

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ СКРИНІНГУ ТА ПІДТВЕРДЖЕННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТРОНІДАЗОЛУ У ЗРАЗКАХ МЕДУ

Д. В. Янович, д-р с.-г. наук,  
О. І. Федякова, канд. біол. наук,  
М. В. Ридчук, канд. хім. наук  
З. С. Засадна, канд. біол. наук,  
С. М. Кіслова, науковий співробітник,  
С. І. Плотиця, молодший науковий співробітник

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведено основні шляхи забруднення меду метронідазолом, його дію і негативний вплив на живі організми. Представлені результати дослідження меду на вміст метронідазолу відображають тенденцію до зростання кількості зразків, забруднених цим антимікробним препаратом. Описано методики та проведено порівняльний аналіз скринінг-методу тест-системою *Kwinbon Biotechnology* (Китай) та підтверджуючого методу *ВЕРХ-МС/МС*.

**Ключові слова:** МЕТРОНІДАЗОЛ, НІТРОІМІДАЗОЛИ, ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ АНАЛІЗ, ВЕРХ-МС/МС, МЕД.

Для профілактики і лікування захворювань бджіл пасічники широко використовують антибіотики, не зважаючи на заборони та негативні наслідки у перспективі. У інтернет-магазинах і ветаптеках пропонується велика кількість препаратів для лікування бджіл з прихованими даними про вміст у них антибіотиків, залишкові кількості яких переносяться бджолами у мед. Тривалість зберігання залишків антибіотиків у меді залежить від його природи, походження, характеру взаємодії з компонентами продукту, зокрема моно- і дисахаридами. Окремі антибіотики зберігаються у товарному меді більше трьох років.

Найчастіше у вітчизняному меді виявляють залишки наступних груп антибіотиків та антимікробних препаратів: хлорамфеніколу, нітрофуранів, нітроімідазолів, сульфаніламідів, тетрациклінів та аміноглікозидів. Необхідно зазначити, що в Україні не зареєстровано жодного препарату для лікування бджіл, який би містив вищезгадані діючі речовини, а наявність їх залишків в меді є наслідком несанкціонованого та безконтрольного застосування бджолярами медичних препаратів, доступних в роздрібних аптеках гуманної медицини або завезених контрабандою препаратів для бджільництва з такими активними речовинами, зареєстрованих у сусідніх державах, зокрема, в РФ.

Все частіше з'являється інформація про забруднення меду нітроімідазолами. Нітроімідазоли – синтетичні антимікробні препарати з високою активністю щодо анаеробних бактерій і збудників протозойних інфекцій. Перший представник групи – метронідазол (MTZ, 1-(2-гідроксиетил)-2-метил-5-нітроімідазол, Рис. 1), – був дозволений для медичного застосування в 1960 р. Механізм дії нітроімідазолів полягає у вибіркового бактеріцидному ефекті щодо тих мікроорганізмів, ферментні системи яких здатні відновлювати нітрогрупу [8]. Активні відновлені форми препаратів порушують реплікацію ДНК і синтез білка в мікробної клітини, інгібують тканинне дихання. Нітроімідазоли активні щодо більшості анаеробів – як грамнегативних, так і грампозитивних: бактерій (включаючи *B. fragilis*), клостридій (включаючи *C. difficile*), *Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus*

*spp.*, *P. niger*, *G. vaginalis*. До нітроїмідазолу чутливі найпростіші (*T. vaginalis*, *E. histolytica*, *G. lamblia*, *L. intestinalis*, *E. coli*, *Leishmania spp.*), а також *H. pylori* [3, 10]. Найчастіше метронідазол застосовували для профілактики та лікування бджіл, заражених мікроспоридіями *Nosema Apis*.

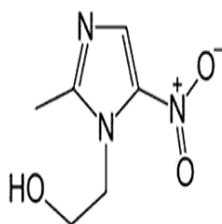


Рис. 1. Структурна формула метронідазолу.

