

Обеспечим безопасность продуктов питания

Тест-система BEADYPLEX поможет определить 12 групп антибиотиков в мясе

Мадина АСПАНДИЯРОВА, кандидат технических наук
ООО «АТЛ»



Антибактериальная терапия все еще остается приоритетным способом профилактики и борьбы с распространением инфекционных болезней в промышленном животноводстве. Это связано с генетической трансформацией патогенов, новыми клиническими формами проявления болезней и, как следствие, с усложнением контроля за заболевшими животными в неблагополучном стаде. Однако практика широкого использования антибиотиков приводит к возникновению другой проблемы — появлению патогенных штаммов микроорганизмов, устойчивых к отдельным видам препаратов.

Наиболее распространенный механизм резистентности — способность гидролизовать одну из связей β-лактамного кольца ферментами β-лактамазами — сформировался у грамотрицательных бактерий. Это делает их нечувствительными к цефалоспорином I–IV поколений. Такой механизм резистентности существует у множества патогенных бактерий: *Staphylococcus* spp., *Klebsiella*, *E. coli*, *Proteus* spp. и др.

Из-за с проблемы растущей резистентности микроорганизмов в США с 2007 г. было запрещено использование фторхинолонов по незарегистрированным показаниям в кормах для сельскохозяйственных животных.

На территории Таможенного союза в соответствии с ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» продовольственное сырье животного происхождения должно быть получено от продуктивных животных, которые не

подвергались воздействию натуральных и синтетических антибиотиков и других лекарственных средств для ветеринарного применения, введенных перед убоем до истечения сроков их выведения из организма.

В соответствии с Федеральным законом от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в нашей стране действует организационно-правовая система, осуществляющая контроль за «производством, изготовлением, регистрацией, реализацией и иными действиями в сфере обращения лекарственных средств для ветеринарного применения».*

Распоряжением правительства РФ № 2045-р от 25 сентября 2017 г. утверждена Стратегия по предупреждению распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 г. Система государственного надзора за обращением лекарст-

венных препаратов основана на применении новейших достижений в области аналитического контроля, а также современных технических средств. Компания Unisensor (Бельгия) разработала инновационный метод одновременного определения 12 групп антибиотиков в мясном сырье при использовании одной тест-системы под названием BEADYPLEX.

BEADYPLEX — это обладающая высокой пропускной способностью тест-система в формате 96-луночных микропланшетов на основе многокомпонентного конкурентного проточно-цитометрического иммуноанализа (FCIA) для одновременного скринингового определения более 85 антибиотиков — аминогликозидов, бета-лактамов, линкозамидов, макролидов, полимиксинов (колистин), сульфаниламидов (включая дапсон), фениколов (включая хлорамфеникол), тетрациклинов, фторхинолонов, плевомутилинов и др. — в мышечной ткани сельскохозяйственных животных и в морских продуктах.

Метод анализа на основе FCIA эффективно комбинирует иммуноанализ с оптической характеристикой микрочастиц, обеспечиваемой проточной цитометрией. В методе использованы различия специально подобранных микросфер, индивидуально «закодированных» при помощи специфической комбинации размера и внутренней флуоресценции. Флуоресценцию микросферам придают меченные флуорохромами антитела, прикрепленные к поверхности этих микросфер. Каждый флуорохром флуоресцирует при возбуждении молекулы светом волны определенной длины.

* Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Федеральный закон от 22 декабря 2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств».

