

УДК 637.5'65:637.04:579

АЗИРКІНА І.М., e-mail: azirkina@vetlabresearch.gov.ua

*Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи*

## ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ХІНОЛОНІВ У ПРОДУКЦІЇ ПТАХІВНИЦТВА МІКРОБІОЛОГІЧНИМ МЕТОДОМ

*В статті наведені результати апробації та валідації методу «NAT-screening» визначення залишкової кількості хінолонів у продукції птахівництва мікробіологічним методом.*

*Визначено специфічність, точність та чутливість мікробіологічного методу «NAT-screening», який потребує мінімальної кількості часу та розхідних матеріалів, дозволяє виявляти ½ максимально допустимих рівнів антимікробних препаратів згідно з вимогами європейського законодавства і забезпечує ідентифікацію залишкових кількостей антимікробних препаратів до груп хінолонів.*

**Ключові слова:** *тест-культура Yersinia ruckeri NCIM 13282(ATCC 29473), хінолони, флюомеквін, м'ясо птиці, печінка, нирки, NAT-screening.*

**Вступ.** Вплив антимікробних препаратів на якість м'яса птиці є гострим питанням сьогодення, тому проведення ветеринарно-санітарної оцінки м'яса птиці після застосування з лікувально-профілактичною метою комплексних антимікробних препаратів є важливим аспектом попередження негативних впливів продукції птахівництва на здоров'я людини [1–3].

Одним із пріоритетних напрямів державної політики щодо здорового харчування населення вважається забезпечення безпечності харчових продуктів. При цьому враховуються особливості їх складу, оскільки, крім пластичного матеріалу і біологічно активних речовин, вони можуть містити багато контамінантів, у тому числі антимікробні препарати [2].

Джерелом надходження їх, в основному, можна вважати різні кормові добавки, лікарські і хімічні препарати, які використовують для підвищення продуктивності птиці, профілактики захворювань, збереження якості кормів [4–5]. Основна кількість антимікробних препаратів надходить до організму людини з їжею [2].

При застосуванні таких продуктів птахівництва в їжу залишки антимікробних препаратів групи хінолонів, потрапляючи до людського організму можуть викликати такі симптоми, як головний біль, розлади сну, тривогу, безсоння, запаморочення. Можливі також ототоксичність, порушення зору, парестезії, тремор, судоми, артралгії, шкірні реакції, дискомфорт із боку шлунково-кишкового тракту, діарея, фотосенсибілізація та алергія. Ризик розвитку судом підвищується у хворих із порушення мозкового кровообігу та черепно-мозковими травмами. Рідко виникають порушення опорно-рухового апарату, артропатія, артралгія, міалгія, лейкопенії [2, 6–8].

Хінолони – група синтетичних антибіотиків, що є похідними 4-хінолону і мають в своєму складі піперазиновий цикл. Вперше препарат групи хінолінів застосовали у клінічній практиці в 1962 році [7].

Залишки антимікробних препаратів у сировині та продукції тваринного походження регламентуються такими нормативними документами Європейського Союзу: Регламентом Комісії (ЄС) №37/2010, Директивою Ради №96/23/ЄЕС, САС/MRL 02, Codex Alimentarius Commission, Commission Decision 2002/657/ЕС, які гармонізовані в Україні Наказом Міністерства охорони здоров'я №695 від 06.08.2013 р.

На даний час в Україні продукцію птахівництва мікробіологічним методом не досліджують на залишкові кількості хінолінів [11]. Проте, з вересня 2016р. в зв'язку з набуттям чинності Наказу МОЗ України «Про затвердження Параметрів безпечності м'яса птиці» від 06.08.2013 р. №695 розширилися критерії дослідження продукції птахівництва в рамках періодичного контролю на залишкові кількості антибіотиків.

В Україні за основу обраний скринінговий мікробіологічний метод – «A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT-screening)», який апробований, валідований та адаптований до роботи в українських лабораторіях [10].

В основі мікробіологічного методу визначення хінолонів лежить принцип дифузії в агар, тобто здатності антибіотиків дифундувати в щільне поживне середовище, інокульоване специфічним чутливим тест-мікроорганізмом, викликаючи затримку його росту. Це проявляється появою в агарі чітко окреслених, чистих від росту тест-культури зон [10, 11].