Забруднення залишками метронідазолу виявляються в українському меді починаючи з 2012 року, зокрема, нашою лабораторією, а також низкою європейських лабораторій. Ширше вивчення нітроїмідазолів довело високу канцерогенність, мутагенність та токсичний вплив на організм людини їх метаболітів, що призвело до повної заборони застосування їх у країнах ЄС для лікування продуктивних тварин [9]. Згідно із регламентами Європейського Союзу (Додаток IV Регламенту ЄС № 2377/90 та 2205/2001, Регламент № 37/2010, Директива ЄС № 96/23/ЄС та ін.) заборонено також імпорт і реалізація продуктів тваринного походження, що містять залишкові концентрації нітроїмідазолів та їх метаболітів [4, 6]. В Україні застосування метронідазолу для лікування продуктивних тварин заборонено від 2002 р.

Для більшості продукції тваринництва вимоги до меж чутливості методів при визначенні у них небажаних речовин, зокрема, залишкових кількостей ветеринарних препаратів та пестицидів, обумовлює наявність затверджених мінімально допустимих рівнів (МДР), встановлених тільки для речовин, офіційно зареєстрованих у країнах ЄС. Для усіх інших субстанцій (які належать до категорії заборонених, або незареєстрованих для застосування тільки в окремих напрямках сільськогосподарського виробництва) межу встановлює чутливість аналітичного методу, а саме мінімально необхідна межа визначення (МНМВ). Щодо метронідазолу, то для нього не встановлено МНМВ. Натомість за визначення його залишкових кількостей у продуктах харчування, в тому числі, натуральному меді, аналітичні лабораторії використовують так звану «рекомендовану концентрацію» 3 мкг/кг, встановлену Референтною Лабораторією Європейського Союзу в Берліні (EU's Community Reference Laboratory (CRL) [5, 7].

Згідно із класифікацією методів випробувань, які використовують для контролю показників безпеки харчових продуктів, вони поділяються на скринінгові та підтверджуючі. Радіорецепторний аналіз (RIA/CHARM), імуоферментний аналіз (ELISA), біосенсорний імуоферментний аналіз (BAG) належать до скринінгових методів які виявляють наявність субстанції або клас субстанцій нижче регуляторного рівня [1, 2]. Ці методи високопродуктивні і використовуються для випробування великої кількості зразків, щоб виявити потенційно невідповідні результати. Вони розроблені для уникнення хибних результатів про відповідність. Хоча результати, одержані цими методами, часто добре корелюють з результатами, одержаними підтверджуючими методами, їх класифікують як напів-кількісні методи. Незважаючи на це, межа визначення цих методів не поступається методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ/УФ/ФЛД), а при визначенні таких залишків, як хлорамфенікол, нітрофурани та метронідазол, навіть значно перевищує здатність ВЕРХ виявляти залишки заборонених речовин.

Найвищим рівнем чутливості та селективності при визначенні залишкових кількостей антибіотиків, зокрема, метронідазолу, у продукції тваринного походження володіє метод високоефективної рідинної хроматографії з тандем-мас-спектрометричним детектуванням (ВЕРХ-МС/МС). Так, запропонована нами методика ВЕРХ-МС/МС кількісного визначення

вмісту метронідазолу в меді дозволяє селективно визначати аналіт з межею виявлення 0,1 мкг/кг та межею визначення 0,2 мкг/кг [11]. Цього цілком достатньо для забезпечення необхідного рівня контролю партій меду, що експортується українськими бджолярами до країн ЄС, де вимоги щодо показників якості та безпеки продукції тваринного походження є найвищими. Скринінг-метод імуноферментного аналізу тест-системами Kwinbon Biotechnology (Китай) характеризується ще вищою чутливістю визначення нітроїмідазолів у меді, а саме межею виявлення 0,05 мкг/кг та межею визначення 0,1 мкг/кг.

**Матеріали і методи. Реактиви.** Метанол (for HPLC, Sigma-Aldrich), вода високоочищена бідистильована (система Milli-Q, Millipore), формиатна кислота (Riedel-de-Haën), хлоридна кислота (Riedel-de-Haën), етилацетат (for HPLC, Sigma-Aldrich), гексан (HPLC, Lab-scan), тетрахлорметан (Pestiscan, Lab-scan), натрій карбонат (Sigma-Aldrich), натрій гідрокарбонат (Sigma-Aldrich).