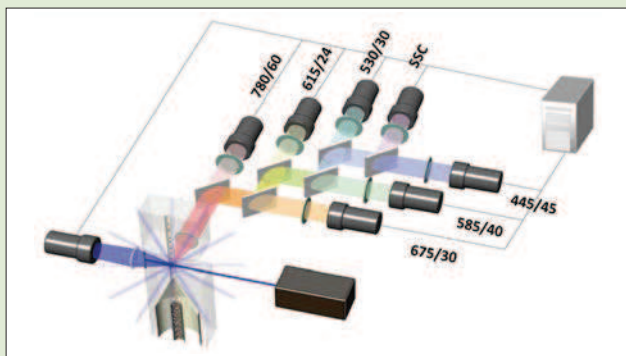


Рис. 1. Схема расположения светофильтров флюориметра NovoCyte 2000



Рис. 2. Проточный цитометр NovoCyte 2000

Определяемые антибиотики

Группа	Антибиотик
Аминогликозиды	Стрептомицин, дигидрострептомицин, гентамицин, неомицин, канамицин, паромомицин, апрамицин, тобрамицин
Амфениколы (фениколы)	Хлорамфеникол, флорфеникол, тиамфеникол
β-лактамы	Цефкином, цефтиофур, десфурилцефтиофур, цефоперазон, цефалексин, цефалоним, цефапирин, диацетил, цефапирин, цефазолин, цефацетрил, пенициллин V, пенициллин G, ампициллин, амоксициллин, оксациллин, клоксациллин, диклоксациллин, нафциллин, пиперациллин
Линкозамиды	Линкомицин, клиндамицин
Макролиды	Спирамицин, тилмикозин (смесь изомеров), тилозин А, тилвалозин, тилдипирозин, лейкомицин
Плевромутилины	Вальнемулин, тиамулин
Полипептидные антибиотики	Колистин и полимиксин В
Хинолоны	Марбофлоксацин, флуфеквин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин, данофлоксацин, оксолиновая кислота, дифлоксацин, норфлоксацин, сарафлоксацин, пefлоксацин, эноксацин, ломефлоксацин, офлоксацин, циноксацин, налидиксовая кислота
Сульфаниламиды	Сульфадимидин/сульфаметазин, сульфадиазин, сульфаметоксазол, сульфадиметоксин, сульфадоксин, сульфаклорпиридазин, сульфациназол, сульфатиазол, сульфаметоксипиридазин, сульфамеразин, сульфаклозин, сульфаметизол, сульфамонетоксин, сульфацинолксалин сульфаметер, сульфаниламид, сульфизоксазол, дапсон
Тетрациклины	Окситетрациклин, тетрациклин, доксициклин, хлортетрациклин, 4-эпитетрациклин, эпихлортетрациклин, эпоокситетрациклин, демеклоциклин, метациклин

Флюорохромы светятся в узком диапазоне флюоресцентного спектра.

При прохождении иммуноферментной реакции антитела ковалентно связываются с антибиотиками или их гаптенами, образуя прочные комплексы на поверхности микросфер. Сочетание различий в размерах микрочастиц и уровнях флюоресценции, испускаемой флюорохромами на поверхности микросфер, лежит в основе идентификации групп и видов антибиотиков. Детекция флюоресценции проводится системой светофильтров, расположенных вокруг проточной ячейки проточного флюориметра NovoCyte 2000 (рис. 1 и 2).

Метод BEADYPLEX позволяет одновременно провести 12 конкурентных иммуноферментных реакций на поверхности микросфер. Для этого применяется смесь антител, каждое из которых распознает несколько видов антибиотиков одной группы, создавая комплексы «антиген — антитело» на соответствующей микросфере. Используя указанный принцип, метод BEADYPLEX обеспечивает определение антибиотиков и групп

антибиотиков в одном образце за один анализ.

Если в исследуемом образце содержится свободный антибиотик, он конкурентно свяжется с антителом, этим самым блокируя реакцию на микросфере и ослабляя электрический сигнал (уровень флюоресценции) от соответствующей микросферы.

Таким образом, различия в уровне сигналов, детектируемых от отдельных микросфер, лежат в основе определения наличия или отсутствия остатков антибиотиков в исследуемом образце (таблица).

Данный метод является не только технически совершенным в ряду способов лабораторного анализа, но и служит тонким инструментом в решении глобальной задачи обеспечения человечества безопасными продуктами питания.

Первым в нашей стране инициативу сокращения использования антимикробных препаратов и производства безопасной продукции проявило руководство Белгородской области. Ее губернатор Евгений Савченко утвердил к исполнению

документ «Дорожная карта по снижению количества применяемых антибактериальных препаратов в отраслях животноводства и птицеводства». Именно в стенах Белгородского государственного аграрного университета им. В.Я. Горина в конце ноября 2017 г. прошли первые мероприятия — конференция «Антибиотикорезистентность в гуманной и ветеринарной медицине: проблемы и решения» и научно-практический семинар «Организация системы контроля антимикробных препаратов в сельскохозяйственном производстве», организатором которых выступила ГК «Здоровье животных».

Надеемся, что система мероприятий по борьбе с антибиотикорезистентностью получит свое дальнейшее развитие, тем более что уже есть и правовая, и техническая основа для ее реализации. **ЖР**

ООО «АТЛ»
 Тел./факс: +7 (495) 981-60-69
 Моб. тел.: +7 (967) 144-26-52
 E-mail: atlmos.ru@gmail.com
 www.atl-ltd.ru