Перевагою цього методу є те, що забезпечується ідентифікація залишкових кількостей антимікробних препаратів до групи, тим самим полегшуючи подальше підтвердження методом рідинної хроматографії [10–15].

**Мета нашої роботи** полягала в проведенні апробації, валідації якісного скринінг-мікробіологічного методу «NAT-screening» щодо визначення залишкових кількостей групи хінолінів у продукції птахівництва.

**Матеріали та методи досліджень.** Аналіз національної та європейської мікробіологічної нормативної документації залишкової кількості антимікробних препаратів у продуктах птахівництва проводили згідно з нормативно-законодавчою базою і доступними літературними джерелами.

Чутливість цього методу для групи хінолонів відповідає максимально допустимим рівням (МДР), що визначені в нормативних документах ЄС (табл. 1).

Для встановлення межі чутливості мікробіологічного методу «NAT-screening» з визначення залишків групи хінолінів було проведено дослідження на модельованих пробах м'яса птиці, печінки та нирок, вільних від антибіотиків (негатив), та в пробах із внесеними стандартними розчинами антибіотиків у концентраціях  $\frac{1}{2}$  МДР і МДР [14]. Дослідження проводились у 20 повторюваностях (табл. 2).

Таблиця 1

**Порівняння показників та МДР групи хінолонів у продукції птахівництва  
за діючими нормативними документами України та ЄС**

<b>Антибіотики</b>	<b>CAC/MRL 02 Codex Alimentarius Commission, мкг/кг</b>	<b>Регламент Комісії (ЄС) №37/2010, мкг/кг</b>	<b>Обов'язковий мінімальний перелік досліджень, МБТ (національне законодавство)</b>	<b>Наказ №695 від 06.08.2013 р., мкг/кг</b>
<b>М'ясо птиці</b>				
Данофлорксацин	200 м'язи, 400 печінка, нирки	200 м'язи, 400 печінка, нирки	—	200 м'язи, 400 печінка, нирки
Діфлорксацин	—	300 м'язи, 1900 печінка, 600 нирки	—	300 м'язи, 1900 печінка, 600 нирки
Енрофлорксацин	—	100 м'язи, 200 печінка, 300 нирки	—	100 м'язи, 200 печінка, 300 нирки
Флюмеквін	500 м'язи, 500 печінка, 3000 нирки	400 м'язи, 800 печінка, 1000 нирки	—	400 м'язи, 800 печінка, 1000 нирки
Оксолінова кислота	—	100 м'язи, 150 печінка, нирки	—	100 м'язи, 150 печінка, нирки

Таблиця 2

**Концентрація антибіотиків, внесених у проби,  $M \pm m$ ,  $n=20$**

<b>Антибіотики</b>	<b>М'ясо, мкг/кг</b>	
	<b>МДР</b>	<b>½ МДР</b>
Данофлорксацин	200±1	100±1
Діфлорксацин	300±1	150±1
Енрофлорксацин	100±1	50±1
Флюмеквін	400±1	200±1
Оксолінова кислота	100±1	50±1
<b>Печінка, мкг/кг</b>		
Данофлорксацин	400±1	200±1
Діфлорксацин	1900±1	950±1
Енрофлорксацин	200±1	100±1
Флюмеквін	800±1	400±1
Оксолінова кислота	150±1	75±1
<b>Нирки, мкг/кг</b>		
Данофлорксацин	400±1	200±1
Діфлорксацин	600±1	300±1
Енрофлорксацин	300±1	150±1
Флюмеквін	1000±1	500±1
Оксолінова кислота	150±1	75±1

Для визначення специфічності до проб було внесено антимікробні препарати у концентрації: данофлораксин – 100 мкг/кг, діфлораксин – 150 мкг/кг, енрофлораксин – 50 мкг/кг, флюомеквін – 200 мкг/кг, оксолінова кислота – 50 мкг/кг, для м'яса: данофлораксин – 200 мкг/кг, діфлораксин – 950 мкг/кг, енрофлораксин – 100 мкг/кг, флюомеквін – 400 мкг/кг, оксолінова кислота – 75 мкг/кг – для печінки; данофлораксин – 200 мкг/кг, діфлораксин – 300 мкг/кг, енрофлораксин – 150 мкг/кг, флюомеквін – 500 мкг/кг, оксолінова кислота – 75 мкг/кг – для нирок.