**Стандарти.** Стандарт метронідазолу (Sigma-Aldrich, Vetrinal analytic standart). Основний стандартний розчин метронідазолу готували з первинною концентрацією 1 мг/мл у метанолі. Розчини зберігали впродовж двох місяців у щільно закритому посуді в темному місці за температури 2-8°C. Наступні розчини стандартів готували послідовними розведеннями 30% розчином метанолу.

**Обладнання.** Центрифужний випарювач фірми Genevac, ІФА рідер, рідинний хроматограф Waters Alliance e2695 Separation Module з квадрупольним мас-спектрометричним детектором Quattro Premier XE фірми Waters (США), обладнаний колонкою SunFire™ C18 (3.5 μm, 2.1 × 100 mm) із передколонукою SunFire™ C18 (3.5 μm, 2.1 × 10 mm) фірми Waters (США).

**Приготування зразків для аналізу методом ІФА.** До наважки 3 г меду додавали 3 мл 0,1 М карбонатного буферного розчину (рН 10,6). Перемішували на вортексі до повного розчинення. Досліджувані аналіти екстрагували 9 мл етилацетату впродовж 5 хв, центрифугували впродовж 5 хв за 3000 rpm і температури 20-25 °С. До 6 мл супернатанту додали 2 мл 2 М гідроксиду натрію, перемішували 5 хв. Центрифугували 5 хв за 3000 rpm і температури 20-25 °С. Відбирали 4 мл етилацетатої фракції та висушували за температури 40°C на центрифужному випарювачі.

Сухий залишок обезжирювали 1 мл гексану та розчиняли в 0,5 мл екстракційного буферу, струшували впродовж 1 хв. Центрифугували 5 хв за 3000 rpm і температури 20-25 °С. Відкидали органічну фракцію, а 50 мкл отриманого розчину використовували для аналізу. Фактор концентрування – 0,5.

Приклад отриманої калібрувальної кривої наведено на рис. 2.

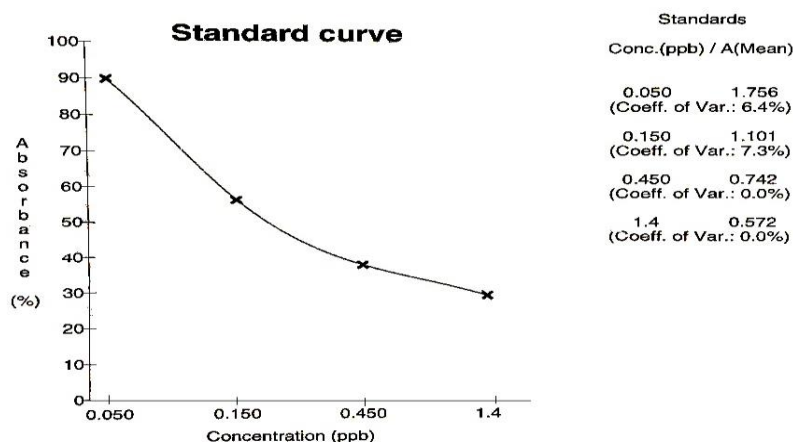


Рис. 2. Калібрувальна крива для визначення метронідазолу в меді методом ІФА з використанням тест-системи Kwinbon Biotechnology в діапазоні концентрацій 0-1,4 мкг/кг.

