

Pozostałości substancji przeciwbakteryjnych u zwierząt i w żywności zwierzęcego pochodzenia w Polsce w latach 2005-2010

HANNA RÓŻAŃSKA, JACEK OSEK, ANDRZEJ POSYNIAK*

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, *Zakład Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Różańska H., Osek J., Posyński A.

Residues of antibacterial substances in animals and in food of animal origin in Poland during the period of 2005-2010

Summary

Residues of antibiotics in food of animal origin may pose health hazards to consumers. For this reason, their presence must be systematically controlled. One aspect of the official control is a national programme for the control of banned substances and of chemical, biological and medical product residues in animals and in food of animal origin, developed and implemented in accordance with Council Directive 96/23/EC. The aim of this study was to present the results of investigations of antibiotic residues carried out as part of this programme in 2005-2010. Samples were taken by veterinary inspectors. Analyses of antibacterial substances were performed using microbiological screening methods (4-plate method and Delvotest SP-NT). Positive results were confirmed by the chromatography technique. Furthermore, some of the selected antibiotics were detected by instrumental methods. During the period under analysis, the residues of antibacterial substances were detected in 0.32% of samples tested. The residues of sulphonamides were identified in 25 samples of honey, whereas tetracyclines in two samples of poultry. No residues of quinolones, streptomycin, penicillins and florfenicol were detected. The presence of banned substances was detected in 9 samples: nitrofurans in 2 samples, and chloramphenicol in 7.

Keywords: residues, antibiotics, food, control

Niepożądanym efektem stosowania antybiotyków lub innych substancji o działaniu przeciwbakteryjnym u zwierząt jest ich występowanie w formie pozostałości w surowcach i produktach zwierzęcego pochodzenia. W głównej mierze przyczynia się do tego nieprzestrzeganie okresów karencji, ale także nadmierne dawkowanie oraz stosowanie substancji nie mających autoryzacji do leczenia zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność (1, 10, 12, 14). Obecność tego rodzaju substancji w żywności stwarza zagrożenie dla zdrowia konsumentów. U szczególnie wrażliwych osób, których liczebność w populacji szacuje się na 5-10%, może dojść do wystąpienia reakcji alergicznych, w tym również do wstrząsu anafilaktycznego. Ryzyko wystąpienia tego rodzaju reakcji praktycznie nie zależy od dawki alergenu, każda jego ilość jest potencjalnie niebezpieczna. Właściwości alergenne wykazują głównie penicyliny, ale notowano także przypadki zachorowań spowodowane aminoglikozydami czy sulfonamidami (8-10, 13). Pozostałości neomycyny, gentamycyny lub streptomycyny mogą działać

nefrotoksycznie, natomiast nitrofurany są substancjami rakotwórczymi, a chloramfenikol może wywołać anemię aplastyczną (8, 13). Spożywanie żywności zawierającej pozostałości antybiotyków może powodować zaburzenia naturalnej równowagi ilościowej i jakościowej mikroflory przewodu pokarmowego oraz przyczyniać się do generowania oporności drobnoustrojów jelitowych (1, 6, 13). Występowanie pozostałości antybiotyków w surowcach zwierzęcego pochodzenia ma również istotny aspekt finansowy. Hamowanie wzrostu drobnoustrojów wchodzących w skład kultur starterowych utrudnia lub wręcz uniemożliwia produkcję napojów mlecznych fermentowanych, serów dojrzewających czy wędlin typu salami (1, 10, 13). Opisane powyżej zagrożenia powodują, że pozostałości antybiotyków w żywności muszą być systematycznie monitorowane, a ich dopuszczalny poziom nie może przekraczać wartości uznanych za bezpieczne dla człowieka. Jednym z narzędzi kontroli pozostałości antybiotyków w żywności są krajowe programy badań kontrolnych, tworzone i realizowane przez

wszystkie państwa członkowskie Unii Europejskiej w oparciu o ujednolicone przepisy. Aktualnie podstawą tworzenia takich planów jest Dyrektywa Rady 96/23/EC z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie środków monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego (4) oraz uzupełniająca ją Decyzja Komisji 97/747/EC z dnia 27 października 1997 r. ustanawiająca poziomy i częstotliwości pobierania próbek przewidzianych Dyrektywą Rady 96/23/EC w sprawie kontroli niektórych substancji i ich pozostałości w niektórych produktach zwierzęcych (2).

