

BEADYPLEX:

85 антибиотиков за один тест

Контроль безопасности сырья и готовой продукции

Маина АСПАНДИЯРОВА, кандидат технических наук
ООО «АТЛ»



Общеизвестно, что широкое использование в промышленном животноводстве антибактериальных препаратов (для профилактики и лечения поголовья) может приводить к появлению штаммов патогенных микроорганизмов, устойчивых к отдельным видам антибиотиков.

С 14 августа 2018 г. вступило в силу Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. (№ 28, пункт 2), в соответствии с которым в переработанных пищевых продуктах животного происхождения необходимо контролировать содержание остаточных количеств ветеринарных лекарственных средств.

Продукция животного происхождения должна проходить многоступенчатый контроль:

- при изготовлении сырья и выпуске его в сферу обращения (в случае применения препаратов с целью профилактики заболеваний или лечения животных);
- при приемке на перерабатывающих предприятиях в рамках производственного контроля и на основании информации поставщика об использовании тех или иных ветеринарных лекарственных средств;
- при проведении пищевого мониторинга в рамках государственного контроля (надзора).

Данное решение дополняет положение Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». В статье 13 указаны требования, предъявляемые к переработанному продовольственному сырью животного происхождения. Так, оно должно быть получено от продуктивных животных, которые не подвергались воздействию натуральных и син-

тетических эстрогенных, гормональных веществ, тиреостатических препаратов (стимуляторов роста), антибиотиков и других лекарственных средств для ветеринарного применения, введенных перед убоем до истечения сроков их выведения из организма.

Именно поэтому необходимо создавать аналитические центры и специализированные лаборатории, характеризующиеся высокой пропускной способностью. Для обеспечения их работы требуются современные методики и новейшие технические устройства.

Компания Unisensor (Бельгия) разработала инновационный метод одновременного определения 12 групп антибиотиков в мясном сырье при помощи одной тест-системы BEADYPLEX.

BEADYPLEX работает в формате 96-луночных микропланшетов на основе многокомпонентного конкурентного проточно-цитометрического иммуноанализа (FCIA) для одновременного определения в различных видах мяса более 85 антибиотиков — аминогликозидов, β-лактамов, линкозамидов, макролидов, полимиксинов (в том числе колистина), сульфаниламидов (в том числе дапсона), фениколов (в том числе хлорамфеникола), тетрациклинов, фторхинолонов, плевомутилинов и др. (таблица).

Тестирование на основе FCIA эффективно сочетает иммуноанализ и оптическую характеризацию микрочастиц, обеспечиваемую проточной цитометрией. Метод позволяет выявить

различия между специально подобранными микросферами, которые индивидуально «закодированы» при помощи специфической комбинации размера и внутренней флюоресценции.

Флюоресценцию микросферам придают прикрепленные к их поверхности меченые флюорохромами антитела. Каждый флюорохром флюоресцирует при возбуждении молекулы светом определенной длины волны. Флюорохромы светятся в узком диапазоне флюоресцентного спектра.

В ходе иммуноферментной реакции антитела ковалентно связываются с антибиотиками или их гаптенами, образуя на поверхности микросфер прочные комплексы. Сочетание различий в размерах микрочастиц и уровнях флюоресценции, испускаемой флюорохромами на поверхности микросфер, лежит в основе идентификации групп и видов антибиотиков.

Детекция флюоресценции производится системой светофильтров, расположенных вокруг проточной ячейки проточного цитометра NovoCyte 2000.

Метод BEADYPLEX позволяет одновременно проводить 12 конкурентных иммуноферментных реакций на поверхности микросфер. Для этого применяют 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 кон-

Определяемые антибиотики

Группа	Антибактериальный препарат
Аминогликозиды	Стрептомицин, дигидрострептомицин, гентамицин, неомицин, канамицин, паромомицин, апрамицин, тобрамицин
Амфениколы (фениколы)	Хлорамфеникол, флорфеникол, тиамфеникол
β-лактамы	Цефкином, цефтиофур, десфурилцефтиофур, цефоперазон, цефалексин, цефалоним, цефапирин, диацетил, 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
Плевромугилины	Вальнемулин, тиамулин
Полипептидные антибиотики	Колистин, полимиксин В
Хинолоны	Марбофлоксацин, флумеквин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин, данофлоксацин, дифлоксацин, норфлоксацин, сарафлоксацин, пефлоксацин, энноксацин, ломефлоксацин, офлоксацин, циноксацин, оксолиновая кислота, налидиксовая кислота
Сульфаниламиды	Сульфадимидин, сульфаметазин, сульфадиазин, сульфаметоксазол, сульфадиметоксин, сульфадоксин, сульфаклорпиридазин, сульфациназол, сульфатуридин, сульфатиазол, сульфаметоксипиридазин, сульфамеразин, сульфаклозин, сульфаметизол, сульфамонетоксин, сульфахиноксалин, сульфаметер, сульфаниламид, сульфизоксазол, дапсон
Тетрациклины	Окситетрациклин, тетрациклин, доксициклин, хлортетрациклин, 4-эпитетрациклин, эпихлортетрациклин, эпокситетрациклин, демеклоциклин, метациклин

01 Возьмите 1 г образца

02 Добавьте 1 мл буферного раствора для экстракции

03 Встряхивайте 10 минут

04 Центрифугируйте 15 минут при 4500 G

05 Профильтруйте под вакуумом

01 Добавьте 50 мкл отфильтрованного экстракта
Добавьте 50 мкл смеси микрогранул
Добавьте 50 мкл первичных антител

02 Добавьте 150 мкл меченых антител

03 Добавьте 150 мкл буферного раствора для анализа

Пробоподготовка

Интерпретация результата

Проточный цитометр (NovoCyte 2000)

Иммуноанализ

Вывод результата

Аминогликозиды	NEG
Амфениколы	NEG
β-лактамы	NEG
Линкозамиды	POS
Макролиды	NEG
Полимиксины	NEG
Плевромугилины	POS
Хинолоны	NEG
Сульфонамиды	NEG
Тетрациклины	POS

Проточно-цитометрический анализатор BEADYPLEX

курентно свяжется с антителом, блокируя тем самым реакцию на микросфере и ослабляя электрический сигнал (уровень флуоресценции) от соответствующей микросферы.

Таким образом, различия в уровне сигналов с различных микросфер лежат в основе определения наличия или отсутствия остатков антибиотиков в исследуемом образце.

Технические возможности системы BEADYPLEX позволяют реализовать

задачи множественного мониторинга безопасности сырья и готовой продукции в лабораториях разного уровня. Результаты исследований не зависят от условий окружающей среды, а сам метод достаточно прост. Он соответствует классическому анализу, включающему пробоподготовку, непосредственно тестирование, считывание результата и оформление протокола (рисунок).

В арсенале средств лабораторного анализа данный метод является техни-

чески безупречным и служит тонким инструментом в решении глобальных задач по обеспечению человека безопасными продуктами питания. 10*2018 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