



**UNIVERSITY STs. CYRIL AND METHODIUS
UNI VERZI TET "Sv. KI RI L I METODI J"**



**FACULTY OF VETERINARY MEDICINE - SKOPJE
FAKULTET ZA VETERI NARNA MEDI CI NA - SKOPJE**

**MACEDONIAN VETERINARY REVIEW
MAKEDONSKI VETERI NAREN PREGLED**

Skopje, 2009

СОДРЖИНА

1. КВАЛИТЕТОТ НА СУРОВОТО КРАВЈО МЛЕКО ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА СОГЛЕДАН ПРЕКУ ИСПИТУВАЊЕ НА БРОЈОТ СОМАТСКИ КЛЕТКИ И БРОЈОТ МИКРООРГАНИЗМИ

Љупчо Ангеловски, Деан Јанкулоски, Сандра Костова, Марија Раткова, Ирена Ераковиќ Токалиќ, Павле Секуловски . . .5

2. МЕТАБОЛИЧКИ ПРОФИЛ КАЈ МЛЕЧНИ КРАВИ ОД РАЗЛИЧНИ КАТЕГОРИИ

Игор Улчар, Ирена Целеска, Ксенија Илиевска, Дине Митров, Игор Џаџовски5

3. ЗАСТАПЕНОСТ НА SAMPYLOBACTER SPP. ВО МЕСО И ПРОИЗВОДИ ОД МЕСО УВЕЗЕНИ ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Сандра Костова, Деан Јанкулоски, Марија Раткова, Љупчо Ангеловски, Ирена Ераковиќ Токалиќ, Павле Секуловски . . .5

4. АНТИМИКРОБНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА ИЗОЛАТИ НА САЛМОНЕЛЛА СПП ОД РАЗЛИЧНИ ВИДОВИ СУРОВО МЕСО И МОМ ОД УВОЗ ВО Р. МАКЕДОНИЈА

Деан Јанкулоски, Марија Раткова, Сандра Костова, Љупчо Ангеловски, Ирена Ераковиќ Токалиќ, Павле Секуловски . . .5

5. ПРИСУСТВО НА ОХРАТОКСИН А ВО МАКЕДОНСКИТЕ ВИНА ОД ТИКВЕШКИОТ РЕГИОН

Билјана Стојановска-Димзоска, Елизабета Димитриеска-Стојковиќ, Зехра Хајрулаи-Муслиу, Павле Секуловски, Деан Јанкулоски5

6. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ВКУПНИ АФЛАТОКСИНИ ВО СУВО И КОСТЕНЛИВО ОВОШЈЕ ПРИСУТНИ НА МАКЕДОНСКИОТ ПАЗАР

Зехра Хајрулаи-Муслиу, Павле Секуловски, Билјана Стојановска Димзоска, Елизабета Димитриеска Стојкови, Деан Јанкуловски, Сиљановски Александар5

7. МОРФОЛОШКИ ОСОБЕНОСТИ НА ПАРЕНХИМОТ КАЈ ТЕНКОСЛОЖНИ С-10 ПЛАСТИНИРАНИ БУБРЕЗИ ОД СВИЊА

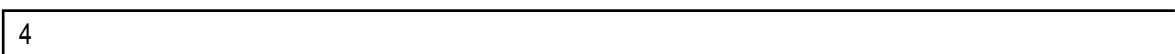
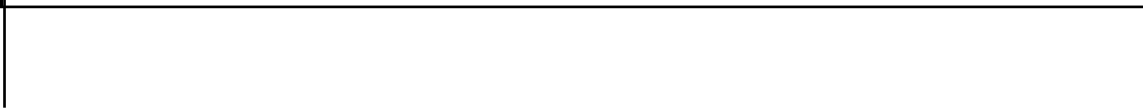
ПЕНДОВСКИ Лазо, ИЛИЕСКИ Влатко, ПЕТКОВ Владимир, ПОПОВСКА-ПЕРЧИНИЧ Флорина, МИЗРАХИ Рашела5

8. ОСОБЕНОСТИ НА ХЕМОГРАМОТ, ЕРИТРОГРАМОТ И ЛЕУКОГРАМОТ КАЈ СО ХЕМАНГИОСАРКОМ НА СЛЕЗИНАТА КАЈ КУЧИЊА

Ирена Целеска, Игор Улчар5

9. ПЛАСТИНАЦИЈА НА ТКИВА И ОРГАНИ: ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРЕН ПРИСТАП ЗА ЗАМЕНА НА ЛАБОРАТОРИСКИ ЖИВОТНИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ВО НАСТАВНО НАУЧНИОТ ПРОЦЕС

ИЛИЕСКИ Влатко, ПЕНДОВСКИ Лазо, ПЕТКОВ Владимир, ПОПОВСКА-ПЕРЧИНИЧ Флорина, МИЗРАХИ Рашела5



КВАЛИТЕТОТ НА СУРОВОТО КРАВЈО МЛЕКО ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА СОГЛЕДАН ПРЕКУ ИСПИТУВАЊЕ НА БРОЈОТ СОМАТСКИ КЛЕТКИ И БРОЈОТ МИКРООРГАНИЗМИ

Љупчо Ангеловски¹, Деан Јанкулоски¹, Сандра Костова¹, Марија Раткова¹,
Ирена Ераковиќ Токалиќ², Павле Секуловски¹

¹Катедра за безбедност на храна,
Факултет за ветеринарна медицина во Скопје
²Раководител за квалитет и безбедност на храна,
СЈ компани, Франшизер за McDonalds
e-mai: ljangelovski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Бројот соматски клетки и бројот микроорганизми се критериуми според кои и се проценува дали суровото млеко е во согласност со Правилникот за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи "Сл. весник на РМ" 157/2007. Според барањата, операторите со сурово млеко се обврзани да ги спроведат сите процедури со кои ќе гарантираат дека млекото ги исполнува критериумите поставени според Правилникот. Истовремено, Република Македонија мора да ги исполни и критериумите на ЕУ пропишани во Директивата на ЕУ 92/46 (Council directive 92/46/EEC laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products) во однос на квалитетот на суровото млеко како дел од планот за приближување на нашето законодавство и производство на млеко кон условите во ЕУ. Независната лабораторија за контрола на млекото при ФВМ-Скопје, во рамките на своите активности во периодот февруари-август 2008 година изработи студија за добивање на прелиминарни резултати за состојбата со суровото млеко кое се произведува во Р. Македонија, во однос на бројот соматски клетки во млекото (БСК) и бројот микроорганизми (БМО). Во студијата беа извршени 2065 анализи на БМО и 1625 анализи на БСК, на сурово млеко од производителите од различни региони во државата. Од испитаните примероци само 41,8% ги исполнуваат критериумите за БСК, а 41,45 критериумите за БМО дадени во Правилникот за 2008 година. Само за споредба-барањата во Council Directive ги исполнуваат 42,7% во однос на БСК и 10,7% во однос на БМО, имајќи ги притоа во предвид различните барања во споредба со Правилникот.

Клучни зборови: квалитет на сурово млеко, број соматски клетки, број микроорганизми

ВОВЕД

Правилникот за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи „Сл. весник на РМ“ 157/2007 покрај останатото ги пропишува критериумите за суровото кравјо млеко во периодот од 2008 до 2012 година. Според прилогот 3 кој е составен дел на цитираниот Правилник, БМО треба постепено да се намалува од 800.000 cfu/ml во 2008 до 600.000 во 2009, 400.000 во 2010, 200.000 во 2011 до 100.000 cfu/ml во 2012. Во однос на БСК, истиот треба постепено да се намалува од 600.000 scc/ml во 2008, 500.000 во 2009 на 400.000 scc/ml во 2010 година. Со постигнувањето на овие критериуми во 2010 за БСК односно 2012 за БМО, македонското сурово млеко ќе ги достигне стандардите кои важат за квалитетот на суровото млеко во земјите на Европската Унија.

Вкупниот број микроорганизми и бројот соматски клетки во суровото млеко зависат од голем број различни фактори. За да се достигнат бараните критериуми од новиот правилник, потребно е да се познаваат факторите кои имаат најголем влијание врз БМО и БСК.

Соматските клетки се нормален дел од млекото како негова природна состојка и кај здравото виме не влијаат на неговиот состав и физичко-хемиските особености (7). Главно се состојат од епителни клетки на вимето и клетки кои се по потекло од крвта (леукоцити). Од вкупниот број 70% се епителни клетки на вимето (кожата, алвеолите, млечните каналчиња и млечната цистерна), а остатокот од 30% го сочинуваат клетките од крвта и останати клетки (15). Нормалниот број соматски клетки зависи од повеќе фактори, но кај здраво виме во просек изнесува 20.000 cfu/ml. Секое зголемување на бројот соматски клетки над 250.000 или 300.000 во ml млеко се смета како показател на маститис (7,8,9,11,12,16).

Во проучувањето на патологијата на млечната жлезда и дијагностиката на инфицираните четвртини од вимето се користи определувањето на БСК во млекото (3,4,10,25). Овој параметар се смета за најдобар показател за здравствената состојба на млечната жлезда (17,18,19,20).

Во справувањето со маститисот се применува и идентификација и типизација на патогените микроорганизми и понатамошно определување на антибиотски минимални инхибиторски концентрации (MIC) за секој изолат поединечно.

Освен соматските клетки во млекото од здрави крави, нормално се наоѓа и определен мал број микроорганизми. Млекото се синтетизира во специјализирани клетки во млечната жлезда и речиси е стерилно кога се лачи од алвеолите во млечната цистерна на вимето (27). Тој број нормално изнесува помалку од 1000 cfu/ml (28). Здравото виме многу малку или воопшто не влијае на вкупниот број бактерии во збирното млеко, додека кај кравите со маститис се јавува опасноста од ширење на голем број на микроорганизми во синцирот на млеко. Кај здравите крави, мамарниот канал, млечната цистерна и врвот на боската можат да бидат колонизирани со различни микроорганизми, но со добра хигиенска пракса пред молзењето (31,32) тие немаат поголемо влијание врз вкупниот број микроорганизмите во збирното млеко, ниту врз потенцијалот за пораст на бројот на микроорганизмите во

текот на фазата на ладење. Природната микрофлора главно има мало влијание врз бројот на микроорганизмите во млекото. Но, случајот со маститични крави е сосема поинаков. Влијанието на маститисот врз вкупниот број микроорганизми зависи од видот на микроорганизмот кој ја предизвикал инфекцијата, стадиумот на инфекцијата и процентот на инфицираните грла. Кај инфицираните крави БМО во млекото може да изнесува и до 10^7 бактерии во ml. Ако во млекото од една крава ВББ изнесува 10^7 ml и претставува 1% од вкупното млеко во резервоарот, ВББ во збирното млеко без влијание од други извори ќе изнесува 10^5 ml (32).

Врз бројот на микроорганизмите влијание има и чистењето и санитацијата на опремата. Чистотата на системот за молзење влијае на вкупниот број бактерии во млекото. Остатоците од млеко на опремата со која млекото доаѓа во контакт го подржуваат растот на различни микроорганизми. Организмите кои се сметаат за природна микрофлора на и во вимето не растат значително во суровото млеко во текот на фазите на ладење на млекото. Главно се состојат од предизвикувачи на контагиозен маститис (пр. *Staph. Agalactiae*) и некои соеви (пр. *Coliforms*) поврзани со енвироменталниот маститис (30). Водата која се користи на фармата може исто така да биде извор на микроорганизми, особено психротропните, за контаминација на површините на опремата и млекото (31).

Температурата и времето на складирање на млекото имаат големо влијание врз бројот на микроорганизмите. Ладењето го спречува зголемувањето на бројот на мезофилните бактерии додека во исто време го зголемува бројот на психрофилните микроорганизми. Психрофилните микроорганизми навлегуваат во млекото од нечистото виме, нечистата околина и нечистата опрема. Чувањето на млекото на температура од $7,2^{\circ}\text{C}$ овозможува многу побрз раст на микроорганизмите во споредба со млекото чувано на $4,4^{\circ}\text{C}$. (29).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

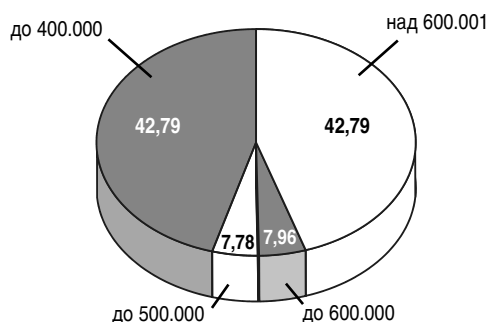
За определување на БМО беа користени 2065 примероци, а за определување на БСК 1625 проби сурово кравјо млеко земено од фарми на територијата на Република Македонија. Примероците беа доставувани во пластични стерилни запечатени чашки со капацитет од 50 ml во кои претходно веќе беше додаден конзерванс Azidiol (Sigma-Aldrich) во количество од 0,25 ml и транспортирани на температура од $+4^{\circ}\text{C}$ до Лабораторијата за квалитет на сурово млеко при Факултетот за ветеринарна медицина од Скопје. Од приемот до започнување на анализата примероците беа чувани на $+4^{\circ}\text{C}$. Вообичаена практика е примероците да се тестираат најдоцна 72 часа по земањето од кооперантите. Пред да се започне со броене на соматските клетки, примероците беа загревани на температура од 40°C за 15 минути и истите беа двапати анализирани на апаратот Fossomatic 6000 (Foss Electric, Denmark). За броене на вкупниот број микроорганизми беше користен Bactoscan 8000 (Foss Electric, Denmark). Процедурата за броене на БСК беше изведена во согласност со акредитиран метод ISO 17025-ФВМ-СОП-398 според референци од ISO 13366-2:2006/. Процедурата за БМО беше изведена според стандардот Milk-Quantitative determination of bacteriological quality, IDF Standard 161A: 1995.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Број на соматски клетки

Само 704 примероци односно 42,79% од примероците го исполнуваат критериумот на Европската Унија (Council Directive 92/46 ЕЕС) во однос на максималниот број соматски клетки во млекото. Од добиените резултати од броењето на соматските клетки може да се констатира дека 682, односно 41,45% примероци имаат над 600,001 соматски клетки на ml што значи не одговараат на критериумите од Правилникот за 2008 година. 936 примероци односно 58,54% ги исполнуваат критериумите за сурово млеко за 2008 година. Приказ на резултатите во однос на БСК е даден во Табела 1 и Графикон 1. Причините за вака високиот БСК можат да се бараат во слабата контрола на здравствената состојба на вимето на молзните крави и неправилниот менаџмент со стадото.

Табела 1. Добиени резултати за БСК и број примероци по категории според Правилникот



Графикон 1. Процентуално учество на примероци млеко според бројот соматските клетки дадени во Правилникот, изразени во проценти

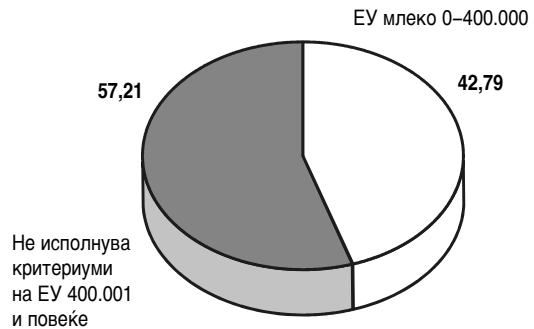
Година	БСК ml	Број примероци	%
Вон правилник	повеќе од 600.001	682	41,45
2008	500.000 до 600,000	131	7,96
2009	400.000 до 500.000	128	7,78
2010	до 400.000	704	42,79
	Вкупно	1645	99,98

Во табела 2 и графикон 2 е претставен процентуалниот однос за БСК на млекото кое ги исполнува критериумите според Council Directive 92/46 ЕЕС. Високиот процент примероци кои не го исполнуваат критериумот до 400.000 scc/ml е податок кој говори за несоодветната контрола на здравјето на млечната жлезда. Исто така, неуспехот да се дијагностицира субклиничкиот маститис може да биде уште една дополнителна причина за тоа. Бактериското воспаление на млечната жлезда може да биде и извор на патогени микроорганизми и нивни токсини во млекото кои можат да претставуваат опасност по здравјето на потрошувачите.

Табела 2. Процент на примероци млеко кое одговара на Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на БСК

	БСК	%
ЕУ млеко	0 – 400,000	42,79
не исполнува критериуми на Council Directive 92/46 ЕЕС	повеќе од 400,001	57,21

Графикон 2. Процент на примероци млеко кое одговара на Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на БСК



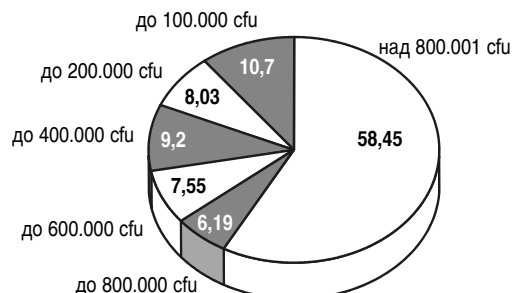
Број на микроорганизми

Од табелата може да се констатира дека само 221 примерок од вкупно тестирани 2065 примероци или 10,7% ги исполнуваат критериумите на Европската Унија (Council Directive 92/46 ЕЕС) во однос на БМО. Над 800,001 cfu/ml имаа 1207 примероци или 58,45% што значи дека не ги исполнуваат критериумите за сурово млеко определени во Правилникот за 2008 година. При обработката на податоците за БМО беше видливо дека е многу мал бројот примероци кои би ги исполниле и критериумите дадени за следните четири години.