*Готування тест-культури Yersinia ruckeri NCIM 13282 (ATCC 29473) та чашок Петрі з тестовим агаром.* Для дослідження використовували музейний штам тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473), чутливої до хінолонів, у концентрації  $10^6$  КУО/см<sup>3</sup>. Використовували поживне середовище Platecount Agar (HIMEDIA, Індія) з рН 6,5. Агар заливали в чашки Петрі шаром 2,5 мм.

*Стандарт антибіотика.* Використовували стандарт «флюомеквін» (Sigma Aldrich, США) – основний розчин антибіотика розводили 0,1 М фосфатним буферним розчином з рН 8,0. Розчин флюомеквін з активністю 0,04 мкг/см<sup>3</sup> вносили по 100 мкл в чашки з тестовим агаром на диск 12,7 мм (Whatman, Schleicher&Schuell, Hertogenbosch, Нідерланди).

*Готування проб до дослідження.* Проби м'яса, печінки, нирок виймали з морозильної камери за кілька хвилин перед дослідженням, поверхню м'яса вирівнювали і робили поперечні надрізи скальпелем, в які вкладали диски з фільтрувального паперу діаметром 12,7 мм на 30 хв з метою просочування м'ясною рідиною.

В кожній чашці з тестовим агаром робили по 2 лунки діаметром 14 мм, в які заливали 0,1 М фосфатний буферний розчин (рН 6,5) до межі луночки, після чого в них вкладали диски, просочені рідиною однієї проби, один навпроти одного.

Чашки інкубували протягом 16–18 годин за температури  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . Після інкубації чашки оглядали на наявність зон інгібування тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473) навколо лунок. Наявність зон  $> 15$  мм вказують на присутність залишків антибіотика в пробах.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel 2015» із обчисленням середнього арифметичного (М), стандартної похибки (m) та рівня вірогідності (p) за таблицею Стюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною при  $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,001$ .

Також визначали точність, специфічність, чутливість методу згідно з ДСТУ ISO 16140 : 2006.

**Результати дослідження та їх обговорення.** В ході проведених досліджень встановлено, що навколо луночок із внесеним стандартом спостерігаються чітко окреслені, чисті від росту тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473) із зонами інгібування, які коливаються в межах від  $16,01 \pm 0,01$  мм до  $20,03 \pm 0,03$  мм.

Всі негативні проби не давали зони із затримкою росту навколо дисків.

У пробах продукції птахівництва, в які було внесено антибіотики групи хінолонів, спостерігали навколо дисків, просочених рідиною проби, чітко окреслені зони затримки росту тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473). Результати щодо діаметрів зон інгібування для різних продуктів та різних антибіотиків наведені в табл. 3–5.

Аналізуючи одержані результати, спостерігали, що навколо проб м'яса з ½ МДР енрофлоксацином ( $17,03 \pm 0,01$  мм), флюмеквіном ( $17,03 \pm 0,02$  мм) були найнижчі зони інгібування, а найвищі –  $18,05 \pm 0,03$  мм спостерігали навколо дисків, просочених рідиною проб із додаванням оксолінової кислоти на рівні ½ МДР.

За додавання енрофлоксацину, флюмеквіну, в проби м'яса на рівні 1 МДР зони інгібування становили  $18,03 \pm 0,02$  мм, найвищі зони затримки росту були  $20,03 \pm 0,02$  мм та спостерігалися навколо дисків, просочених рідиною проб із додаванням оксолінової кислоти на рівні 1 МДР (табл. 3).

