

PREGLEDNI RAD – REVIEW

Kontrola antimikrobnih lijekova u medu

Control of antimicrobial drugs in the honey

Nina Bilandžić^{1*}, Božica Solomun Kolanović¹, Ivana Tlak Gajger², Petra Buljan³, Marina Krpan³,
Mirjana Hruškar³

¹ Laboratorij za određivanje rezidua, Odjel za veterinarsko javno zdravstvo, Hrvatski veterinarski institut, Savska 143, 10000 Zagreb, Hrvatska

² Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzlova 55, 10 000 Zagreb, Hrvatska

³ Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji, Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

* Corresponding author: bilandzic@veinst.hr

Sažetak

Danas se pčelarstvo i proizvodnja meda suočava s brojnim izazovima među kojima je i sve češća uporaba antibiotika u svrhu sprječavanja infekcija pčela uzrokovanih patogenim mikroorganizmima. Najčešći antibiotici koji se koriste u kontroli bolesti pčela su tetraciklini, aminoglikozidi, sulfonamidi i makrolidi. Stoga se ostaci ovih antibiotika mogu naći u medu. Na razini Europske Unije (EU) nisu određene najviše dopuštene koncentracije antibiotika u medu što znači da njihova primjena u pčelarstvu nije dopuštena. Zbog toga su za njihovu kontrolu potrebne učinkovite metode visoke osjetljivosti kako bi se osiguralo da se med kontrolira na što nižim granicama detekcije. Kontrola ovih tvari se provodi primjenom različitih orijentacijskih i potvrđnih analitičkih metoda. Danas se sve više primjenjuju suvremene metode tekućinske kromatografije u kombinaciji sa spektrometrijom masa koje imaju visoku osjetljivost te omogućuju identifikaciju i kvantifikaciju mnogih analita. Koncentracije antibiotika se na razini EU kontroliraju u okviru nacionalnih planova zemalja članica. Analizom rezultata nacionalnih planova članica EU u razdoblju od 2013. do 2016. Europska agencija za sigurnost hrane izvjestila je da je najveći broj nesukladnih rezultata u medu utvrđen za makrolide, te zatim za sulfonamide i tetracikline. Povišene koncentracije ovih antibiotika kao i aminoglikozida su također utvrđene u medu sa tržišta EU.

Ključne riječi: antibiotici, pčelarstvo, med, analitičke metode, kontrola hrane

Abstract

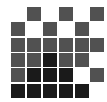
Today, beekeeping and honey production faces numerous challenges, including increasingly frequent use of antibiotics for the prevention of bee infection caused by pathogenic microorganisms. The most common antibiotics used to control the bee disease are tetracyclines, aminoglycosides, sulfonamides and macrolides. Therefore, the residues of these antibiotics can be found in the honey. At the European Union (EU) level, no maximum residue levels of antibiotics in honey is determined, which means that their use in beekeeping is not allowed. For this reason, effective methods of high sensitivity are required to ensure that the honey is controlled to the lowest detection limits. Control of these substances is carried out using different screening and confirmatory analytical methods. Today, increasingly are applying methods of liquid chromatography combined with mass spectrometry that have high sensitivity and allow the identification and quantification of many analytes. Antibiotic concentrations are controlled at EU level within national plans of member states. The European Food Safety Agency reported results within national plans of the EU member states in the period from 2013 to 2016, and the largest number of non-compliant results in honey was determined for macrolides, followed by sulphonamides and tetracyclines. Increased concentrations of these antibiotics and also aminoglycosides have been reported in the honey from EU market.

Keywords: antibiotics, beekeeping, honey, analytical methods, food control

Uvod

Danas je pčelarstvo suočeno sa brojnim problemima usljed promjena na razini poljoprivredne prakse, te usljed masovne uporabe pesticida i sve češćoj primjeni antibiotika u svrhu sprječavanja infekcija pčela uzrokovanih patogenim mikroorganizmima. Međutim, propisi Europske unije (EU) strogo zabranjuju

primjenu antibiotika u suzbijanju i liječenju najčešćih bolesti pčela odnosno američke gnjiiloce medonosne pčele, nozemoze i drugih bolesti pčela. U Sjedinjenim Američkim Državama, Kanadi i Argentini dozvoljeno je sezonski nakon vrcanja meda koristiti antibiotik fumagilin za kontroliranje stupnja invazije mikrosporidijom *Nosema apis* (Williams i sur., 2008; Sarlo i sur., 2011). Međutim, dokazano je da fumagilin ne ubija spore,



već djeluje samo na vegetativne oblike mikrosporidije *N. apis*, na način da dovodi do grešaka u replikaciji (Akyol i sur., 2006).

U Europskoj uniji (EU) na snazi je Uredba br. 37/2010, koja propisuje da svaki antibiotik koji se primjenjuje na životinjama čiji se proizvodi koriste za prehranu ljudi mora imati propisanu najvišu dopuštenu količinu (NDK) u nekoj vrsti hrane (EC, 2010). Međutim, za med trenutno, nisu propisane NDK vrijednosti što znači da primjena antibiotika u pčelarstvu nije niti dozvoljena (Reybroeck i sur., 2012). Višekratno je dokazano da antibiotici djeluju samo na vegetativne oblike različitih uzročnika bolesti u medonosne pčele, a poznato je da su za većinu spore njihovih uzročnika jedini infektivni oblik kojima se prenose opasne bolesti pčela. Sukladno navedenom može se zaključiti da antibiotici ne mogu dovesti do izlječenja niti jedne bolesti pčela. Međutim, uporabom antibiotika može se postići prividno izlječenje pčelinjih zajednica zbog povlačenja vidljivih kliničkih znakova bolesti nakon djelovanja na vegetativne oblike uzročnika bolesti. Ipak, ubrzo dolazi do recidiva - ponovne pojave bolesti. Primjenom antibiotika izaziva se tzv. prikrivanje bolesti, a zapravo inficirane/invidirane zajednice predstavljaju izvor zaraze za druge zajednice na istom ili na susjednim pčelinjacima. Višekratnom uporabom istog antibiotika može se izazvati i rezistencija (otpornost) uzročnika bolesti, te tada svako sljedeće tretiranje pčelinje zajednice uporabom antibiotika s istom djelatnom tvari nema smisla. Međutim, od svih dosad nabrojanih razloga najvažnija je mogućnost onečišćenja meda i dugih pčelinjih proizvoda, odnosno moguće štetno djelovanje ostataka antibiotika ili njegovih razgradnih proizvoda iz meda na zdravlje ljudi koji ga konzumiraju (Reybroeck i sur., 2012). Prisustvo antibiotika u medu ili bilo kojoj drugoj hrani je neprihvatljivo i potencijalno opasno za ljudsko zdravlje jer postoji rizik od alergijskih reakcija (Reybroeck, 2018).

Suvremene metode za analizu antibiotika u medu

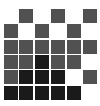
Najčešći antibiotici koji se koriste za kontrolu bolesti pčela su tetraciklini (oksitetraciklin), aminoglikozidi (streptomycin), sulfonamidi (sulfametazin, sulfatiazol, sulfadiazin, sulfametoksazol, sulfamerazin i sulfadimetoksin), makrolidi (tilozin i eritromicin) i neonikotinoidni derivati (Gaudin i sur., 2012; Chiesa i sur., 2018). Međutim, kako je već navedeno, ovi lijekovi nisu odobreni za primjenu u pčelarstvu jer za njih nisu utvrđene najviše dopuštene količine (NDK) u medu (EC, 2010). Zbog toga su za njihovu kontrolu potrebne učinkovite metode visoke osjetljivosti kako bi se osiguralo da se med kontrolira na što nižim granicama detekcije za antibiotike. Primjenjivane metode se prije uporabe u kontroli meda trebaju podvrgnuti postupku validacije prema kriterijima određenim Odlukom Komisije 2002/657/EC (EC, 2002a; Varenina i sur., 2016).