*Приготування зразків для аналізу методом ВЕРХ МС/МС.* До 3 г меду, зваженого в 50 мл центрифужну пластикову пробірку, додавали 4 мл 0,1 М карбонатного буферного розчину (рН 10,6) і нагрівали на водяній бані при 40 °С впродовж 5 хв. Перемішували на вортексі до повного розчинення меду. Аналіт екстрагували 12 мл етилацетату за допомогою шейкера в горизонтальній площині впродовж 15 хв 220 грт. Для розділення фаз центрифугували впродовж 10 хв за 4700 грт і температури 10 °С. Отриманий екстракт відмивали від солей буферу 2 мл бідистильованої води. Центрифугували 10 хв за 4700 грт і температури 10 °С. Відбирали 6,4 мл етилацетатної фракції (верхньої), що відповідає 1,6 г меду, і висушували за температури 40 °С на центрифужному випарювачі. Сухий залишок відновлювали 400 мкл 30 % водного розчину метанолу. Знежирювали з використанням 400 мкл розчину гексан/тетрахлорметан (1:1) і струшували на вортексі впродовж 20 с. Зразок кількісно переносили у мікропробірки типу «епендорф» і центрифугували 5 хв за 15000 г та кімнатної температури. Верхню фракцію переносили у віали для хроматографічного аналізу. Фактор концентрування – 4.

*Побудова калібрувальної кривої.* Для побудови калібрувальної кривої на матриці меду наважували по 3 г контрольного меду (вільного від метронідазолу) у шість 50 мл центрифужних поліпропіленових пробірок та вносили 0, 15, 30, 75, 150 та 300 мкл стандартного розчину метронідазолу концентрацією 10 нг/мл у 30 % водному розчині метанолу. В результаті концентрація метронідазолу у зразках калібрувальної кривої становила 0; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 та 1,0 мкг/кг відповідно.

Калібрувальна крива для визначення метронідазолу в меді методом ВЕРХ-МС/МС в діапазоні концентрацій 0-1,0 мкг/кг представлена на рис.3.

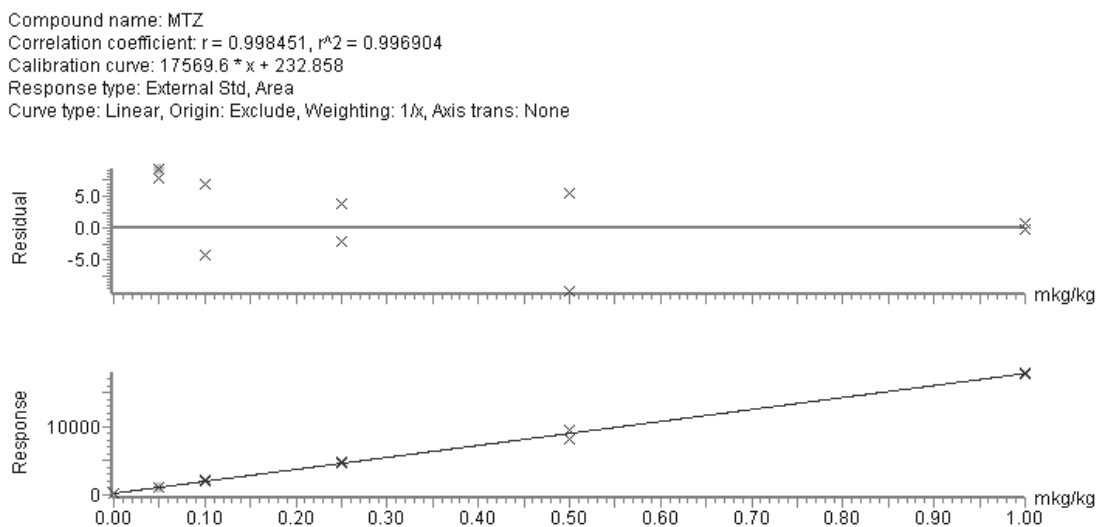


Рис. 3. Калібрувальна крива для визначення метронідазолу в меді методом ВЕРХ-МС/МС в діапазоні концентрацій 0-1,0 мкг/кг.

*Хроматографічний аналіз. Параметри хроматографічної системи:*

Мобільна фаза А – 0,1% розчин форміатної кислоти у воді;

Мобільна фаза В – 0,1% розчин форміатної кислоти у метанолі.

Швидкість потоку – 0,2 мл/хв

Об'єм зразка – 20 мкл.

Промивна рідина – метанол : вода 70%:30% (об./об.).

Температура колонки – 40 °С.

Час проведення розділення – 20 хв.

Розділення проводять за таким градієнтом представленим у таблиці 1.