Таблиця 3

**Діаметри зон затримки росту тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473) навколо проб м'яса з додаванням аналітів,  $M \pm m$ , мм,  $n=20$**

Антибіотики	Концентрація антибіотика в пробах			
	Негативний контроль	Контроль (стандарт)	Проба з додаванням аналіту на рівні ½ МДР	Проба з додаванням аналіту на рівні 1 МДР
Данофлоксацин	Відсутні зони затримки росту тест-культури навколо дисків, просочених рідиною проби	$17,01 \pm 0,01$	$18,01 \pm 0,01$	$20,01 \pm 0,01$
Діфлоксацин		$19,01 \pm 0,01$	$18,01 \pm 0,01$	$20,01 \pm 0,01$
Енрофлоксацин		$17,03 \pm 0,03$	$17,03 \pm 0,01$	$18,03 \pm 0,03$
Флюмеквін		$16,03 \pm 0,03$	$17,03 \pm 0,02$	$18,03 \pm 0,02$
Оксолінова к-та		$18,01 \pm 0,03$	$19,03 \pm 0,03$	$20,03 \pm 0,03$

В пробах печінки із додаванням флюмеквіну, найнижчі зони затримки росту були ( $17,03 \pm 0,03$  мм), а найвищі були навколо проб із додаванням данофлоксацину та діфлоксацину в дозі ½ МДР. Проте, в пробах печінки на рівні 1 МДР найнижчі зони затримки росту ( $18,01 \pm 0,01$  мм) були навколо дисків проб із енрофлоксацином (табл. 4).

В пробах нирок найнижчі зони затримки росту були навколо проб із додаванням флюмеквіну на рівні  $18,01 \pm 0,01$  мм, найвищі ж зони затримки росту енрофлоксацину ( $18,04 \pm 0,03$  мм) були навколо проб із додаванням на рівні ½ МДР.

Таблиця 4

**Діаметри зон затримки росту тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473) навколо проб печінки з додаванням аналітів,  $M \pm m$ , мм, n=20**

Антибіотики	Концентрація антибіотика в пробах			
	Негативний контроль	Контроль (стандарт)	Проба з додаванням аналіту на рівні $\frac{1}{2}$ МДР	Проба з додавання маналіту на рівні 1 МДР
Данофлораксацин	Відсутні зони затримки росту тест-культури навколо дисків, просочених рідиною проби	19,01 $\pm$ 0,01	18,01 $\pm$ 0,01	20,03 $\pm$ 0,03
Діфлораксацин		17,03 $\pm$ 0,03	18,01 $\pm$ 0,01	19,03 $\pm$ 0,03
Енрофлораксацин		16,01 $\pm$ 0,01	17,04 $\pm$ 0,03	18,01 $\pm$ 0,01
Флюомеквін		17,04 $\pm$ 0,03	17,03 $\pm$ 0,03	18,03 $\pm$ 0,02
Оксолінова к-та		17,04 $\pm$ 0,03	17,04 $\pm$ 0,03	18,03 $\pm$ 0,02

Що ж до результатів із додавання флюомеквіну в пробах нирок на рівні 1 МДР, то зони інгибування становили (18,01 $\pm$ 0,01мм), найвищі ж зони затримки росту були 20,04 $\pm$ 0,02 мм та спостерігалися навколо дисків, просочених рідиною проб із додаванням данофлораксацину на рівні 1 МДР (табл. 5).

Таблиця 5

**Діаметри зон затримки росту тест-культури *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473) навколо проб нирок з додаванням аналітів,  $M \pm m$ , мм, n=20**

Антибіотики	Концентрація антибіотика в пробах			
	Негативний контроль	Контроль (стандарт)	Проба з додаванням аналіту на рівні $\frac{1}{2}$ МДР	Проба з додаванням аналіту на рівні 1 МДР
Данофлораксацин	Відсутні зони затримки росту тест-культури навколо дисків, просочених рідиною проби	18,05 $\pm$ 0,03	18,04 $\pm$ 0,02	20,04 $\pm$ 0,02
Діфлораксацин		17,03 $\pm$ 0,03	18,03 $\pm$ 0,02	20,03 $\pm$ 0,03
Енрофлораксацин		18,03 $\pm$ 0,02	18,04 $\pm$ 0,03	20,03 $\pm$ 0,03
Флюомеквін		17,03 $\pm$ 0,03	18,01 $\pm$ 0,01	20,01 $\pm$ 0,01
Оксолінова к-та		18,03 $\pm$ 0,02	18,04 $\pm$ 0,02	20,03 $\pm$ 0,03

Виходячи з отриманих результатів, можна зробити висновок, що найнижчий рівень визначення ( $\frac{1}{2}$  МДР) залишкових кількостей хінолінів для *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473), тобто чутливість методу, для м'яса становила 50мкг/кг енрофлораксацину і оксолінової кислоти, а для печінки та нирок –75 мкг/кг оксолінової кислоти.

