

УДК 631.51:633.111.1

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-335-2-21-23>

**Бабунова В.С.,
Горяинова Г.М.,
Арсеньева Л.В.,
Денисова Е.А.**

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

ORCID: 0000-0001-5506-9337

ORCID.: 0000-0001-8856-0616

ORCID: 0000-0001-6903-3327

ORCID.: 0000-0003-1603-403X

ospvnii@mail.ru

Ключевые слова: биологическая безопасность, стимуляторы роста, β -агонисты, антибиотики, остаточные количества запрещенных ветеринарных препаратов, иммуномикрочиповая технология.

Для цитирования: Бабунова В.С., Горяинова Г.М., Арсеньева Л.В., Денисова Е.А. Определение специфичности методики выявления остаточных количеств биостимуляторов роста и β -агонистов на основе иммуномикрочиповой технологии // *Аграрная наука*. 2020; (2): 21–23.

DOI: 10.32634/0869-8155-2020-335-2-21-23

**Veronika S. Babunova,
Galina M. Goryainova,
Louise V. Arsenyeva,
Elizaveta A. Denisova**

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology - a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences"

ORCID: 0000-0001-5506-9337

ORCID.: 0000-0001-8856-0616

ORCID: 0000-0001-6903-3327

ORCID.: 0000-0003-1603-403X

ospvnii@mail.ru

Key words: biological safety, growth promoters, β -agonists, antibiotics, residual amounts of prohibited veterinary drugs, immunomicrochip technology.

For citation: Babunova V.S., Goryainova G.M., Arsenyeva L.V., Denisova E.A. Determining the specificity of method for detection residual quantities of biostimulants of growth and β -agonists on the basis of immunomicrochip technology // *Agrarian Science*. 2020; (2): 21–23. (In Russ.)

DOI: 10.32634/0869-8155-2020-335-2-21-23

Определение специфичности методики выявления остаточных количеств биостимуляторов роста и β -агонистов на основе иммуномикрочиповой технологии

РЕЗЮМЕ

В статье представлены материалы по определению специфичности метода определения остаточных количеств стимуляторов роста и β -агонистов с помощью иммуномикрочиповой технологии Evidence Investigator и тест-набора Growth Promoter Multiple Matrix Array. По результатам внесения 18 различных лекарственных средств (гормональные препараты и антибиотики), показана строгая специфичность методики. Метод является перспективным на территории РФ.

Determining the specificity of method for detection residual quantities of biostimulants of growth and β -agonists on the basis of immunomicrochip technology

ABSTRACT

The article presents materials for determining the specificity of the method for determining residual amounts of growth promoters and β -agonists using the evidence Investigator immunomicrochip technology and the Growth Promoter Multiple Matrix Array test Suite. According to the results of applying 18 different drugs (hormones and antibiotics), the strict specificity of the method is shown. The method is promising on the territory of the Russian Federation.

Введение

Вопрос о контаминации животноводческой продукции остаточными количествами ветеринарных препаратов очень актуален на сегодняшний день во всех странах. Все чаще при скрининговых исследованиях в пищевых продуктах обнаруживаются остаточные количества антибиотиков, гормональных препаратов, сульфаниламидов, кокцидиостатиков — содержание которых не допускается или ограничено по законодательству.

Для увеличения производства продукции в промышленном животноводстве нередко используются различные стимуляторы роста, в том числе гормональные (естественные и синтетические стероиды, тиреостатики, β -агонисты и др.), что может приводить к их избыточному накоплению в мясе и мясопродуктах. Это представляет серьезную опасность для здоровья человека, поскольку данные соединения нарушают обменные процессы и гормональный статус организма, влияют на сердечную деятельность, могут обладать канцерогенным эффектом.