Danas se u analizama za kontrolu meda koriste različiti orijentacijski mikrobiološki testovi (Gaudin i sur., 2013a), receptor testovi (Reybroeck i sur., 2007; Gaudin i sur., 2012) ili enzimski imunotestovi koji omogućuju analizu jednog ili nekoliko predstavnika pojedine klase antibiotika odnosno sulfonamida, tetraciklina ili na primjer tilozin te streptomycin i dihidrostreptomycin (Gaudin i sur., 2013b; Galarini i sur., 2014; Solomun Kolanović i sur., 2014). Međutim, zbog pre-

velike specifičnosti i polukvantitativnih rezultata testovi se sve više danas zamjenjuju kromatografskim tehnikama vezanim na spektrometriju masa koje omogućuju istovremenu analizu ostataka antibiotika koji pripadaju različitim klasama antibiotika (*eng.* multiresidue methods) (Gentili i sur., 2005). Kombinacija tekućinske kromatografije i spektrometrije masa (MS) je posebno prikladna jer pruža veliku količinu informacija i dopušta istodobno odvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju mnogih analita. Zbog svoje velike selektivnosti i osjetljivosti MS prednjači kao najbolji sustav detekcije za skeniranje u složenim matricama kao što je med. Danas se razvijaju sustavi s poboljšanim brzinama i osjetljivostima MS uređaja. Najprimjenjivaniji spektrometar masa za istovremenu analizu velikog broja antibiotika u hrani je trostruki kvadrupol (QqQ) koji ima dobre performanse za kvantifikaciju i nedvosmisleno identificiranje poznatih ciljanih spojeva s visokom selektivnošću i specifičnošću korištenjem MRM tranzicija. Nedostatak je jedino što se samo već poznati analiti mogu otkriti i detektirati postavljenom MS/MS metodom od kojih neke omogućuju i analizu nekoliko stotina spojeva (Kaufmann i sur., 2011). S druge strane kvadrupolni instrumenti nisu dovoljno osjetljivi i samo osiguravaju jedinicu razlučivosti mase. Rezultirajuća selektivnost često nije dovoljna za analizu praćenja tragova tvari u kompleksnim matricama (Kaufmann i sur., 2011).

Danas sve više prednost pred klasičnim visokotlačnim tekućinskim sustavima (LC) ima tekućinska kromatografija ultra visoke djelotvornosti (*eng.* ultra-high performance liquid chromatography, UHPLC). Naime, omogućuje optimalno odvajanje analita pri višoj linearnoj brzini usljed malog otpora na prijenos materijala, brže uravnoteženje kolona i kraće vrijeme analize (Dong i Zhang, 2014). Suvremene metode primjenom UHPLC-MS/MS omogućuju analizu više od 160 analita različitih vrsta spojeva odnosno uz antimikrobne lijekove omogućuju analizu i drugih klasa lijekova kao što su benzimidazoli, kortikosteroidi, sedativi te zabranjene tvari kao što su beta-agonisti i steroidi (Robert i sur., 2013). Uporaba UHPLC značajno povećava produktivnost u svim fazama razvoja metode, od inicijalnog ispitivanja, optimizacije, do kvalifikacije i validacije (Dong i Zhang, 2014).

Danas se također u kontroli hrane koristi spektrometrija masa visoke razlučivosti (*eng.* high resolution mass spectrometry, HRMS) koja koristi spektrometre visoke razlučivosti kao što su spektrometar vremena leta (*eng.* time-of-flight, TOF) (Stolker i sur., 2008, i sur., Staub Spörri i sur., 2014) ili Orbitrap (Kaufmann i sur., 2011; Gómez-Pérez i sur., 2012). Spoj UHPLC-TOF omogućuje visoku selektivnost i specifičnost zbog točnog mjerenja mase te dopušta provjeru osnovnog sastava i identifikacija detektiranih spojeva. Osim toga, obrada podataka moguća je u bilo kojem trenutku i mogu se detektirati tvari koje nisu ciljano tražene kao i nepoznate tvari (Spörri i sur., 2014). Orbitrap-MS radi u modu potpunog skeniranja (*eng.* full scan mode) i teoretski je bez ograničenja broja skeniranja spojeva te omogućuje točno mjerenje masa. Usporedba teorijskih i mjerenih izotopnih podataka su korisni za izvođenje formule i olakšavanje procesa identifikacije spojeva. Kako bi se potpuno iskoristile mogućnosti potpunog skeniranja HRMS analizatora koriste se baze podataka koje sadrže vrijeme retencije, ionizaciju i točnu masu spojeva (Gómez-Pérez i sur., 2012). Prikaz suvremenih metoda i koje se koriste u analitici određivanja različitih klasa lijekova u medu prikazane su u tablici 1.

**Tablica 1.** *Suvremene analitičke metode za analizu ostataka antibiotika i drugih veterinarskih lijekova u medu.***Table 1.** *Contemporary analytical methods for analysis of antibiotic residues and other veterinary drugs in honey.*

Antibiotici i drugi veterinarski lijekovi	Metoda određivanja	Referenca
aminoglikozidi, amfenikoli, beta-laktami, makrolidi, sulfonamidi, tetraciklini	LC-MS/MS	Hammel i sur., 2008
aminoglikozidi, fenikoli, fluorofenikoli, kinoloni, linkozamidi, makrolidi, sulfonamidi, tetraciklini	LC-MS/MS	Lopez i sur., 2008
kinoloni, makrolidi, sulfonamidi, tetraciklini	UHPLC-MS/MS	Vidal i sur., 2009
benzimidazoli, cefalosporini, kinoloni, makrolidi, penicilini, sulfonamidi, tetraciklini	UHPLC-Orbitrap-MS	Kaufmann i sur., 2011
aminoglikozidi	LC-MS/MS	Bohm i sur., 2012
makrolidi, penicilini	UHPLC-Orbitrap-MS	Gómez-Pérez i sur., 2012
aminokumarini, amfenikoli, benzimidazoli, beta-laktami, diaminopirimidini, kinoloni, linkosamidni, makrolidi, pleuromutilini, sulfonamidi, streptogramini, polipeptidi kinoksalini, tetraciklini	UHPLC-MS/MS	Robert i sur., 2013
benzimidazoli, beta-laktami, diaminopirimidini, kinoloni, linkozamidi, makrolidi, pleuromutilini, sedativi, sulfonamidi, tetraciklini	UHPLC-TOF-MS	Spörri i sur., 2014
kinoloni, sulfonamidi, nitroimidazoli	LC-MS/MS	Galarini i sur., 2015
aminoglikozidi, linkozamidi, makrolidi, sulfonamidi, tetraciklini	LC-MS/MS	El Hawari i sur., 2017

Današnji izazovi u analitici antibiotika su praćenje metabolita lijeka koji su u nekim slučajevima stabilniji od roditeljskih molekula i mogu imati veći toksikološki utjecaj na zdravlje. Usljed toga su takvi spojevi rijetko komercijalno dostupni kao referentne tvari što komplicira optimizaciju specifične MS/MS tranzicije (Kaufmann i sur., 2011). Također danas je zbog različitih fizikalno - kemijskih svojstava veterinarskih lijekova teško pronaći jedan i istovremeno učinkovit postupak ekstrakcije i pročišćavanja koji daje prihvatljiva iskorištenja pojedinačnih spojeva u složenim matricama kao što su tkiva i med (Bogialli i Di Corcia 2009).