Табела 3. Добиени резултати за БМО и број примероци по категории според Правилник

Година	БМО	Број примероци	%
Вон правилник	над 800.001	1207	58,45
2008	до 800.000	125	6,19
2009	до 600.000	156	7,55
2010	до 400.000	190	9,2
2011	до 200.000	166	8,03
2012	до 100.000	221	10,7
	Вкупно	2065	100,12

Графикон 3. Процентуално учество примероци млеко според бројот микроорганизми дадени во Правилникот изразени во проценти



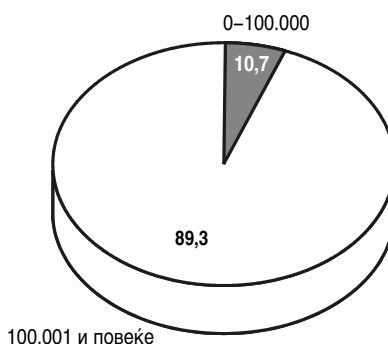
Во табела 4 и графикон 4 е претставен процентуалниот однос за БМО на млекото кое ги исполнува критериумите според Council Directive 92/46 ЕЕС.

Табела 4. Процент примероци млеко кое одговара на Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на БМО

	БМО	%
ЕУ млеко не исполнува критериуми на Council Directive 92/46 ЕЕС	0 – 100,000	10,7
	100,001 и повеќе	89,3

Забележително е дека само околу 10% од примероците го исполнуваат европскиот критериум за содржината на микроорганизми во 1 ml кој дозволува најмногу 100.000 микроорганизми во милилитар. Овој број присутни микроорганизми не само што го прави млекото негодно за преработка во млечни производи, туку и може да претставува опасност по безбедноста на млекото и млечните производи.

Графикон 4. Процент на примероци млеко кое одговара на Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на БМО



БМО е во директна зависност од иницијалната контаминација на млекото со микроорганизми од млечната жлезда и микроорганизми (контаминенти) од околината (пр. постелка, урина, фецес) кои во значителен број можат да ги населат површините од опремата за молзење и површините со кои млекото доаѓа во контакт (31). Со минимизирање на нивото на контаминација на млекото од овие извори сигнификантното би се превенирало нивото на психрофилните микроорганизми. На тој начин од моментот на чувањето на млекото во лактофризерот на фармата, транспорт и чувањето во собирната цистерна на млекарата, па се до почетокот на обработката, бројот на присутни микроорганизми во млекото се задржува на најниско можно ниво. Според тоа, БМО и БСК најмногу зависи од менаџментот со стадото (22), сузбивањето на маститисот (5,6), хигиената на молзењето (24) и ладењето на млекото од лактофризерот до млекарата (29).

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Само 704 (42,79%) од испитаните примероци кравјо млеко го исполнуваат критериумот од Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на максималниот број соматски клетки во млекото.

2. Дури 682 примероци (41,45%) имаат над 600,001 соматски клетки на ml, што значи не одговараат на критериумите од Правилникот за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи “Сл. весник на РМ” 157/2007 за 2008 година
3. Само 221 (10,7%) примерок од испитаното кравјо млеко ги исполнуваат критериумите на Council Directive 92/46 ЕЕС во однос на бројот на микроорганизмите во млекото.
4. 1207 примероци (58,45%) имаа повеќе од 800,001 cfu/ml што значи не се исполнети критериумите за сурово млеко определени во Правилникот за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи “Сл. весник на РМ” 157/2007 за 2008 година.

ЛИТЕРАТУРА

1. Murphy S.C. & Boor Cornell K.J. University Ithaca, NY. Sources and causes of high bacteria counts in raw milk: an abbreviated review
2. Blosser, T.H. Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States J. Dairy Sci. 62:119–127 1979
3. Eberhart, R.J., H.C.Gilmore. L.J Hutchinson and S.B. Spencer. Somatic cell counts in DHI samples, In Proc. Nat. Mast. Coun. pp. 32–40, 1979
4. Dohoo, I.R., A.H.Meek, S.W.Martin and D.A. Barnum. Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. Can.J.comp.Med. 45:8–14, 1981
5. Natzke R.P., R.W.Everett, R.S. Guthrie, J.F.Keown, A.H.Meek, W.G. Merrill, S.J. Roberts and G.H.Schmidt. Mastitis control program: Effect on milk production. J.Dairy Sci. 55:1256–1260 1972
6. Schultz, L.H. Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. J. Am. vet. Ass. 170:1244–1246, 1977
7. Natzke, R.P., R.W.Everett and D.S.Postle. Normal milk somatic cell counts. J.Milk Fd. Technol. 35:261–263. 1972
8. Ward, G.E. and Schultz, L.H. Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. J.Dairy. Sci. 55:1428–1431. 1972
9. A.H.Meek, D.A. Barnum and F.H.S. Newbould. Use of total and differential somatic cell counts to differentiate potentially infected from potentially non–infected quarters and cows and between herds of various level of infection. J.Fd. Prot. 43:10–14. 1980
10. Syrstad, O., I. Ron and J. Wiggen. Factors affecting cell counts in milk from individual cows. Nord. VetMed. 31:114–121. 1979
11. Gill, M.S. and C.W. Holmes. Somatic cell counts, mastitis and milk production in dairy herds. N.Z.J. Dairy Sci. and Tech. 13:157–161. 1978
12. Reichmuth, J. Somatic cell counting – Interpretation of results. In proc. Of Sem. On Mast. Cont.

- 1975 IDF Doc. 85. pp. 93–109. 1975
13. Правилник за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи. “Сл. весник на РМ” 157/2007
 14. EU 92/46/EEC Council directive laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products. 1992
 15. Harmon. R.J. Physiology of Mastitis and factors affecting Somatic Cell counts *Journal of Dairy Science* Vol.77, No.7. 1994
 16. Rysanek, D., Babak, V. and Zouharova, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinarni medicina* 52:223–230. 2007
 17. Suriyasathaporn, W., Schukken, H., Nielen, M. and Brand, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J. Dairy Sci.* 83:1248–1255. 2000
 18. Olde Riekerink, R.G.M., Barkema, H.W. and Stryhn, H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 90:1704–1715. 2007
 19. Renenau, K.J. Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. *J. Dairy Sci.* 69:1708–1720. 1986
 20. Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Gomez, J.D., Gomez, L.D. and San Primitivo, F. Diurnal Variation in the Somatic Cell Count of Ewe Milk. *J Dairy Sci* 77:1856–1859. 1994
 21. Sargeant, J.M., Leslie, K.E., Shirley, J.E., Pulkrabek, B.J. and Lim, G.H. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. *J. Dairy Sci.* 84:2018–2024. 2001
 22. Cassell, G.B. Using somatic cell score evaluations for management decisions. *J. Dairy Sci.* 77:2130–2136. 1994
 23. Tancin, V., Ipema, A.H. and Hogewerf, P. Interaction of somatic cell count and quarter milk flow patterns. *J. Dairy Sci.* 90:2223–2228. 2007
 24. McKinnon, C.H., G.J. Rowlands, and A.J. Bramley. 1990. The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on the bacterial numbers in bulk milk of eight dairy herds. *J. Dairy Res.* 57:307
 25. Jayarao, B.M., Pillai, S.R., Sawant, A.A., Wolfgang, D.R. and Hegde, N.V. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 87:3561–3573. 2004
 26. Schukken, Y.H., Wilson, D.J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L. and Gonzalez, R.N. monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.* 34:579–596. 2003
 27. Tolle, A. 1980. The microflora of the udder. p. 4. In *Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk*. International Dairy Federation Bulletin, Document 120.
 28. Kurweil, R., and M. Busse. 1973. Total count and microflora of freshly drawn milk. *Milchwissenschaft* 28:427.
 29. Gehringer, G. 1980. Multiplication of bacteria during farm storage. In *Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk*. International Dairy Federation Bulletin, Document 120.
 30. Olson, J.C. Jr., and G. Mocquat. 1980. Milk and Milk Products. p. 470. In *Microbial Ecology of Foods*. Vol. II. J.H. Silliker, R.P. Elliott. A.C. Baird-Parker, F.L. Bryan, J.H. Christion, D.S. Clark, J.C. Olson, and T.A. Roberts (eds.). Academic Press, New York, NY.

31. Bramley, A.J. and C.H. McKinnon. 1990. The microbiology of raw milk. pp. 163–208. In Dairy Microbiology, Vol. 1. Robinson, R.K. (ed.) Elsevier Science Publishers, London.
32. Bramley and McKinnon, 2008 Sources and Causes of High Bacteria Counts in Raw Milk: An Abbreviated Review

QUALITY OF RAW COW MILK IN REPUBLIC OF MACEDONIA DETERMINED THROUGH THE TESTING OF SOMATIC CELL COUNT AND 3TOTAL VIABLE COUNT

Ljupco Angelovski¹, Dean Jankuloski¹, Sandra Kostova¹, Marija Ratkova¹,
Irena Erakovic Tokalic², Pavle Sekulovski¹,

¹Department for food safety, Faculty for veterinary medicine in Skopje

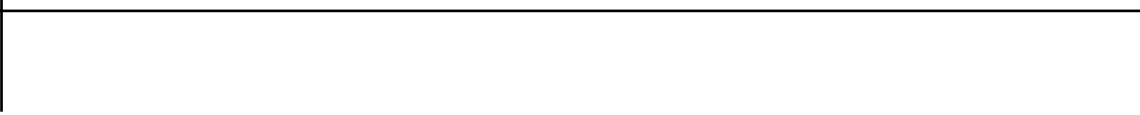
²Manager for food safety and quality, SJ company, McDonald's

e-mail: ljangelovski@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Somatic cells count and total viable count are criteria used to estimate the compliance of raw cow milk with the Book of rules for demands for safety and hygiene and procedures for official controls of milk and milk products, Official Gazzete of RM 157/2007. According to the given demands, raw milk operators are obliged to conduct all procedures and to guarantee that milk is in compliance with the criteria laid down in Book of rules. At the same time, Republic of Macedonia have to fulfill EU criteria laid down in Directive 92/46 (Council directive 92/46/EEC laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products) for quality of raw milk as part of implementation of community legislation and milk production. The independent laboratory for milk quality control at FVM-Skopje, in frame of its activities in the period February-August 2008 has conducted a study for obtaining preliminary results for the situation with raw milk quality produced in R. of Macedonia for somatic cells counts and total viable count. In the study we analyzed 2065 samples for TVC and 1625 samples for SCC of raw milk samples produced in different parts of the country. From the tested samples only 41,8% fulfill criteria for SCC and 41,45% criteria for TVC lay down in Book of rules for 2008. Assessment of the results in light of Council Directive it is obvious that only 42,7% of the samples for SCC and 10,7% for TVC fulfill the criteria of Council Directive having in mind different requirements vs. Book of rules.

Keywords: raw milk quality, somatic cell count, total viable count.



МЕТАБОЛИЧКИ ПРОФИЛ КАЈ МЛЕЧНИ КРАВИ ОД РАЗЛИЧНИ КАТЕГОРИИ

Игор Улчар¹, Ирена Целеска¹, Ксенија Илиевска²,
Дине Митров³, Игор Џацовски³

¹Катедра за патолошка физиологија,
Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

²Катедра за хирургија, ортопедија и офталмологија,
Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

³Катедра за здравствена заштита на фармските животни,
Факултет за ветеринарна медицина - Скопје
e-mail: iulcar@fvm.ukim.edu.mk

АПСТРАКТ

Познавањето на вредностите на метаболичкиот профил е важно за превенирањето на т.н. „продукциски заболувања“ кои предизвикуваат големи штети во продукцијата на млеко. Целта на овие испитувања беше да се одреди метаболичкиот профил и неговите референтни вредности кај млечните крави во неколку наши фарми. Беа испитувани четири категории млечни крави: стелни јунички, крави во рана лактација, крави во доцна лактација и засушени крави. Во дискусијата се образложени статистички значителните разлики во вредностите на поедини параметри (гликоза, вкупни протеини, уреа, креатинин, AST, GGT) помеѓу различните групи испитувани животни, како статистички значителните корелации помеѓу поедини параметри (гликоза, вкупни протеини, албумини, калциум, фосфор, уреа, креатинин, холестерол, триглицериди, AST, GGT) во рамките на секоја од групите испитувани животни. Вредностите добиени од нашите испитувања беа споредувани со референтни вредности. Беше утврдено дека кравите опфатени во овие испитувања се со добар метаболички профил, чии вредности се до некаде различни од референтните. Кај кравите во лактација, особено ако е рана, постои склоност кон енергиско-протеински дефицит, но мала е склоноста кон дефицит на калциум.

Клучни зборови: млечни крави, продукциски заболувања, метаболички профил, енергиско-протеински дефицит

ВОВЕД

Млекото произведено од млечни крави е комплексен продукт кој се состои од повеќе разновидни аноргански и органски состојки. Хемискиот состав на млекото е директно поврзан со неговиот квалитет и зависи од здравствената состојба на животното. Од индикаторите на здравствената состојба на млечните крави, за млекото, меѓу другото, е важен и метаболичкиот профил, бидејќи тој влијае врз хемискиот состав, а со тоа и врз квалитетот на произведеното млеко. Состојбите на метаболички нарушувања кои влијаат врз квалитетот на финалниот продукт, т.е. млекото, некои автори ги нарекуваат „продукциски заболувања“ (1, 2), и за нивно детерминирање се развиени пресимптоматични дијагностички тестови (1). Во продукциски заболувања спаѓаат пуерпералната пареза (млечна треска), хипомагнезијемията, ацетонемията и некои други заболувања кои се манифестираат со нерамнотежа помеѓу внесувањето на хранливи состојки (анг. input) во организмот и продукциските и репродукциските остварувања на животното (анг. output). При ваква нерамнотежа, може да дојде до промени во количеството на телесните резерви на одредени метаболити или до промени во нивното производство. Продукциските заболувања можат да настанат поради грешки во исхраната или поради несоодветноста на метаболичкиот капацитет на организмот да произведе доволно количество одредени компоненти од млекото со генетски зададениот продукциски капацитет. За да го произведе млеко во она количество што е генетски зададено, во услови на недостаток на одредени компоненти (дефицит во храната, несоодветни метаболички капацитети), кравата како супстрат за продукција ги користи сопствените ткива. Ова резултира со промени на одредени параметри од метаболичкиот профил, т.е. со нивно паѓање под физиолошките граници, што се, всушност, знаците на продукциската болест. Ова пред сè се однесува на хипогликемијата, чија последица е кетозата, а од минералните дисбаланси важни се хипокалцемијата и хипомагнезијемията. Хипонатријемията не е толку честа, освен ако е вегетацијата сиромашна со натриум, и тогаш може да се очекува т.н. „синдром на лижење“ (анг. licking syndrome). Од олиголементите значаен е дефицитот на бакар, иако бакарот се додава во крмните смески. Со промена во режимот на исхраната, овие параметри реагираат различно. Така, на пример, серумската гликоза, серумскиот аноргански фосфор и магнезиумот реагираат бргу, додека албумините реагираат побавно.

Поради горенаведено, од исклучителна важност е да се знаат референтните вредности на параметрите на метаболичкиот профил. За таа намена се вршени повеќе испитувања (3, 4, 5) кои укажуваат дека овие параметри зависат од видот и расата на животното, начинот на одгледување, возраста, полот, исхраната, физичката активност итн., од една страна, но и од лабораториските дијагностички тестови и реагенсите кои се применети, од друга. За овие разлики постојат бројни наводи. Кај јунци и бикови со руптура на мочниот меур и на уретрата доаѓа до намалување на серумските концентрации на натриумот и на хлоридите, додека концентрациите на креатининот, уреата и на вкупните протеини се зголемени; овие промени се поизразени при руптура на мочен меур отколку при руптура на уретра (6). Кај телиња со респираторно заболување се јавува намалување на нивото на серумските фосфор, магнезиум, калиум, железо и алкална фосфатаза, додека нивото на билирубинот и на AST е зголемено (7). Кај гојните говеда од расата Шортхорн серумските концентрации на уреата, вкупните протеини и билирубинот, како и серумската активност на лактат-дехидрогеназата се зголемуваат со возраста, додека концентрациите на калциумот и фосфорот и активноста

на алкалната фосфатаза со возраста се намалуваат; кај истиве говеда гликозата и креатининот се намалуваат во текот на лактацијата, додека лактат–дехидрогеназата, AST и уреата во текот на лактацијата се зголемуваат (8). Хипокалцемијата се јавува кај постари грла, најчесто при пуерпералната пареза, но може да се јави и како последица на дефицит на калциум во храната, физички напор или лоши временски прилики, и тогаш оди заедно со хипергликемијата, која е знак на стрес кај говедата (9). Метаболичкиот профил се менува и во услови на метаболичка ацидоза (10).