**Специфічність.** Щодо проб із вмістом окситетрацикліну, тилозину, дигідрострептоміцину і сульфадіазину – зони інгибування навколо луночок із внесеними антимікробними препаратами, які згадуються, були відсутні.

**Точність.** При виконанні дослідження спостерігали 100% узгодженість між результатами досліджень та пробами із різними способами та рівнями контамінації.

**Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. Встановлено, що чутливість скринінгового мікробіологічного методу «NAT-screening» залишкових кількостей хінолінів для м'яса становить: для данофлораксацину– 100 мкг/кг, діфлораксацину– 150 мкг/кг, флюомеквіну– 200 мкг/кг, енрофлораксацину та оксолінової кислоти 50 мкг/кг, для печінки: 200 мкг/кг данофлораксацину, 950 мкг/кг діфлораксацину, 100 мкг/кг енрофлораксацину, 400 мкг/кг флюомеквіну, 75 мкг/кг оксолінової кислоти, для нирок: данофлораксацину – 200 мкг/кг, діфлораксацину– 300 мкг/кг, енрофлораксацину – 150 мкг/кг, флюомеквіну – 500 мкг/кг, оксолінова кислота – 75 мкг/кг, що відповідає максимально допустимим рівням, які визначені європейським законодавством та наказом МОЗ України №695 від 06.08.2013 р.

2. Встановлено, що специфічність, точність та чутливість «NAT-screening» становить 100%.

У зв'язку з розширенням критеріїв дослідження продукції птахівництва на залишкові кількості хінолоніву рамках періодичного контролю слід впровадити в роботу лабораторій ветеринарної медицини метод «NAT-screening».

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бияшев К.Б. Экспериментальные данные о содержании антибиотиков в органах и тканях / [К.Б. Бияшев, Н.Б. Сансербаева, Ш.А. Мустафина] // Ветеринарлык ғылымдар. – 2009. – № 5. – С. 103–106.
2. Клетикова Л.В. Эколого-гигиенические аспекты применения антибиотиков / [Л.В. Клетикова, Б.Ф. Бессарабов, А.Б. Козлов] // Научный поиск. – 2013. – №1. – С. 36–39.
3. Приліпко Т. Показники безпеки тваринницької продукції [Електронний ресурс] – Режим доступу: [http://www.nbu.gov.ua/old\\_jm/chem\\_biol/Piapk/2012\\_2/12ptyisa.pdf](http://www.nbu.gov.ua/old_jm/chem_biol/Piapk/2012_2/12ptyisa.pdf).
4. Меженська Н.А. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів у системі забезпечення безпечності та якості харчових продуктів і кормів [Електронний ресурс] – Режим доступу: [http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbu/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP\\_meta&C21COM=S&2\\_S21P03=FILE=&2\\_S21STR=Nd\\_2014\\_7\\_23](http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbu/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILE=&2_S21STR=Nd_2014_7_23).
5. Гуфрій Д. Використання антибіотиків у тваринництві – порятунок чи поява нової проблеми при прогресуючому зростанні опірності мікроорганізмів проти них / Д. Гуфрій // Ветеринарна медицина України. – 2000. – №8. – С. 20–22.
6. Выявление остаточных количеств антибиотиков в мясе убойных животных и птицы / [Ю. А. Сосина, Е. А. Карцева, Е. И. Карамышева, Е. А. Ляшенко] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. – 2012. – № 6. – С.178–180.
7. Дронова М.Л. Нові антибіотики хінолонового ряду: перспективи застосування в клінічній практиці / [Н.Л. Дронова, Н.О. Вринчану, Д.М. Дудікова] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – №1 (42). – С. 3–10.
8. Мелихов С.В. Применение комплексных антибактериальных препаратов в птицеводстве и животноводстве / [С.В. Мелихов, В.Н. Радионов] // Ветеринария Кубани. – 2012. – №6. – С. 6–8.
9. Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини №87 від 18.11.2003 року «Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінізованих препаратів та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://document.ua/obovjakovii-minimalnii-perelik-doslidzhen-sirovini-produkciy-nor8259.html>.