Problemi vezani za ekstrakciju pojedinih klasa antibiotika odnosno njihovih manjih iskorištenja posljedica su specifičnosti njihovih kemijskih svojstava. Sulfonamidi se vežu na reducirajuće šećere iz meda pa je potrebno hidrolizirati te veze (Kaufmann, Roth i sur., 2002). Makrolidi nisu stabilni u kiselim uvjetima (Skinner i sur., 1993). Međutim, u kiselim uvjetima dolazi do epimerizacije tetraciklina (Anderson i sur., 2005), te također tvore komplekse s dvovalentnim metalnim kationima (Carlotti i sur., 2012). Poseban problem je izdvajanje aminoglikozidnih antibiotika koji su visoko polarne organske spojevi koji u kromatografskoj separaciji primjenom kolona obrnute faze zahtijevaju ionske reagenze koji potiskuju njihovu osjetljivost (Gremilogianni i sur., 2010). Kako bi se izbjegla uporaba ionskih reagensa razvijen je drugi pristup odnosno tekućinska kromatografija hidrofilne interakcije (*eng.* hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC). Pri tome se za eluiranje zadržanih spojeva aminoglikozida kao što je neomicin (s više amino skupina) s HILIC kolone koriste visoke koncentracije hlapivih pufera i vodena mobilna faza (Kumar i sur., 2012; Kaufmann i sur., 2012; Kahsay i sur., 2014).

Analitičari diljem svijeta danas nastoje razraditi postupak pripreme uzoraka u svrhu postizanja jednostavnog i brzog postupka po mogućnosti istoobraznog postupka za izdvajanje velikog broja ciljnih analita u različitim vrstama uzoraka kao što su med, hrana, meso, jaja i mlijeko (Mol i sur., 2008). Stoga su za ekstrakciju provedena testiranja niza organskih otapala u svrhu postizanja optimalnih pH uvjeta kao ključnog faktora za visoku učinkovitost ekstrakcije. Zatim slijede postupci čišćenja primjenom kruto-fazne ekstrakcije (SPE) (Spörri i sur., 2014). Većina današnjih metoda se temelji na SPE za pripremu i pročišćavanje uzoraka s ciljem povećanja osjetljivosti detekcije i smanjenja interferencija (Lopez i sur. 2008; Vidal i sur. 2009; Bohm i sur. 2012; Gómez-Pérez i sur. 2012; Galarini et al. 2015; El Hawari i sur., 2017). Moguća je primjena ekstrakcije tekuće-tekuće koja također može dati dobre rezultate u razdvajanju različitih klasa antibiotika (Hammel i sur., 2008).

Novija metodologija pripreme "Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe" (QuechERS) kombinira različite soli i primarno se razvila za analizu pesticida. Međutim počela se primjenjivati i u pripremi uzoraka za kvantifikaciju i potvrđne metode za određivanje veterinarskih lijekova u različitim vrstama uzoraka (Wang i sur., 2013; Kaufmann i sur., 2014; Shendy i sur., 2016). Ovaj postupak pripreme je pokazao nedostatak u postizanju prihvatljivih iskorištenja za polarne antibiotike kao što su penicilini, tetraciklini i kinoloni (Kaufmann i sur., 2014).



Analize antibakterijskih tvari u medu na razini EU

Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) je u okviru tehničkog izvještaja aktivnosti vezanih za rizike u nastajanju, zaključila da su antimikrobni lijekovi kod pčela potencijalni rizik u nastajanju (EFSA, 2017a). Naime, u Europi nisu registrirani antimikrobni lijekovi za uporabu u pčelarstvu. Navodi se da do sada nisu dovoljno dostupni reprezentativni podaci o antimikrobnoj potrošnji u sektoru pčelarstva širom Europe, kao i reprezentativni podaci o ostacima antimikrobnih lijekova u medu, bilo iz Europe ili u medu iz zemalja izvan EU. Preporuka je usmjeravanje na problem upravljanja rizikom. Na sastanku skupine Rizika u nastajanju u okviru mreže za razmjenu (EREN, eng. Emerging Risks Exchange Network) donesene su preporuke da bi EFSA trebala predstaviti ažurirane podatke sa radne skupine o zdravlju pčela te da bi trebala izraditi kritički osvrt na rezultate europskih programa praćenja ostataka veterinarskih lijekova odnosno grupirati rezultate zemalja EU kao i zemalja koje nisu članice odnosno pregledati strategije testiranja, procijeniti statističku valjanost o pristupu uzorkovanja, provesti analizu trendova prema europskim podacima o praćenju (EFSA, 2017a).

Obzirom da nisu određene NDK za antibiotike u medu postoji neusklađenost između članica EU zbog postavljanja različitih ograničenja. Neke članice EU su definirale dopuštene koncentracije na razini svoje nacionalne legislative. Tako je na primjer Italija zabranila primjenu antibiotika i oslanja se na minimum odnosno granicu detekcije koju postavlja laboratorij prilikom određivanja antibiotika, a što mora biti najmanje od 10 µg/kg. Austrija, Njemačka i Ujedinjeno Kraljevstvo su postavile NDK u rasponu od 15 do 50 µg/kg (Gaudin i sur., 2012). Belgija je definirala NDK za streptomycin, tetracikline te makrolidne antibiotike u medu od 20 µg/kg (AFSCA 2016).

Europski referentni laboratorij (EURL) za antibakterijske tvari (AFSSA odnosno ANSES iz Fougèresa, Francuska) je u svrhu poboljšanja i usklađivanja izvedbi analitičkih metoda u

praćenju antibiotika u medu izdao vodič s preporučenim koncentracijama za kontrolu neovlaštenih tvari u medu (µg/kg): tetraciklini 20, sulfonamidi 50, streptomycin 40, makrolidi (eritromicin i tilozin) 20 (CRL Guidance, 2007). Ovaj dokument služi u svrhu tehničkih smjernica obzirom na primjenjivane metode za analize antibiotika u medu, a preporučene razine nemaju pravu pravnu osnovu.

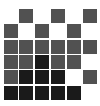
Na razini EU zemlje članice su obvezne provesti praćenje ostataka antibakterijskih tvari (B1 grupa tvari) u medu u okviru nacionalnih planova kontrole rezidua prema propisima Direktive Vijeća 96/23/EZ (EC, 1996.). Uz ciljane uzorke prikupljene u okviru planova zemlje članice također su izvijestile EFSA-u o rezultatima dodatno uzorkovanih uzoraka uzetih nakon utvrđenih nesukladnih rezultata, te uzoraka prikupljenih drugim strategijama uzorkovanja odnosno u slučajevima kršenja najviših dopuštenih koncentracija pojedinih tvari u proizvodima koji se stavljaju na tržište ili pri pojačanim provjerama proizvoda s gospodarstava i/ili objekata. U okviru nacionalnih planova od 2013. do 2016. godine članice EU su prikazale proizvodnju meda koja je ukupno iznosila od 183 480 do 212 286 tona te se prema tim proizvodnjama analiziralo ukupno od 1492 do 1931 uzoraka meda (Tablica 2). Broj nesukladnih rezultata u tom četverogodišnjem razdoblju u okviru planova te dodatnih uzorkovanja prijavljenih EFSA-i iznosio je 255, a najveći broj od 102 nesukladna rezultata utvrđen je 2014. godine (EFSA, 2015, 2016, 2017b, 2018). Utvrđeno je ukupno nesukladnih rezultata za pojedine grupe odnosno antibiotike: sulfonamidi 71, tetraciklini 65, makrolidi 117, trimetoprim 1, enrofloksacin 1. Od pojedinačnih antibiotika najviše je nesukladnih utvrđeno za spiramicin, njih 60.

