

Антибиотици, сулфонамиди и микробиолошка исправност монофлорних медова Србије

Мића Младеновић¹ Саша Милосављевић²
Небојша Милосављевић³ Зденка Стефановић²

¹Пољопривредни факултет Земун, Универзитета у Београд, Србија

² Висока пољопривредно-прехрамбена школа струковних студија, Прокупље, Србија

³ Висока пољопривредно-прехрамбена школа струковних студија, Прокупље, Србија

Резиме

Са интензивирањем производње, у циљу веће економске добити, неки пчелари прибегавају недозвољеним законским и моралним мерама, као што је употреба антибиотика у пчеларству. Присуство резидуа, антибиотика и сулфонамида није дозвољено у меду, као ни присуство одређених микроорганизама (*Salmonella sp*, *Staphylococcus sp*, *Clostridia sp*, *Proteus sp* и *Escherichia coli*). Производња меда у Србији све више улази у домен професионализма, како са аспекта произведених количина, тако и у смислу задовољења одређених норми квалитета прописаних од земаља увозница. Пчелари у Србији морају поштовати задате критеријуме у погледу квантитета и квалитета меда, али још увек постоје недоумице у апитехнологији које треба исправити, да би се могло говорити о конкурентности меда Србије на светском тржишту. У раду су вршена испитивања 20 узорака, од чега: 3 врсте монофлорних медова (багремов, сунцокретов и липов) узетих са 20 различитих локација на целој територији Републике Србије. Од параметара је утврђивано присуство антибиотика и сулфонамида, као и микробиолошка исправност меда.

Кључне речи: мед, анализа, антибиотици, сулфонамиди, микробиолошка исправност, квалитет.

Увод

Мед, као један од важних извозних артикала, ставља пчеларство Србије у ред значајне пољопривредне гране. Пчелари Србије са аматерског, све више прелазе на професионално пчеларење, што обезбеђује значајне вишкове меда за извоз, али са тачно прецизираним нормама које се морају испоштовати. Углавном се то и постиже, али интензивирањем производње, јављају се и пратећи проблеми

у погледу испуњења здравствено – безбедносних услова намирница за људску исхрану. Морају се пронаћи решења која ће обезбедити сигуран квалитет и одрживост производње (здрава и продуктивна пчелиња друштва), али и здраве и нешкодљиве пчелиње производе за људску употребу.

Мед може бити контаминиран случајно из окружења или апитехничким мерама (Bogdanov, 2006).

Антибиотици се углавном користе у пчеларству за лечење бактеријске болести легла, тј америчке куге *Penibacillus larvae larvae* (Spivak, 2000). Сулфонамиди се у неким земљама такође користе као превентива против ноземе - *Nosema apis* (Reybroeck, 2003). Због тога су антибиотици строго забрањени у лечењу пчела, а пчелињи производи са присуством антибиотика не смеју наћи у промету, како на домаћем, тако и на страном тржишту, изузев Америке.

После дугогодишње употребе, појављује се отпорност узрочника америчке трулежи на примењивани антибиотик. Систематска употреба тетрациклина у Канади и САД-у довела је до резистентности *Penibacillus larvae larvae* на тетрациклин (Reybroeck, 2003).

Примена антибиотика је штетна, не само за човека већ и за саме пчеле. Доказано је да антибиотици и у прописаној дози скраћују живот пчелама а повећана доза може да доведе и до угинућа пчела (www.pcelinjak.com).

Такође, мед мора бити микробиолошки исправан, без присуства штетних микроорганизама. Микроорганизми који се могу наћи у меду су квасци и спорулирајуће бактерије. Укупан број бактерија у меду може да варира од нуле до неколико десетина хиљада по граму меда. У већем броју узорака меда може да се нађе и до 100 колонија квасца по граму просечног узорка. Споре бактерија рода *Bacillus* су готово стално заступљене у меду, али оне не представљају опасност по здравље људи, међутим споре *Clostridium sp.* а посебно споре *Clostridium botulinum* се могу наћи у меду, али знатно ређе (Snowdon and Cliver, 1996).

