування та згодовування разом із цукровим сиропом у 0,1%-й концентрації. **Методи.** Уміст метаболітів цих антибіотиків визначено на імуноферментному аналізаторі «Tescan Sunrise» за допомогою тест-систем RIDASCREEN® (виробництво r-Biopharm, Німеччина), EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. № 5111NEO) та Kwinbon Biotech Florfenicol and Thiamphenicol (Cat. № KA12901H) (Китай). **Результати.** Установлено, що вміст у меду 3-х із досліджених антибіотиків (хлорамфеніколу, нітрофурану, неоміцину) з часом зберігання не зменшується, як того варто було б очікувати, і як про це свідчать дані за обробки бджіл тетрацикліном. Така закономірність зберігається за аерозольної обробки та згодовування з цукровим сиропом. Виявлену закономірність простежено від 10- до 120-ї доби зберігання меду (період від відбору рамок із медом). При цьому вміст антибіотиків у меду є вірогідно більшим за згодовування антибіотиків, ніж за внесення способом аерозольного обприскування рамок із бджолами. На відміну від 3-х зазначених антибіотиків, вміст у меду флорфеніколу до 120-ї доби вірогідно зменшується за згодовування препарату, ніж за аерозольного обприскування, хоч і зберігається на достатньо високому рівні. **Висновки.** Отримані результати свідчать про потребу застосування альтернативних методів оздоровлення бджіл за гнильцевих хвороб бактеріальної природи, а саме — використання рослинних препаратів із бактерицидним і бактериостатичним ефектом і створення безрозплідного періоду на термін виведення нової матки.

**Ключові слова:** хлорамфенікол, нітрофуран, неоміцин, флорфенікол, імуноферментний аналіз, безрозплідний період.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agroviznyk202004-07>

Мед — цінний харчовий і лікувальний продукт. Попит на нього в розвинених країнах перевищує пропозицію. Україна входить у п'ятірку основних країн-експортерів

меду, щороку експортуючи його близько 70 тис. т переважно в країни ЄС. Однією з причин, що обмежує експорт вітчизняного меду, є невідповідність його якості світовим вимогам харчової безпеки [1]. Основні положення вимог, яким має відповідати мед для продажу на внутрішньому ринку ЄС, встановлено Директивою Ради 2001/110/ЄС [2]. Крім багатьох положень, у ній передбачено також надання ветеринарними фахівцями інформації щодо умов утримання і лікування бджіл. Зокрема у бджільництві заборонено як лікувальні препарати нітрофурану, хлорамфенікол (левоміцетин), фумагілін (рішення ЄС 3/01/081 від 4.02.2002 р.), стероїди, гормональні препарати, а також усі засоби, незареєстровані державною ветеринарною службою [3]. Відповідно до Регламенту Європейського Парламенту та Ради (ЄС) № 37/2010 мед має бути вільним від забруднення антибіотиками, а той, що містить ці речовини, не можна експортувати до країн-членів ЄС [4]. Такі обмеження зумовлені накопиченням у бджолиних продуктах заборонених речовин і препаратів, що призводить до виникнення дизбактеріозів у людей та сприяє розвитку резистентності до них у збудників захворювань [5].

В Україні за останні 10 років розроблено й затверджено нові державні стандарти на мед та інші бджолині продукти. У 2012 р. набрали чинності ветеринарно-санітарні вимоги для об'єктів із переробки продуктів бджільництва. Визначено основні вимоги щодо безпеки виробництва меду натурального та його фасування, а також затверджено допустимі рівні токсичних елементів, пестицидів, антибіотиків у меду (ДСТУ 4497:2005).

Незважаючи на заборону або суворе обмеження використання антибіотиків і препаратів хімічного синтезу в галузі бджільництва, в Україні їх все ще нерідко виявляють у меду. Через це великі партії меду з умістом антибіотиків бракують і залишають на внутрішньому ринку, що є однією із причин зниження ціни на мед.

**Мета досліджень** — визначити тривалість зберігання в меду антибіотиків, що найчастіше виявляють під час аналізів, за різних способів обробки ними бджолиних сімей.

**Завдання:** визначити в меду до 120-ї доби зберігання уміст хлорамфеніколу, нітрофурану (АОЗ), неоміцину та флорфеніколу за умови одноразової обробки ними бджолиних сімей способом обприскування та згодовування у 0,1%-й концентрації.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослід за природних умов проведено на дослідній пасіці лабораторії технологічних і спеціальних заходів профілактики захворювань бджіл ННЦ «Інститут бджільництва імені П.І. Прокоповича», з якої не відбирають товарний мед. На момент дослідження пасіка нараховувала 30 бджолиних сімей. На кожний варіант було передбачено по 3 сім'ї, однакових за силою. На початку дослідження бджоли займали в середньому по 10 рамок. Сім'ї утримували у вуликах-лежаках.