Градiєнт мобільної фази у методиці визначення метронідазолу ВЕРХ-МС/МС

Час (хв)	Мобільна фаза А (% об./об.)	Мобільна фаза В(% об./об.)
0:00	90	10
3:00	90	10
8:00	10	90
12:00	10	90
13:00	90	10
17:00	90	10

Час виходу метронідазолу – 4,6 хв.

Параметри мас-спектрометричного детектора:

Час інтегрування – 20 хв.

Іонне джерело – електророзпилювач (ESI).

Температура джерела (Source Temperature) – 120°C.

Температура висушування (Desolvation Temperature) – 300 °C.

Газ зіткнення (Collision Gas) – аргон.

Тиск аргону –  $4,0 \times 10^{-3}$  mbar.

Газ висушування (Desolvation Gas) – азот.

Потік газу висушування – 900 L/hr

Газ розпилення (Nebulisation Gas) – азот.

Потік газу розпилення – 50 L/hr

Час сканування (Dwell) – 0,3 с.

Напруга капіляра (Capillary) – 3,8 kV.

Іонізація – ES+ (позитивна).

Режим сканування мас – MRM (режим моніторингу множинних реакцій) представлений в таблиці 2.

Таблиця 2

Параметри сканування мас (MRM) для ВЕРХ-МС/МС визначення метронідазолу в меді

Аналіт	Прекурсор-іон, m/z	Продукт-іон, m/z	Напруга конуса (Cone), V	Енергія зіткнення (Collision), V
MTZ	171,95	81,95	28	23
		127,90		15

Визначення вмісту метронідазолу в досліджуваних зразках меду (мкг/кг) проводили згідно калібрувальною кривою, використовуючи програмне забезпечення MassLynx V4.1.

**Результати й обговорення.** Визначення залишкових кількостей метронідазолу в меді проводили нашою лабораторією з 2012 р., використовуючи розроблену нами методику ВЕРХ-МС/МС, яку валідовано у відповідності до Рішення Єврокомісії 2002/657/ЕС [5].

На замовлення виробників меду за період 2017 р. за допомогою вищезгаданої методики проаналізовано 1054 зразки меду, в тому числі, партії призначені для експорту в країни ЄС (табл. 3).

Як видно з представлених даних, серед досліджених зразків меду українського виробництва майже 16 % були позитивними, тобто містили залишкові кількості метронідазолу вище межі виявлення методики, а саме > 0,1 мкг/кг, а в окремих випадках вміст метронідазолу перевищував 40 мкг/кг. Одержані дані підтверджують незаконне використання українськими пасічниками незареєстрованих в Україні препаратів, що містять метронідазол, а також необхідність проведення ретельного входного контролю сировини на українських підприємствах, що займаються виготовленням гомогенізованого меду з метою

його реалізації на внутрішньому ринку чи експорту в інші країни.

Таблиця 3

**Результати контролю зразків меду, проведеного у 2017 р, на вміст залишкових кількостей метронідазолу методом ВЕРХ-МС/МС**

Характеристика зразків меду	Періоди, квартали				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	За рік
Загальна кількість проаналізованих зразків	140	364	168	382	1054
Кількість зразків, в яких виявили залишки MTZ	13	56	31	69	169
Кількість зразків, в яких виявили залишки MTZ, %	9,3	15,4	18,4	18,1	16,0
Кількість зразків з концентрацією MTZ 0,5-1,0 мкг/кг	3	5	6	27	41
Кількість зразків з концентрацією MTZ 1-10 мкг/кг	4	15	14	36	69
Кількість зразків з концентрацією MTZ >10 мкг/кг	-	5	2	5	12

У виробничих лабораторіях саме метод імуноферментного аналізу дозволяє швидко та з потрібною чутливістю провести вхідний скринінг великої кількості зразків меду, щоб виявити невідповідні партії сировини. Тому нами було проведено перевірку ефективності тест-системи Kwinbon Biotechnology (Китай) Competitive Enzyme Immunoassay for Quantitative Analysis of Nitroimidazoles для визначення залишкових кількостей MTZ у меді шляхом порівняння отриманих експериментальних даних із результатами аналізу методом підтвердження (табл. 4).