Неисправност меда, је углавном последица несавесних апитехничких мера пчелара или свесних неморалних поступака недовољно информисаних пчелара. Против њих се у пчеларском свету воде јавне дебате и примењују санкције, а мед са њиховог пчелињака се елиминише из промета. Ниске концентрације стрептомицина (< 20 µg/kg) може такође бити пронађено у воћном меду од нектара сакупљаног из засада крушке чији се цветови понекад третирају препаратима на бази стрептомицина против бактеријске пламењаче – *Erwinia amylovora* (Brasse, 2001). Резидуе органохлорних инсектицида су детектоване у медовима из Пољске у значајним количинама (Aleksandra Wilczynska, 2007). Због тога су неопходне анализе на антибиотике, како би се сигурно елиминисала свака сумња на присуство ових непожељних материја у меду.

Циљ овог рада је био да се утврди присуство антибиотика, сулфонамида и присуство микроорганизама у 20 узорака меда са територије Србије.

Објекат, материјал и метод рада

За анализу је узето 20 узорака 3 врсте монофлорних медова са 20 различитих локалитета у Србији. Испитиване врсте меда су: багремов (11 узорака),

сунцокретов (6 узорака) и липов (3 узорка) који су сакупљени од непосредних произвођача (пчелара) у току 2010. године.

Узорци багременовог меда су узети са следећих локација: Узорак Б-1 из села Девча код Прокупља, Б-5 са Фрушке Горе (Липовача), Б-6 из Добрња код Петровца на Млави, Б-7 са Рудника (Пружатовић), Б-9 из села Велико Боњинце код Бабушнице, Б-14 са Рготског брда код Зајечара, Б-15 село Бустрање код Врања, Б-16 из Црвице код Бајине Баште, Б-17 из Зубиног Потока, Б-18 из Рушња код Београда и Б-19 из Чукерије код Суботице.

Узорци сунцокретовог меда су сакупљени са следећих локација: С-1: село Стража код Врца, С-2: Мраморак код Панчева, С-3: Нови Бечеј, С-4: Алекса Шантић код Сомбора, С-5: Ором код Кањиже и С-6: Илинци код Шида. Узорци меда од липе су сакупљени са следећих локација: Л-1: Лежмир – Фрушка Гора, Л-5: Гуњаци – Соколске Планине и Л-6: Лишковац – Мајданпек.

Код свих медова, испитивано је присуство резидуа антибиотика и сулфонамида по одредбама Правилника о количини пестицида, метала, металоида и других отровних супстанци, хемотерапеутика, анаболика, и других супстанци које се могу налазити у намирницама (Сл. лист СРЈ 5/92 чл. 11 и 12).

Такође, код свих медова је испитивано присуство следећих врста микроорганизама: *Salmonella*, коагулаза позитивне стафилококе, сулфиторедукујуће клостридије, *Proteus* врсте и *Escherichia coli* по одредбама Правилника о микробиолошкој исправности намирница у промету (Сл. лист СРЈ 26/93 чл. 4, Сл. лист СРЈ 53/95, Сл. лист СРЈ 46/02).

Присуство микроорганизама у меду је рађено на прописану количину меда, која је типична за сваку врсту микроорганизама, која за детекцију *Salmonella* врсте износи 50 g, за коагулазу позитивне стафилококе и сулфиторедукујуће клостридије по 0,01 g, а за детекцију *Proteus* врсте и *Escherichia coli* 0,001 g. Методе које су коришћене за идентификацију наведених микроорганизама су по Правилнику о методама вршења микробиолошких анализа и суперанализа животних намирница (Сл. лист СФРЈ 25/80):

Salmonella врсте су утврђиване по методи 8 – Изоловање и идентификација *Salmonellae* (У ерленмајер се одмери 50 g меда коме се додаје подлога за обогаћење селенит бујона, затим се мућкањем хомогенизира а затим инкубира 18 – 24 h на 37°C. После инкубације подлога се добро промућка и засејава по површини СС агара и *Wilson – Blairova* бизмутсулфатног агара. Засејане подлоге се инкубирају 24 – 48 h на 37°C. Израсле колоније, за које се сумња да су *Salmonellae*, пресејавају се на *Kligler*-ов двоструки шећер. Колоније које и на двоструком шећеру дају реакције карактеристичне за *Salmonellae*, даље се идентификују скраћеним биохемијским низом. Засејава се коси агар са уреом, текућа подлога за KCN и пептонска вода за индол. Подлоге се инкубирају 24 – 48 h на 37°C, а после тога читавају резултати према таблици. Култура која даје све биохемијске реакције на салмонеле даље се идентификује реакцијама аглутинације поливалентним и моновалентним серумима).