10. A new microbials creening method for the detection of antimicrobial residues inslaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT – screening) Retrived from <http://www.elsevier.com/locate/foodcont>.
11. Nachkebia, J.V., Nachkebia, E.J. & Nachkebia, K.J. Casual Conditionality of Pathogen Features of Escherichia due to their Joint Inhabitance with Oxygenic Clostridia. // Annals of Agrarian Science. – 2006. – Vol. 3, N 4. –P. 195–197.
12. Gondova Zuzana. The NAT test – screening for antibiotic residues in the tissues of food-producing animals.// Institute of Meat Hygiene and Technology University of Veterinary Medicine and Pharmacy Kosice, Slovak Republic. [Електронний ресурс]. – Режим доступа: <http://www.maso-international.cz/download/maso-international-2012-2-page-095-100.pdf>.
13. Nico Coppens. Microbial screening tests for antibiotic residues in meat: compared with the European technologies/ Ghent university veterinary faculty. [Електронний ресурс]- Режим доступа: [http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681\\_2012\\_0001\\_AC.pdf](http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681_2012_0001_AC.pdf).
14. Commission Regulation (EU) № 37/2010 // Official journal of the European Commission. – 2010. – L15. – P.72.
15. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerningthe performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Commission. – 2002. – L. 221. –P. 8–28.

# **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО КОЛИЧЕСТВА ХИНОЛОНОВ В ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ / Азыркина И.М.**

*В статье приведены результаты по апробации и валидации метода «NAT-screening» определения остаточного количества хинолонов в продукции птицеводства микробиологическим методом.*

*Определены специфичность, точность и чувствительность микробиологического метода «NAT-screening», который позволяет исследовать большое количество проб, требует минимального количества времени и расходных материалов и обеспечивает идентификацию остаточных количеств антимикробных препаратов к группе хинолонов.*

**Ключевые слова:** *тест-культура Yersinia ruckeri NCIM 13282 (ATCC 29473), хинолоны, флюмеквин, мясотицы, печенька, почки, NAT-screening.*

# **DETERMINATION OF THE RESIDUAL AMOUNT OF QUINOLONES IN POULTRY PRODUCTS BY MICROBIOLOGICAL METHOD / Azyrkina I.M.**

**Introduction.** *One of priority areas of the state policy concerning public health nutrition is provision of foodstuff safety. Thus, features of their composition are taken into account, since, in addition to plastic material and biologically active substances, they can contain a lot of contaminants, including antimicrobials.*

**The goal of the work** *was to conduct comparative analysis of the national and European microbiological screening methods for antibiotic residual detection in poultry meat, testing and validation of qualitative microbiological "NAT-screening" method of quinolones determination in poultry.*

**Material and methods.** *The sensitivity and specificity limits were established by the microbiological method "NAT-screening" for the residues of quinolones determination. The study was carried out in 20 repetitions on simulated samples of poultry meat that are free from antibiotics and also in samples with introduced antibiotics solutions in concentrations of ½ MRL and MRL.*

**Results of research and discussion.** *We found clearly defined growth inhibition zone of pure test culture YersiniaruckeriNCIM 13282 (ATCC 29473), which ranged from 16.01±0.01 mm to 20.03±0.03 mm. The result of the microbiological screening method "NAT-screening" study for*



quinolones residual amounts low detection ( $\frac{1}{2}$  MRL) showed sensitivity to danofloxacin 100  $\mu\text{g/kg}$ , difloxacin 150  $\mu\text{g/kg}$ , enrofloxacin 50  $\mu\text{g/kg}$ , flumequin 200  $\mu\text{g/kg}$  oxolic acid 50  $\mu\text{g/kg}$  in meat; denofloxacin – 200  $\mu\text{g/kg}$ , diphloxacin – 950  $\mu\text{g/kg}$ , enrofloxacin – 100  $\mu\text{g/kg}$ , flumequin – 400  $\mu\text{g/kg}$ , oxolic acid – 75  $\mu\text{g/kg}$  – in the liver; denofloxacin – 200  $\mu\text{g/kg}$ , diphloxacin – 300  $\mu\text{g/kg}$ , enrofloxacin – 150  $\mu\text{g/kg}$ , flumequin – 500  $\mu\text{g/kg}$ , oxolic acid – 75  $\mu\text{g/kg}$  in the kidney, which corresponded MDR of European law and order № 695 from 06.08.2013.