Historia programów badań kontrolnych pozostałości chemicznych i biologicznych w żywności zwierzęcego pochodzenia sięga w Polsce lat 60. XX wieku. Z upływem czasu, wraz z rosnącymi wymaganiami, zmianami w prawie i rozwojem technik analitycznych programy te ulegały systematycznemu rozszerzaniu, tak w zakresie badanych matryc, jak i analizowanych związków. Badania w kierunku pozostałości antybiotyków, mające na celu wykrycie stosowania substancji niedozwolonych (nitrofurany, chloramfenikol) oraz ocenę prawidłowości stosowania substancji autoryzowanych, są istotnym elementem programu badań kontrolnych pozostałości (1, 13, 14, <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/foods>).

Celem opracowania jest przedstawienie wyników badań pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w żywności pochodzenia zwierzęcego, uzyskanych w Polsce w latach 2005-2010.

Materiał i metody

Próbki do badań w kierunku obecności substancji przeciwbakteryjnych, określonych w Dyrektywie 96/23 jako podgrupa B1, obejmująca antybiotyki, sulfonamidy i chinolony, były pobierane urzędowo przez inspektorów Inspekcji Weterynaryjnej i przesyłane do 7 zakładów higieny weterynaryjnej (w Białymstoku, Gdańsku, Katowicach, Łodzi, Olsztynie, Poznaniu i Warszawie) oraz do Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, zgodnie z krajowym programem badań kontrolnych obecności substancji niedozwolonych oraz pozostałości chemicznych, biologicznych i produktów leczniczych u zwierząt i w żywności zwierzęcego pochodzenia. Liczba próbek pobieranych w ciągu roku, zgodnie z Dyrektywą 96/23/EC, ustalana była w oparciu o wielkość produkcji w roku poprzednim. Ogółem w latach 2005-2010 zbadano w kierunku pozostałości substancji przeciwbakteryjnych 43 739 próbek. Materiałem do badań były: mięśnie i nerki bydła, cieląt, świń, koni, owiec i królików, mięśnie i wątroby drobiu (kurczęta, kury, kaczki, gęsi, indyki), ryby, jaja oraz mleko surowe. Badania wykonywano przy użyciu mikrobiologicznych metod skriningowych: metody 4-płytkowej, z zastosowaniem *Kocuria varians* ATCC 9341 i *Bacillus subtilis* BGA jako szczepów testowych (tkanki zwierzęce i jaja) oraz testu Delvotest SP-NT z *Geobacillus stearothermophilus* (mleko). Obydwe stosowane metody są metodami jakościowymi. Wynik dodat-

ni wskazuje na obecność substancji o działaniu przeciwbakteryjnym, ale bez możliwości identyfikacji i ilościowego oznaczenia konkretnej substancji. Wszystkie wyniki dodatnie były zatem potwierdzane metodami instrumentalnymi w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB.

Niezależnie od opisanych badań wykonano, przy zastosowaniu technik instrumentalnych, ogółem 7148 analiz ukierunkowanych bezpośrednio na określone związki z podgrupy B1, to jest: sulfonamidy, fluorochinolony, tetracykliny, streptomycyny, penicyliny i florfenikol.

W ramach krajowego programu kontroli pozostałości w latach 2005-2010 badano ogółem 16 000 próbek w kierunku obecności substancji zakazanych do stosowania u zwierząt, z których lub od których pozyskuje się żywność, tj. nitrofuranów i/lub ich metabolitów (3938 próbek) i chloramfenikolu (12 062 próbki). Próbki do badania w kierunku obecności tych substancji, wymienionych w aneksie II do Dyrektywy Rady 96/23/EC w podgrupie A6, pobierano przyżyciowo w gospodarstwach (mocz, krew, woda, mleko, ryby) oraz poubojowo w rzeźniach (mięśnie) i badano przy użyciu metod instrumentalnych, z potwierdzeniem przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas. Badania w kierunku obecności substancji zakazanych oraz badania ukierunkowane na określone substancje z podgrupy B1 wykonywano w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB oraz pod jego nadzorem w 6 zakładach higieny weterynaryjnej.

Wyniki i omówienie

Analizy wyników badań wykonanych w latach 2005-2010 w ramach programu badań kontrolnych obecności substancji niedozwolonych oraz pozostałości chemicznych, biologicznych i produktów leczniczych u zwierząt i w żywności pochodzenia zwierzęcego dokonano na podstawie danych z realizacji tego programu w poszczególnych latach. Dane te są dostępne na stronie internetowej Głównego Inspektoratu Weterynarii. Analiza wskazuje, że w zakresie pozostałości substancji przeciwbakteryjnych (tab. 1) odsetek wyników dodatnich wahał się w zakresie od 0 (owce, króli-

Tab. 1. Wyniki badań w kierunku pozostałości substancji przeciwbakteryjnych wykonanych w latach 2005-2010