Коагулаза позитивне стафилококе се одређује по методи 9–Изоловање и идентификација коагулаза позитивних стафилокока (Уситњена и хомогенизована количина за испитивање се засејава у слани бујон. Засејане епрувете бујона се инкубирају 24 h на 37°C, а затим се 0,1 ml намирнице засејава површински на *ETGP* агар по *Baird-Parkeru*. Засејана подлога се инкубира 24 – 48 h на 37°C.

Израсле колоније карактеристичне за коагулазу позитивне стафилококе проверавају се на способност коагулисања плазме, односно на присуство фермената коагулазе.

Сулфиторедукујуће кластридије се одређују по методи 10 – Изоловање и идентификација сулфиторедукујућих кластридија (1 ml основног разређења пренесе се у епрувету која се урони у претходно загрејану воду на 80 °C и тако остави 10 минута. После тога се епрувета налије сулфатним агаром. Засејана подлога се инкубира 3 – 5 дана на 37°C. После позитивне оцене огледа (знака присутности сулфоредукујућих кластридија) направи се размаз и обоји по *Gram*-у. Истовремено се култура инкубира на агару 48 h на 37°C. Налаз *Gram* позитивних штапића у микроскопском препарату и изостанак раста на агару сматра се позитивним огледом, односно доказом присуства сулфиторедукујућих кластридија).

Proteus врсте се одређују по методи 11– Изоловање и идентификација *Proteus* врста (1 ml узорка се хомогенизује и засејава у хранљиви бујон и засејане епрувете се инкубирају 24 h на 37°C. Онда се 0,1 ml текуће намирнице засејава на површини брилијант-зеленог агара и размазује стакленим штапићем. После инкубације узорак се засејава такође на површину брилијант-зеленог агара. Подлога се инкубира 24 – 48 h на 37°C. Израсле колоније карактеристичне за *Proteus* врсте даље се пресејавају на двоструки шећер по *Kligler*-у одакле се *Proteus* врсте идентификују према табелици.

Escherichiae coli се утврђује по методи 12 – Изоловање и идентификација *Escherichiae coli* (1 ml узорка се засеје у епрувете са брилијант-зеленим лактоза жучним бујоном са *Durham*-овим цевчицама. Подлога се инкубира 37°C. Из епрувета са претходним позитивним огледом езом се пресејава садржај на површину љубичасто-црвеног жучног агара који се затим инкубира 24 – 48 h на 44°C. После позитивног потврдног огледа културе колонија се пренесу на коси агар, инкубирају 24 h на 37°C и идентификују кратким биохемијским низом – *IMVC* огледом. Културе се пресејавају на пептонску воду за индол, подлогу за извођење *MR* и *VP* огледа и по подлогу за доказ корићења цитрата. Подлоге се инкубирају 24 – 48 h на 37°C. После читавања резултата идентификација *Escherichiae coli* се обавља према табелици.

Анализе меда су рађене у Научном институту за ветеринарство Србије, Војводе Тозе 14, 11000 Београд.

Резултати истраживања са дискусијом

Мед који садржи резидуе антибиотика и сулфонамида не сме бити коришћен за људску исхрану, односно не сме бити пуштен у промет, а уколико надлежне контролне службе утврде да је такав мед у продаји, обавезне су да обуставе продају и санкционишу даљу дистрибуцију таквог меда.

Резултати анализа 20 узорака монофлорних меда је приказан у табели 1.

Таб. 1 Резултати присутности резидуа антибиотика и сулфонамида
The results of the presence of residues of antibiotics and sulfonamides

Р.бр.	Врста меда	Ознака узорка	Антибиотици и сулфонамиди
1.	багремов	Б-1	нису присутни
2.	багремов	Б-5	нису присутни
3.	багремов	Б-6	присутни
4.	багремов	Б-7	нису присутни
5.	багремов	Б-9	нису присутни
6.	багремов	Б-14	нису присутни
7.	багремов	Б-15	присутни
8.	багремов	Б-16	нису присутни
9.	багремов	Б-17	нису присутни
10.	багремов	Б-18	нису присутни
11.	багремов	Б-19	нису присутни
12.	сунцокретов	С-1	нису присутни
13.	сунцокретов	С-2	нису присутни
14.	сунцокретов	С-3	нису присутни
15.	сунцокретов	С-4	присутни
16.	сунцокретов	С-5	нису присутни
17.	сунцокретов	С-6	нису присутни
18.	липов	Л-1	нису присутни
19.	липов	Л-5	нису присутни
20.	липов	Л-6	нису присутни

Из табеле 1 се да видети да од 20 испитиваних узорака (100 %), 17 је било исправно (85 %), док су 3 узорка (15 %) била неисправна по наведеном правилнику.