U četverogodišnjem razdoblju od 2013. do 2016. proizvodnja meda u Hrvatskoj se kretala u rasponu od 2 387 do 2 633 tona meda (EFSA, 2015, 2016, 2017b, 2018). U 2013. i 2014. godini su u medu iz Hrvatske utvrđene povišene koncentracije sulfamonometoksina u 4 odnosno jednom uzorku meda (EFSA, 2015, 2016). U 2016. godini su u medu iz Hrvatske utvrđene povišene koncentracije sulfadiazina i sulfamonometoksina (EFSA, 2018).

Tablica 2. Broj uzoraka meda analiziranih na antibiotike i broj nesukladnih rezultata antibiotika u okviru nacionalnih programa praćenja ostataka antibiotika i dodatnih uzorkovanja članica EU u razdoblju 2013.-2016.

Table 2. Number of samples of honey analyzed on antibiotics and number of non-compliant results of antibiotic in the framework of national monitoring programs for antibiotic residues and additional sampling of EU members in the period 2013-2016.

Godina	2013.	2014.	2015.	2016.	Ukupno	
Proizvodnja meda na razini EU (t)	212 286	205 466	200 808	183 480		
Ukupan broj analiziranih uzoraka meda na antibiotike	1 931	1 815	1 679	1 492	6 917	
Skupina antibiotika	Pojedinačni antibiotik ili cijela skupina	Broj nesukladnih rezultata				
Sulfonamidi	Sulfadiazin				1	1
	Sulfamonometoksin	5	1		1	7
	Sulfatiazol	5	4	1	4	14
	Sulfanilamid	1			1	2
	Sulfametazin	1		1	1	3



Sulfonamidi	Sulfametoksazol	1		1		2
	Sulfonamidi	14	7	11	10	42
Ukupno		27	12	14	18	71
Tetraciklini	Tetraciklin	8	3	8	19	38
	Klortetraciklin		1	8		9
	Doksiciklin			2		2
	Oksitetraciklin	6	2	1		9
	Tetraciklini	6	1			7
Ukupno		20	7	19	19	65
Makrolidi	Neospiramicin		42		15	57
	Spiramicin		41		19	60
Ukupno			83		34	117
Kinoloni	Enrofloksacin				1	1
Ostali	Trimetoprim	1				1
Ukupno		48	102	33	72	255

Povišene koncentracije antibiotika u medu s tržišta EU

U studiji kontrole meda s talijanskog tržišta u razdoblju od 2001. do 2007. godine određeno je 6,8 % pozitivnih uzoraka meda na antibakterijske tvari iz uvoza odnosno 6,1 % pozitivnih uzoraka proizvedenih u Italiji (Baggio i sur., 2009). Obzirom na provedeni broj analiza za uzorke meda iz uvoza određeno je 12,7 % pozitivnih na streptomycin, 10,3 % pozitivnih na sulfonamide, 3,1 % na tetracikline i 4,3 % na tilozin (Baggio i sur., 2009). Za uzorke s lokalnih tržišta najveći broj pozitivnih analiza od 10,6 % određen je za sulfonamide, zatim 5,2 % za tilozin, te 4,2 % za tetracikline, a za streptomycin svega 2,8 %. U nedavnoj studiji u Italiji je analizirano 74 uzoraka meda različitog botaničkog i zemljopisnog podrijetla s talijanskog tržišta (Galarini i sur., 2015). U 9 uzoraka meda (12 %) određeni su ostaci sulfonamida na razinama nižim od 2 µg/kg.

Rezultati istraživanja u medu tijekom 2002. u Belgiji pokazali su da je 8 od 20 uzoraka bilo nesukladno te su sadržavali streptomycin u koncentraciji od 23 i 33 µg/kg, te sulfatiazol od 390 µg/kg, tetraciklin od 40 µg/kg ili kombinaciju tetraciklina od 40 µg/kg i kloramfenikola od 0,19 µg/kg (Reybroeck, 2003; Reybroeck i sur., 2006). U uzorcima meda s tržišta u 2005. i 2009. određeni su po jedan nesukladan uzorak odnosno povišene koncentracije tilozina B od 4 µg/kg, te kombinaciju ciprofloksacina od 5 µg/kg i norfloksacina od 3 µg/kg (Reybroeck i sur., 2006; Reybroeck i Ooghe, 2010). Tijekom kontrole belgijskog tržišta 2012. godine u svih analiziranih 36 uzoraka nisu utvrđeni ostaci antimikrobnih lijekova (Reybroeck, 2018).

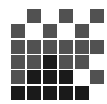
U 96 uzoraka meda sakupljenih s hrvatskog tržišta tijekom 2010. i 2011. godine kontrolirane su koncentracije tilozina primjenom ELISA metode (Solomun Kolanović i sur., 2014). Srednja koncentracija tilozina u uzorcima iz 2010. godini je iznosila 3,60 µg/kg, odnosno 4,48 µg/kg u uzorcima iz 2011. Najviša koncentracija od 16,1 µg/kg utvrđena u uzorku

meda iz 2011. godine. Analizom uzoraka meda (ukupno 74) različitog botaničkog podrijetla s hrvatskog tržišta nisu utvrđeni ostaci oksitetraciklina, sulfatiazola i streptomicina (Gačić i sur., 2015).

U uzorcima meda (ukupno 567) s tržišta Baskije u Španjolskoj utvrđeni su ostaci sulfatiazola u 3,40 % uzoraka odnosno tetraciklina u 4,22 % uzoraka (Bonvehi i Gutiérrez, 2008). Koncentracije sulfatiazola su se kretale u rasponu od 20 do 210 µg/kg, a tetraciklina od 15 do 920 µg/kg.

EU je uspostavila sustav brzog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje RASFF (*eng.* Rapid Alert System for Food and Feed) odnosno mrežni sustav koji uključuje sve države članice, Komisiju i EFSA-u (EC, 2002b). Svrha sustava je da članice EU na jasan i strukturiran način učinkovito razmjenjuju informacije o poduzetim mjerama pri utvrđivanju rizika otkrivenih u hrani ili hrani za životinje. Ovakva razmjena informacija pomaže zemljama članicama da brže i na koordiniran način djeluju na ozbiljne izravne ili neizravne rizike za ljudsko zdravlje koji proizlaze iz hrane i hrane za životinje. Pri tome se RASFF obavijesti klasificiraju prema ozbiljnosti identificiranih rizika i distribuciji proizvoda na tržištu. RASFF obavijesti obično izvješćuju o rizicima u hrani, hrani za životinje ili prehrambenim materijalima koji su stavljeni na tržište u zemlji podnositelja prijave ili su zadržani na mjestu ulaska u EU na granici sa susjednom zemljom unutar EU. Zemlja koja je obavijestila daje izvješće o rizicima koje je utvrdila, proizvodu i njegovoj sljedivosti te mjere koje je poduzela (RASFF, 2017).