Вибір препаратів обґрунтовано тим, що саме вони найчастіше виявляються в меду, а їхні концентрації та норми витрати — даними літератури про їх інгібувальний ефект щодо збудників бактеріальних захворювань бджіл, проти яких їх найчастіше використовують [6]. На пасіці на момент дослідження не було клінічних проявів жодних захворювань бактеріальної, грибової чи вірусної природи. Обробку бджолиних сімей проводили 07.06.2018 р. згідно зі схемою дослідження двома способами — аерозольним обприскуванням та згодовуванням із цукровим сиропом. Відбір стільників проведено 17.06.2018 р. з подальшим їх пресуванням. Аналіз зразків, відібраних від оброблених бджолиних сімей, проведено 17.06.2018 р.; 17.07.2018 р. і 17.10.2018 р. згідно зі стандартними методами [7–10].

**Схема дослідження.** Аерозольна обробка бджолиних сімей водним розчином антибіотиків (у концентрації 0,1%, або 0,1 г на 0,1 л води з розрахунку 200 мл на сім'ю).

*Варіант 1.* Хлорамфенікол. *Варіант 2.* Нітрофуран (АОЗ). *Варіант 3.* Неоміцин. *Варіант 4.* Флорфенікол.

Згодовування антибіотиків бджолиним сім'ям із цукровим сиропом (у концентрації 0,1%, або 0,1 г на 0,1 л сиропу з розрахунку 200 мл на сім'ю).

*Варіант 5.* Хлорамфенікол. *Варіант 6.* Нітрофуран (АОЗ). *Варіант 7.* Неоміцин. *Варіант 8.* Флорфенікол.

Згодовування бджолиним сім'ям по 200 мл цукрового сиропу без антибіотиків і обприскування тіла бджіл водою 200 мл на сім'ю.

#### Варіант 9. Контроль.

Для приготування 0,1%-х водних розчинів антибіотиків використовували чисті субстанції Chloramphenicol CAS № C3175; AOZ CAS № 80-65-9; Florfenicol CAS № F1427; Neomycin CAS № 1405-10-3 (виробник — Sigma-Aldrich).

Дослідження за лабораторних умов із визначення в меду антибіотиків залежно від способів їх застосування та від термінів зберігання меду проведено на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Згідно з класифікацією методів випробувань, які використовують для контролю показників безпеки харчових продуктів, їх поділяють на скринінгові та підтверджувальні [11].

Визначення залишкових кількостей хлорамфеніколу, нітрофурану (АОЗ), неоміцину та флорфеніколу проводили методом ELISA на імуноферментному аналізаторі «Тесап» (виробник — «Sunrise», Австрія) за допомогою тест-систем для конкурентного імуноферментного аналізу RIDASCREEN® (виробник — r-Biopharm, Німеччина), EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. № 5111NEO) та Kwinbon Biotech Florfenicol and Thiamphenicol (Cat. № KA12901H) (Китай) [7–10].

**Результати досліджень.** Обробка бджолиних сімей хлорамфеніколом, нітрофураном, неоміцином і флорфеніколом у концентрації 0,1% за двох способів (аерозольна обробка та згодовування з цукровим сиропом) свідчить, що в поліфлорному меду, відібраному із оброблених антибіотиками бджолиних сімей, досліджені препарати виявляли (практично без істотного зменшення їх кількості в більшості варіантів) упродовж усього терміну проведення досліджень (до 120-ї доби).

Визначено уміст хлорамфеніколу, нітрофурану, неоміцину та флорфеніколу у меду залежно від способів їх застосування (аерозольна обробка чи згодовування з цукровим сиропом) і термінів зберігання меду (10, 30 і 120 діб), відібраного з оброблених сімей (таблиця).