Rodzaj próbki	Liczba próbek	Liczba wyników dodatnich	Odsetek wyników dodatnich
Bydło i cielęta	6133	33	0,54
Świnie	19 494	40	0,21
Owce	54	0	0,00
Konie	148	2	1,35
Króliki	123	0	0,00
Ryby	473	2	0,42
Drób	6502	26	0,40
Jaja	1076	5	0,46
Mleko	9736	30	0,31
Razem	43 739	138	0,32

Tab. 2. Wyniki badań w kierunku określonych związków z grupy B1

Rodzaj próbek	Liczba oznaczeń/liczba wyników dodatnich					
	Sulfonamidy	Fluorochinolony	Tetracykliny	Streptomycyna	Penicyliny	Florfenikol
Bydło	1245/0	nb*	54/0	34/0	nb	nb
Świnie	1596/0	268/0	91/0	31/0	111/0	nb
Owce	30/0	nb	nb	nb	nb	nb
Konie	38/0	nb	nb	nb	nb	nb
Króliki	61/0	nb	nb	nb	nb	nb
Ryby	129/0	69/0	nb	nb	nb	50/0
Drób	898/0	560/0	149/2	nb	nb	nb
Jaja	207/0	nb	nb	nb	nb	nb
Mleko	530/0	nb	64/0	29/0	nb	nb
Miód	773/25	nb	64/0	67/0	nb	nb
Razem	5507/25	897/0	422/2	161/0	111/0	50/0

Objaśnienie: * – nie badano

Tab. 3. Wyniki oznaczeń nitrofuranów i/lub ich metabolitów oraz chloramfenikolu, wykonanych w latach 2005-2010

Rodzaj próbek	Nitrofurany i/lub metabolity	Chloramfenikol
	Liczba próbek/liczba wyników dodatnich	
Bydło	1799/1	3331/2
Świnie	697/0	3947/4
Owce	12/0	15/0
Konie	29/0	30/0
Króliki	58/0	48/0
Ryby	130/0	306/0
Drób	617/1	2913/1
Jaja	267/0	275/0
Mleko	295/0	1162/0
Miód	34/0	35/0
Razem	3938/2	12 062/7

ki) do 1,35% w przypadku koni. Ogółem stwierdzono 0,32% wyników dodatnich. Badania potwierdzające wykazały, że najczęściej stwierdzano obecność tetracyklin, rzadziej penicylin, w pojedynczych przypadkach innych związków. Jednak nie wszystkie wyniki dodatnie otrzymane przy zastosowaniu mikrobiologicznych metod skринingowych były potwierdzone metodami instrumentalnymi. Wynika to z faktu, że stosowane metody skринingowe obarczone są ryzykiem występowania wyników fałszywie dodatnich, powodowanych obecnością naturalnych inhibitorów, takich jak: lizozym czy niektóre substancje polipeptydowe w tkankach zwierzęcych, zwłaszcza uprzednio mrożonych, kadmu w nerkach koni, laktoferyny i lakto-peroksydazy w mleku (1, 13). Wyniki dodatnie w przypadku mleka mogą być także spowodowane obecnością pozostałości substancji myjąco-dezynfekcyjnych stosowanych w procesie udoju.

W badaniach ukierunkowanych na poszczególne substancje zaliczane do podgrupy B1 wg Dyrektywy Rady 96/23 (tab. 2) poza 2 przypadkami stwierdzenia pozostałości tetracyklin u drobiu wyniki dodatnie notowano tylko w przypadku sulfonamidów w miodzie (25 przypadków, tj. 3,23% badanych próbek). Jest to problem powtarzający się na przestrzeni ostatnich lat, chociaż systematycznie malejący.

W badaniach na obecność substancji zakazanych do stosowania u zwierząt „żywnościowych” (tab. 3) wyniki

dotatnie w odniesieniu do nitrofuranów i/lub ich metabolitów uzyskano w jednej próbce pochodzącej od bydła i jednej pochodzącej od drobiu. W przypadku chloramfenikolu stwierdzono 7 wyników dodatnich, w tym 2 dotyczyły próbek od bydła, 4 od świń i 1 – od drobiu.

Należy dodać, że za wyniki niezgodne z wymaganiami uznaje się takie, w których stwierdzono obecność substancji zakazanych (nitrofurany, chloramfenikol) lub w których poziom pozostałości substancji autoryzowanych do stosowania u zwierząt jest wyższy od maksymalnego dopuszczalnego limitu (MRL – maximum residue limit). Wartości MRL zostały określone w Rozporządzeniu Rady (EWG) nr 2377/90 z dnia 26 czerwca 1990 r. ustanawiającym wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości weterynaryjnych produktów leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (5), a obecnie w Rozporządzeniu Komisji nr 37/2010 z dnia 22 grudnia 2009 r. (3).