U razdoblju od 2002. do srpnja 2018. godine članice EU prijavile su nesukladne rezultate antibiotika u medu koji je stavljen na tržište unutar EU ili iz zemalja iz drugih krajeva svijeta (RASFF, 2018). Utvrđene su nesukladne koncentracije sulfonamida (Tablica 3), tetraciklina (Tablica 4), aminoglikozida (Tablica 5) te istovremeno više antibiotika u jednom uzorku meda (Tablica 6). U navedenom razdoblju također je prijavljen jedan slučaj povišenih koncentracija enrofloksacina od 49 µg/



kg u cvijetnom medu podrijetlom iz Argentine koji je uvezen u EU preko Njemačke i Poljske u kolovozu 2010. godine.

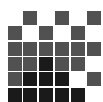
U razdoblju od 2002. do 2018. u RASFF sustav je registrirano 44 uzorka meda s povišenim koncentracijama sulfonamida u medu (Tablica 3). Od toga je 25 % uzoraka meda bilo podrijetlom iz zemalja izvan Europe. Najviše koncentracije

ukupnih sulfonamida od 1602 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određene su u medu podrijetlom sa Cipra 2005. godine. Zatim, najveća koncentracija pojedinačnog sulfonamida odnosno sulfametoksazola od 1316 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u kombinaciji s trimetoprim od 239 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određena je 2007. godine u Njemačkoj u medu podrijetlom iz Kine.

Tablica 3. Uzorci meda s nesukladnim koncentracijama sulfonamida prijavljeni u RASFF sustav u razdoblju 2002. - 2018.

Table 3. Honey samples with non-compliant concentrations of sulfonamide reported in the RASFF system in the period 2002 - 2018.

Datum prijave	Zemlja prijave	Utvrđeni antibiotik / koncentracija	Zemlja podrijetla
16/06/2016	Njemačka	sulfonamidi 7,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Turska
07/12/2015	Republika Češka	sulfonamidi 36,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Ukrajina
09/07/2015	Njemačka	sulfonamidi 865 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Njemačka
06/10/2014	Litva	sulfametoksazol 48,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Litva
12/11/2013	Bugarska	sulfametazin 24,42 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Turska
01/10/2013	Republika Češka	sulfonamidi 26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfadimidin 14,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Moldavija
22/10/2012	Slovačka	sulfametoksazol 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Poljska
07/06/2012	Slovačka	sulfametoksazol 10,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Poljska
24/02/2011	Mađarska	sulfadimetoksin 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Republika Češka
22/11/2010	Slovenia	sulfonamidi 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Srbija
16/06/2010	Njemačka	sulfadimetoksin 4; 6; 6; 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Belgija
28/03/2008	Njemačka	sulfadiazin 9,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Kina
18/07/2008	Danska	sulfametazin > 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Turska
29/05/2008	Italija	sulfametazin 22 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Egipat
30/08/2007	Republika Češka	sulfadimetoksin 1,34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfatiazol 1,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfadimidin 2,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Poljska
27/06/2006	Italija	sulfametoksazol 85,8; 84,9; 82,4; 82,9; 92,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Kina
15/06/2006	Italija	sulfametoksazol 20,143 ; 22,838; 21,572; 24,838 ; 23,676 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Kina
28/10/2005	Ujedinjeno Kraljevstvo	sulfonamidi 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	nepoznato podrijetlo
28/10/2005	Italija	sulfametazin 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Čile
19/04/2005	Španjolska	sulfatiazol 46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfametoksazol 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Argentina
06/04/2005	Danska	sulfametazin 39,5 mg/kg	Turska
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 124 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 32 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 43 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 297 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 486 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 1602 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cipar



28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 128 µg/kg	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 191 µg/kg	Cipar
28/02/2005	Cipar	sulfonamidi 132 µg/kg	Cipar
23/11/2004	Mađarska	sulfonamidi	Ukrajina
01/10/2004	Španjolska	sulfametoksazol 13; 9 µg/kg	Indija
20/09/2004	Španjolska	sulfametoksazol 60 ; 19 µg/kg	Vijetnam
31/08/2004	Španjolska	sulfametoksazol 60;19 µg/kg	Vijetnam
04/03/2004	Danka	sulfadiazin 5,7 µg/kg	Indija
01/03/2004	Njemačka	sulfamerazin 0,1 mg/kg sulfadimidin 0,14 mg/kg	Meksiko
26/11/2003	Grčka	sulfametazin 92 µg/kg	Bugarska
26/11/2003	Grčka	sulfametazin 109 µg/kg	Bugarska
23/10/2003	Grčka	sulfamerazin 43,8 µg/kg	Bugarska
23/10/2003	Grčka	sulfamerazin 50,4 µg/kg	Bugarska
16/10/2003	Grčka	sulfatiazol 107 µg/kg sulfamerazin 9,9 µg/kg	Bugarska
19/03/2003	Njemačka	sulfadimetoksin 2,5 µg/kg sulfatiazol 21,2 µg/kg	Litva
12/11/2002	Austrija	sulfametazin 28,3 µg/kg	Turska
26/09/2002	Ujedinjeno Kraljevstvo	sulfadiazin 11 mg/kg	Cipar

U navedenom razdoblju je također RASFF sustavom prijavljen 21 uzorak meda i jedan uzorak propolisa s povišenim koncentracijama tetraciklina u medu (Tablica 4). Čak u 71,4 % uzoraka tetraciklini su određeni u medu koji je podrijetlom

iz zemalja izvan Europe. Najviše koncentracije tetraciklina od 195 µg/kg prijavljene su 2003. godine u medu, odnosno oksitetraciklina od 71 µg/kg 2005. godine u medu, oba podrijetlom iz Vijetnama.

Tablica 4. Uzorci meda s nesukladnim koncentracijama tetraciklina prijavljeni u RASFF sustav u razdoblju 2002. - 2018.

Table 4. Honey samples with non-compliant concentrations of tetracyclines reported in the RASFF system in the period 2002 - 2018.

Datum prijave	Zemlja prijave	Utvrđeni antibiotik / koncentracija	Zemlja podrijetla
30/12/2015	Litva	tetraciklin 14,7 µg/kg	Rusija
17/04/2013	Njemačka	oksitetraciklin 2,4 µg/kg	Meksiko
17/06/2010	Italija	oksitetraciklin 38 µg/kg *	Urugvaj
03/12/2009	Ujedinjeno Kraljevstvo	tetraciklin 12 µg/kg	Indija
03/08/2009	Ujedinjeno Kraljevstvo	oksitetraciklin 15 µg/kg	Gvatemala
03/07/2009	Njemačka	oksitetraciklin 13 µg/kg	Argentina
27/04/2009	Republika Češka	tetraciklin 12,3 µg/kg	Ukrajina
15/12/2008	Njemačka	tetraciklin 16 µg/kg	Grčka
01/07/2008	Republika Češka	tetraciklin 17,8 µg/kg	Grčka
21/04/2008	Španjolska	oksitetraciklin 12 µg/kg	Argentina
28/03/2008	Njemačka	oksitetraciklin 14,79 µg/kg	Argentina
26/02/2008	Španjolska	oksitetraciklin 67,6; 45,6 mg/kg	Argentina



14/02/2008	Ujedinjeno Kraljevstvo	oksitetraciklin 12 µg/kg	Izrael
17/01/2008	Španjolska	oksitetraciklin 42; 38 µg/kg	Argentina
10/08/2007	Ujedinjeno Kraljevstvo	oksitetraciklin 31 µg/kg	Izrael
27/03/2007	Mađarska	tetraciklin 33 µg/kg	Ukrajina
22/11/2006	Italija	tetraciklin 24,6 µg/kg	Kina
09/08/2005	Španjolska	oksitetraciklin 16 µg/kg	Vijetnam
09/08/2005	Španjolska	tetraciklin 16; 10 µg/kg oksitetraciklin 71 µg/kg	Vijetnam
01/07/2005	Grčka	oksitetraciklin 66 µg/kg	Bugarska
24/10/2003	Španjolska	tetraciklin 195 µg/kg	Vijetnam
15/11/2002	Italija	oksitetraciklin 18 mg/kg	Rumunjska

* *sirovi propolis*

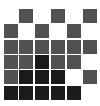
Najveći broj nesukladnih rezultata u medu, njih 48 prijavljeno je za aminoglikozid streptomycin (Tablica 5). Povišene koncentracije streptomicina su izmjerene u 72,9 % uzoraka meda koji nisu podrijetlom iz Europe od kojih su na primjer 34,3 % podrijetlom iz Kine, 25,7 % iz Meksika, 22,8 % iz Vi-

jetnama. Koncentracije streptomicina određivane su u rasponu od 0,3 do 870 µg/kg, a najviša koncentracija streptomicina od 870 µg/kg određena je 2007. godine u Italiji u medu podrijetlom iz Argentine.