Од 11 узорака багремовог меда, 2 (18,2 %) су имала у себи антибиотике, од 6 узорака меда од сунцокрета 1 (16,7 %) је био неисправан, док су сва 3 узорка липовог меда била исправна за промет и конзумирање.

Резултати присуства микроорганизама су дати у табели. 2:

Таб. бр. 2 Резултати присутности микроорганизама
The results of the presence of microorganisms

Ознака узорка	Микроорганизми				
	<i>Salmonella sp.</i>	Коагулаза позитивне стафилококе	Сулфиторедукујуће клостридије	<i>Proteus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
Б-1	-	-	-	-	-
Б-5	-	-	-	-	-
Б-6	-	-	-	-	-
Б-7	-	-	-	-	-
Б-9	-	-	-	-	-
Б-14	-	-	-	-	-
Б-15	-	-	-	-	-
Б-16	-	-	-	-	-

Ознака узорка	Микроорганизми				
	<i>Salmonella sp.</i>	Коагулаза позитивне стафилококе	Сульфиторедукујуће клостридије	<i>Proteus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
Б-17	-	-	-	-	-
Б-18	-	-	-	-	-
Б-19	-	-	-	-	-
С-1	-	-	-	-	-
С-2	-	-	-	-	-
С-3	-	-	-	-	-
С-4	-	-	-	-	-
С-5	-	-	-	-	-
С-6	-	-	-	-	-
Л-1	-	-	-	-	-
Л-5	-	-	-	-	-
Л-6	-	-	-	-	-

* Легенда: + нађено, - није нађено

Из табеле 2. се види да није детектовано присуство ни једне врсте микроорганизама, односно да је свих 20 узорака меда микробиолошки исправно.

Присуство антибиотика, сулфонамида и недозвољених микроорганизама је евидентан проблем и у земљама ЕУ, што показују и подаци испитиваних медова, земаља увозница меда, у лабораторији у Бремену 1999. године (www.apiservices.com):

- Шпанија – од 29 испитиваних узорка меда, чак 28 (96,5 %) је било неисправно. 1 је садржао стрептомицин, 21 сулфонамиде и 6 тетрациклине. Ово је далеко већи удео неисправних медова у односу на неисправне медове Србије којих је било 15 %.
- Француска – у 8 испитиваних узорка, 2 су садржала сулфонамиде и 2 тетрациклине што чини 50 % неисправних узорка меда.
- Данска – испитано је 4 узорка од којих су 2 (50 %) била неисправна – 1 је садржао стрептомицин и 1 тетрациклин.
- Енглеска – 1 од 2 испитивана узорка је садржао сулфонамиде (50 % неисправно).
- Немачка – у 22 испитивана узорка пронађено је стрептомицина у 1-ом узорку, сулфонамида у 3 и тетрациклина у 2 узорка што чини 27,3 % неисправних медова.
- Италија – од 26 анализираних узорка 1 је садржао стрептомицин, 2 сулфонамиде и 4 тетрациклине, што је укупно 26,9 % неисправних медова а то је знатно више у односу на 15 % неисправних медова Србије.
- Грчка – свих 6 испитиваних узорка је било без присуства антибиотика и сулфонамида (100 % исправних медова).
- Финска – испитивано је 3 узорка и сва 3 су била исправна (без резидуа антибиотика и сулфонамида).
- Аустрија, Шведска, Швајварска и Белгија – код свих је испитивано по 2 узорка меда и код ниједног није детектовано присуство антибиотика и сулфонамида.

Од укупно 104 испитиваних узорака, 48 узорака (46,1 %) је било неисправно – 4 узорака (3,7 %) је садржало стрептомицине, 29 узорака (26,8 %) је имало у себи сулфонамиде и 15 узорака (13,9 %) је било контаминирано тетрациклинама.

Што се тиче тржишта меда Србије (супермаркети и пијаце Београда) у 100 испитиваних узорака присуство остатака антибиотика и сулфонамида пронађено у 18 (18%) узорака (Дугалић-Врдић Н., Младеновић М., Недић Н., 2005).

