

KONTAMINÁCIA Mlieka DOJNÍC REZÍDUAMI ANTIBIOTÍK PO ICH TERAPEUTICKEJ APLIKÁCIÍ

Popelka, P., Nagy, J., Popelka, P. , Sokol, J., Marcinčák, S.*

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice
*Štátny veterinárny a potravinový ústav, Nitra

ABSTRACT

The effectiveness of various assay systems on milk samples from individual dairy cows were examined in our experiment. Milk samples (n=108) were taken from dairy cows receiving antibiotic treatment with intramammary infusion of Ampiclox L.C.susp. alone and in combination with single injection of Norocillin L.A.inj. Samples were obtained from pretreatment time and sampling continued every 12 hours after beginning of treatment until all residue tests showed a negative result for the presence of antibiotics.

Antibiotic residues were detected by *Bacillus stearothermophilus* var.*calidolactis* disc assay (BsDA), four plate microbiological disc assay and by on-farm screening test Delvotest SP.

The most sensitive strain to penicillin residues was *Bacillus stearothermophilus* var.*calidolactis* and there was no significant difference between BsDA and Delvotest SP.

Úvod

Prítomnosť rezíduí antibiotík v mlieku predstavuje potencionálne riziko pre konzumentov, z dôvodov možnosti vzniku alergických reakcií, rezistencie, prípadne technologických problémov pri výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov, syrov a masla.

Používanie antibiotík pri liečbe a prevencii mastitíd je kľúčovým bodom v systéme kontroly výskytu mastitíd (H i l l e r t o n a kol., 1999). Nevyhnutnosť používania antibiotík vedie ku potrebe vytvorenia účinného systému monitoringu rezíduí antibiotík v mlieku. Na základe v súčasnosti platnej legislatívy (STN 57 0531) boli mikrobiologické metódy ustanovené pre zabezpečenie jednotného postupu pri hodnotení inhibičných látok a rezíduí liečiv. *Bacillus stearothermophilus* var.*calidolactis* disková metóda je metódou vhodnou pre rutinný screening rezíduí antibiotík v mlieku a podobne bol neskôr odporučený a schválený Delvotest SP pre sledovanie a detekciu penicilínov a sulfonamidov v mlieku (S u h r e n a B e u k e r s, 1998).

Materiál a metódy

V experimente sme porovnali účinnosť rôznych testovacích metód pri analýze individuálnych vzoriek mlieka získaných od dojníc s klinickou mastitídou. Vzorky mlieka (n=108) boli odoberané v 12 hodinových intervaloch od dojníc liečených intramamárnou infúziou (IMM) Ampicloxu L.C. susp. ad us. vet. aplikovanej samostatne trikrát do všetkých štvrtiek v 24 hodinových intervaloch a v kombinácii s jednorázovou intramuskulárnou aplikáciou Norocillinu L.A. inj. ad us. vet. do obdobia pokiaľ vzorky neboli negatívne. Ochranná doba Ampicloxu L.C. susp. je 2,5 dňa (5 dojení) a Norocillinu L.A. inj. 72 hodín.

Rezíduá antibiotík boli stanovené *Bacillus stearothermophilus* diskovou metódou (BsDA), štvorplatňovou mikrobiologickou metódou (*Bac.subtilis* pH 6,0; 7,2; 8,0 a *Microccus luteus*) a farmovým screeningovým Delvotest SP testom.

Výsledky

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že pri vzorkách mlieka získaných od dojníc liečených IMM boli výsledky BsDA v zhode s výsledkami Delvotestu SP (Tabuľka 1). Štvorplatňová metóda nedosiahla citlivosť na úrovni BsDA a Delvotestu SP. Ochranná doba liečiva zodpovedala údajom odporučených výrobcov.

Tab. 1 Priemerné hodnoty zón inhibície mikrobiologických testov a priemerné výsledky Delvotestu SP po samostatnej IMM liečbe

Odber vzoriek (hod.)	BsDA (mm)	Bac.subtilis (mm)			Mic. luteus (mm)	Delvotest SP
		6.0	7.2	8.0		
0*	0	0	0	0	0	-
12	10.8	15.8	10.2	9.2	3.0	+
24*	5.4	1.0	0.4	0	0	+
36	11.2	14.0	8.8	8.2	3.6	+
48*	6.2	4.0	0	0	0	+
60	10.4	12.6	10.4	7.6	2.2	+
72	6.0	3.2	0	0	0	+
84	2.0	0	0	0	0	+
96	1.5	0	0	0	0	±
108	0.8	0	0	0	0	-

* aplikácia IMM suspenzie Ampicloxu L.C.