Tablica 5. *Uzorci meda s nesukladnim koncentracijama aminoglikozida prijavljeni u RASFF sustav u razdoblju 2002. - 2018.*

Table 5. *Honey samples with non-compliant concentrations of aminoglycosides reported in the RASFF system in the period 2002 - 2018.*

Datum prijave	Zemlja prijave	Utvrđeni aminoglikozid i koncentracija	Zemlja podrijetla
03/12/2015	Češka Republika	streptomycin 18,8 µg/kg	Ukrajina
17/03/2010	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomycin 43 µg/kg	Meksiko
14/01/2010	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomycin 49 µg/kg	Meksiko
15/12/2009	Belgija	streptomycin 22 µg/kg	Meksiko
07/09/2009	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomycin 10 µg/kg	Meksiko
12/02/2008	Španjolska	streptomycin 16,9 µg/kg	Kina
06/02/2008	Španjolska	streptomycin 3 µg/kg	Kina
20/11/2007	Italija	streptomycin 520; 870 µg/kg	Argentina
11/05/2007	Španjolska	streptomycin 179 µg/kg	Kina
12/06/2006	Mađarska	streptomycin 47,7 µg/kg	Rumunjska
06/02/2006	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomycin 13 µg/kg	Egipat
17/10/2005	Španjolska	streptomycin 14 µg/kg	Argentina
11/10/2005	Španjolska	streptomycin 13; 11; 16 µg/kg	Vijetnam
11/10/2005	Španjolska	streptomycin 12,8 µg/kg	Vijetnam
22/08/2005	Španjolska	streptomycin 21 µg/kg	Vijetnam
09/08/2005	Španjolska	streptomycin 42 µg/kg	Vijetnam
09/08/2005	Španjolska	streptomycin 21 µg/kg	Vijetnam
11/02/2005	Grčka	streptomycin 19,3 µg/kg	Indija
13/01/2005	Slovačka	streptomycin 46 µg/kg	Vijetnam



17/08/2004	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 120; 90 µg/kg	Španjolska i Poljska
20/02/2004	Njemačka	streptomicin 0,15 mg/kg	Rumunjska
11/02/2004	Njemačka	streptomicin 72 µg/kg	Rumunjska
07/01/2004	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 190 µg/kg	Meksiko
07/01/2004	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 120 µg/kg	Meksiko
01/12/2003	Italija	streptomicin 220 µg/kg	Bulgarska
13/11/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 40 µg/kg	Meksiko
12/11/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 0,30 µg/kg	Meksiko
12/11/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 0,49 µg/kg	Meksiko
23/10/2003	Grčka	streptomicin 56,5 µg/kg	Bulgarska
07/08/2003	Finska	streptomicin > 20 i < 40 µg/kg	Španjolska i Italija
28/07/2003	Njemačka	streptomicin 51,8 µg/kg	Vijetnam
18/07/2003	Njemačka	streptomicin 30,6 µg/kg	Vijetnam
25/06/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 200 µg/kg	Rumunjska
12/05/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 71 µg/kg	Brazil
24/03/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 55 µg/kg	Indija
05/03/2003	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 39 µg/kg	SAD
28/10/2002	Austrija	streptomicin 165 µg/kg	Rumunjska
11/10/2002	Njemačka	streptomicin 2,6 µg/kg	Kina
11/09/2002	Njemačka	streptomicin 59 µg/kg	Moldavija
06/08/2002	Njemačka	streptomicin 1,3 mg/kg dihydrostreptomicin 0,03 mg/kg	Moldavija
27/03/2002	Njemačka	streptomicin 28 - 35 µg/kg	Kina
26/03/2002	Njemačka	streptomicin 0,06 mg/kg	Kina
26/03/2002	Njemačka	streptomicin 0,04 - 0,046 mg/kg	Kina
22/03/2002	Belgija	streptomicin 20 - 501 µg/kg	Kina
14/03/2002	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 76 µg/kg	Kina
25/02/2002	Njemačka	streptomicin 0,03 mg/kg	Kina
20/02/2002	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 50 do 500 µg/kg	Kina
08/02/2002	Ujedinjeno Kraljevstvo	streptomicin 50 µg/kg	Kina

U medu su također u prikazanom razdoblju određivane i kombinacije navedenih klasa lijekova (Tablica 6). Čak 81 % uzoraka meda je podrijetlom iz drugih dijelova svijeta izvan Europe, od čega 62 % iz Kine. U 4 uzorka meda podrijetlom iz Kine utvrđena je kombinacija trimetoprima i sulfametoksazola, a u 7 uzoraka meda iz Kine uz naveda 2 antibiotika određen je i sulfadiazin. Pri tome su koncentracije sulfametoksazola određene u rasponu od 200 do 1316 µg/kg. Streptomicin je određivan sa sulfonamidima u 3 meda iz Vijetnama i jednom iz Bugarske. Također, određene su i kombinacije tetraciklina sa sulfonamidima odnosno sa streptomicinom. U medu iz Kine je u 2002. godini određena kombinacija streptomicina (20-501

µg/kg), tetraciklina (50 µg/kg) i sulfadiazina (> 5 µg/kg). U medu podrijetlom iz Ukrajine je 2015. godine izmjerena najviša koncentracija dihydrostreptomicina od 455 µg/kg uz koji su još određeni i streptomicin te tetraciklin.



Tablica 6. Uzorci meda s nesukladnim koncentracijama više antibiotika prijavljene u RASFF sustav u razdoblju 2002. - 2018.
Table 6. Honey samples with non-compliant concentrations of several antibiotics reported in the RASFF system in the period 2002 - 2018.