Закључак

На основу испитивања 20 узорака меда са територије Србије на присуство резидуа антибиотика и сулфонамида и присуство микроорганизама, утврђено је:

- Од 3 врсте монофлорних врста меда са територије Републике Србије, 3 узорка (15 %) су била неисправна за промет и људску употребу,
- Од 11 узорака багремовог меда, 2 узорка (18,2 %) су садржале резидуе антибиотика и сулфонамида,
- Од 6 узорака сунцокретовог меда, 1 узорак (16,7 %) је садржао резидуе антибиотика и сулфонамида.
- У 3 узорка липовог меда нису нађене резидуе антибиотика и сулфонамида.
- Свих 20 узорака (11 од багрема, 6 од сунцокрета и 3 од липе) је било микробиолошки исправно, односно није садржало недозвољене микроорганизме.
- Са 15 % неисправних медова, Србија је испред Шпаније са 96,5 %, Француске, Данске и Енглеске са по 50 %, Италије са 26,9 % и Немачке са 27,3 % неисправних медова.
- Са 15 % неисправних медова, Србија заостаје за Аустријом, Шведском, Финском, Швајцарском, Белгијом и Грчком чији медови су без резидуа антибиотика и сулфонамида.
- Са 15 % неисправних медова Србија је изнад просека од 46,1 % неисправних медова земаља које извозе мед у ЕУ.
- Већи проценат (18 %) неисправних медова на тржишту Србије (Београд) је у директној продаји (пијаце и супермаркети), него код непосредних произвођача (пчелара) где износи 15 %.

Литература

1. *Bogdanov, S.* (2006): Contaminants of bee products, *Apidologie* 38 (2006), 1-18.
2. *Brasse, D.* (2001): Stellungnahme der BBA zum Streptomycin-problem, Ursachen und bedingungen für die zulassung von plantomycin, *ADIZ* 35 (6), 24-25.
3. *Reybroek, W.* (2003): Residues of antibiotics and sulphonamides in honey on the Belgian market, *APIACTA* 38 (2003), 23-30.
4. *Spivak, M.* (2000): Preventative antibiotic treatments for honey bee colonies, *Am. Bee j.*, 140, 867-868.
5. *Wilczynska, Aleksandra.* (2007): Residues of organochlorine pesticides in Polish honeys, *APIACTA* 42 (2007), 16-24.

6. *Dugalić-Vrndić Nada, Mladenović M., Nedić, N.* (2005): Antibiotic and sulphonamide residues in honey from Belgrade market, *AGRIS - Food contamination and toxicology*, 53-56.
7. Правилник о микробиолошкој исправности намирница у промету (Сл. лист СРЈ 26/93 чл. 4, Сл. лист СРЈ 53/95, Сл. лист СРЈ 46/02).
8. Правилник о методама вршења микробиолошких анализа и суперанализа животних намирница (Сл. лист СФРЈ 25/80).
9. http://www.apiservices.com/_menus_us/index.htm?menu.htm&0
10. <http://www.pcelinjak.com/content/view/91/146/>
11. <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=./2005/CS/CS0507.xml;CS2005001022>

Antibiotics and Sulphonamides Residues and the Microbiological Proprietary of Unifloral Honey in Serbia

Mića Mladenović¹, Saša Milosavljević²,
Nebojša Milosavljević³, Zdenka Stefanović⁴

¹*Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia*

²⁴*College of Agriculture and Food Technology, Prokuplje, Serbia*

Summary

Along with increased production and due to higher economic gain some beekeepers resort to illegal measures such as the use of antibiotics in beekeeping. The presence of residues of antibiotics and sulphonamides is not allowed in honey and the presence of certain microorganisms (*Salmonella sp.*, *Staphylococcus*, sulphid-reducing *Clostridia*, *Proteus sp.* and *Escherichia coli*). Taking into account the produced honey quantities and certain standards fixed by importer countries being fulfilled, the Serbian honey production slowly steps into professionalism. Serbian bee keepers keep up with imposed criteria relating quantity and quality of honey, but there are still segments which need to be rectified, so as to be able to talk about competitiveness of our honey on a foreign market. In this work 20 samples of 3 unifloral honeys taken from 20 different locations throughout Serbia. The presence of antibiotics, sulphonamides and the microbiological propriety of honey are examined.

Key words: honey, analysis, antibiotic and sulphonamides, microbiological propriety, quality.

Mića Mladenović

E-mail Address:

mica.mladenovic@gmail.com