Таблиця 4

**Порівняння результатів аналізу зразків меду на вміст метронідазолу методом ІФА та ВЕРХ-МС/МС (CV<sub>ВЕРХ-МС/МС</sub> ~ 20%; CV<sub>ІФА</sub> ~ 10%)**

Номер зразка	Вміст метронідазолу у зразках, отриманий методом ІФА, Kwinbon, мкг/кг	Вміст метронідазолу у зразках, отриманий методом ВЕРХ-МС/МС, мкг/кг
1	0,132 ± 0,013	0,110 ± 0,022
2	0,089 ± 0,009	0,070 ± 0,014
3	0,363 ± 0,036	0,276 ± 0,045
4	0,109 ± 0,011	0,177 ± 0,036
5	0,099 ± 0,010	0,117 ± 0,024
6	0,336 ± 0,034	0,136 ± 0,027
7	0,150 ± 0,015	0,200 ± 0,04
8	0,106 ± 0,011	0,210 ± 0,042
9	0,077 ± 0,008	0,054 ± 0,011
10	0,085 ± 0,009	0,033 ± 0,006
11	0,220 ± 0,022	0,172 ± 0,034

За порівняння результатів визначення метронідазолу у зразках меду з використанням методів ВЕРХ-МС/МС та ІФА встановлено, що значення, одержані імуноферментним методом корелюють з отриманими результатами підтверджуючого методу. Значне відхилення результатів методу ІФА у більшу сторону (наприклад, зразки № 3, 6, 10, 11) свідчить про можливий вміст у меді інших нітроїмідазолів. Так, за перехресної реакції чутливість методу для діметридазолу становить 216 %, ронідазолу – 82 %, орнідазолу – 18 % та менше 6 % для тинідазолу. Для зразків меду, що містили вищі концентрації метронідазолу, визначені методом підтвердження (напр. зразок № 8:, 0,210 мкг/кг для методу ВЕРХ-МС/МС і 0,106 мкг/кг – для методу ІФА) розбіжності можна пояснити, очевидно, із неспецифічним зв'язуванням матриці з антитілами планшета тест-системи, а також із великим різноманіттям самої матриці (впливом кольору, природи, походження).

Аналізуючи отримані результати, ми обчислили коефіцієнт кореляції результатів обох методик, який становить 0,5979, що свідчить про високий ступінь відповідності результатів. Отже, можна зробити висновок, що випробувана тест-система Kwinbon Biotechnology придатна для вхідного скринінг-контролю зразків меду на вміст метронідазолу виробничими лабораторіями.

## ВИСНОВКИ

1. Нітроїмідазоли, зокрема метронідазол – це синтетичні антимікробні препарати, що характеризуються високою активністю стосовно більшості анаеробних бактерій та збудників протозойних інфекцій. Ці препарати раніше використовували для профілактики та лікування анаеробних інфекцій птиці, великої рогатої худоби, свиней, а також нозематозу бджіл, викликаного спорами *Nosema Apis*. При потрапленні у організм людини з продуктами харчування, зокрема з медом, нітроїмідазоли та їх метаболіти можуть спричиняти канцерогенний, мутагенний та токсичний вплив на організм людини, викликати порушення балансу кишкової мікрофлори, алергічні реакції.

2. Для визначення рівня вмісту метронідазолу у меді застосовують скринінгові та підтверджуючі методи. Скринінговий метод імуноферментного аналізу поступається по селективності підтверджуючому методу ВЕРХ-МС/МС, проте його перевагою є висока чутливість, порівняно невелика вартість, експресність та доступність аналізу для лабораторій виробника. Натомість метод ВЕРХ-МС/МС, що вимагає дорогого обладнання, високоякісних реактивів та висококваліфікованого обслуговування, є більш точним та надійним. Отримані нами результати щодо кількості забруднених метронідазолом зразків та щодо концентраційних рівнів метронідазолу в них підтверджують необхідність вхідного контролю продукції для фірм-виробників. Кореляція між даними скринінгового та підтверджуючого методу вказує на перспективність використання тест-системи Kwinbon Biotechnology у системі контролю вмісту метронідазолу у зразках меду.