Datum prijave	Zemlja prijave	Utvrđeni antibiotik / koncentracija	Zemlja podrijetla
11/12/2015	Republika Češka	dihidroestreptomicin 455; 434 µg/kg streptomicin 42,8; 43,6 µg/kg tetraciklin 6,6; 6,5 µg/kg	Ukrajina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 8,1 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin <10 µg/kg sulfametoksazol 17,6 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 7,5 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg, sulfadiazin 14,9 µg/kg sulfametoksazol 15,5 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 6,9 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin 10,5 µg/kg sulfametoksazol 18,3 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 14,4 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin <10 µg/kg sulfametoksazol 33,6 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 8,1 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin <10 µg/kg sulfametoksazol 17,6 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 7,5 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin 14,9 µg/kg sulfametoksazol 15,5 µg/kg	Kina
24/05/2007	Španjolska	trimetoprim 6,9 µg/kg ciprofloksacin <5 µg/kg tetraciklin <10 µg/kg sulfadiazin 10,5 µg/kg sulfametoksazol 18,3 µg/kg	Kina
25/01/2007	Njemačka	trimetoprim 27 µg/kg sulfametoksazol 200 µg/kg	Kina
25/01/2007	Njemačka	trimetoprim 55 µg/kg sulfametoksazol 199 µg/kg	Kina
25/01/2007	Njemačka	trimetoprim 239 µg/kg sulfametoksazol 1316 µg/kg	Kina
17/10/2005	Španjolska	streptomycin 14 µg/kg oksitetraciklin 25; 18 µg/kg	Argentina
22/08/2005	Španjolska	streptomicin 21 µg/kg sulfametazin 170 µg/kg	Vijetnam



09/08/2005	Španjolska	streptomicin 42 µg/kg sulfametazin 21 µg/kg	Vijetnam
09/08/2005	Španjolska	streptomicin 21 µg/kg sulfametazin 170 µg/kg	Vijetnam
23/10/2003	Grčka	streptomicin 56,5 µg/kg sulfametoksin 14,6 µg/kg sulfatiazol 130,3 µg/kg sulfametazin 25,4 µg/kg	Bugarska
08/10/2003	Grčka	sulfatiazol 58,1 µg/kg sulfamerazin 45 µg/kg sulfametazin 59,8 µg/kg doksiciklin 26,5 µg/kg	Bugarska
26/03/2003	Italija	tetraciklin 24 µg/kg sulfatiazol 5 µg/kg	Bugarska
16/05/2002	Belgija	tetraciklin 50 µg/kg sulfadiazin > 50 µg/kg	Kina
22/03/2002	Belgija	streptomicin 20-501 µg/kg tetraciklin 50 µg/kg sulfadiazin > 5 µg/kg	Kina
14/03/2002	Njemačka	trimetoprim 5,0 µg/kg sulfametoksazol 4,4 µg/kg	Kina

Prikazani rezultati ukazuju na potrebu stalne i pažljive kontrole antibiotika u medu, posebice onih koji na područje EU dolaze iz azijskih zemalja kao što su Kina ili Vijetnam.

Zaključci

Obzirom da se med smatra prirodnim i nutritivno bogatim proizvodom te se često koristi u ljekovite svrhe neophodna je njegova kontrola na različite kontaminante i veterinarske lijekove. Njegova posebnost u pogledu ostataka različitih antibiotika u odnosu na drugu hranu životinjskog podrijetla je što nisu definirane najviše dopuštene količine. Kontrolom antibiotika u medu na razini EU tijekom svake godine kontinuirano se utvrđuju njihovi ostaci. To je slučaj i pri kontroli meda na tržištu bilo u istraživanjima tržišta ili u okviru ostalih službenih kontrola pojedinih članica EU. Upravo zbog toga je neophodna kontrola ovih najčešće utvrđivanih antibiotika: sulfonamida, tetraciklina, aminoglikozida i makrolida. U tu svrhu se također neprestano razvijaju nove i osjetljivije metode koje omogućuju analizu velikog broja antibakterijskih tvari u jednoj do dvije analize primjenom što jednostavnijih i što jeftinijih postupaka pripreme uzoraka meda.

Literatura

AFSCA (2016) Subject: residues of antibiotics and sulfonamides in honey. Federal agency for the safety of the food chain. Scientific Committee – Opinion 2001/11.

Anderson, C. R., Rupp, H. S., Wu, W.-H. (2005) Complexities in tetracycline analysis – chemistry, matrix extracti-

on, cleanup, and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1075 23–32.

Akyol, E., Yeninar, H., Şahinler, N., Güler, A. (2006) The effects of additive feeding and feed additives before wintering on honey bee colony performances, wintering abilities and survival rates at the East Mediterranean Region. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 589–592.

Baggio A, Gallina A, Benetti C, Mutinelli F. 2009. Residues of antibacterial drugs in honey from the Italian market. *Food Additives & Contaminants B*, 2 52–58.

Bogialli, S., Di Corcia, A. (2009) Recent applications of liquid chromatography-mass spectrometry to residue analysis of antimicrobials in food of animal origin. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395 947–966.

Carlotti, B., Cesaretti, A., Elisei, F. (2012) Complexes of tetracyclines with divalent metal cations investigated by stationary and femtosecond-pulsed techniques. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14 823–834.

Chiesa, L. M., Panseri, S., Nobile, M., Ceriani, F., Arioli, F. (2018) Distribution of POPs, pesticides and antibiotic residues in organic honeys from different production areas. *Food Additives & Contaminants A*, 35 1340–1355.

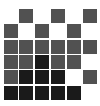
CRL Guidance (2007) CRL guidance paper of 7th December 2007. CRLs view on state of the art analytical methods for residue control plans.

Bohm, D. A., Stachel, C. S., Gowik, P. (2012) Confirmatory method for the determination of streptomycin and dihydrostreptomycin in honey by LC–MS/MS. *Food Additives & Contaminants A*, 29 189–196.

Bonvehí, J.S., Gutiérrez, A.L. (2008) Residues of antibiotics and sulfonamides in honeys from Basque Country (NE Spain). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 63–72.