Од сево ова може да се заклучи дека податоците за метаболичкиот профил кај говедата се мошне хетерогени (во зависност од расата, географската припадност и начинот на држење и исхрана), и повеќе се однесуваат за телиња и гојни говеда, отколку за млечни крави. Целта на овој труд е да се утврдат вредностите на параметрите на метаболичкиот профил кај млечните крави во неколку наши фарми и да се утврди во која мерка кореспондираат со референтните вредности (11).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Предмет на нашите испитувања беа млечни крави од холштајн–фризиската раса во неколку краварски фарми од различни делови на државата: фармата „Еуроленд“, с. Петровец, Скопско, фармата во с. Породин (во рамките на ЗИК „Пелагонија“ – Битола) и една приватна фарма во Куманово во периодот февруари – април 2008 година. Испитуваните животни беа поделени во четири групи: стелни јунички, крави во рана лактација, крави во доцна лактација и засушени крави. Бројот на стелните јунички беше 14, бројот на крави во рана лактација 21, бројот на крави во доцна лактација 11, додека бројот на засушени крави беше 14. Крвта беше земена со пункција на кокцигеалната вена (фармата „Еуроленд“) односно на југуларната вена (фармите во Битола и во Куманово). Серумот беше издвоен со центрифугирање 10 мин на 4000 вртежи/мин и беше испитуван во Лабораторијата за биохемија при Факултетот за ветеринарна медицина – Скопје. Беа испитувани следниве биохемиски параметри: гликозата со методата на ензимска детерминација; вкупните протеини со биуретската метода; албумините со директната колориметриска BCG метода; калциумот со директна колориметриска метода; фосфорот со директна колориметриска метода; уреата со комплетната ензиматска метода со GLDH; креатининот со колориметриската кинетичка метода без депротеинизација; триглицеридите со GPO-PAP методата; холестеролот со CHOD-PAP методата; аспартат–аминотрансферазата (AST) со методата за кинетичка детерминација; и γ -глутамил–трансферазата (GGT) со методата за кинетичка детерминација. Сите реагенси употребени во тестирањата беа производи на Sentinel Diagnostics (Франција), а сите тестирања беа извршени на фотометарот Stat Fax 3300 (Awageness Technology). Статистичките пресметувања (дескриптивна статистика, Штудентов t–тест, коефициент на корелација) беа извршени компјутерски со програмата STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc.). Исто така извршена е споредба на добиените резултати со референтни вредности (11).

РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од дескриптивната статистика (аритметичка средина, стандардна девијација, стандардна грешка, минимум и максимум) за сите четири категории испитувани животни се дадени во Табелите 1 и 2.

Табела 1: Дескриптивна статистика (аритметичка средина \bar{x} , стандардна девијација, стандардна грешка, минимум и максимум) кај стелните јунички и кај кравите во рана лактација

		стелни јунички N = 14			крави во рана лактација N = 21		
параметар	реф. вр.	$\bar{x} \pm$ стд. дев.	стд. грешка	мин.–макс.	$\bar{x} \pm$ стд. дев.	стд. грешка	мин.–макс.
гликоза mmol/l	2,30–4,10	2,59 \pm 0,83	0,22	1,57–4,09	1,84 \pm 0,60	0,13	0,83–3,19
вк. протеини г/л	62,00–82,00	71,70 \pm 15,70	4,19	49,50–98,50	63,85 \pm 13,13	2,86	38,10–81,40
албумини г/л	28,00–39,00	32,78 \pm 11,06	2,95	22,60–60,12	32,30 \pm 13,08	2,85	18,20–64,10
калциум mmol/l	2,10–2,80	1,81 \pm 0,27	0,07	1,30–2,30	1,77 \pm 0,21	0,05	1,40–2,40
фосфор mmol/l	1,40–2,50	2,55 \pm 0,83	0,22	1,52–4,03	2,70 \pm 1,18	0,26	0,42–5,60
уреа mmol/l	2,80–8,80	3,86 \pm 1,72	0,46	1,21–6,80	3,57 \pm 1,82	0,40	0,93–7,44
креатинин μ mmol/l	56,00–162,00	123,18 \pm 25,77	6,89	78,00–174,40	116,82 \pm 14,73	3,21	90,20–147,60
холестерол mmol/l	1,60–5,00	1,65 \pm 0,56	0,15	0,92–2,89	1,66 \pm 0,68	0,15	0,75–3,39
триглицериди mmol/l	0,10–0,42	0,16 \pm 0,10	0,03	0,03–0,40	0,13 \pm 0,09	0,02	0,02–0,39
AST U/l	45,00–110,00	70,71 \pm 13,46	3,60	40,70–91,40	63,76 \pm 14,16	3,09	41,10–97,80
GGT U/l	4,90–26,00	20,49 \pm 6,18	1,65	9,10–28,20	28,09 \pm 12,14	2,65	18,50–78,60

Табела 2: Дескриптивна статистика (аритметичка средина, стандардна девијација, стандардна грешка, минимум и максимум) кај кравите во доцна лактација и кај засушените крави

		крави во доцна лактација N = 11			засушени крави N = 14		
параметар	реф. вр.	$\bar{x} \pm$ стд. дев.	стд. грешка	мин.–макс.	$\bar{x} \pm$ стд. дев.	стд. грешка	мин.–макс.
гликоза mmol/l	2,30–4,10	2,20 \pm 0,73	0,22	0,99–3,06	2,73 \pm 0,38	0,10	1,50–3,12
вк. протеини г/л	62,00–82,00	65,62 \pm 25,29	7,62	1,31–87,70	78,20 \pm 11,44	3,06	48,50–97,70
албумини г/л	28,00–39,00	30,93 \pm 8,30	2,50	21,60–54,00	36,76 \pm 13,40	3,58	25,60–73,60
калциум mmol/l	2,10–2,80	1,92 \pm 0,53	0,16	1,40–3,10	1,95 \pm 0,34	0,09	1,50–2,50
фосфор mmol/l	1,40–2,50	2,60 \pm 0,94	0,28	1,84–4,80	2,67 \pm 1,08	0,29	1,28–5,61
уреа mmol/l	2,80–8,80	4,69 \pm 2,00	0,60	2,92–8,34	5,63 \pm 2,11	0,56	1,58–9,06
креатинин μ mmol/l	56,00–162,00	136,73 \pm 34,13	10,29	100,60–229,80	128,31 \pm 14,19	3,79	102,90–153,20
холестерол mmol/l	1,60–5,00	1,77 \pm 0,59	0,18	0,86–2,98	1,87 \pm 0,65	0,17	0,64–2,90
триглицериди mmol/l	0,10–0,42	0,15 \pm 0,11	0,03	0,06–0,44	0,11 \pm 0,04	0,01	0,04–0,20
AST U/l	45,00–110,00	74,83 \pm 17,53	5,28	51,80–113,60	74,82 \pm 13,17	3,52	48,60–89,60
GGT U/l	4,90–26,00	26,64 \pm 6,98	2,10	18,40–37,90	25,76 \pm 4,98	1,33	16,50–37,60

Ако се споредат нашите резултати со референтните вредности ќе се види дека постојат разлики. Кај сите параметри освен кај GGT минималната вредност кај нашите резултати е помала од референтниот минимум, додека максималната е во рамките на референтните вредности (гликоза; холестерол; калциум кај стелни јунички, крави во доцна лактација и засушени крави; уреа кај стелни јунички, крави во рана и крави во доцна лактација; креатинин кај крави во рана лактација и кај засушени крави; триглицериди кај стелни јунички, крави во рана лактација и засушени крави; AST кај стелни јунички, крави во рана лактација и засушени крави), односно поголема од референтниот максимум (вкупни протеини; албумини; калциум кај крави во рана лактација;

уреа кај засушени крави; креатинин кај стелни јунички и крави во доцна лактација; триглицериди кај крави во доцна лактација; AST кај крави во доцна лактација; GGT кај сите категории).

При споредувањето на значајноста на разликите на аритметичките средини на поедини параметри кај различни категории испитувани животни, се утврди дека концентрацијата на гликозата кај стелните јунички беше статистички значително поголема од онаа кај кравите во рана лактација ($p < 0,01$); исто така концентрацијата на гликоза кај засушените крави беше статистички значително поголема како од онаа кај кравите во рана ($p < 0,001$), така и кај кравите во доцна лактација ($p < 0,05$). Засушените крави имаа и статистички значително поголема концентрација на вкупните протеини од онаа кај кравите во рана лактација ($p < 0,05$). Концентрацијата на уреата кај засушените крави беше статистички значително поголема од онаа кај стелните јунички ($p < 0,05$), како и од онаа кај кравите во рана лактација ($p < 0,01$). Кравите во рана лактација имаа статистички значително помала концентрација на креатининот од онаа кај кравите во доцна лактација ($p < 0,05$), како и од онаа кај засушените крави ($p < 0,05$). Засушените крави имаа статистички значително поголема активност на AST од онаа кај кравите во рана лактација ($p < 0,05$), додека стелните јунички имаа активност на GGT статистички значително помала од онаа кај кравите во рана ($p < 0,05$), кај кравите во доцна лактација ($p < 0,05$) и кај засушените крави ($p < 0,05$).

Кај стелните јунички беа утврдени статистички значајни корелации помеѓу гликозата и вкупните протеини ($r = 0,65$); помеѓу калциумот и гликозата ($r = 0,80$), вкупните протеини ($r = 0,60$), албумините ($r = -0,60$), фосфорот ($r = -0,57$), уреата ($r = 0,61$) и AST ($r = 0,58$); помеѓу фосфорот и урата ($r = -0,74$), AST ($r = -0,83$) и GGT ($r = -0,57$); и помеѓу уреата и AST ($r = 0,57$), односно GGT ($r = 0,56$).

Кај кравите во рана лактација беа утврдени статистички значајни корелации помеѓу гликозата и вкупните протеини ($r = 0,58$), албумините ($r = -0,48$) и калциумот ($r = 0,64$); помеѓу вкупните протеини и креатининот ($r = -0,48$); помеѓу албумините и фосфорот ($r = 0,65$), креатининот ($r = 0,68$) и холестеролот ($r = 0,51$); помеѓу калциумот и уреата ($r = 0,63$); и помеѓу уреата и триглицеридите ($r = 0,46$).

Кај кравите во доцна лактација беа утврдени статистички значајни корелации помеѓу гликозата и вкупните протеини ($r = 0,82$) и уреата ($r = 0,68$); помеѓу албумините и фосфорот ($r = 0,71$); и помеѓу калциумот и уреата ($r = 0,65$), односно AST ($r = 0,82$).

Кај засушените крави беа утврдени статистички значајни корелации помеѓу гликозата и вкупните протеини ($r = 0,67$), албумините ($r = -0,59$) и фосфорот ($r = -0,87$); помеѓу вкупните протеини и албумините ($r = -0,57$), односно AST ($r = -0,54$); и помеѓу фосфорот и уреата ($r = -0,58$).

ДИСКУСИЈА

Според дадените резултати може да се каже дека кравите опфатени во нашите испитувања имаа кај сите параметри освен кај вкупните протеини, кај албумините и кај GGT пониски физиолошки граници во однос на референтните вредности. Кај GGT физиолошките граници беа повисоки во однос на референтните вредности, додека кај вкупните протеини и кај албумините опсегот на физиолошките граници (минимум–максимум) беше поголем од оној кај референтните вредности. Од сите четири категории испитувани животни, во метаболички најнеповолна состојба беа кравите во лактација,

особено оние во рана лактација, поради ниските концентрации на гликозата и на вкупните протеини кај овие животни. Ваквата состојба укажува дека кравите во лактација, особено ако е рана, се подложни на појава на кетоза, што е во согласност со податоците од литературата. Сепак, може да се каже дека сите испитувани животни беа во добра енергиска кондиција поради статистички значително високите позитивни корелации помеѓу гликозата и вкупните протеини кај сите четири испитувани категории, ова особено важи за засушените крави, каде што оваа корелација беше најголема, а од друга страна имаше и статистички значително висока негативна корелација помеѓу вкупните протеини и албумините, што укажува на високото ниво на глобулини, односно на добар имунолошки статус. Иако активноста на AST кај засушените крави е статистички значително повисока од онаа кај кравите во рана лактација, тоа не значи дека е кај овие животни поголема веројатноста за појава на хепатичка инсуфициенција, поради тоа што постои статистички значително висока негативна корелација помеѓу вкупните протеини и AST.

Интересно е што не беа пронајдени статистички значителни разлики во вредностите на концентрацијата на калциумот кај ниту една од испитуваните категории животни. Од друга страна, кај кравите во рана лактација калциумот е во статистички значително висока позитивна корелација со гликозата, а кај стелните јунички со гликозата и со вкупните протеини, што значи дека е мала склоноста кон пуерперална пареза.

ЗАКЛУЧОК

Од сево ова може да се заклучи дека кравите опфатени во нашиве испитувања се со добар метаболички профил, чии вредности се до некаде различни од референтните, дека кај кравите во лактација, особено ако е рана, постои склоност кон енергиско-протеински дефицит, но дека е мала склоноста кон дефицит на калциум.

ЛИТЕРАТУРА

1. Payne M., The Future of Presymptomatic Diagnosis. Proc. roy. Soc. Med. 65, February 1972, 181-183.
2. Radostits O.M., D.C. Blood, C.C. Gay, Veterinary Medicine - A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. W.B. Saunders Co Ltd. London, Philadelphia, Toronto, Sydney, Tokyo, 1997.
3. Bide R.W., Metabolic Profiles of Beef Cattle - The Literature Contains Many Studies and a Great Deal of Data. Can. vet. J. 19, December 1978, 344-345.
4. Church T.L., R.R. Bruner, E.D. Janzen, A Partial Metabolic Profile in a Beef Cow Herd in which Clinical Hypocalcemia Occurred. Can. vet. J. 19, April 1978, 110-112.
5. Lumsden J.H., K. Mullen, R. Rowe, Hematology and Biochemistry Reference Values for Female Holstein Cattle. Can. J. comp. Med. 44, January 1980, 24-31.
6. Donecker J.M., J.E.C. Bellamy, Blood Chemical Abnormalities in Cattle with Ruptured Bladders and Ruptured Urethras. Can. vet. J. 23, December 1982, 355-357.
7. Martin S.W., J.H. Lumsden, The Relationship of Hematology and Serum Chemistry Parameters to Treatment for Respiratory Diseases and Weight Gain in Ontario Feedlot Calves. Can. J. Vet. Res. 51, 1987, 499-505.

8. Doornenbal H., A.K.W. Tong, N.L. Murray, Reference Values of Blood Parameters in Beef Cattle of Different Ages and Stages of Lactation. *Can. J. Vet. Res.* 52, 1988, 99-105.
9. Moisan P.G., Hypocalcemia in a herd of aged beef cows. *Can. Vet. J.* 35, November 1994, 714-715.
10. Kasari T.R., J.M. Naylor, Further Studies on the Clinical Features and Clinicopathological Findings of a Syndrome of Metabolic Acidosis with Minimal Dehydration in Neonatal Calves. *Can. J. Vet. Res.* 50, 1986, 502-508.
11. The Merck Veterinary Manual, 8th edition, Merc & Co., Inc., Whitehouse Station, N.J. USA, 2000.

METABOLIC PROFILE IN DIFFERENT CATEGORIES OF DIARY COWS

Igor Ulchar¹, Irena Celeska¹, Ksenija Ilievska², Dine Mintrov³, Igor Dzhadzhovski³

¹*Department of Patophysiology, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje*

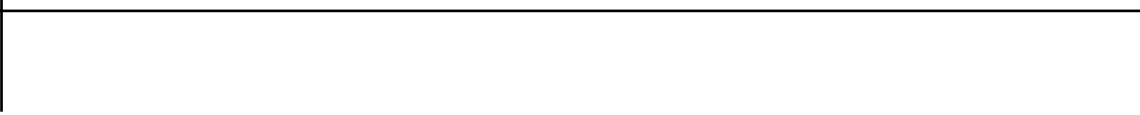
²*Department of Surgery, Orthopaedics and Ophthalmology,
Faculty of Veterinary Medicine - Skopje*

³*Department of Medicine of Farm Animals, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje
e-mail: iulcar@fvm.ukim.edu.mk*

ABSTRACT

Knowing the values of the metabolic profile is important for prevention of so-called "production diseases" which have significant negative impact on the milk production. The aim of these investigations was determination of the metabolic profile and its referent values in the diary cows in several farms. Investigations included four categories of diary cows: pregnant heifers, cows in early lactation, cows in late lactation and dry cows. Discussion explains both significant differences of values of some parameters (glucosis, total proteins, urea, creatinine, AST, GGT) in different groups of animals which were investigated and significant correlations between some parameters (glucosis, total protein, albumin, calcium, phosphorus, urea, creatinine, cholesterol, triglycerids, AST, GGT) within each of groups of animals. The values gained with our investigations were compared with the referent values. It was found that cows included in our investigations were good metabolic profile, although their values were in some degree different from the referent values. Cows which were in lactation, especially the early lactation, had disposition of development of energy-protein deficit, but the disposition to calcium deficit was low.