Установлено, що вміст у меду 3-х із досліджених антибіотиків (хлорамфеніколу, нітрофурану, неоміцину) під час зберігання не зменшується, як того варто було б очікувати, і як про це свідчать дані за окремими антибіотиками, зокрема за обробки бджіл тетрацикліном [5]. Така закономірність зберігається за аерозольної обробки і за згодовування з сиропом. Цю закономірність простежено від 10- до 120-ї доби зберігання меду (період від відбору рамок із медом). При цьому вміст антибіотиків у меду є вірогідно більшим за їхнього згодовування, ніж за аерозольного обприскування рамок із бджолами. На відміну від 3-х зазначених антибіотиків уміст у меду флорфеніколу до 120-ї доби вірогідно

#### Динаміка вмісту антибіотиків у поліфлорному меду залежно від термінів його зберігання та способів обробки бджолиних сімей ( $M \pm m$ , $n=3$ ), мкг/кг

Варіант досліджу	Аерозольна обробка			Згодовування сиропу		
	Доба					
	10	30	120	10	30	120
1 і 5. Хлорамфенікол	2,53±0,08	2,78±0,10	3,14±0,05*	5,67±0,11	6,27±0,10**	5,66±0,1
2 і 6. Нітрофуран (АОЗ)	1,57±0,06	1,52±0,02	1,60±0,10	2,79±0,04	2,53±0,12	2,87±0,15
3 і 7. Неоміцин	124,88±1,90	123,29±4,01	130,34±3,40	196,72±6,45	201,02±1,69	198,44±4,39
4 і 8. Флорфенікол	127,05±4,32	129,58±3,78	124,56±5,01	189,96±4,06	190,08±3,24	164,04±5,25**
9. Контроль	0	0	0	0	0	0
*P≤0,01; **P≤0,05 — порівняно з 10-ю добою у межах кожної обробки.						

\* $P \leq 0,01$ ; \*\* $P \leq 0,05$  — порівняно з 10-ю добою у межах кожної обробки.

зменшується за згодовування препарату, ніж за аерозольного обприскування, хоч і зберігається на достатньо високому рівні.

Отримані результати з визначення вмісту найпоширеніших антибіотиків у меду в довгостроковому досліді (до 120-ї доби з моменту відбору стільників) свідчать про потребу застосування альтернативних методів оздоровлення бджіл за інфекційних (гнильці бактеріальної природи) та інвазійних (нозематоз) захворювань. Доцільне

використання рослинних препаратів і ви-тяжок із комплексним бактерицидним, фунгіцидним та протипаразитарним ефектами для оздоровлення імаго бджіл та поєднання їх із безрозплідним періодом на термін виведення нової матки (для лікування хвороб розплоду). Ці методи розроблено в лабораторії технологічних і спеціальних заходів профілактики захворювань бджіл ННЦ «Інститут бджільництва імені П.І. Прокоповича» [12–14].

## Висновки

Уміст у меду хлорамфеніколу, нітрофурану, неоміцину не зменшується зі збільшенням терміну його зберігання до 120-ї доби (періоду, до якого проводили дослідження). Така закономірність зберігається за аерозольної обробки та згодовування препаратів із цукровим сиропом. Залишкові кількості протимікробних засобів у меду через 10 діб та після тривалішого зберігання (30- та 120-ти діб) вірогідно вищі за згодовування сиропу, ніж за аерозольної обробки бджолиних сімей.

Уміст досліджених антибіотиків у меду до 120-ї доби спостережень свідчить про потребу застосування альтернативних методів оздоровлення бджіл за інфекційних та інвазійних захворювань, а саме: використання рослинних препаратів із комплексним бактерицидним, фунгіцидним і протипаразитарним ефектами для оздоровлення імаго бджіл та поєднання їх із безрозплідним періодом на термін виведення нової матки (для лікування хвороб розплоду).

Miahka K.<sup>1</sup>, Yefimenko T.<sup>2</sup>, Odnosum H.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, 30 Donetska Str., Kyiv, 03151, Ukraine,

<sup>2,3</sup>NSC «Institute of Beekeeping named after P.I. Prokopovych», 19 Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, 03143, Ukraine; e-mail: [katerina\\_miahka@meta.ua](mailto:katerina_miahka@meta.ua),

<sup>2</sup>yefimenkotatiana@gmail.com, <sup>3</sup>odnosum.anna@gmail.com; ORCID: <sup>1</sup>0000-0002-3089-4012, <sup>2</sup>0000-0001-9611-6769, <sup>3</sup>0000-0001-5126-4952