- Dong, M. W., Zhang, K. (2014) Ultra-high-pressure liquid chromatography (UHPLC) in method development. *Trends in Analytical Chemistry*, 63 21-30.
- Dubreil-Chéneau, E., Pirotais, Y., Verdon, E., Hurtaud-Pessel, D. (2014) Confirmation of 13 sulfonamides in honey by liquid chromatography – tandem mass spectrometry for monitoring plans: validation according to European Union decision 2002/657/EC. *Journal of Chromatography A*, 1339 128–136.
- EC (2002a) Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Union*, L221 8-28.
- EC (2002b) Regulation (EC) No 178/2002 of the European parliament and of the council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *Official Journal of the European Union*, L31 1-24.
- EC (2010) Council Regulation 37/2010/EU of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Official Journal of the European Union*, L15 1-72.
- EFSA (2015) Report for 2013 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal product. EFSA Supporting publication 2015:EN-723.
- EFSA (2016) Report for 2014 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal product. EFSA Supporting publication 2016:EN-923.
- EFSA (2017a) EFSA's Activities on Emerging Risks in 2016. European Food Safety Authority (EFSA). Technical report 2017.EN-1336.
- EFSA (2017b) Report for 2015 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal product. EFSA Supporting publication 2017:EN-1150.
- EFSA (2018) Report for 2016 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal product. EFSA Supporting publication 2018.EN-1358
- El Hawari, K., Mokh, S., Doumyati, S., Al Iskandarani, M., Verdon, E. (2017) Development and validation of a multiclass method for the determination of antibiotic residues in honey using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants A*, 34 582–597.
- Gačić, M., Bilandžić, N., Ivanec Šipušić, Đ., Petrović, M., Kos, B., Vahčić, N., Šušković, J. (2015) Degradation of Oxytetracycline, Streptomycin, Sulphathiazole and Chloramphenicol Residues in Different Types of Honey. *Food Technology and Biotechnology*, 53 (2) 154–162.
- Galarini, R., Diana, F., Moretti, S., Puppini, B., Saluti, G., Persic, L. (2014) Development and validation of a new qualitative ELISA screening for multiresidue detection of sulfonamides in food and feed. *Food Control*, 35 300-310.
- Galarini, R., Saluti, G., Giusepponi, D., Rossi, R., Moretti, S. (2015) Multiclass determination of 27 antibiotics in honey. *Food Control*, 48 12–24.
- Gaudin, V., Rault, A., Verdon, E. (2012) Validation of a commercial receptor kit Sulfasensor® Honey for the screening of sulfonamides in honey according to Commission Decision 2002/657/EC. *Food Additives & Contaminants A*, 29 942–950.
- Gaudin, V., De Courville, A., Hedou, C., Rault, A., Diomande, S.E., Creff-Froger, C., Verdon, E. (2013a) Evaluation and validation of two microbiological tests for screening antibiotic residues in honey according to the European guideline for the validation of screening methods. *Food Additives & Contaminants A*, 30 234–243.
- Gaudin, V., Hedou, C., Verdon, E. (2013b) Validation of two ELISA kits for the screening of tylosin and streptomycin in honey according to the European decision 2002/657/EC. *Food Additives & Contaminants A*, 30 93–109.
- Gentili, A., Perret, D., Marchese, S. (2005) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for performing confirmatory analysis of veterinary drugs in animal-food products. *Trends in Analytical Chemistry*, 24 704–733.
- Gremilogianni, A.M., Megoulas, N. C., Koupparis, M. A. (2010) Hydrophilic interaction vs ion pair liquid chromatography for the determination of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk based on mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1217 6646–6651.
- Gómez-Pérez, M. L., Plaza-Bolaños, P., Romero-González, R., Martínez-Vidal, J. L., Garrido-Frenich, A. (2012) Comprehensive qualitative and quantitative determination of pesticides and veterinary drugs in honey using liquid chromatography – Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1248 130–138.
- Hammel, Y.-A., Mohamed, R., Gremaud, E., LeBreton, M.-H., Guy, P. A. (2008) Multi-screening approach to monitor and quantify 42 antibiotic residues in honey by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1177 58–76.
- Kaufmann, A., Roth, S., Ryser, B., Widmer, M., Guggisberg, D. (2002) Quantitative LC/MS-MS determination of sulfonamides and some other antibiotics in honey. *Journal of AOAC International*, 85 853–860.
- Kaufmann, A., Butcher, P., Maden, K., Walker, S., Widmer, M. (2011) Development of an improved high resolution mass spectrometry based multi-residue method for veterinary drugs in various food matrices. *Analytica Chimica Acta*, 700 86–94.
- Kaufmann, A., Butcher, P., Maden, K. (2012) Determination of aminoglycoside residues by liquid chromatography and tandem mass spectrometry in a variety of matrices. *Analytica Chimica Acta*, 711 46–53.
- Kaufmann, A., Butcher, P., Maden, K., Walker, S., Widmer, M. (2014) Multi-residue quantification of veterinary drugs in milk with a novel extraction and cleanup technique: salting out supported liquid extraction (SOSLE). *Analytica Chimica Acta*, 820 56–68.
- Kahsay, G., Song, H., Van Schepdael, A., Cabooter, D., Adams, E. (2014) Hydrophilic interaction chromatography (HILIC) in the analysis of antibiotics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 87 142–154.



- Kumar, P., Rubies, A., Companyó, R., Centrich, F. (2012) Hydrophilic interaction chromatography for the analysis of aminoglycosides. *Journal of Separation Science*, 35 498–504.
- Lopez, M. I., Pettis, J. S., Smith, I. B., Chu, P.-S. (2008) Multiclass determination and Confirmation of antibiotic residues in honey using LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 1553–1559.
- Mol, H. G. J., Plaza-Bolaños, P., Zomer, P., de Rijk, T. C., Stolker, A. A. M., Mulder, P. P. J. (2008) Toward a generic extraction method for simultaneous determination of pesticides, mycotoxins, plant toxins, and veterinary drugs in feed and food matrixes. *Analytical Chemistry*, 80 9450–9459.
- RASFF (2017) The Rapid Alert System for Food and Feed. 2016 Annual Report. European Commission, Health and Food Safety. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2017.
- RASFF (2018) Rapid alert system for food and feed (RASFF). Dostupno na: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchForm&cleanSearch=1> Pristupljeno 03.07.2018.
- Reybroeck, W. (2003) Residues of antibiotics and sulphoamides in honey on the Belgian market. *Apiacta*, 38 23–30.
- Reybroeck, W., Ooghe, S., Daeseleire, E. (2006) Presence of antibiotics and sulfonamides in honey and royal jelly on the European market. U: Proceedings of the Second European Conference of Apidology EurBee. Prag, Poljska.
- Reybroeck, W., Ooghe, S., De Brabander, H., Daeseleire, E. (2007) Validation of the tetrasensor honey test kit for the screening of tetracyclines in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 8359–8366.
- Reybroeck, W., Ooghe, S. (2010) Presence of antibiotics and chemotherapeutics in honey on the European market: Situation in 2009. U: Proceedings of the 4th European Conference of Apidology, EurBee. Ankara, Turska.
- Reybroeck, W., Daeseleire, E., De Brabander, H., Herman, L. (2012) Antimicrobials in beekeeping. *Veterinary Microbiology*, 158 (1-2) 1–11.
- Reybroeck, R. (2018) Residues of antibiotics and chemotherapeutics in honey. *Journal of Apicultural Research*, 57 (1) 97–112.
- Robert, C., Gillard, N., Brasseur, P.-Y., Pierret, G., Ralet, N., Dubois M., Delahaut, Ph. (2013) Rapid multi-residue and multi-class qualitative screening for veterinary drugs in foods of animal origin by UHPLC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants A*, 30 443–457.
- Sarlo, E. G., Medici, S. K., Porrini, M. P., Garrido, P. M., Floris, I., Euguaras, M. J. (2011) Comparison between different fumagillin dosages in the apiary control of *Nosemosis* type C. *Redia*, 64 39–44.
- Shendy, A. H., Al-Ghobashy, M. A., Gad Alla, S. A., Lotfy, H. M. (2016) Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to LC-MS/MS for simultaneous determination of multi-class antibiotic residues in honey. *Food Chemistry*, 190 982–989.
- Staub Spörri, A., Jan, P., Cognard, E., Ortelli, D., Edder P. (2014) Comprehensive screening of veterinary drugs in honey by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants A*, 31 806–816.
- Skinner, M., Taylor, R. B., Kanfer, I. (1993) The pH-stability and acid degradation of the macrolide antibiotic, josamycin. *European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 1 61–72.
- Solomun Kolanović, B., Bilandžić, N., Varenina, I., Božić, Đ. (2014) Tylosin content in meat and honey samples over a two-year period in Croatia. *Journal of immunoassay & immunochemistry*, 35 37–47.
- Stolker, A. A. M., Rutgers, P., Oosterink, E., Lasaroms, J. J. P., Peters, R. J. B., van Rhijn, J. A., Nielen M. W. F. (2008) Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC–ToF-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 2309–2322.
- Varenina, I., Bilandžić, N., Solomun Kolanović, B., Božić, Đ., Sedak, M., Đokić, M., Varga, I. (2016) Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of sulfonamides, trimethoprim and dapsone in muscle, egg, milk and honey. *Food Additives & Contaminants A*, 33 656–667.
- Vidal, J. L. M., Aguilera-Luiz, M. D. M., Romero-González, R., Frenich, A. G. (2009) Multiclass analysis of antibiotic residues in honey by ultraperformance liquid chromatography -tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 1760–1767.
- Wang, W., Shi, Z.-H., Kang, J., Li, X.-Y., Chang, Q.-Y., Fan, C.-L., Pang, G.-F. (2013) Simultaneous determination of 60 multiresidues of veterinary drugs in honey by modified QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 04.
- Williams, G. R., Sampson, M. A., Shutler, D., Rogers, R. E. L. (2008) Does fumagillin control the recently detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Invertebrate Pathology*, 99 (3) 342–344.