Key words: *diary cows, production diseases, metabolic profile, energy-protein deficit*



ЗАСТАПЕНОСТ НА *CAMPYLOBACTER SPP.* ВО МЕСО И ПРОИЗВОДИ ОД МЕСО УВЕЗЕНИ ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Сандра Костова¹, Деан Јанкулоски¹, Марија Раткова¹, Љупчо Ангеловски¹,
Ирена Ераковиќ Токалик², Павле Секуловски¹

¹Катедра за безбедност на храна, Факултет за ветеринарна медицина во Скопје

²Раководител за квалитет и безбедност на храна,
СЈ компани, Франшизер за McDonalds

АБСТРАКТ

Campylobacter spp. е водечки бактериски причинител на дијареа во хуманата популација во сите делови од светот. Во најголем дел инфекцијата со *Campylobacter spp.* кај луѓето потекнува од контаминираното пилешко месо, и производите од пилешко месо. Оваа студија беше дизајнирана да се процени преваленцата на *Campylobacter spp.* во месото и производите од месо увезени во Република Македонија. Во период од 8 месеци (јануари 2008-август 2008) беа тестирани 56 примероци месо и производи од месо (пилешко, МОМ, свинско, говедско и чадено говедско). Примероците беа подложени на анализа за детекција на термотолерантен *Campylobacter spp.* според ISO 10272:1995. Помеѓу анализираните примероци, најголема преваленца на *Campylobacter spp.* беше утврдена во МОМ-от со 84% позитивни мостри, потоа следуваат пилешкото месо со 81,8%, свинско месо со 10%, а во говедското и чаденото говедско месо не е утврдено присуство на *Campylobacter spp.* Вкупната преваленца на *Campylobacter spp.* во сите испитувани примероци месо изнесува 55,36%. Од студијата може да се заклучи дека поради високата преваленца во испитуваните примероци и сериозноста на болеста кај луѓето, индустријата за производство и преработка на живинско месо и производи од живинско месо како и операторите со храна, треба во проценката на ризиците при изработка на HACCP планот задолжително да го имаат во предвид и *Campylobacter spp.*

Клучни зборови: термотолерантен *Campylobacter spp.*, живинско месо, производи од живинско месо.

ВОВЕД

Campylobacter spp. е вториот по важност предизвикувач на акутен гастроентеритис кај луѓето во Европа. Системите за брзо известување и предупредување потврдуваат постоење на 55.745 хумани кампилобактериозни случаи со инциденца од 67,5 случаи на 100,000 жители за 2004 година во Германија (1). Во Холандија се проценува дека годишно се јавуваат 80.000 случаи на хумана кампилобактериоза (2). Бројот случаи е во постојан пораст, а *C. jejuni*, заедно со *C. coli* се сметаат за предизвикувачи на повеќе од 98% од инфекциите со *Campylobacter* (3). Во САД *Campylobacter* предизвикува околу 2,5 милиони случаи годишно (или 12,4% од сите дефинирани заболувања од патогени со потекло од храната) и е одговорен за 124 смртни случаи. Во развиените земји, инфекцијата е хиперендемична кај малите деца под 5 години (4). Во последниве декади, потрошувачите бараат посвежа и минимално обработена храна. Минималната обработка претставува примена на методи на конзервирање со минимална термичка обработка и без додавање конзерванси (5,6). Тоа е причината што овој патоген се шири во хуманата популација преку консумирање на недоволно термички обработено живинско, свинско, говедско месо, непастеризирано млеко, контаминирана вода за пиење и фецес од инфицирани животни (13). Храната од животинско потекло, како суровото млеко, свинското и јагнешкото месо, морската храна, а особено живинското месо и неговите производи го пренесуваат овој зоонозен патоген. Инфективната доза со *Campylobacter spp.* кај луѓето е ниска и изнесува приближно 500 бактериски клетки (7). Термотолерантните видови *Campylobacter spp.* како *C. jejuni* и *C. coli* и *C. lari*, не растат и не се размножуваат во храната или во околината на температури пониски од 25°C. *Campylobacter* е осетлив на топлина и се инактивира со пастеризација (8). *C. jejuni* расте помеѓу 30 и 45°C, при рН 5,5 - 8,0 и во присуство на над 1,75 % NaCl, најоптимална температура е 40°C, што е блиску до телесната температура на живината (околу 41°C), еден од најважните домаќини (4). Тој е микроаерофилен така што растот може да биде прекинат во присуство на 21% кислород. Клеточната енергија ја конзервира преку аеробна респирација и произведува оксидаза и каталаза за да ги неутрализира токсичните кислородни компоненти. Доколку *Campylobacter jejuni* се инокулира во вакуумирано пакување на термички обработено мисиркино месо, бројот бактерии се намалува но, некои од нив остануваат способни за раст уште 28 дена на температура од 4°C (9). Инфекцијата со *Campylobacter* кај домашните животни е широко распространета. Утврден е во гастроинтестиналниот тракт и фекалниот материјал кај голем број животински видови како живина, говеда, свињи и овци (7). Инфекцијата кај луѓето е примарно предизвикана од термофилните видови како *Campylobacter jejuni* и *Campylobacter coli*. Докажани се неколку случаи на заболувања кои се поврзани со консумација на пилешко месо, а кое не било потполно и правилно термички обработено (10). Во други случаи се претпоставува дека се работи за вкрстена контаминација со *Campylobacter spp.* од пилешко месо (1). Вкрстената контаминација на други видови храна од суровото пилешко месо исто така се зема во предвид и во други случаи. Во Кореа 81,5% од пилешкото

месо било контаминирано со *C. jejuni* или *C. coli* (10). Манипулацијата со суровото живинско месо и консумацијата на недоволно термички обработеното живинско месо се идентификувани како фактори на ризик за кампилобактериоза (11, 12). Високата преваленца на *Campylobacter spp.* во свежото живинско месо и производите од месо претставува важен фактор за појава на инфекции со *Campylobacter* (10). Од особена важност е да се процени преваленцата и бројот на *Campylobacter* во живинското месо со цел да се има увид во ризикот од инфекција со овој патоген и да се превенира труењето со храна од контаминираниите производи (1).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Материјал: Истражувањето за детекција и утврдување на преваленцата на *Campylobacter spp.* беше спроведено на 56 примероци и тоа 11 примероци свежо живинско месо, 25 примероци МОМ (машински обескоскено месо) од живинско месо, 10 примероци свежо свинско месо, 5 примероци свежо говедско месо и 5 примероци чадени производи од говедско месо. Сите примероци беа увезени во Република Македонија од разни земји и беа вклучени во истражувањето по случаен избор независно од земјата на потекло.

Методи: За изолација и идентификација на *Campylobacter* при ова истражување ги користевме стандардните референтни методи ISO 6778–2 и ISO 10272. Добиените примероци за тестирање до почетокот на анализата беа чувани во ладилник на +4°C. На асептичен начин беа земани 25 гр. од примерокот и префрлани во стерилна стомахер кеса. Примерокот со селективниот течен медиум за збогатување (Preston бујон) беше обработуван во стомахер во време од 60 секунди на средна брзина со цел да се постигне што поголема хомогенизација. Добиената суспензија во стомахер кесата беше запечатена со пластичен патент затворач, со претходно истиснување на скоро целиот воздух од кесата. Инкубацијата беше вршена на 42°C во микроаерофилна атмосфера за 18 часа. По истекот на инкубацијата, медиумот за збогатување беше инокулиран со еза со волумен од 10 микролитри на површината на првиот селективен медиум за изолација, Karmali агар. На ист начин беше постапувано и со вториот избран селективен медиум за изолација Charcoal cephoperazon desoxycholate агар (CCDA). Во нашето истражување употребувавме и трет селективен цврст медиум за култивација CampyFood ID Agar (BioMerieux). Плочите беа инкубирани на температура од 42°C во микроаерофилна атмосфера во пластични херметички затворени садови и беше додаван генератор за микроаерофилна атмосфера (приближно 5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) CampyGen (Oxoid). По 24 и 48 часа инкубација, плочите беа прегледувани за присуство на карактеристични колонии термотолерантен *Campylobacter*. Чистите колонии за кои се претпоставуваше дека се *Campylobacter* позитивни беа боени по Грам и следени под фазен микроскоп за да се види карактеристичното спирално движење. Потоа беше вршено

биокемиско тестирање на производство на каталаза и оксидаза, хидролиза на хипурат, осетливост на налидиксична киселина и цефалотини и засејување на TSI агар. Како контролен сој беше користен *Campylobacter coli* од SRM.

РЕЗУЛТАТИ

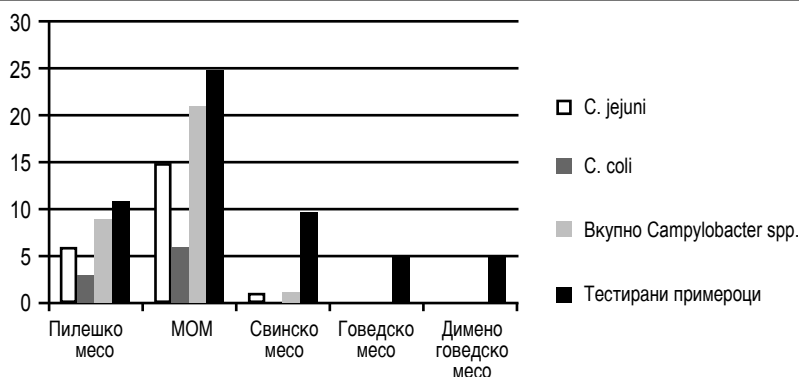
Во нашето истражување е утврдена вкупна преваленција на *Campylobacter spp.* од 55,3% во сите испитани примероци месо и производи од месо. Поединечно забележаната преваленца изнесуваше 83,3% (30 од 36) во примероците свежо живинско месо и MOM и 10% (1 од 10) во примероците свинско месо, 0% (0 од 5) во примероците свежо говедско месо и 0% (0 од 5) во производите од говедско месо.

Табела 1. Застапеност на *Campylobacter spp.* во поедини видови месо

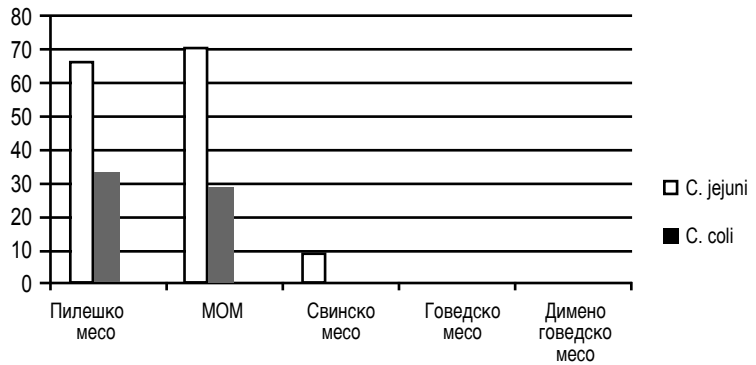
	Пилешко месо	MOM	Свинско месо	Говедско месо	Чадено говедско месо
<i>C. jejuni</i>	6 (66,6%)	15 (71,4%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>C. coli</i>	3 (33,3%)	6 (28,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Вкупно <i>Campylobacter spp.</i>	9 (81,8%)	21 (84%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
Тестирани примероци	11	25	10	5	5

Во свежото живинско месо *C. jejuni* беше почесто изолиран 66,6% (6 од 9) во споредба со *C. coli* 33,3 % (3 од 9). Идентичен е и случајот со преваленцата во MOM—от каде *C. jejuni* беше изолиран 71,4% (15 од 21) во споредба со *C. coli* 28,5 % (6 од 21). Во свинското месо од само еден примерок е изолиран *C. jejuni*. Во говедското месо и чаденото говедско месо не беше детектиран *Campylobacter spp.*

Графикон 1.
Застапеност на *Campylobacter spp.* во поедини видови месо



Графикон 2.
Процентуална
застапеност на поедини
Campylobacter spp.
кај различни видови
тестирани производи



ДИСКУСИЈА

Според добиените резултати може да се заклучи дека главен извор за внесување и ширење на контаминацијата со *Campylobacter spp.* во синџирот на храната претставува живинското месо и суровините од свежо живинско месо. Доказ за тоа е преваленцата на *Campylobacter spp.* во примероците свежо живинско месо и МОМ–от која изнесува 81.8% односно 84%. Во говедското месо и производите од говедско чадено месо, кои беа избрани по случаен метод за испитување, не е утврдено присуство на *Campylobacter spp.* што укажува на фактот дека ваквите видови храна не претставуваат значаен извор на инфекција односно контаминација. Според тоа, недоволно термички обработеното живинското месо претставува најголем ризик за вкрстена контаминација на храната и за инфекција на луѓето. Особено е висок и процентот на МОМ–от во кој беше детектиран *Campylobacter spp.* Бидејќи ризикот при консумација свежа храна од animalно потекло во корелација со појавата на хумана кампилобактериоза е евидентен, потребно е да се познаваат и начините како да се намали и елиминира ризикот. Ризикот од појавата на заболување може да биде избегнат со консумација на темелно топлински обработено црвено месо, пилешко месо и морска храна, вода од сигурни извори, консумација на пастеризирано млеко. Притоа е важно правилно практично ракување со храната како во домашни услови така и во објектите во кои се подготвува храната.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fang, W. S., J. Y. Ching, Y. C. Daniel and Y. C. Roch. 2006. Amplified fragment length polymorphism, serotyping, and quinolone resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from chicken related samples and humans in Taiwan. *J. Food Prot.* 69, 775–78
2. Katsma, E., de Koeijer, A., Fischer, E., Wagenaar J., and W. Jacobs–Reitsma. (ti falı godina) Modelling transmission dynamics of campylobacter in dutch broiler flocks
3. Lee, J. K., K.Y. Kim, M. S. Koo, D. E. Yong, and E. C. Kim. 2002. Detection of *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR and patterns of pulsed–field gel electrophoresis. *Korean Clin. Microbiology.* 39:2227–2232.
4. Seham, L., R. Buckow, D. Knorr, V. Heinz, and A. Lechmacher. 2007. Predictive model for inactivation of *Campylobacter* spp. by heat and high hydrostatic pressure. *J Food Prot.*, 70:2023–2029
5. Black, R. L., M.M. Levine, M, L, Clements, T. P. Hughes, and M. J. Blaser. 1998. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J. Infect. Dis.* 157:472–582.
6. 1. Abu–Halaweh, M., J. Bates, and B. K. Patel. 2005. Rapid detection and differentiation of pathogenic *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by real–time PCR. *Res. Microbiolog.* 156:107–114.
7. Joonbae, H., K. J. Woo, M. J. Kim, H. S. Kim, H, C, Koo and Y. H. Park. 2007. Quantification and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in raw chicken meats using a real–time PCR method. *J. Food Prot.* 70:2015–2022
8. Kim, N. W., Bingham, R. Kahawaja, H. Louie, E. Hani, K. Neote and V. L. Chan. 1992. Physical map of *Campylobacter jejuni* TGH9011 and localization of 10 genetic markers by use of pulsed–field gel electrophoresis. *J.Bacteriol.* 174:3493–3498.
9. James M. Jay., Martin J. Loessner, David A. Golden 2005, *Modern food microbiology* .
10. Klokotovic, B., and S. L. W. On. 1999. High–resolution genomic fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by analysis of amplified fragment length polymorphism. *FEMS Microbiol. Lett.* 173:77–84.
11. Rodrigues, L. C., J. M. Cowden, J. G. Wheeler, D. Sethi, P. G. Wall, P. Cumberland, D. S. Tompkins, M. J. Hudson, J. A. Roberts, and P. J. Roderick. 2001. The study of infectious intestinal disease in England: risk factors for cases of infectious intestinal disease with *Campylobacter jejuni* infection. *Epidemiol. Infect.* 127:185–193.
12. Neimann, J., J. Engberg, K. Molbak, and H. C. Wegener. 2003. A casecontrol study of risk factors for sporadic campylobacter infections in Denmark. *Epidemiol. Infect.* 130:353–366.
13. Stern, N. J. and M. C. Robach. 2003. Enumeration of *Campylobacter* spp. in broiler feces and in corresponding processed carcasses. *J. Food Prot.* 66:1557–1563.

PREVALENCE OF *CAMPYLOBACTER* SPP. IN POULTRY MEAT AND MEAT PRODUCTS IMPORTED IN REPUBLIC OF MACEDONIA

Sandra Kostova¹, Dean Jankuloski¹, Marija Ratkova¹, Ljupco Angelovski¹,
Irena Erakovic Tokalic², Pavle Sekulovski¹

¹Department for food safety, Faculty for veterinary medicine in Skopje

²Manager for food safety and quality, SJ company, McDonald's

Abstract

Campylobacter spp. is leading bacterial cause of diarrhea in human population in all parts of the world. In most of the cases infection with *Campylobacter* spp. in humans originate from contaminated poultry meat and poultry meat products. This study was designed to estimate prevalence of *Campylobacter* spp. in meat and meat products imported in Republic of Macedonia. During the period of 8 months (January-August 2008) we tested 56 samples of meat and meat products (poultry meat, MDM, pork meat, beef meat and smoked beef). Samples were submitted to analysis for detection of thermo-tolerant *Campylobacter* spp. according to ISO 10272:1995. We determined among the analyzed samples highest prevalence of *Campylobacter* spp. in MDM with 84% positive samples, poultry meat with 81,8%, pork meat with 10%. We didn't detect any positive samples in beef meat and smoked beef. Overall prevalence of *Campylobacter* spp. in all tested samples was 55,36%. This study shows that the high prevalence of *Campylobacter* spp. in tested samples and in correlation with severe symptoms in humans are reasons good enough for the producing and processing poultry meat industry and food business operators so they should take in consideration *Campylobacter* spp. in their risk assessment and preparation of HACCP plan.