**Перспективи досліджень.** Встановлення ефективності тест-системи Kwinbon Biotechnology для визначення метронідазолу у зразках меду, що одночасно містить залишки інших нітроїмідазолів.

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE USE OF SCREENING AND CONFIRMATORY METHODS FOR METRONIDAZOLE DETERMINATION IN HONEY SAMPLES

*D. V. Yanovych, O. I. Fedyakova, M. V. Rydchuk, Z. S. Zasadna, S. M. Kislova, S. I. Plotycya*

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Product and Feed Additives  
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

### S U M M A R Y

Main ways of honey contamination with metronidazole and its effect and negative impact on living organisms are presented in the article. The indicated results of honey analysis on metronidazole content express the tendency for the number of contaminated honey samples to increase. The comparative analysis of the screening immunoassay using Kwinbon Biotechnology (China) test-kit and confirmatory LC-MS/MS method is performed.

**Keywords:** METRONIDAZOLE, NITROIMIDAZOLES, ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY, LC-MS/MS, HONEY.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ СКРИНИНГА И ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТРОНИДАЗОЛА В ОБРАЗЦАХ МЕДА

*Д. В. Янович, А. И. Федякова, М. В. Рыдчук, З. С. Засадна, С. М. Кислова, С. И. Плотица*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт  
ветеринарных препаратов и кормовых добавок  
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

## АННОТАЦІЯ

В статті приведені основні шляхи забруднення меду метронідазолом, його діяльність і негативний вплив на живі організми. Представлені результати аналізу меду на вміст метронідазолу, що відображає тенденцію до збільшення кількості зразків меду, забрудненого цим антимікробним препаратом. Описані методики та здійснено порівняльний аналіз скринінг-методу тест-системою Kwinbon Biotechnology (Китай) і підтверджуючого методу ВЭЖХ-МС/МС.

**Ключеві слова:** МЕТРОНИДАЗОЛ, НИТРОИМИДАЗОЛЫ, ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ, ВЭЖХ-МС/МС, МЕД.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Бобрицька Л. О.* Фізичні та фармакотехнологічні дослідження субстанції орнідазолу / Л. О. Бобрицька, Д. І. Дмитрієвський, М. І. Гончаров // Вісник фармації. – 2010. – № 2. – С. 13–15.
2. Державна Фармакопея України Допов. 2. / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2008. – 620 с.
3. *Нейко С. М., Вишиванюк В. Ю.* Ефективність орнідазолу при Нр асоційованій виразковій хворобі // Сучасна гастроентерол. – 2007. – № 1 (33). – С. 4–7.
4. British Pharmacopoeia. – London: HMSO, 2001. – Vol. 1. – 1359 p.
5. Commission Regulation (EC) No 508/1999 of 4 March 1999 amending Annexes I to IV to Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin.
6. Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996 on measure.
7. European Pharmacopoeia, Edn. 2004. Strasbourg. Council of Europe. Suppl.5.8–2570 p.
8. *Kublin E., Kaniewska T.* Identification and determination of antimycotic substances, derivatives of imidazole, by HPLC // J. pharm. belg. – 1998. – Vol. 53, No. 3. – P. 208.
9. *Megraud F. H.* Pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing // Int. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2004. – Vol. 53. – P. 1374–1384.
10. Comparison of the E-test and the NSSLS/approved agar dilution method to detect metronidazole and claritromycin resistant Helicobacter pylori / Osato M.S., Reddy R., Reddy S.G. et al. // World J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16 (40). – P. 5118–5121.
11. *Yanovych D, Korobova O., Rydchuk M.* The Cases of Metronidazole Residues Detection in Samples of Exported Honey // Abstract Book of XXXXIII International Apicultural Congress. – Kyiv, Ukraine, September 29 – October 04, 2013. Section "Beekeeping Technology and Quality".

**Рецензент** – І. М. Кушнір, д. вет. н., с. н. с., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.