Analiza wyników badań przeprowadzonych w Polsce w latach 2005-2010 wskazuje, że pozostałości antybiotyków występują sporadycznie i nie stanowią większego zagrożenia dla konsumentów żywności zwierzęcego pochodzenia. Podobna sytuacja dotyczy innych krajów europejskich, a także USA i Australii. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), w 2009 r. spośród próbek badanych w programach monitoringowych w krajach członkowskich Unii Europejskiej pozostałości antybiotyków stwierdzono ogółem w 0,21%, przy czym wyższy odsetek próbek dodatnich dotyczył miodu (0,98%), królików (0,63%) i zwierząt akwakultury (0,48%). Stwierdzono 25 przypadków występowania chloramfenikolu i 25 – nitrofuranów (7). Czeskie dane za 2004 r. (1) wskazują na 3 przypadki pozytywne w przypadku świń (1,2%) oraz 2 próbki od bydła (0,6%). We Włoszech w latach 1995-2001 odsetek

próbek dodatnich nie przekraczał 0,5% (16). W Chorwacji w 2007 r. stwierdzono 0,4% dodatnich próbek mleka (12). W latach 2005-2009 w Danii pozostałości antybiotyków stwierdzono w 0,26% próbek pochodzących od macior (11). Odsetek próbek mleka zawierających pozostałości antybiotyków wynosił w 2006 r. w Belgii 0,1% (12). W 2003 r. w USA odnotowano 0,15% dodatnich próbek mleka (12), natomiast w 2000 r., również w USA, pozostałości antybiotyków występowały w 0,2% próbek od kurcząt i 0,4% – od dorosłych kur (6). W latach 2007-2008 w Australii stwierdzono pozostałości antybiotyków w 0,7% badanych próbek, ale tylko w 2 próbkach poziom pozostałości był wyższy od dopuszczalnych wartości (<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/foods>). Z powyższych danych wynika, że w krajach, gdzie prowadzony jest właściwy nadzór nad stosowaniem antybiotyków u zwierząt, ich pozostałości w żywności nie stanowią większego zagrożenia dla człowieka, co jednak nie oznacza braku konieczności systematycznej kontroli w tym zakresie.

Piśmiennictwo

1. *Bireš J., Ihnátová M., Büchlerová Z.*: Results from the control of residues in live animals and animal products performed by veterinary administration authorities according to the national plan of residue control. *Folia Vet.* 2005, 49, Suppl., S5-S8.
2. Commission Decision 97/747/EC of 27 October 1997 fixing the levels and frequencies of sampling provided for by Council Directive 96/23/EC for the monitoring of certain substances and residues thereof in certain animal products. *Official Journal L* 303, 06/11/1997 R 0012-0015.
3. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Official Journal L* 15/1, 20.1.2010 p. 1-72.
4. Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products. *Official Journal of the European Communities L* 125/10 23/5/96.
5. Council Regulation (EEC) No 2377/90 of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Official Journal L* 224, 18.8.1990, p. 1.
6. *Donoughe D. J.*: Antibiotic residues in poultry tissues and eggs: human health concerns? *Poultry Sci.* 2003, 82, 618-621.
7. EFSA (European Food Safety Authority). Technical Report of EFSA. Report for 2009 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. Parma, Italy 2011.
8. *Ibrahim A., Junaidu A., Garba M.*: Multiple antibiotic residues in meat from slaughtered cattle in Nigeria. *Internet J. Vet. Med.* 2010, 8, 1.
9. *Jones G. M.*: On-farm tests for drug residues in milk. Publication 404-401, Virginia Polytechnic Institute and State University, USA 2009.
10. *Kirbiš A.*: Microbiological 5-plate screening method for detection of tetracyclines, aminoglycosides, cephalosporins and macrolides in milk. *Slov. Vet. Res.* 2006, 43, 161-168.
11. *Matos Baptista F., Alban L., Olsen A.-M., Valentini Petersen J.*: Epidemiological evaluation of the residue surveillance program in Danish pigs. Danish Agricultural & Food Council, Copenhagen, Denmark, September 2010.
12. *Nicolić N., Mirecki S., Blagojević M.*: Presence of inhibitory substances in Raw milk in the area of Montenegro. *Mljekarstvo* 2011, 61, 182-187.
13. *Reybroeck W.*: Screening for residues of antibiotics and chemotherapeutics in milk and honey. Academic Dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium 2010.
14. *Sanders P.*: Veterinary drug residue control in the European Union. *Technologija mesa* 2007, 48, 59-68.
15. *Weiss C., Cante A., Milandri C., Scortichini G., Semprini P., Usberti R., Migliorati G.*: Veterinary drugs residue monitoring in Italian poultry: current strategies and possible developments. *Food Control* 2007, 18, 1068-1076.

Adres autora: dr Hanna Różańska, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: bruna@piwet.pulawy.pl