Keywords: Thermo-tolerant *Campylobacter* spp., poultry meat, poultry meat products.



АНТИМИКРОБНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА ИЗОЛАТИ НА *SALMONELLA SPP.* ОД РАЗЛИЧНИ ВИДОВИ СУРОВО МЕСО И МОМ ОД УВОЗ ВО Р. МАКЕДОНИЈА

Деан Јанкулоски¹, Марија Раткова¹, Сандра Костова¹, Љупчо Ангеловски¹, Ирена Ераковиќ Токалиќ², Павле Секуловски¹

¹Катедра за безбедност на храна, Факултет за ветеринарна медицина во Скопје

²Раководител за квалитет и безбедност на храна,

CJ компани, Франшизер за McDonalds

e-mail:jankuloski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Испитувањето е спроведено со цел да се детерминира антимикробната резистентност на поедините соеви на *Salmonella spp.* изолирани од различни видови сурово месо (свинско, мисиркино, пилешко и мелено обескоскено месо). Беа испитани 822 примероци на различни видови месо, од кои се изолирани и серотипизирани 72 соеви на *Salmonella*, по што истите беа тестирани за антимикробна резистентност на 8 антимикробни супстанции. Утврдено е дека 50 од нив (69,4%) се резистентни барем на една антимикробна супстанца, 10 соеви (13,9%) се резистентни на две антимикробни супстанции, а останатите 16,7% се мултирезистентни соеви (резистентни на повеќе од 2 супстанции).

ВОВЕД

Антимикробната резистентност на патогените бактерии во храната кои можат да потекнуваат од животни или луѓе претставува значајно прашање за заштита на здравјето на населението. Утврдено е дека употребата на антимикробните супстанции во профилактички цели или како промотори на раст кај домашните животни, претставува потенцијал за зголемување на дисеминацијата на антимикробно-резистентни бактерии (9).

Еден од најзначајните патогени кои предизвикуваат болести чиј извор е храната претставува *Salmonella spp.* *Salmonella spp.* е причинител на алиментарни инфекции низ целиот свет, поради што е актуелен предмет на истражувања и постојано следење во контаминираната храна како нејзин вектор. За сериозноста на заболувањето укажува и фактот дека преваленцата на нетифоиден облик на салмонелоза е проценета со 1,3 милијарди случаи годишно и со 3 милиони смртни случаи годишно (2).

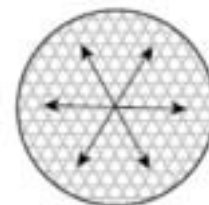
Појавата на мултирезистентни соеви (MDR) на *Salmonella* е во подем последниве неколку децении, пред се заради неправилната употреба на антимикуробните субстанции во хуманата и ветеринарната медицина, како и во производството на храна, и претставува значајно епидемиолошко прашање од светски размери. Овој проблем сериозно ја ограничува достапната ефективна антимикуробна терапија, со значајни последици по општата здравствена состојба на луѓето.

Антимикуробната резистентност на *Salmonella spp.* во Европската Унија и во САД се користи како индикатор за статусот на резистентноста на зоонотските бактерии, што воедно е препорачано и од ОИЕ. Заради тоа целта на ова истражување е да се следи состојбата на соевите кои се присутни во повеќе видови сурово месо од увоз наменети за човечка конзумација во Република Македонија, и да се детерминира профилот на антимикуробна резистентност на овие изолати.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Материјал. За целите на ова истражување беа користени примероци храна доставени од државните инспекциски органи надлежни за контролата на безбедноста на храната во Република Македонија. Во периодот јуни 2007г – јуни 2008г. беа тестирани вкупно 822 примероци од различни видови месо и тоа, 510 примероци на пилешко месо, 192 на свинско месо, 84 мелено обескоскено месо и 36 примероци на мисиркино месо.

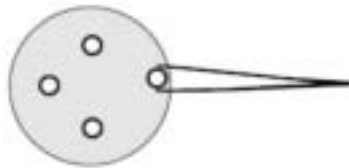
Методи. Примероците беа тестирани во согласност со стандардот ISO 6579. За контрола на квалитетот на постапката користевме *Salmonella agona* SRM-SAG 12J-0801 (Food consumer and Product Safety Authority (VWA)). Од примерокот на месо или MOM, стерилно земавме 25 г. кои ги стававме во стерилна кеса за стомакер, а потоа додававме 225 г. на пуферирана пептонска вода (BPW), по што кесата со примерокот се инкубираше на $37^{\circ}\pm 1^{\circ}$ за 18 ± 2 часа. По инкубацијата од тестираниот примерок со пипета префрлавме по 1 ml во Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin бујон, а по 0,1 ml во RVS бујон (Rappaport-Vassiliadis Soya broth) кои се инкубираат на $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, односно $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ за $24\text{ч}\pm 3\text{ч}$. Од култивираниите бујони засевавме на два селективни цврсти медиума XLD агар (xylose lysin deoxycholate agar) и Rambach агар, кои ги инкубиравме на $37^{\circ}\pm 1^{\circ}$ за 24 часа $\pm 3\text{ч}$. Потоа вршевме конфирмација на секоја колонија која беше сомнителна на *Salmonella spp.* со помош на биохемиски тестови и серолошки тестови со аглутинација. Од тестираните примероци добивме 72 изолати на *Salmonella spp.* и тоа 43 од пилешко месо, 13 од мом, 12 од свинско месо и 4 од мисиркино месо. Овие изолати беа тестирани за нивната резистентност со 8 антимикуробни агенси со методот на диск дифузија (Kirby-Bauer тест) на плочи со агар Mueller Hinton (Fluka, 70191). Работевме со следниве 8 видови антибиотици и тоа: Amoxiclav (30 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Flumequine (30 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Oxytetracycline (30 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Gentamicin (10 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Nalidixic acid (30 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Streptomycin (10 $\mu\text{g}/\text{tabl}$), Enroxil (5 $\mu\text{g}/\text{tabl}$) и Neomycin (10 $\mu\text{g}/\text{tabl}$). Тестот го изведувавме според стандардната процедура на CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), и во секоја серија на испитување беа вклучени и *E.coli* SRM-EC 3C-0711 и *Staph. aureus* SRM-SA 1Z-0711 (Food consumer



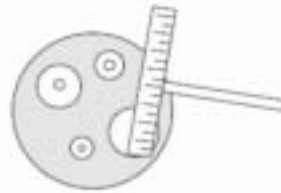
and Product Safety Authority (VWA) за контрола на квалитетот. Изолатите се класифицираат како осетливи (S), средно осетливи (IM) и резистентни (R) според стандардите за интерпретација на зоната на инхибиција дадени од CLSI. Методот по кој се работела изолатите е методот на диск дифузија (Kirby–Bauer тест), кој е препорачан и опишан од CLSI (4,8).

За тестот беа земани неколку колонии од чиста култура клетки на сојот на *Salmonella*, и ставани во епрувета со солени раствор (Maximum recovery diluent, Oxoid CM 0733), за да се добиеме густина на суспензијата од 0,5 Mc Farlands, која беше проверувана со помош на дензитометар.

По 15 мин. се зема стерилен брис, кој се натопува во суспензијата со клетки, по што содржината на брисот се размачкува на целата површина на Mueller Hinton агарот, со ротирање на плочата по 60°. За да се верифицира точноста на тестот, при секое тестирање се употребува барем по еден тест организам, ние употребувавме *E.coli* SRM–EC 3C–0711 и *Staph. Aureus* SRM–SA 1Z–0711 (Food consumer and Product Safety Authority (VWA), а потоа резултатите се споредуваат со дадените од CLSI.



Поставување
на дисковите на плочата



Мерење
на зоната на инхибиција

Откако површината на агарот на која е нанесена суспензија ќе се исуши (за 10–15 мин), со стерилна пинцета се нанесуваат дисковите со антимикробни супстанции, на соодветно растојание, така што на плоча од 85 мм се поставуваат најмногу 4 дискови. Плочата се превртува и се инкубира на 35°C, 16–18ч, по што се мери дијаметарот на зоната на инхибиција заедно со дијаметарот на дискот.

На крајот, добиениот резултат се споредува со стандардите определени од CLSI (4).

РЕЗУЛТАТИ

Во ова испитување вклучивме 822 примероци на месо од кои 510 примероци (62%) се од пилешко месо, 192 (23,4%) свинско месо, 84 (10,2%) мом и 36 (4,4%) мисиркино месо.

Добивме 72 изолати на *Salmonella spp.*, за кои со серолошко тестирање констатиравме дека им припаѓаат на 13 соеви и тоа: 22 (30,5%) изолати на *S. enteritidis*, 16 (22,2%) на *S. infantis*, 10 (13,9%) на *S. gallinarum*, 8 (11,1%) на *S. typhimurium*, 5 (6,9%) на *S. Newport*, 3 (4,2%) на *S. Heidelberg*, 2 (2,8%) на *S. Senftenberg*, *S. dublin*, *S. blockley*, *S. virchow*, *S. livingstone*, *S. panama* и *S. derby* со по 1 изолат (1,4%).

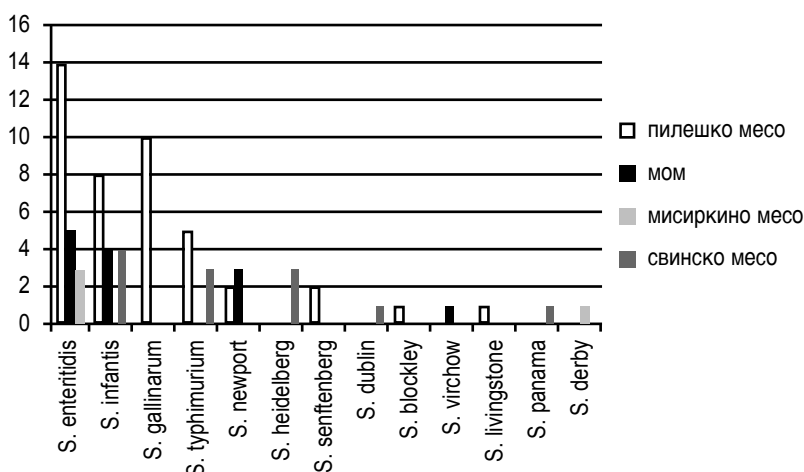
Табела бр.1. Застапеност на поединечни соеви на *Salmonella spp.* во различните видови месо

Видови <i>Salmonella spp.</i>	Видови месо				Вкупно	Вкупно во %
	Пилешко месо	Мом	Мисиркино месо	Свинско месо		
<i>S. enteritidis</i>	14	5	3		22	30,5%
<i>S. infantis</i>	8	4		4	16	22,2%
<i>S.gallinarum</i>	10				10	13,9%
<i>S.typhimurium</i>	5			3	8	11,1%
<i>S. newport</i>	2	3			5	6,9%
<i>S. heidelberg</i>				3	3	4,2%
<i>S. senftenberg</i>	2				2	2,8%
<i>S.dublin</i>				1	1	1,4%
<i>S.blockley</i>	1				1	1,4%
<i>S. virchow</i>		1			1	1,4%
<i>S. livingstone</i>	1				1	1,4%
<i>S. panama</i>				1	1	1,4%
<i>S. derby</i>			1		1	1,4%
Вкупно	43	13	4	12	72	100%
Вкупно во %	59,7%	18,0%	5,6%	16,7%		

Од Табела бр.1 се гледа дека најголема застапеност на *Salmonella spp.* има кај пилешкото месо (59,7%) и тоа најмногу *S.enteritidis* која е застапена со 32,5% од вкупниот број изолирани *Salmonella spp* во овој тип на месо.

Резистентноста на сите соеви *Salmonella spp.* вклучени во ова истражување е претставена во Графикон 1.

Графикон 1.
Резистентност на сите соеви *Salmonella spp.* опфатени со истражувањето



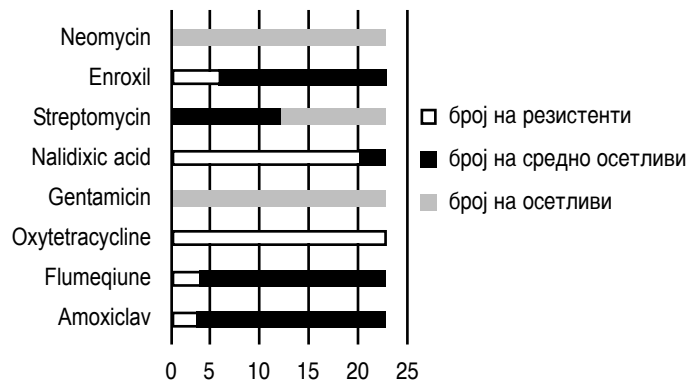
Во следниве табели дадени се податоците на дистрибуцијата на резистентност кон сумте испитувани антиминобни супстанции за секој сој поединечно.

Табела 2. Резистентност на *S. enteritidis*

Вид антиминоб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	3	13,6	19	86,4	0	0
Flumequine	3	13,6	19	86,4	0	0
Oxytetracycline	22	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	22	100
Nalidixic acid	19	86,4	3	13,6	0	0
Streptomycin	0	0	12	54,5	10	45,4
Enroxil	5	22,7	17	77,3	0	0
Neomycin	0	0	0	0	22	100

Резистентноста на *S. enteritidis* е претставена во Графикон 2.

Графикон 2.
Резистентност на
S. enteritidis



Од 22 изолати на *S. enteritidis*, 14 (63,64%) се утврдени во пилешко месо, 5 (22,72 %) во MOM и 3 (13,64%) во мисиркино месо. Утврдено е дека овие изолирани соеви се 100% резистентни на *Oxytetracycline*, 86,4% резистентни на налидиксична киселина, 22,7 % резистентни на *Enroxil*, 13,6 % резистентни на *Amoxiclav* и *Flumequine*. Овие 22 изолати се 100 % осетливи на две антиминобни супстанции и тоа на *Gentamicin* и *Neomycin*. Наведените соеви се средно осетливи кон следниве супстанции 86,4 % кон *Amoxiclav* и *Flumequine*, 77,3% кон *Enroxil*, 54,5% кон *Streptomycin* и 13,6% кон налидиксична киселина.

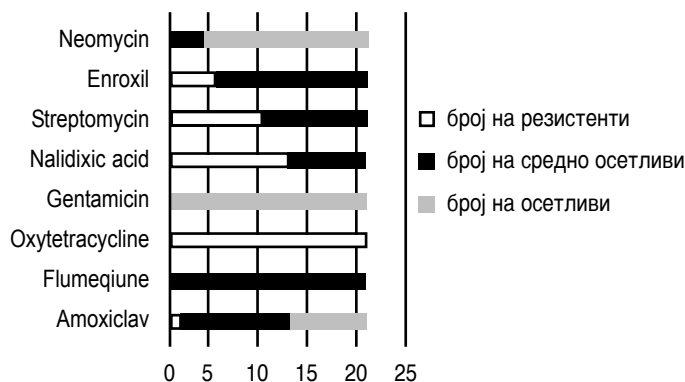
Тоа значи дека изолатите на *S. enteritidis* се резистентни само на една антиминобна супстанција и тоа на *Oxytetracycline*.

Табела 3. Резистентност на *S. infantis*

Вид антимикроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	1	6,25	9	56,25	6	37,5
Flumequine	0	0	16	100	0	0
Oxytetracycline	16	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	16	100
Nalidixic acid	10	62,5	6	37,5	0	0
Streptomycin	8	50	8	50	0	0
Enroxil	4	25	12	75	0	0
Neomycin	0	0	3	18,75	13	81,25

Резистентноста на *S. infantis* е претставена во Графикон 3.

Графикон 3.
Резистентност на *S. infantis*



Од 16 изолати на *S. infantis*, 8 (50%) се утврдени во пилешко месо, и по 4 (25%) во MOM и во свинско месо. Овие изолати покажаа 100% резистентност само на *Oxytetracycline*, додека најголема осетливост од 81,25% покажаа на *Neomycin*.

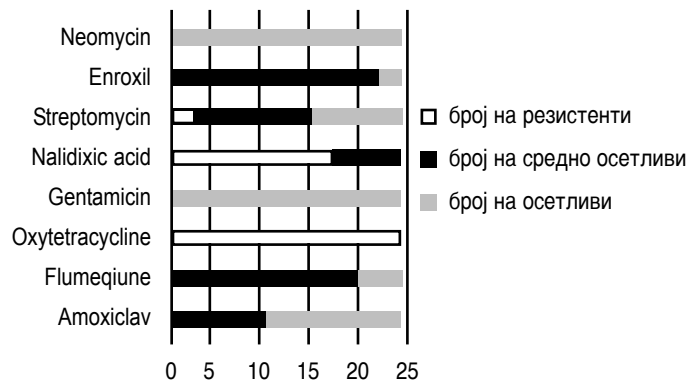
Резистентноста на *S. gallinarum* е претставена во Табела 4.