В связи с этим во многих странах ужесточаются требования по контролю за содержанием гормональных препаратов в продуктах животного происхождения. В 2003–2005 гг. в Европе было проведено мониторинговое исследование по нелегальному использованию различных гормональных стимуляторов роста в животноводстве. По данным Европейской Комиссии по результатам этого исследования гормоном, остатки которого чаще всего обнаруживают в различной животноводческой продукции, оказался дексаметазон. Так, в 2003 г. было зарегистрировано 130 случаев нелегального его применения в Европе, в 2004 г. — 64 случая, в 2005 г. — 186 случаев [1].

Многие синтетические гормональные препараты плохо метаболизируются и накапливаются в организме животных в больших количествах, мигрируя по пищевой цепочке в продукты питания. Таким образом, остаточные количества таких токсикантов могут попадать через мясные продукты в организм человека. Они стабильны при приготовлении пищи, способны вызывать гормональный дисбаланс в обмене веществ и физиологических функциях организма человека, могут привести к деградации репродуктивной системы человека, к феминизации мужчин и т.д. Они обладают также канцерогенными, иммунотоксичными и эмбриотоксичными свойствами.

В странах Евросоюза и России применение гормональных препаратов запрещено (Директивы 96/22 / ЕС 2008/97 / ЕС 2003/74 / ЕС). В тоже время ограниченное использование искусственных стимуляторов роста допускается в США, Канаде, Австралии, Новой Зеландии, Аргентине и некоторых странах Южной Америки, Азии и Африки. Эти страны являются экспортерами мясной

продукции. Следовательно, требуется система жесткого контроля пищевой продукции на содержание остаточных количеств гормонов [2–4].

Методы, используемые для обеспечения в Российской Федерации контроля и мониторинга остаточных количеств стимуляторов роста в продукции животноводства, должны иметь высокую чувствительность и строгую специфичность.

Для определения остаточных количеств стимуляторов роста используют различные инструментальные методы анализа: ИФА, жидкостная хроматография высокого давления (ВЭЖХ), высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС-МС), тест-системы RIDASCREEN® [5–7]. Система Evidence Investigator, использующая запатентованную технологию биочипов компании Randox, может стать хорошей альтернативой, так как позволяет на одном образце одновременно выявлять остатки нескольких препаратов различных стимуляторов роста [8–9].

Материалы и методы

Для очистки образцов были использованы специальные иммуноаффинные колонки GP1821 фирмы Randox. На одной колонке проводили очистку 10 проб поочередно. Полученный элюат выпаривали досуха при температуре 60 °C на ротаторном испарителе Rotary Evaporator RE-52AA. Полученный сухой образец ресуспендировали

Таблица 1.

Определение специфичности иммуномикрочипового метода к группам стимуляторов роста, содержащимся в мясе при внесении в него лекарственных препаратов

Образцы мяса с лекарственными препаратами	Определяемые группы стимуляторов роста на панели Growth Promoter Multiple Matrix Array							
	Болденон	Кортикостероиды	Нандролон	Станозолол	Стильбены	Тренболон	Зеранол	β -агонисты (суммарное содержание)
Дипроспан суспензия для инъекций (ДВ Бетаметазон)	–	+	–	–	–	–	–	–
Кленбульмин (ДВ кленбутерола гидрохлорид)	–	–	–	–	–	–	–	+
Дексаметазон раствор для инъекций 4 мг/мл (ДВ дексаметазон)	–	+	–	–	–	–	–	–
Спектран (ДВ амоксициллин и бетаметазон)	–	+	–	–	–	–	–	–
Дексавет 0,4%, фл. 50 мл (ДВ дексаметазона фосфат)	–	+	–	–	–	–	–	–
Дексафорт, фл. 50 мл (ДВ дексаметазона фенилпропионат и дексаметазона натрия фосфат)	–	+	–	–	–	–	–	–
Гидрокортизон (ДВ гидрокортизон, лидокаин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Фертагил (ДВ гонадорелин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Окситочина раствор (10 ЕД), фл. 100 мл (ДВ окситочин)	–	–	–	–	–	–	–	–
АСД-2 (сухая перегонка сырья животного происхождения)	–	–	–	–	–	–	–	–
Байтрил 5% (ДВ энрофлоксацин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Бромколин (ДВ линкомицин гидрохлорид, колистин сульфат, бромгексин гидрохлорид)	–	–	–	–	–	–	–	–
Гентам (ДВ амоксициллин, гентамицин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Окситетрамаг 20% ин. раствор (ДВ окситетрациклин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Трициллин (ДВ пенициллин, стрептомицин, стрептоцид)	–	–	–	–	–	–	–	–
Тилозин 50 (ДВ тилозин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Дизпаркол (ДВ левомицетин, метронидазол, тилозин)	–	–	–	–	–	–	–	–
Тиоцефур (ДВ цефтиофур натрия)	–	–	–	–	–	–	–	–