Pri vzorkách mlieka získaných od dojníc liečených kombináciou IMM a IM (Tabuľka 2) boli výsledky BsDA v zhode s výsledkami dosiahnutými pri samostatnej IMM liečbe. Podľa týchto údajov ochranná doba oboch liečiv odporučená výrobcov nebola prekročená. Na druhej strane výsledky Delvotestu SP boli odlišné a v prípade kombinácie dvoch liečiv bola prítomnosť rezíduí zaznamenaná o 24 hodín dlhšie ako pri samostatnej IMM liečbe. Ochranná doba oboch liečiv nezodpovedala údajom odporučeným výrobcov.

Pri hodnotení BsDA a štvorplatňovej mikrobiologickej metódy sa za pozitívne považujú zóny inhibície ≥ 2 mm.

Štvorplatňová mikrobiologická metóda nedosiahla citlivosť na úrovni BsDA a Delvotestu SP.

RIZIKOVÉ FAKTORY POTRAVOVÉHO REŤAZCA

Tab. 2 Priemerné hodnoty zón inhibície mikrobiologických testov a priemerné výsledky Delvotestu SP po kombinácii IMM a IM liečby

Odber vzoriek (hod.)	BsDA (mm)	Bac.subtilis (mm)			Mic. luteus (mm)	Delvotest SP
		6.0	7.2	8.0		
0*/**	0	0	0	0	0	-
12	10.5	14.75	8.75	9.25	2.0	+
24*	6.0	3.75	2.25	3.0	0	+
36	11.0	17..5	8.0	6.5	2.75	+
48*	5.25	4.25	2.25	1.25	1.5	+
60	9.25	14.0	10.25	7.5	2.75	+
72	6.0	4.5	2.25	1.25	1.0	+
84	2.0	0	0	0	0	+
96	1.5	0	0	0	0	+
108	1.125	0	0	0	0	+
120	0	0	0	0	0	+
132	0	0	0	0	0	+
144	0	0	0	0	0	-

* aplikácia IMM suspenzie Ampicloxu L.C.

** jednorázová IM aplikácia Norocillinu L.A.

Diskusia

V prípade samostatnej IMM aplikácie Ampicloxu L.C.susp. boli výsledky BsDA a Delvotestu SP zhodné a neboli v rozpore s informáciám výrobcu o ochrannej dobe liečiva. *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* v porovnaní so štvorplatňovou metódou produkoval najvyrovnanejšie zóny inhibície a zachytával prítomnosť rezíduí penicilínov počas najdlhšieho obdobia. Podľa výsledkov De Santisa a Mazzetta (1991) *Bac. stearothermophilus* reagoval pri testovaní rôznych skupín antibiotík najcitlivejšie na prítomnosť penicilínov (0,001 – 0,004 µg/ml) a cefalosporínov.

Pri aplikácii kombinácie IMM a IM liečby boli pozorované rozdiely medzi výsledkami BsDA a Delvotestu SP. Delvotest SP vykazoval pozitívne reakcie na prítomnosť penicilínov o 24 hodín dlhšie, čím súčasne o tú istú dobu prekročil odporúčanú ochrannú dobu liečiv. Seymour a kol. (1988) nezistili signifikantné rozdiely vo výsledkoch Delvotestu a BsDA, keď 78 % výsledkov bolo zhodných, a iba 5 % výsledkov Delvotestu bolo negatívnych, keď BsDA bol pozitívny a naopak 17 % bolo pozitívnych, keď BsDA bol negatívny. Všeobecne, nevýhodou mikrobiologických metód je možnosť výskytu falošne pozitívnych, alebo falošne negatívnych výsledkov. V prvom prípade je poškodený producent, v druhom prípade je ohrozené zdravie populácie konzumujúcej potraviny kontaminované rezíduami antibiotík a technologické problémy pri výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov v dôsledku potlačenia aktivity mliekarenských kultúr používaných pri ich výrobe. Falošné výsledky sa vyskytujú prevažne u individuálnych vzoriek mlieka, menej často u vzoriek odoberaných z mliečnych tankov. Dôvodom je fenomén riedenia rezíduí antibiotík v mlieku, čo zvyšuje požiadavky na výber vhodnej metódy pre dôkaz ich prítomnosti. Delvotest SP je rutinne používaný pre kontrolu prítomnosti rezíduí antibiotík v mlieku v centrálnych a referenčných laboratóriách a pre samokontrolu dodávok mlieka v mliekarenských závodoch. Avšak zabezpečenie zdravotnej

RIZIKOVÉ FAKTORY POTRAVOVÉHO REŤAZCA

nezávadnosti mlieka a odstránenie falošných výsledkov si vyžaduje overenie výsledkov Delvotestu presnejšími fyzikálno-chemickými metódami, ako napríklad vysokoúčinná kvapalinová chromatografia.

Spracovanie príspevku bolo podporené grantom VEGA 1/7021/20