Табела 4. Резистентност на *S. gallinarum*

Вид антимикроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	0	0	4	40	6	60
Flumequine	0	0	8	80	2	20
Oxytetracycline	10	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	10	100
Nalidixic acid	7	70	3	30	0	0
Streptomycin	1	10	5	50	4	40
Enroxil	0	0	9	90	1	10
Neomycin	0	0	0	0	10	100

Резистентноста на *S. gallinarum* е претставена во Графикон 4.

Графикон 4.
Резистентност
на *S. gallinarum*



Сите 10 изолати на *S. gallinarum* се утврдени во пилешкото месо. Овие изолати покажаа 100% резистентност само на *Oxytetracycline*, додека 100% осетливост покажаа на *Neomycin* и на *Gentamicin*.

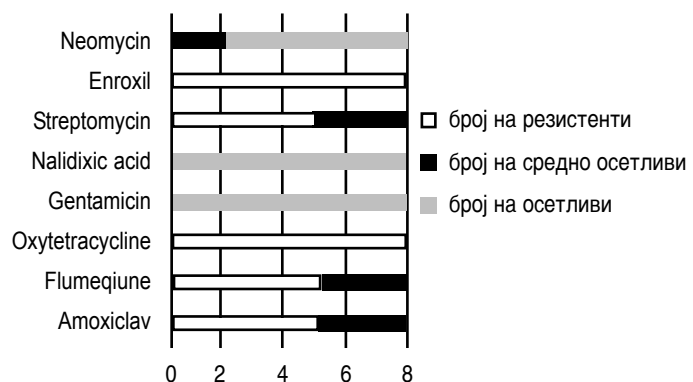
Резистентноста на *S. typhimurium* е претставена во Табела 5.

Табела 5. Резистентност на *S. typhimurium*

Вид антимикроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	5	62,5	3	37,5	0	0
Flumequione	5	62,5	3	37,5	0	0
Oxytetracycline	8	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	8	100
Nalidixic acid	0	0	0	0	8	100
Streptomycin	5	62,5	3	37,5	0	0
Enroxil	8	100	0	0	0	0
Neomycin	0	0	2	25	6	75

Резистентноста на *S. typhimurium* е претставена во Графикон 5.

Графикон 5.
Резистентност
на *S. typhimurium*



Од добиените 8 изолати на *S.typhimurium*, 5 (62,5%) се утврдени во пилешко месо и 3 (37,5%) во свинско месо. Показаа 100% резистентност на *Oxytetracycline* и на *Enroxil*, додека 100% осетливост покажаа на *Gentamicin* и на налидиксична киселина.

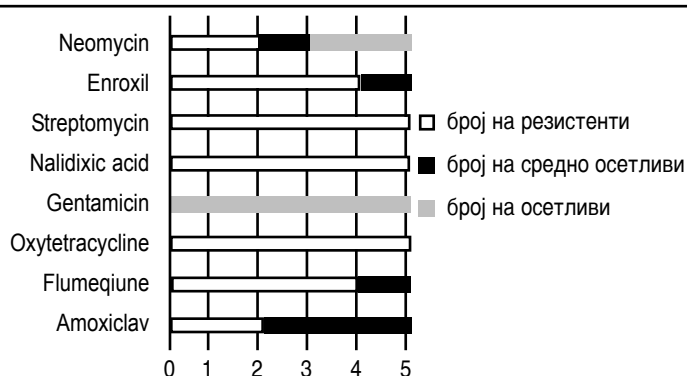
Резистентноста на *S. newport* е претставена во Табела 6.

Табела 6. Резистентност на *S. newport*

Вид антимикроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	2	40	3	60	0	0
Flumequine	4	80	1	20	0	0
Oxytetracycline	5	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	5	100
Nalidixic acid	5	100	0	0	0	0
Streptomycin	5	100	0	0	0	0
Enroxil	4	80	1	20	0	0
Neomycin	2	40	1	20	2	40

Резистентноста на *S. newport* е претставена во Графикон 6.

Графикон 6.
Резистентност на *S. newport*



Петте изолати на *S. newport* покажуваат мултирезистентност и тоа на 3 од 8-те антимикробни супстанции *Oxytetracycline*, *Streptomycin* и налидиксична киселина. Воедно се слабо осетливи и на останатите антибиотици, освен на *Gentamicin*.

Резистентноста на *S. heidelberg* е претставена во Табела 7.

Табела 7. Резистентност на *S. heidelberg*

Вид антимикроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	1	33,3	2	66,7	0	0
Flumequine	0	0	3	100	0	0
Oxytetracycline	3	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	3	100
Nalidixic acid	3	100	0	0	0	0
Streptomycin	3	100	0	0	0	0
Enroxil	1	33,3	2	66,7	0	0
Neomycin	0	0	0	0	3	100

Добиените 3 изолати на *S. heidelberg* исто така пројавуваат мултирезистентност на истите 3 антимикуробни супстанции *Oxytetracycline*, *Streptomycin* и налидиксична киселина. Резистентноста на *S. senftenberg* е претставена во Табела 8.

Табела 8. Резистентност на *S. senftenberg*

Вид антимикуроб. супстанција	Број на резистентни	Процент на резистентни	Број на средно осетливи	Процент на средно осетливи	Број на осетливи	Процент на осетливи
Amoxiclav	0	0	0	0	2	100
Flumequine	0	0	2	100	0	0
Oxytetracycline	2	100	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	0	0	2	100
Nalidixic acid	1	50	1	50	0	0
Streptomycin	1	50	1	50	0	0
Enroxil	0	0	2	100	0	0
Neomycin	0	0	1	50	1	50

Овие 2 изолати покажаа 100% резистентност на 1 супстанција и тоа на *Oxytetracycline*.

Во Табела 9 се прикажани останатите соеви кои се изолирани само по еднаш.

Табела 9. Останати изолати на *Salmonella spp.*

Вид антимикуробна супстанција	Соеви на <i>Salmonella spp.</i>					
	<i>S. blockley</i>	<i>S. derby</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. livingstone</i>	<i>S. panama</i>	<i>S. virchow</i>
Amoxiclav	ср. осетлива	средно осетлива	резистентна	средно осетлива	средно осетлива	ср. осетлива
Flumequine	резистентна	средно осетлива	средно осетлива	средно осетлива	средно осетлива	сред. осетлива
Oxytetracycline	резистентна	резистентна	резистентна	резистентна	резистентна	резистентна
Gentamicin	осетлива	осетлива	осетлива	осетлива	осетлива	осетлива
Nalidixic acid	резистентна	средно осетлива	резистентна	резистентна	резистентна	сред. осетлива
Streptomycin	резистентна	резистентна	резистентна	резистентна	средно осетлива	сред. осетлива
Enroxil	резистентна	средно осетлива	средно осетлива	средно осетлива	средно осетлива	сред. осетлива
Neomycin	резистентна	осетлива	резистентна	осетлива	осетлива	резистентна

Од податоците прикажани во табела 9 утврдено е дека *S. blockley* е резистентна дури на 6 од испитуваните антимикуробни супстанции, *S. derby* на 2, *S. dublin* на 5, *S. livingstone* на 3, *S. panama* и *S. virchow* на 2.

ДИСКУСИЈА

Резултатите добиени од ова истражување ја илустрираат проширеноста на антимикуробната резистентност на *Salmonella* соевите изолирани од примероци сурово месо. Сето ова укажува на неопходноста да се посвети повеќе внимание на праксата за добра хигиена на храната, со цел да се редуцира или елиминира ризикот од антиби-

отик–резистентни патогени бактерии кои потекнуваат од храната. Податоците за висок степен на контаминираност укажуваат на потенцијална критична точка во хигиената во различните стадиуми на производство на храна и синџирот на дистрибуција на иста-та(1,2). Дополнително, потребно е употребата на антимикуробни супстанции и во храната за животните, правилно да се регулира и да се минимизира можноста овие организми да развијат резистентност (2). Податоците од ова истражување го нагласуваат значењето на постојаните напори да се изврши едукација на консументите за правилна хигиена на храната и да се потенцира потребата за континуирана опсервација на зооноските патогени добиени од храната, вклучувајќи ги и антимикуробно–резистентните примероци, низ целиот синџир на производство на храна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Salina Parveen, Maryam Taabodi, Jurgen G. Schwarz, Thomas P. Oscar, Jeanine Harter Dennis , David G. White 2007 Prevalence and Antimicrobial resistance of Salmonella recovered from processed poultry JFP MS 07–112.
2. Thi Thu Hao Van, George Moutafis, Taghrif Istivan, Linh Thuoc Tran, Peter J. Coloe 2007 Detection of Salmonella spp. in Retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance, *Ap. and Env. Microb.* vol.73, no 21
3. S.Valdezate, M.Arroyo, R.Gonzalez–Sanz, R.Ramiro, S. Herrera–Leon, M.A.Usera, M.De la Fuente, A. Echeita, 2007 Antimicrobial resistance and phage and molecular typing of Salmonella strains isolated from food for human consumption in Spain, *J. of Food Protection* vol.70, No 12, december 2007
4. CLSI 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement. CLSI document M100–S15. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
5. Julie M. Johnson, Andrijana Rajic, Lynn M. McMullen 2005, Antimicrobial resistance of selected Salmonella isolates from food animals and food in Alberta, *Can Vet J.* vol 46, feb. 2005
6. Hidetake Esaki, Ayako Morioka, Kanako Ishihara, Akemi Kojima, Sanae Shiroki, Yutaka Tamura, Toshio Takahashi, 2003 Antimicrobial susceptibility of Salmonella isolated from cattle, swine and poultry (2001–2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program, *J. of Antimicrobial Chemotherapy* (2004) 53, No 2
7. E. van Duijkeren, W.J.B. Wannet, D.J. Houwers, W van Pelt, 2003, Antimicrobial susceptibilities of Salmonella strains isolated from humans, cattle, pigs and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001, *J.C.M.* vol 14 No 8, aug. 2003.
8. BSAC methods for antimicrobial susceptibility testing, version 7.1, febr. 2008
9. Sheng Chen, Shaohua Zhao, David G. White, Carl M. Schroeder, Ran Lu, Hanchun Yang, Patrick F. McDermott, Sherry Ayers and Jianghong Meng, 2004, Characterization of multiple antimicrobial resistant Salmonella serovars isolated from retail meats, *Applied and environmental microbiology* Vol.70, No. 1, jan. 2004
10. M.Daly, L.Villa, C. Pezella, S. Fanning and A. Carattoli, 2005, Comparison of multidrug resistance gene regions between two geographically unrelated Salmonella serotypes, *J.A.C.* doi 10.1093/jac/dki015

**ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *SALMONELLA SPP.* ISOLATES FROM
DIFFERENT TYPES OF RAW MEATS AND MECHANICALLY DEBONED MEAT
FORM IMPORT IN R. OF MACEDONIA**

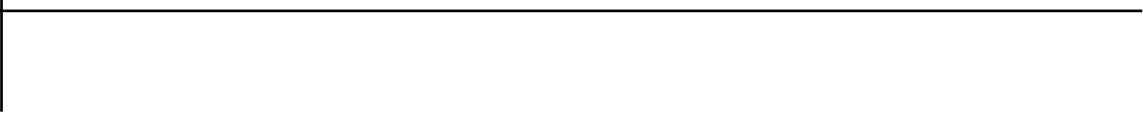
Dean Jankuloski¹, Marija Ratkova¹, Sandra Kostova¹, Ljupco Angelovski¹,
Irena Erakovic Tokalic², Pavle Sekulovski¹

¹*Department for food safety, Faculty for veterinary medicine in Skopje*

²*Manager for food safety and quality, SJ company, McDonald's
e-mail:jankuloski@fvm.ukim.edu.mk*

ABSTRACT

This research is conducted to determine antimicrobial resistance of individual strains of Salmonella spp. isolated from different types of raw meats (pork, turkey, poultry and mechanically deboned meat). We examined 822 samples of meats, from which we determined and serotyped 72 strains of Salmonella, and there after we tested them all to antimicrobial resistance towards 8 antimicrobials. We determined that 50 from the isolates (69,4%) showed resistance towards at least one antimicrobial, 10 strains (13,9) are resistant towards two antimicrobials, and the rest of the 12 isolates (16,7%) are multi-drug resistant (resistance toward more then 2 antimicrobials).



ПРИСУСТВО НА ОХРАТОКСИН А ВО МАКЕДОНСКИТЕ ВИНА ОД ТИКВЕШКИОТ РЕГИОН

Билјана Стојановска–Димзоска¹, Елизабета Димитриеска–Стојковиќ¹,
Зехра Хајрулаи–Муслиу¹, Павле Секуловски¹, Деан Јанкуловски¹

¹Институт за храна, Факултет за ветеринарна медицина- Скопје
e-mail: bsdizoska@yahoo.com

АБСТРАКТ

Аналитички метод кој се базира на квантитативно определување со течна хроматографија со флуоресцентен детектор, на кого му претходи процес на прочистување користејќи имуноафинитетни колони, е искористен за мониторинг на македонското вино кое потекнува од најпознатото, Тиквешко виногорје. Извршена е валидација на аналитичкиот метод и утврдена е линеарност во концентрациско подрачје од 0,1 до 60 ng/ml со задоволителен коефициент на корелација од 0,9976. Лимитот на детекција и квантификација изнесуваат 0,043 ng/ml и 0,141 ng/ml, соодветно. Точноста на методот беше определена преку методот на стандарден додаток користејќи две концентрации, 0,1 ng/ml и 1,0 ng/ml. Добиени се вредности за аналитичкиот принос од 100,66% и 106,83% за црвено вино (за двете предложени концентрации). Вредностите за аналитичкиот принос за бело вино, (98,50% и 93,31% за истите концентрации), се исто така задоволителни и ја потврдуваат точноста на методот. Вредноста за RSD, и за бели и за црвени вина, за двете предложени концентрации, беше задоволителна и се движи во граници од 7,13% до 10,41% за црвено, односно од 3,96% до 8,77% за бело вино. Мониторинг беше направен на 31 примерок на флаширано вино. Од нив, само 16 примероци (51,61%) беа со концентрација на ОТА над лимитот на детекција, но со вредност многу помала за да истите претставуваат ризик за консументите на вино.

Клучни зборови: охратоксин А, вино, Тиквешко виногорје, имуноафинитетни колони, LC-FD

ВОВЕД

Охратоксин А (ОТА) е микотоксин кој во главно го продуцираат некои видови од родот *Aspergillus* и *Penicillium* (1). Тој е нефротоксичен (бубрезите се главниот таргет орган), но исто така пројавува и имунотоксично, тератогено, генотоксично, мутагено и канцерогено дејство при високи дози (2); затоа претставува сериозен ризик по хуманото здравје. ОТА е поврзан и со етиологијата на ендемичната фатална болест карактеристична за јужна и југоисточна Европа, позната како балканска ендемска нефропатија поврзана со тумори на горниот уринарен тракт (3). Затоа Интернационалната Агенција за истражување на Ракот (International Agency for Research on Cancer, IARC) го вклучува ОТА во групата на можни канцерогени супстанции кај луѓето (група 2Б).

Главен извор на ОТА се житариците, но исто така тој може да се најде и во други намирници (вино, пиво, гроздов сок, кафе, какао и негови производи, како и во свинското месо) (4). Иако нивото на ОТА во секоја од горе споменатите намирници е најчесто ниско, сепак внесот на различни контаминирани видови на храна и пијалоци, можат да обезбедат вкупно количество на ОТА од близу 100 ng/kg телесна тежина, кое претставува провизорен толерантен неделен внес (provisional tolerable weekly intake, PTWI) одреден од Светската Здравствена Организација (5). Максимално дозволената концентрација (maximum residual level, MRL) за ОТА е регулирана со Европската Директива ЕС No.123/2005 (6) и истата се движи во граници од 0,5 до 10 mg/kg за различни намирници. Нашата земја ги има прифатено европските регулативи од декември 2005 година (7).

За контаминацијата на виното со охратоксин А е зборувано многу (8) имајќи го во предвид фактот дека истото е на второто место, веднаш по житариците и учествува со 13% како извор на ОТА (9). Виното е производ кој е многу значаен за европската економија и популација и истото бара, секоја ЕУ земја извозник на вино, да обезбеди континуиран и систематски мониторинг за да се осигура дека нејзиното вино е безбедно, без присуство на охратоксин А во него.

