



METÓDA STAR V DETEKCI SALINOMYCÍNU V TKANIVÁCH HYDINY PO PODÁVANÍ HUMÍNŮVÝCH LÁTOK

Hriciková Simona, Kožárová Ivona

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho
lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko

ÚVOD

- Salinomycín ako kokcidostatikum je krmná doplnková látka používaná vo výžive hydiny podávaná preventívne počas doby odchovu hydiny. Rezíduá salinomycínu môžu predstavovať hrozbu pre spotrebiteľa, ak ich obsah prekročí maximálny reziduálny limit (MRL) v tkanivách určených na konzum. Screening rezíduí farmakologicky účinných látok v produktoch živočíšneho pôvodu je preto nevyhnutný.
- Humínové látky môžu vplývať na zníženie rezíduí farmakologicky účinných látok v produktoch živočíšnej výroby a prispieť tak k ochrane spotrebiteľa. Môžu taktiež pozitívne ovplyvniť produkčné ukazovatele, zdravotný stav hydiny a podporiť imunitný systém.
- Cieľom tejto štúdie bolo analyzovať rezíduá salinomycínu vo vzorkách tkanív hydiny pomocou metódy STAR a zároveň posúdiť vplyv podávania humínových látok na obsah salinomycínu vo vyšetrovaných tkanivách.

Tabuľka 1: Výsledky hodnotenia antimikrobiálnej aktivity vybraných štandardov metódou STAR

Štandard	Bakteriálny testovací kmeň				
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Kocuria rhizophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus stearotherm.</i>
STM	4,75 ± 0,09				
TYL		3,88 ± 0,25			5,39 ± 0,08
CHTC			5,22 ± 0,02		
CFC	8,06 ± 0,51			6,58 ± 0,31	
SD					21,54 ± 0,15
SAL 0.1					2,59 ± 0,18
SAL 0.5					5,38 ± 0,14
SAL 1.0					8,32 ± 0,15

STM = streptomycín, TYL = tylozín, CHTC = chlortetracyklín, CFC = ciprofloxacín, SD = sulfamethazín, SAL = salinomycín. Číselné hodnoty sú udané v mm, s vyjadrením štandardnej odchýlky.

VÝSLEDKY

Citlivosť testovacích bakteriálnych kmeňov na jednotlivé štandardy antibiotík uvádza Tabuľka 1, ktorá zobrazuje veľkosti inhibičných zón [mm] s uvedením štandardnej odchýlky (SD). Obsah rezíduí antimikrobiálnych látok bol sledovaný vo vzorkách tkanív svaloviny (stehenná a prsná), žalúdka, srdca, pečene, kože a obličiek. Vzorky tkanív boli analyzované metódou STAR a vyhodnotené meraním inhibičnej zóny [mm] s udaním štandardnej odchýlky (SD). Porovnávaná bola kontrolná skupina a experimentálna skupina. V prípade kontrolnej skupiny (Tabuľka 2) boli rezíduá antimikrobiálnych látok detekované na platniach *K. rhizophila*, kde boli za pozitívne označené vzorky stehennej a prsnej svaloviny a pečene. Na platni *B. stearothermophilus* boli inhibičné zóny všetkých vzoriek väčšie ako 4 mm a teda pozitívne. V prípade experimentálnej skupiny (Tabuľka 3) boli rezíduá antimikrobiálnych látok detekované v rovnakých vzorkách taktiež na platniach *K. rhizophila* a *B. stearothermophilus*. Porovnanie výsledkov preukázalo zníženie obsahu antimikrobiálnych látok v tkanivách kurčiat experimentálnej skupiny, ktorým boli podávané humínové látky v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Schopnosť humínových látok pôsobiť ako účinný sorbent bola preukázaná v prípade liečiv tylozín a sulfamethazín podávaných preventívne vo výžive hydiny podobne ako salinomycín (Guo et al. 2016).

Humínové látky majú schopnosť viazať na seba kontaminanty a toxíny v organizme prostredníctvom ich vysokej sorpčnej afinity k organickým zlúčeninám založenej na výmene iónov (Guo et al. 2016).