и затем использовали для определения остаточных количеств стимуляторов роста.

Определение остаточных количеств биостимуляторов в мясе проводили методом иммуномикрочиповой технологии на полуавтоматическом сканирующем хемилюминиметре «Evidence investigator» фирмы «Randox Laboratories Ltd». Использовался комплект тест-набора «Скрининг на активаторы роста по нескольким матрицам: Growth Promoter Multiple Matrix Array» (EV3726).

Для проведения опытов по определению специфичности метода в образцы мяса (фарш) вносили в микродозах медицинские и ветеринарные препараты различных групп, как относящихся по действующему веществу к стимуляторам роста, так и различные антибиотики, в том числе комплексные.

Результаты исследований и обсуждение

При лечении некоторых заболеваний в ветеринарной практике используются противовоспалительные препараты, которые относят к группе кортикостероидов. Так, например, в составе препарата Спектран, используемого для лечения КРС и свиней, помимо антибиотика амоксициллина есть бетаметазон, который принадлежит к группе синтетических кортикостероидов (гормонов коры надпочечников) и оказывает противовоспалительное, противозудное, противоаллергическое, антипролиферативное действие.

Всего при определении специфичности метода было использовано 18 лекарственных препаратов. Полученные данные представлены в таблице 1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Stolker A.A.M., Brinkman U.A.Th. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs growth-promoting agents in food-producing animals a review // J. Chromatogr. A. 2005. Vol. 1067. P. 15–53.
2. Директивы Совета Европейского Сообщества 96/23/ЕС от 29 апреля 1996 года по исследованию остатков запрещенных и вредных веществ в организме живых животных и продуктах животного происхождения.
3. Калинин А.Я. Актуальные проблемы защиты потребительского рынка от фальсифицированной, опасной и некачественной продукции в русле концепции Правительства РФ «Политика здорового питания в России» // Сб. трудов 7-го всероссийского конгресса «Здоровое питание населения России». М., 2003. С. 220–223.
4. Комаров А.А., Крапивин Б.А., Закирова Ю.А., Насырова О.А. Определение коксидиостатиков в кормах и продукции животноводства // Аграрная наука. № 9. 2007. С. 29–32.
5. Попов П.А., Бабунова В.С., Осипова И.С. и др. Методы ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов убоя животных на остаточные количества лекарственных веществ в составе кормовых добавок // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2019. № 3 (31). С. 272–281.
6. Комаров А.А., Выегжанина А.В. Скрининг-метод ИФА для обнаружения остаточных количеств дексаметазона в продукции животноводства // Сб. науч. тр. ФГУ «ВГНКИ». М.: ФГУ «ВГНКИ», 2006. Т. 67. С. 149–161.
7. Куликовский А.В., Вострикова Н.Л., Иванкин А.Н., Князева А.С. Хромато-масс-спектрометрическое определение остатков ветеринарных препаратов в пищевой продукции, нормируемых законодательством российской федерации // Всё о мясе. № 1. 2019. С. 8–12.
8. Бабунова В.С. Чувствительность метода иммуномикрочиповой технологии при определении остаточных количеств бета-агонистов в мясе продуктивных животных // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. № 4 (32), 2019. С. 354–358.
9. Арсеньева Л.В., Бабунова В.С., Горьянова Г.М. и др. Иммуномикрочиповая технология определения остаточных количеств антигельминтиков в мясе // Аграрная наука. 2019. № 10. С. 13–15.
10. Дорожкин В.И., Смирнов А.М., Гуленкова Н.К. и др. Роль ветеринарно-санитарной науки в обеспечении здоровья животных, биологической безопасности животноводческой продукции и охраны окружающей среды // Ветеринария и кормление. 2017. № 2. С. 14–17.