Постојат различни аналитички постапки за определување на ОТА во вино (10). Течната хроматографија со флуоресцентна детекција (LC-FD) е најкористена техника (11). Една од најсигурните, високо осетливи и точни методи е методот предложен од Visconti et al. (12), кој препорачува употреба на имуноафинитетни колони (IAC) за постапката за прочистување на примероците, по кое следи квантификација со LC-FD. Употребата на имуноафинитетни колони за прочистување во постапката за определување на ОТА претставува врв во аналитиката, со многу предности во однос на другите користени колони за прочистување: селективност, прецизност, точност и ефикасност за добивање на елуат кој ќе биде ослободен од интерферирачките, флуоресцентни материји кој би влијаеле на крајниот резултат (13).

Целта на овој труд беше да се направи мониторинг на македонското вино од најпознатиот вински регион во Македонија, Тиквешкото виногорје, применувајќи имуноафинитетни колони во постапката на прочистување и LC-FD квантификација. Колку што ни беше познато, систематски мониторинг на македонското вино во однос на присуството на ОТА во него не е направен, со исклучок на “screening”-от за присуство на ОТА со примена на флуорометриски метод (14). Имајќи ги во предвид напорите на производителите за извоз на македонското вино на европскиот пазар, сметаме дека овој труд на некој начин може да ја помогне и олесни оваа економска активност.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

2.1. Хемикалии материјали

Растворувачите со HPLC чистота (метанол, ацетонитрил, вода), р.а. хемикалиите (бензен, NaCl, NaHCO₃) и 100% глицеролна оцетна киселина (suprapur) беа набавени од Merck (Darmstadt, Germany). PEG 8000 беше набавен од Biochemica, Fluka.

Имуноафинитетните OchraTest® колони (Vicam, USA) беа користени за постапката на прочистување на примероците. Стандардот ОТА беше набавен од Supelco (50 µg/ml, растворен во бензен: оцетна киселина (99:1)). Работниот стандарден раствор (2 µg/ml), е подготвен од стандардот ОТА со растворање на аликвотот со миксот на растворувачи и е чуван на температура од +2–8°C. 1,5 ml од работниот стандарден раствор се префрла во силанизиран вијал и се упарува под струја од азот. Сувиот остаток се раствора во 1,5 ml LC мобилна фаза (филтрирана низ 0,20 µm филтер) и квантитативно се префрла во волуметриски сад од 25,0 ml. Се дополнува до марката со филтрирана мобилна фаза. Крајната концентрација на ОТА изнесува 100 ng/ml. Од овој раствор, според официјалниот AOAC метод (15), се подготвуваат 6 работни стандарди со концентрација од 0,6 до 60 ng/ml. Но имајќи ги во предвид нашите претходни, прелиминарни “screening” истражувања (14) според кои не се очекува толку висока концентрација на ОТА во македонското вино, решивме да го прошириме калибрационо подрачје до концентрација од 0,1 ng/ml така да користевме вкупно девет калибрациони раствори.

2.2. Инструменти

Беше користен Perkin Elmer (PE) HPLC систем опремен со бинарна пумпа (PE LC-250), мануелен инјектор (тип PE Rheodyne 7125) и флуоресцентен детектор (PE LC-240). Хроматографското разделување беше направено на собна температура на Supelcosil колона (150 mm x 4.6 mm, 5 µm), врзана за заштитна (Supelcguard™ LC-18, 2 cm cartridge) колона. Мобилната фаза беше смеса на ацетонитрил:вода:оцетна киселина (99:99:2, V/V/V), претходно дегазирана во ултразвучно купатило. Протокот беше поставен на 1,0 ml/min, а волуменот на инјектирање беше 100 µl. Брановите должини на апсорпција и емисија беа 333 и 460 nm, соодветно.

2.3. Примероци на вино

Вкупно 31 (14 бели и 17 црвени) флаширано вино, произведено во Тиквешкиот регион, беше набавено или од локалните продавници или директно од винариите (5 различни винарии). Примероците на вино беа чувани во нивната оригинална амбалажа во фрижидер на температура од 2–8°C, се до анализата. Сите примероци беа работени во дупликати. За анализата на аналитички принос беа користени примероци на бело и црвено вино кои во претходните анализи (со HPLC-FD метод) не покажаа присуство на ОТА. Се користеа две концентрации, 0,1 и 1,0 ng/ml.

2.4. Подготовка на примероците

Пред почетокот на анализата, сите примероци на вино беа дегазирани во ултразвучно купатило 20 min. Аликвот од 10 ml вино се раствора со раствор за растворање кој содржи 5% NaHCO₃ и 1% PEG 8000 и силно се меша. Вредноста на pH се дотерува до 8,5 со 1M NaOH. Растворот се филтрира низ микрофибер филтерна хартија. 10 ml од филтратот (еквивалентно на 5 ml вино) се пропушта низ имуноафинитетната колона со брзина на проток од околу 1 капка/sec. Препорака на производителот е да не се дозволи комплетно исушување на имуноафинитетната колона. Постапката на миење на колоната е со 5 ml раствор кој содржи 2,5% NaCl и 0,5% NaHCO₃, а потоа колоната се плакне и со 5 ml вода. Миењето се изведува со брзина на проток од околу 1–2 капки/sec. Потоа колоната се суши со пропуштање на воздух низ неа. ОТА се елуира со 2 ml метанол. Метанолниот раствор се суши под струја на азот на температур од 50°C. Сувиот остаток се раствора во 250 µl филтрирана мобилна фаза и се чува во фрижидер сè до HPLC-FD анализата.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

3.1. Валидација на HPLC-FD методот

Калибрационата крива за квантификација на ОТА, конструирана од девет калибрациони раствори во концентрациско подрачје од 0,1 до 60 ng/ml беше линеарна со коефициент на корелација од 0,9976 ($y = 98184x + 19209$).

Лимитот на детекција (LOD) изнесува 0,043 ng/ml, пресметан како $3,3 \times SD$ /нагиб на крива (пресметано спрема ICH–регулативите за валидација на аналитички методи:Q2) (16) Нагибот на кривата се пресметува од калибрационата крива во пониското концентрациско подрачје, а SD е стандардна девијација на измерени десет слепи проби. Лимитот на квантификација (LOQ) изнесува 0,131 ng/ml, пресметан како $10 \times SD$ /нагиб на крива, на ист начин како и лимитот на детекција.

Точноста и прецизноста на методот беа определени преку определување на аналитичкиот принос и повторливоста (изразена како RSD вредност), соодветно. За таа цел беа користени примероци на бело и црвено вино кои во претходните анализи не покажале присуство на ОТА (со HPLC-FD метод). Анализите беа вршени со двете предвидени концентрации од 0,1 и 1,0 ng/ml. Валидационите параметри се дадени во Табела 1.

Табела 1. Валидациони параметри

Параметар	Црвено вино		Бело вино	
	0.1 ng/ml	1.0 ng/ml	0.1 ng/ml	1.0 ng/ml
RSD (%)	10,41	7,13	8,77	3,96
Аналитички принос (%)	100,66	106,83	98,50	93,31
Линеарност	0,9976			
LOD (ng/ml)	0,043			
LOQ (ng/ml)	0,131			

Вредностите за аналитичкиот принос кај црвеното вино изнесуваат 100,66% и 106,83% за двете предложени концентрации и истите се малку повисоки во однос на вредностите за аналитичкиот принос кај белото вино (98,50% и 93,31%). Прецизноста, изразена преку RSD вредноста е задоволителна и се движи во граници од 7,13% до 10,41% за црвено, односно од 3,96% до 8,77% за бело вино. Добиените вредности се доказ за точноста и прецизноста на аналитичкиот метод.

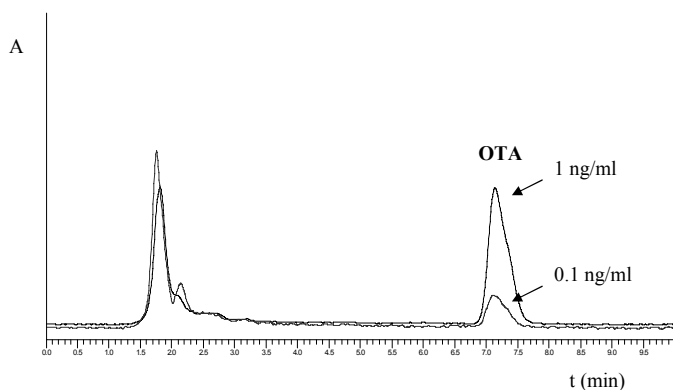
Прецизноста пак на системот, беше определена и преку анализа на шест серии од деветте калибрациони раствори. Резултатите се поместени во Табела 2. Може да се забележи дека вредноста за RSD се движи во граници од 1,93 до 11,43%, што укажува на добра и задоволителна повторливост на системот.

Табела 2. Податоци за прецизноста на HPLC системот

ОТА концентрација (ng/ml) на калибрационите раствори									
	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0	6,0	20,0	40,0	60,0
Определена ОТА концентрација (ng/ml)									
1	0,09	0,19	0,45	1,05	1,93	5,58	21,24	41,23	57,11
2	0,08	0,19	0,46	1,21	1,99	5,53	20,10	42,10	58,52
3	0,08	0,20	0,48	1,20	1,98	6,30	21,30	42,25	56,71
4	0,10	0,21	0,55	1,15	2,05	6,25	20,07	42,64	60,26
5	0,11	0,19	0,54	1,22	2,19	5,64	21,35	41,14	59,42
6	0,10	0,18	0,45	0,99	1,94	5,57	20,33	40,53	58,32
\bar{x}	0,09	0,19	0,49	1,14	2,01	5,81	20,73	41,65	58,39
SD	0,01	0,01	0,05	0,10	0,10	0,36	0,63	0,80	1,34
RSD (%)	11,43	5,34	9,29	8,44	4,79	6,21	3,02	1,93	2,30

Добиените хроматограми се чисти, со рамна базна линија, мал матрикс ефект, без влијание на ОТА пикот, практично без нечистотии, неидентификувани пикови и други интерферирачки, флуоресцентни супстанции (Слика 1). Сето ова е резултат на високата селективност и специфичност на имуноафинитетните колони.

Слика 1. HPLC-FD хроматограми на примероци бело вино на кои им е додаден стандарден додаток од 0,1 и 1,0 ng/ml ОТА стандард



3.2. Мониторинг на македонското вино од Тиквешкото виногорје

Општо земено, ниедно од испитаните македонски вина од Тиквешкото виногорје не ја надминува MRL вредноста за ОТА (2 µg/ml). Напротив, од вкупно испитан 31 примерок на вино, 15 примероци (48,39%) се со ОТА концентрација под лимитот на детекција (Табела 3). 16 примероци (51,61%) се со ОТА концентрација над LOD. Беа испитани 10 различни видови на грозје; 5 видови на бело (Temjanika, Chardonnay, Sauvignon blanc, Rein Riesling и Traminac) како и 5 видови на црвено грозје (Vranec, Cabernet sauvignon, Merlot, Pinot Noir и Rosy). Највисоката најдена вредност за ОТА беше 0,233 ng/ml (Rein Riesling) и 0,302 ng/ml (Вранец) за бело и црвено вино, соодветно. Двете вина се од иста година на берба, 2005.

Табела 3. Концентрација на охратоксин А во вината

Објект (винарија)	Број на примероци на вино		Најдена ОТА концентрација			
	бело	црвено	под LOD		над LOD	
			бело	црвено	бело	црвено
Винарија 1	4	4	4	2	–	2
Винарија 2	3	4	1	–	2	4
Винарија 3	3	5	3	2	–	3
Винарија 4	1	1	1	–	–	1
Винарија 5	3	3	1	1	2	2
Вкупно	14	17	10	5	4	12
	31		15 (48,39%)		16 (51,61%)	

Највисоката најдена ОТА концентрација во нашите истражувања, е многу пониска во споредба со многу автори (17, 18, 19), како и во споредба со средната европска вредност за ОТА кој изнесува 0,357 ng/ml (9).

Ниските вредности за ОТА во македонското вино не претставуваат потенцијален ризик за просечните консументи на вино. Имено, ако македонски консумент, со просечна телесна тежина од 70 kg, пие во просек по 200 ml вино дневно (една чаша) и тоа од виното со највисоко детектирана концентрација на ОТА (0,302 ng/ml), ќе има дневен внес на ОТА во својот организам од 0,86 ng/kg телесна тежина, што е многу помалку од просечната, очекувана, дневна изложеност на ОТА која изнесува 2–3 ng/kg телесна тежина дневно за просечни консументи и 6–8 ng/kg телесна тежина дневно за посебен вид консументи (на пример оние на вино) (18). Овие податоци говорат дека македонското вино од Тиквешкото виногорје, барем што се однесува до присуството на ОТА во него, по ништо не заостанува зад вината присутни на европскиот и светски пазар.

ЗАКЛУЧОЦИ

4.1. Методот кој користи PEG-NaHCO₃ во постапката на екстракција и имуноафинитетни колони во постапката на прочистување на примероците, е брз и сигурен метод, кој обезбедува високи вредности за аналитички принос во предвиденото концентрациско подрачје, со прифатливи вредности за прецизноста како и висок степен на селективност и ефикасност.

4.2. Единствена пречка во користење на имуноафинитетните колони би била нивната висока цена и неможноста за нивно повторно користење, што резултира со висока цена и на самите анализи.

4.3. Определувањето на ОТА е многу важно за процесите на истражувања на ризиците по здравјето на луѓето и затоа секоја земја треба да спроведува мониторинг на своите вина, а посебно ако сака да биде конкурентен извозник на пазарот.

4.4. Според добиените резултати, македонското вино е многу побезбедно за пиење од она на другите земји и затоа треба да се вложуваат повеќе напори и средства за развој и унапредување преку создавање на бренд, со цел препознавање на македонското вино на европската и светска трпеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Creppy E.E. 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicology Letters 127, p.19-28.
2. FAO FOOD AND NUTRITION PAPER. 1990. Manuals of food quality control. Training in mycotoxins analysis. No.14/10. Rome.
3. Peraica M, Domijan A-M. 2001. Mycotoxins in food and human health. Arh Hig Toksikol 52, p. 23-55.
4. Domijan, A., and Peraica, M. 2005. Ochratoxin A in wine. Arh. Hig. rada Toksikol. 56, p.17-20.
5. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 35. WHO, Geneva Switzerland.
6. Official Journal of European Union L25/3. 2005. Commission Regulation (EC) No 123/2005 of 26 January 2005 amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards ochratoxin A.
7. Службен весник на Република Македонија (118/2005); Правилник за безбедност на храната
8. Pacin A., Rasnik, S., Vega, M., Saelzer, R., Ciancio Bovier. E., Rios, G., and Marinez, N. 2005. Occurrence of ochratoxin A in wines in the Argentinian and Chilean markets. ARKIVOC (XII) 214-223.
9. Reports on tasks for scientific cooperation – Report No 17523 of experts participating in Task 3.2.7- Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU Member States, Directorate-General Health and Consumer Protection, January 2002.

-
10. N.Ratola, P.Barros, T. Simxes, A.Cerdeira, A.Venuncio, A.Aves. 2006. Worldwide interlaboratory study on the determination of ochratoxin A in different wine type samples. *Talanta* 70, p. 720-731.
 11. Sbez, J.M., Medina, A., Gimeno-Adelantado, J.V. Mateo, R., and Jimenez, M. 2004. Comparison of different sample treatments for the analysis of ochratoxin A in must, wine and beer by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1029, p. 125-133.
 12. Visconti A., Pascale M., Centonze G. 1999. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 864, p. 89-101
 13. Prado, G., Oliveira, M.S., Carvalho, E.P., Oliveira Lima, L.C., Veloso, T., Souza, L.A.F. and Cardoso, A.C.F. 2003. Ochratoxin A determination in beer by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 23 (Supl): 58-61.
 14. Hajrulai-Musliu Z., Stojanovska-Dimzoska B., Sekulovski P., Dimitrieska-Stojkovic E., Jankuloski D. and Serafimovski I. 2007. Determination of ochratoxin A in wines intended for EU market with fluorometric method. Paper presented at: XII International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Istanbul, Abstract No.1455.
 15. AOAC Official Methods of Analysis 2005. Chapter 49, p.66. AOAC Official Method 2001.01. Ochratoxin A in wine and beer. Immunoaffinity column clean-up/liquid chromatographic analysis (First action 2001, Final action 2005).
 16. ICH Harmonized Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), current step 4 version (complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005)
 17. Markaki, P., Delpont-Binet, C., Grosso, F., and Dragacci, S. 2001. Determination of ochratoxin A in red wine and vinegar by immunoaffinity high-pressure liquid chromatography. *J Food Prot. Apr*; 64 (4): 533-537
 18. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. *The EFSA Journal* (2006), 365, 1-56 (www.efsa.eu.int).
 19. Jeretin, B. 2007. Ochratoxin A in Slovenian wines. Paper presented at: XII International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Istanbul, Abstract No.1138.