ZÁVER

Analýza vzoriek tkanív experimentálnej a kontrolnej skupiny preukázala prítomnosť rezíduí farmakologicky účinných látok na platniach *B. stearothermophilus* vo všetkých vyšetrovaných vzorkách. Obsah rezíduí týchto kontaminantov bol však výrazne nižší v experimentálnej skupine, kde boli kurčatám podávané humínové látky v porovnaní s kontrolnou skupinou. Výsledky experimentu preukázali schopnosť humínových látok znižovať obsah rezíduí antimikrobiálnych látok v tkanivách hydiny.

MATERIÁL A METODIKA

Štandardy: Streptomycín (S6501, Sigma-Aldrich Pty Ltd, Darmstadt, Nemecko), Tylozín (T6134, Sigma-Aldrich), Chlortetracyklín (C4881, Sigma-Aldrich), Ciprofloxacín (17850, Sigma-Aldrich), Sulfadimidín/Sulfamethazín (S6256, 5637, Sigma-Aldrich), Salinomycín (S4526, Sigma-Aldrich).

Krmivo: krmné zmesi (De Heus a.s., Bučovice, Česká republika): BR1 (1. – 10. deň výkrmu, s obsahom nikarbazínu 101 mg.kg⁻¹), BR2 (11. – 27. deň výkrmu, s obsahom salinomycínu 70 mg.kg⁻¹), BR3 (28. – 37. deň výkrmu bez prídavku kokcidostatika).

Humínové látky: Humac Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, Slovensko).

Experimentálne zvieratá: V experimente bolo použitých 80 ks brojlerových kurčiat (Ross 308), ktoré boli náhodne rozdelené do 2 skupín po 40 ks. 1. skupina: kontrolná, kŕmené komerčným krmivom BR1, BR2 a BR3. 2. skupina: experimentálna, kŕmené krmivom BR1, BR2, BR3 s prídavkom 0,5 % Humac Natur AFM od prvého dňa výkrmu.

Vzorky tkaniva: Vzorky tkaniva svalov, žalúdka, srdca, pečene, kože a obličiek skupiny K a H boli získané post mortem.

Mikrobiálny inhibičný platňový test: Screeningový test na stanovenie rezíduí antibiotík s použitím piatich bakteriálnych kmeňov (metóda STAR; R-25): *Bacillus subtilis* BGA, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 11303, *Bacillus stearothermophilus* ATCC 10149. Vzorky sú považované za pozitívne, ak vykazujú zónu inhibície väčšiu ako 2 mm na platniach *B. subtilis*, *K. rhizophila*, *B. cereus*, *E. coli* a/alebo zónu inhibície väčšiu ako 4 mm na platni *B. stearothermophilus*.

Tabuľka 2: Výsledky analýzy rezíduí antimikrobiálnych látok v tkanivách hydiny kontrolnej skupiny

Tkanivo	Bakteriálny testovací kmeň				
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Kocuria rhizophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus stearotherm.</i>
Stehno		2,64 ± 0,13			5,43 ± 0,38
Prsia		3,23 ± 0,41			5,42 ± 0,45
Žalúdok					5,73 ± 0,66
Srdce		1,71 ± 0,24			7,61 ± 0,54
Pečeň		4,28 ± 0,26			10,53 ± 0,65
Koža					6,46 ± 0,67
Obličky					7,51 ± 0,54

Číselné hodnoty sú udané v mm, s vyjadrením štandardnej odchýlky.

Tabuľka 3: Výsledky analýzy rezíduí antimikrobiálnych látok v tkanivách hydiny experimentálnej skupiny

Tkanivo	Bakteriálny testovací kmeň				
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Kocuria rhizophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus stearotherm.</i>
Stehno		2,45 ± 0,38			4,62 ± 0,52
Prsia		2,72 ± 0,37			5,33 ± 0,41
Žalúdok					4,16 ± 0,48
Srdce		0,86 ± 0,25			6,40 ± 0,24
Pečeň		1,93 ± 0,18			9,30 ± 0,46
Koža					5,80 ± 0,51
Obličky					6,44 ± 0,52

Číselné hodnoty sú udané v mm, s vyjadrením štandardnej odchýlky.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporená Grantom KEĎA Č. 015UULF-4/2021 a Agentúrou pre výskum a vývoj na základe zmluvy APVV-18-0039.

Spoločnosti Humac s.r.o., Košice, Slovensko ďakujeme za poskytnutie humínových látok.

Tento experiment bol schválený Etickou komisiou pre starostlivosť a používanie zvierat Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach ako klinická štúdia (EKVP/2022-09).