При внесении же лечебного препарата, действующим веществом которого являлся какой-либо стимулятор роста, на панели Growth Promoter Multiple Matrix Array всегда определялось соответствие группе. Так, например, при внесении препарата Кленбульмин, действующим веществом которого является кленбутерол гидрохлорид, панель показывала наличие в образце группы β -агонистов. При использовании гормонального препарата Фертагил он не определился на панели, так как его действующее вещество не относится к стимуляторам роста. В ветеринарии данный препарат используется для регуляции функции воспроизводства.

При внесении антибиотиков распространенных групп, используемых в ветеринарной практике, они не определялись и не влияли на результаты определения стимуляторов роста.

Таким образом, из полученных данных видно, что метод иммуномикрочиповой технологии Evidence Investigator обладает строгой специфичностью к определяемым группам гормональных препаратов.

Заключение

В результате необоснованного использования стимуляторов роста и гормональных препаратов производителями мяса возможна прямая угроза здоровью потребителя. Проведенные исследования показали, что метод определения остаточных количеств стимуляторов роста и β -агонистов с помощью иммуномикрочиповой технологии Evidence Investigator и тест-набора Growth Promoter Multiple Matrix Array обладает строгой специфичностью.

REFERENCES:

1. Stolker A.A.M., Brinkman U.A.Th. Analytical strategies for residential analysis of veterinary drugs growth-promoting agents in food-producing animals a review // J. Chromatogr. A. 2005. Vol. 1067. P. 15–53.
2. Directive 96/23/EC of the Council of the European Community of 29 April 1996 on the study of residues of prohibited and harmful substances in living animals and animal products.
3. Kalinin A.Ya. Actual problems of consumer market protection from falsified, dangerous and low-quality products in line with the concept of the government of the Russian Federation "Healthy food policy in Russia" // Proceedings Of the 7th all-Russian Congress "Healthy food of the Russian population". М., 2003. P. 220–223.
4. Komarov A.A., Krapivin V.A., Zakirov Y.A., Nasyrov A.O. Determination of koksidostatikov in feed and animal products // Agrarian science. № 9. 2007. P. 29–32.
5. Popov P.A., Babunova V.S., Osipova I.S. et al. Methods of veterinary and sanitary examination of animal slaughter products for residual amounts of medicinal substances in feed additives // Russian journal of veterinary sanitation, hygiene and ecology. 2019. № 3 (31). P. 272–281.
6. Komarov A.A., Vylegzhaniina A.V. Screening method for detection of residual amounts of dexamethasone in livestock products // Collection of scientific papers of "VGNKI". М.: FSU "VGNKI". 2006. Vol. 67. P. 149–161.
7. Kulikovskiy A.V., Vostrikova N.L., Ivankin A.N., Knyazeva A.S. Chromato-mass spectrometric determination of veterinary drug residues in food products regulated by the legislation of the Russian Federation // All about meat. № 1. 2019. P. 8–12.
8. Babunova V.S. Sensitivity of the method of immunomicrochip technology in determining the residual amounts of beta-agonists in the meat of productive animals // Russian journal of veterinary sanitation, hygiene and ecology. № 4 (32). 2019. P. 354–358.
9. Arsenova L.V., Babunova V.S., Goryainova G.M. et al. Immunomicrochip technology for determining residual amounts of anthelmintics in meat // Agrarian science. 2019. № 10. P. 13–15.
10. Dorozhkin V.I., Smirnov A.M., Gunenkova N.K. et al. The Role of veterinary and sanitary science in ensuring animal health, biological safety of animal products and environmental protection // Veterinary medicine and feeding. 2017. № 2. P. 14–17.