OCCURRENCE OF OCHRATOXIN A IN MACEDONIAN WINES FROM TIKVEĽ REGION

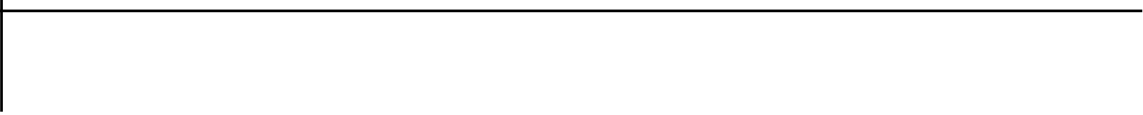
Biljana Stojanovska-Dimzoska¹, Elizabeta Dimitrieska-Stojkovic¹, Zehra Hajrulai-Musliu¹,
Pavle Sekulovski¹, Dean Jankuloski¹

¹Food Institute, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje
e-mail: bsdizozka@yahoo.com

ABSTRACT

An analytical method based on immunoaffinity column (IAC) clean-up and quantitative determination with liquid chromatography - fluorescence detection (LC-FD) was used to determine the occurrence of ochratoxin A (OTA) in Macedonian wines originated from the most famous, TikveĽ, wine producing region. The linearity of the method was checked, and a good coefficient of correlation (0.9976) was found, over wide concentration range of 0,1 to 60 ng/ml. The limit of detection and quantification were 0,043 ng/ml and 0,131 ng/ml, respectively. The accuracy of the method was determined with spiked OTA free samples at the concentration levels of 0.1 ng/ml and 1.0 ng/ml. The recoveries for red wine were found to be 100,66% and 106,83 %, for the proposed spiking levels. The recoveries for white wine were satisfactory (98,50% and 93,31%) too, in the same spiking levels. RSD values for both, red and white wine samples, for the proposed concentration level was satisfactory, in the rang of 7,13% to 10,41% for red wine and 3,96% to 8,77% for white wine samples. A survey was done on 31 bottled wine samples. Among them, 16 samples (51,61%) were with OTA concentration over the LOD. However, the determined concentrations were too low to present a risk for wine consumers.

Keywords: ochratoxin A, wine, TikveĽ wine producing region, immunoaffinity columns, LC-FD



ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ВКУПНИ АФЛАТОКСИНИ ВО СУВО И КОСТЕНЛИВО ОВОШЈЕ ПРИСУТНИ НА МАКЕДОНСКИОТ ПАЗАР

Зехра Хајрулаи–Муслиу¹, Павле Секуловски¹, Билјана Стојановска Димзоска¹,
Елизабета Димитриеска Стојковиќ¹,
Деан Јанкуловски¹, Сиљановски Александар¹

¹ Институт за храна, Факултет за Ветеринарна Медицина Скопје
e-mail: zhajrulai@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ:

Луѓето и животните се изложени на афлатоксини со консумирање на храна која е контаминирана со габи. Таквите изложувања тешко е да се заобиколат бидејќи ниту еден прехранбен продукт не е апсолутно безбеден од микотоксиколошка контаминација. Иако контаминираната храна не се пушта во промет, сеуште останува можноста за неповолни ефекти кои резултираат на процесот на долгорочни изложувања на ниски нивоа на афлатоксините во храната. Поради тоа и цел на оваа студија беше определување на вкупните афлатоксини во суво и костенливо овошје. Беа испитувани кикирики, ореви, лешници, семки од тиква и суво грозје, и тоа само оние кои се продаваат на пазар, на отворени места. Од вкупно испитани 30 проби, 19 испитани примероци (63,33%) беа со вкупна концентрација на афлатоксини над лимитот на детекција, а 11 испитани примероци (36,6%) беа со вкупна концентрацијата под лимитот на детекција. Повисока вредност од максимално дозволената концентрација на афлатоксини беше утврдена само кај еден примерок од орев и тоа до 21 µg/kg.

Клучни зборови: микотоксини, афлатоксини, контаминација, суво и костенливо овошје

ВОВЕД

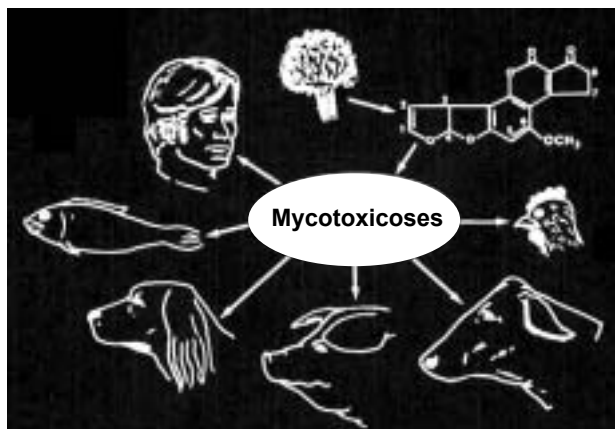
Микотоксините се секундарни метаболити на габите кои можат да контаминираат различни земјоделски култури. Повеќето мувли продуцираат продукти кои немаат штетно туку напротив, имаат корисно дејство и таков пример е пеницилинот (1). Други пак видови на габи имаат способност да продуцираат микотоксини со изразено токсично, па дури и летално дејство, како што се ерготаминот, ергот алкалоидите, охратоксините и трихотецените (2). Ерготот предизвикува гангрена, додека охратоксинот има токсичен

ефект врз црниот дроб. Токсичноста врз црниот дроб има кумулативен карактер и често може да резултира со хепатитична фиброза и цироза (3).

Афлатоксините се ена од најзначајните групи на микотоксини кои ги продуцираат *Aspergillus*-видовите чија продукција зависи од температурата и влажноста на супстратот. (4). Видот *Aspergillus flavus* е одговорен за продукцијата на овие токсини. Сите испитувања укажувааат на тоа дека Афлатоксин В1 е еден од главните токсини, кој се појавува често заедно со В2 и G1/G2. Делумно контаминирани намирници најчесто се кикириките, лешинците, сувите овошја и зачини.

Слика1.

Шематски приказ на појава на микотоксикози кај човекот и животните



Хроничната изложеност на афлатоксини предизвикува оштетување на црниот дроб со последична појава на хепатитис, како и други заболувања вклучувајќи и намален имунитет, зголемена склоност кон инфекции и канцер на црниот дроб (5). Афлатоксините можат да предизвикаат згрушување на крвта што може да биде причина за некроза (6). Посебно осетливи на дејството на афлатоксините се птиците. Афлатоксините се термички стабилни соединенија (7).

Најчесто подложни на контаминација со афлатоксини се костенливото овошје, зачините, житариците и посебно пченката (8). Исто така можат да бидат контаминирани и млекото и млечните производи. Нивната контаминација всушност се јавува како последица на исхрана на добитокот со контаминирана добиточна храна (9).

Постојат бројни регулативи со кои се одредува дозволеното ниво на афлатоксини во храна (10). Една е Европската регулатива ЕС 466/2001 која се однесува на максимално дозволените концентрации за различни контаминенти во храна и истата е дополнета со Европската регулатива ЕС 2174/2003 која се однесува на афлатоксините. Нашата земја од декември 2005 година ги прифати европските закони и регулативи (Службен весник на РМ бр. 118/2005), кои се однесуваат на оваа проблематика.

ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Имајќи ја во предвид стабилноста на афлатоксините и ризикот од контаминација на храната со овие токсини, која пред сè се продава на отворени места, целта на истражувањето на овој труд беше анализа на степенот на контаминираност на сувото и костенливо овошје кое се продава исклучиво на отворени места.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Материјалот за анализа на афлатоксини беше набавен на неколку продажни места во Скопје каде се продава суво и костенливо овошје.

Примероците од суво и костенливо овошје беа собрани и испитувани во периодот од декември 2007 до март 2008 година.

Истите се чуваа на +4°C до моментот на анализа. Од материјали и опрема беше користено следново: флуорометар (Vicom VI series 4, USA), AflaTest имуноафинитетни колони (Vicom, USA), набрана филтер хартија (Vicom, USA), микрофибер филтер (Whatman), стаклени кивети (Vicom, USA), блендер (Vicom), манифолд за колони (Vicom, USA) и пластични пипетори од 2 ml. Од реагенси беа користени метанол и вода (HPLC чистота, Merck), натриум хлорид (NaCl, Merck) и развивач (AflaTest developer). Afla Test, Vicam е валидиран метод од AOAC Research institute и важи само за постапките и реагенсите пропишани од производителот

Методолошката постапка беше во согласност со препораките на производителот. Примероците беа блендирани и хомогенизирани со 80% метанол со додавање на NaCl. Аликвот од филтрираниот раствор беше разредуван со вода и аплициран на имуноафинитетна колона AflaTest-P, преку микрофибер филтер. Колоната беше измиена со вода, а постапката повторена два пати. За елуирање беше користен 1 ml метанол. На елуатот беше додаван 1,0 ml AflaTest развивач. Отчитувањето беше изведено на калибриран флуорометар во времетраење од 60 секунди. Лимитот на квантификација на флуориметарот изнесува 1,0 µg/kg, а лимитот на детекција 0,1 µg/kg. Концентрацијата на афлатоксините беше изразена во µg/kg (11).

Максималната вредност на дозволена вкупна концентрација на афлатоксини според Правилникот за општите барања за безбедност на храната (Службен весник на РМ, бр 118/2005) изнесува 5 µg/kg.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите од испитувањата се прикажани во Табела 1.

Табела 1. Средна вредност на вкупна концентрација на афлатоксини во примероци на суво и костенливо овошје

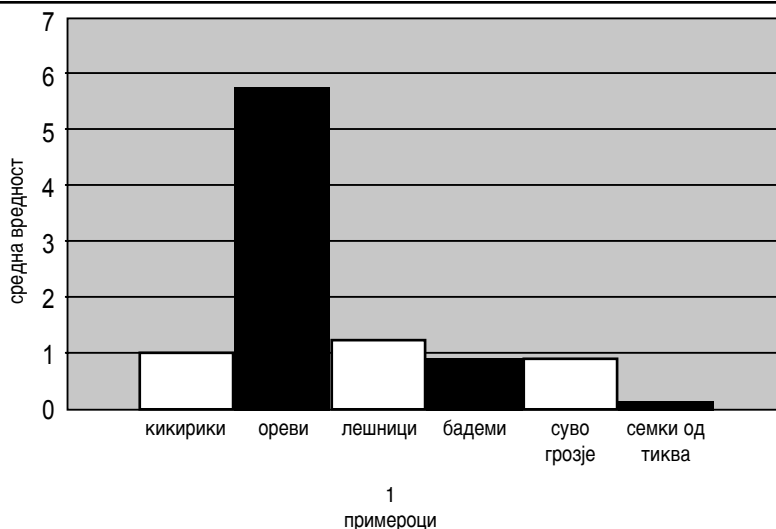
Вид на мостра	Број на примероци	Бр. на позитивни примероци (%)	Концентрација во примероците	
			Средна вредност µg/kg	Опсег µg/kg
Кикирики	5	3 (60%)	0,954	0,14–4,3
Ореви	5	5 (100%)	5,758	0,19–21
Лешници	5	4 (80%)	1,274	0,47–2,2
Бадеми	5	3 (60%)	0,936	0,89–1,5
Семки од тиква	5	2 (40%)	0,228	0,24–0,90
Суво овошје	5	3 (60%)	0,928	0,47–3,2

Како што може да се види од табелата, кај 19 испитани примероци (63,33%), вкупната концентрација на афлатоксини беше над лимитот на детекција, а кај 11 испитани примероци (36,6%), концентрацијата беше под овој лимит. Контролата на методот беше утврдена со дневно калибрирање на инструментот, со две нивоа на концентрации од 1,0 µg/kg и 22 µg/kg.

Врз основа на анализите изведени во рамките на ова испитување повисока вредност од максимално дозволената концентрација на афлатоксини беше утврдена само кај еден примерок од орев (21 µg/kg.)

Слика 2.

Графички приказ на средна вредност на вкупна концентрација на афлатоксини во примероци на суво и костенливо овошје



Растот на габите и мувлите како и контаминацијата со афлатоксини се последица на интеракции помеѓу габите, супстратот и условите потребни за раст и размножување (12). Соодветна комбинација на овие фактори ја одредува нивната појава и колонизација на супстратот, како и типот и количината на продуциран афлатоксин. Иако точните фактори кои го индуцираат формирањето на микотоксини не се прецизно детерминирани, сепак се знае дека за фунгалниот раст и продукцијата на токсин потребен е соодветен супстрат (13). Главни детерминирачки фактори за фунгална активност се водата, високата температура и оштетувањето на растителниот организам домаќин со инсекти. Така на пример во предбербениот период врз контаминацијата на кикириците и житариците поволно влијае високата температура, додека пак врз постбербена контаминација поволно влијаат високата температура и влажноста (14).

Исто така изразениот фунгален раст и продукцијата на токсини се поврзуваат и со одредени фази од растот на посевите, сиромашна снабденост на почвата со ѓубрива, изразена густина на посевите како и конкуренцијата со плевели. Врз создавањето на афлатоксини влијае и присуството на други габи и микроорганизми (15).

ЗАКЛУЧОЦИ:

Вкупната концентрација на афлатоксини кај 19 испитани примероци (63,33%) беше над лимитот на детекција.

Единаесет испитани примероци (36,6%) покажаа вкупна концентрација на афлатоксини под лимитот на детекција.

Вкупната средна вредност на афлатоксини кај повеќето анализирани примероци беше значително пониска од максимално дозволената (5 µg/kg), исклучок беше само еден примерок од орев (21 µg/kg).

Врз основа на анализите направени во рамките на ова истражување не беше утврдена значајна опасност поврзана со контаминација на суво и костенливо овошје што се продава на отворени места.

Ризикот од контаминација со афлатоксини може да се минимизира само доколку се спроведат редовни контроли за безбедност на храната.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eaton, D.L. and Groopman, J.D. 1994. *The Toxicology of Aflatoxins*. Academic Press, New York. pp383–426.
2. Jelinek, C.F., Pohland, A.E. & Wood, G.E. 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds (an update). *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72: 223–230.
3. Liener, I.E. 1969. *Toxin constituents of plant foodstuffs*. Academic Press, New York. pp392–394.
4. Anon. 1989. *Mycotoxins, Economic and Health Risks*. Council for Agricultural science and Technology, Report No.116 pp91.
5. Palmgren, M.S. & Hayes, A.W. 1987. Aflatoxins in food. In P. Krogh, ed., *Mycotoxins in food*, p. 65–95, London, Academic Press.
6. Bhat, R.V. 1988, Mould deterioration of agricultural commodities during transit: problems faced by developing countries, *Int. J. Food Microbiology*, 7(3): 219–225.
7. Goldbatt, L.A. 1969. *Aflatoxin*. Academic Press, New York. Pp1–40.
8. Rodricks, J.V. & Stoloff, L. 1977. Aflatoxin residues from contaminated feed in edible tissues of food-producing animals. In J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine & M.A. Mehlman, eds., *Mycotoxins and animal health*, p. 67–79, Park Forest Hills, Illinois, Pathotox Publishers Inc.
9. Wyllie, T.D. and Morchause, L.G. 1978. *Mycotoxin Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses—An Encyclopedic Handbook*. Vols. 1, 2, and 3. Marcel Dekker, Inc. New York.
10. Finley, J.W., Robinson, S.F. and Armstrong, D.J. 1992. *Food Safety Assessment*. American Chemical Society, Washington, D.C. pp261–275.
11. *AflaTest Instruction Manuel*, 1999 (Vicom, USA), p.38
12. Coulibaly, B. 1989. The problem of aflatoxin contamination of groundnut and groundnut products as seen by the African Groundnut Council. In D. McDonald & V.K. Mehan, eds., *Aflatoxin contamination of groundnuts. Proceedings of the international workshop*, p. 47–55, Patancheru, India, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
13. Bhat, R.V., Sashidhar, R.B., Ramakrishna, Y. & Munshi, K.L. 1989. Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould damaged wheat products in Kashmir Valley, India. *Lancet*, i: 35–37.
14. Heathcote, J.G. and Hibbert, J.R. 1978. *Aflatoxins: Chemical and biological aspects*. Elsevier, New York. pp.173–186.
15. Palmgren, M.S. & Hayes, A.W. 1987. Aflatoxins in food. In P. Krogh, ed., *Mycotoxins in food*, p. 65–95, London, Academic Press.

DETERMINATION OF TOTAL AFLATOXINES IN DRYED AND NUTED FRUITS PRESENT IN MACEDINIAN MARKET

Zehra Hajrulai–Musliu¹, Pavle Sekulovski¹ Biljana Stojanovska Dimzoska¹, Elizabeta
Dimitrieska Stojković¹, Dean Jankulovski¹, Siqanovski Aleksandar¹

¹Food Institute, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje
e-mail: zhajrulai@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT:

Humans and animals are exposed to aflatoxins by consuming foods contaminated with products of fungal growth. Such exposure is difficult to avoid because fungal growth in foods is not easy to prevent. Even though heavily contaminated food supplies are not distributed at market in developed countries, concern still remains for the possible adverse effects as a consequence of long-term exposure to low levels of aflatoxins in the food supply. Thence the aim of this study was determination of total aflatoxins in dry fruits and nuts. Only products in the open market places such as peanuts, walnuts, hazelnuts, pumpkinseeds and raisins, were analysed. Nineteen of 30 analysed samples (63.33%) were over the detection limit, whereas 11 of analysed samples (36,6%) were the same limit. The highr then allowed value of aflatoxins concentration was determined only in one sample of walnut (21 µg/kg).

Key words: mycotoxins, aflatoxins, contamination, dry fruits and nuts