**Conclusions and prospects for further research.** Established that sensitivity, specificity and accuracy of the microbiological method "NAT-screening" for residual quinolones is 100%.

**Keywords:** test culture, *Yersinia ruckeri* NCIM 13282 (ATCC 29473), quinolones, flumequine, poultry meat, liver, kidneys, NAT-screening.

## REFERENCES

1. Biyashev, K.B., Sanserbaeva, N.B. & Mustafina, Sh.A. (2009). Eksperimentalnyie dannyye o sodержanii antibiotikov v organah i tkanyah [Experimental data on the content of antibiotics in tissues and organs]. *Veterinariya – Veterinary Sciences*, Vol. 5, 103-106 [in Russian].
2. Kletikova, L.V., Bessarabov, B.F. & Kozlov, A.B. (2013). Ekologo-gigienicheskie aspekty primeneniya antibiotikov [Environmental and hygienic aspects of the use of antibiotics] *Nauchnyi poisk – Scientific search*, Vol.1, 36-39 [in Russian].
3. Prylipko, T. Pokaznyky bezpeky tvarynnyts'koyi produktsiyi [Safety parameters livestock production]. [www.nbu.gov.ua](http://www.nbu.gov.ua). Retrieved from: [http://www.nbu.gov.ua/old\\_jrn/chem\\_biol/Piapk/2012\\_2/12ptyisa.pdf](http://www.nbu.gov.ua/old_jrn/chem_biol/Piapk/2012_2/12ptyisa.pdf). [in Ukrainian].
4. Mezhen's'ka, N.A. (n.d.) Antybiotykorezystentnist' mikroorhanizmiv u systemi zabezpechennya bezpechnosti ta yakosti kharchovykh produktiv i kormiv [Antibiotic resistance of microorganisms in the system of ensuring the safety and quality of food and feed]. [www.irbis-nbu.gov.ua](http://www.irbis-nbu.gov.ua) Retrieved from: [http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbu/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CN R=20&S21STN=1&S21FMT=ASP\\_meta&C21COM=S&S21P03=FILE=&S21STR=Nd\\_2014\\_7\\_23](http://www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbu/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CN R=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&S21P03=FILE=&S21STR=Nd_2014_7_23) [in Ukrainian].
5. Hufriy, D. (2000). Vykorystannya antybiotykiv u tvarynnyts'tvi – poryatunok chy poyava novoyi problemy pryprohresuyuchomu zrostanti opirnosti mikroorhanizmiv proty nykh [The use of antibiotics in livestock – the salvation or the emergence of new problems in the progressive growth of microorganisms resistance against them]. *Veterynarna medytsyna Ukrayiny – Veterinary Medicine of Ukraine*, 8, 20-22 [in Ukrainian].
6. Sosina, Yu.A., Kartseva, E.A., Karamyisheva, E.I. & Lyashenko, E.A. (2012). Vyyavlenie ostatochnykh kolichestv antibiotikov v myase uboynykh zhivotnykh i ptitsy [Identification of residues of antibiotics in the meat of slaughtered animals and poultry]. *Aktualnyie problemy infektsionnoy patologii i biotekhnologii – Actual problems of infectious pathology and biotechnology*. Vol. 6, 178-180 [in Russian].
7. Dronova, M.L., Vrynchanu, N.O. & Dudikova, D.M. (2015). Novi antybiotyky khinolonovoho ryadu: perspektyvy zastosuvannya v klinichniy praktytsi [New antibiotics of the quinoline series: prospects for application in clinical practice]. *Farmakolohiya talikars'ka toksykolohiya – Pharmacology and drug toxicology*, Vol. 1(42), 3-10 [in Ukrainian].
8. Melihov, S.V. & Radionov, V.N. (2012). Primenenie kompleksnykh antibakterialnykh preparatov v ptitsevodstve i zhivotnovodstve [The use of complex antibacterial drugs in poultry and livestock]. *Veterinariya Kubani – Kuban Veterinary*, Vol. 6, 6-8 [in Russian].
9. Obov'yazkovyy minimal'nyy perelik doslidzhen' syrovyny, produktsiyi tvarynnoho ta roslynnoho pokhodzhennya, kombikormovoyi syrovyny, kombikormiv, vitaminizovanykh preparativ ta in., yaki slid provodyty v derzhavnykh laboratoriyakh veterynarnoyi medytsyny [Mandatory minimum list of research materials, products of animal and vegetable origin, animal feed raw materials, feed, medicines and fortified al., Which should be in public veterinary laboratories]. Order of the State Department of Veterinary Medicine №87 from 18.11.2003. [www.document.ua](http://www.document.ua). Retrieved from: <http://document.ua/obov'yakovii-minimalnii-perelik-doslidzhen-sirovini-produkciy-nor8259.html> [in Ukrainian].