### **The content of antibiotics in honey on condition of their use in the treatment of bee colonies**

**Goal.** To determine in honey the content of chloramphenicol, nitrofurantoin (AOZ), neomycin and florfenicol on the 120th day of storage on condition of their one-time use in the treatment of bee colonies by spraying and feeding with sugar syrup in 0.1% concentration. **Methods.** The content of metabolites of these antibiotics was determined on immunoassay analyzer «Tecan Sunrise» with the following test-systems RIDASCREEN® (rBiopharm, Germany), EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No. 5111NEO) and Kwinbon Biotech Florfenicol and Thiamphenicol (Cat. No. KA12901H) (China). **Results.** The content in the honey of these 3

examined antibiotics (chloramphenicol, nitrofurantoin, neomycin) with storage time is not reduced, as would be expected, and as evidenced by the data of treating bees with tetracycline. This regularity is maintained both for the aerosol processing and feeding with sugar syrup. Discovered regularity is traced from the 10th to the 120th day of the storage of honey (the period from the selection from frames with honey). The content of antibiotics in honey is significantly larger at feeding with antibiotics than at aerosol spraying the frames with bees. In contrast to these 3 antibiotics, the content of florfenicol in honey on the 120th day was significantly decreased at feeding the drug as compared to aerosol spraying, although it remains at a high enough level. **Conclusions.** The obtained results indicate the necessity of applying alternative methods of healing bees at putrefactive diseases of bacterial nature, namely, the use of herbal medicine with bactericidal and bacteriostatic effects and the creation of infertility period for the term of birth of a new queen bee.

**Key words:** chloramphenicol, nitrofurantoin, neomycin, florfenicol, immunoassay, infertility period.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202004-07>

## Бібліографія

1. Гробов О.Ф., Клочко Р.Т. Критерии оценки меда и продуктов пчеловодства — требования ВТО. *Пчеловодство*. 2004. № 8. С. 5–7.
2. Директива Ради 2001/110 ЄС від 20 грудня 2001. *Official J. of the European Communities*. 2002. № 1. L. 10/47–52.
3. Пислар Г.В. Якість продукції бджільництва: світовий досвід та вітчизняна практика. *Вісник Житомирського національного агроекологічного університету*. 2012. № 2(2). С. 296–307.
4. Commission Regulation (EU) № 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. 2010. P. 1–72.
5. Dinkov D., Kanelov I., Zhelyazkova I., Vashin I. Persistence of tetracycline and oxytetracycline in bee honey after improper application on bee families. *Bulg. J. Vet. Med.* 2005. V. 8. № 3. P. 205–209.
6. Мусієнко О.В., Кистерна О.С. Гнильцеві хвороби бджіл, особливості діагностики та боротьби. *Вісник Сумського національного аграрного університету: науковий журнал*. Сер. «Ветеринарна медицина». Суми: СНАУ, 2017. Вип. 11 (41). С. 90–95.
7. Янович Д.В., Косенко Ю.М., Костюк А.О., Засадна З.С. Методичні вказівки по кількісному визначенню хлорамфеніколу у зразках м'яса, молока, яєць та меду тест-системою рідаскрін — хлорамфенікол. Львів, 2003. № 15–14/320. 17 с.
8. Янович Д.В., Косенко Ю.М., Костюк А.О., Засадна З.С. Методичні вказівки по кількісному визначенню нітрофурану (АОЗ) у зразках м'яса, креветках, молоці та меду за допомогою тест-системи Ridaskryn® nitrofurantoin (AOZ). Львів: ПП Biola, 2008. 13 с.
9. Мягкая К.С., Костюк М.В., Ткачук С.А. Методичні рекомендації з кількісного визначення неоміцину за допомогою тест-системи для імуноферментного аналізу EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. № 5111NEO). Київ: ДНДІЛДВСЕ, 2018. 22 с.
10. Мягкая К.С., Костюк М.В., Ткачук С.А. Методичні рекомендації з кількісного визначення флорфеніколу та тіамфеніколу за допомогою тест-системи для імуноферментного аналізу Kwinbon Biotech Florfenicol and Thiamphenicol (Cat. № KA12901H). Київ: ДНДІЛДВСЕ, 2018. 23 с.
11. Янович Д. Вплив розвитку сучасних технологій в галузі харчової аналітики на рівень світових вимог до показників якості та безпеки меду. *Производственная лаборатория*. 2014. № 1(52). С. 20–23.
12. Єфіменко Т.М. Боротьба з європейським гнильцем без антибіотиків. *Пасіка*. 2009. № 12. С. 16–17.
13. Yaroshko O.M., Shepelevych V.V., Stepura L.G. et al. Antibacterial effect of flower extracts on microorganisms isolated from honeycombs with affected bee brood. *Agricultural Science and Practice*. 2017. № 4 (1). P. 50–55. doi: 10.15407/agrisp4.01.050
14. Єфіменко Т.М., Односум Г.В. Як лікувати гнилець без антибіотиків. *Пасіка*. 2017. № 1. С. 8–10.