10. A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nowsantibiotictest (NAT – screening). *www.elsevier.com*. Retrieved from <http://www.elsevier.com/locate/foodcont>.
11. Nachkebia, J.V., Nachkebia, E.J. & Nachkebia, K.J. (2006). Casual Conditionality of Pathogen Features of Escherichia due to their Joint Inhabitation with Oxygenic Clostridia. *Annals of Agrarian Science*, Vol. 3, 4, 195-197.
12. Gondova, Zuzana (2012). The NAT test – screening for antibiotic residues in the tissues of food-producing animals – Institute of Meat Hygiene and Technology University of Veterinary Medicine and Pharmacy Kosice, Slovak Republic. *www.maso-international.cz*. Retrieved from: <http://www.maso-international.cz/download/maso-international-2012-2-page-095-100.pdf>.
13. Nico, Coppens (2012). Microbial screening tests for antibiotic residues in meat: compared with the European technologies – Ghent university veterinary faculty. *www.lib.ugent.be*. Retrieved from: [http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681\\_2012\\_0001\\_AC.pdf](http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/893/681/RUG01-001893681_2012_0001_AC.pdf).
14. Commission Regulation (EU) No. 37/2010.(2010). *Official journal of the European Commission*, L. 15, 72.
15. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Commission*, L. 221, 8-28.

**УДК 636.09:57.083.2[57.063.8+578.82/.83]**

**ГАВРАСЬЄВА Н.В.**, канд. вет. наук, наук. сп., e-mail: [gari-nata@ukr.net](mailto:gari-nata@ukr.net),

**КУЗЬМИЧ Г.С.**, e-mail: [80505752885@mail.ru](mailto:80505752885@mail.ru),

**ЮЩЕНКО А.Ю.**, e-mail: [yshchenkoalla@ukr.net](mailto:yshchenkoalla@ukr.net),

**КЛЕСТОВА З.С.**, д-р вет. наук, e-mail: [zinaklestova@gmail.com](mailto:zinaklestova@gmail.com)

*Державний науково-контрольний інститут біотехнології та штамів мікроорганізмів*

## **АДАПТАЦІЯ ДО НЕПЕРМІСИВНИХ КУЛЬТУР КЛІТИН ТВАРИН ВІРУСУ ДІАРЕЇ ВРХ ШТАМУ «BUG-04»**

*У статті наведено результати підбору перещеплюваних культур клітин BGM, KST, PK-15, FLK для культивування вірусу діареї великої рогатої худоби. Швидкість реплікації та урожай вірусу залежали від культури. На підставі отриманих результатів, культура клітин BGM на 6 пасажі дає більш високий урожай вірусу у порівнянні з культурами клітин KST, PK-15 та FLK. Отримані дані дозволяють розширити діапазон досліджень із вірусом діареї ВРХ.*

**Ключові слова:** вірус діареї ВРХ, культура клітин, титр вірусу, штам «BUG-04».

**Вступ.** Вірусна діарея великої рогатої худоби (хвороба слизових оболонок, мукозального хвороба, інфекційний ентерит великої рогатої худоби) – поширене контагіозне захворювання, що уражує різні вікові групи тварин, має широкий спектр клінічних симптомів, може спричинювати як