

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP)
»NAŠA HRANA, PODEŽELJE IN NARAVNI VIRI« v letu 2022

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Šifra projekta:

V4-2227

2. 1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Razvoj multimetode za ugotavljanje ostankov prepovedanih zdravil v živilih

2.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Development of a multimethod for the determination of prohibited substances in food

3. Ključne besede projekta

3.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

Ostanki v veterini prepovedanih snovi, živila, potrditvena LC-MS/MS metoda

3.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

Prohibited veterinary drug residues, food, confirmatory LC-MS/MS method

4. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

18888 Andrej Kirbiš

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani (šifra RO 510)

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

Univerza v Ljubljani

6. Raziskovalno področje po šifrantu ARRS¹:

4.04.05 Zdravstveno varstvo živil živalskega izvora

7. Raziskovalno področje po šifrantu FOS²:

4.03 Veterina

8. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi? (v izbran kvadratale vtipkaš črko x)

☒ a) v celoti

☐ b) delno

☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

☐ a) da

☒ b) ne

¹ Spletni naslov šifrantu ARRS: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-vpp.asp>

² Spletni naslov šifrantu FOS: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/klasif-znan-FOS.asp>

Če so se, je potrebna utemeljitev:

2. Izvleček vsebinskega poročila o realizaciji predloženega programa dela ³:

Razvili smo postopek ekstrakcije, ki nam omogoča ekstrakcijo kloramfenikola, klorpromazina, dapsona, dimetridazola, hidroksidimetridazola, ronidazola, metronidazola, hidroksimetro-nidazola, 3-amino-2-oksolidinona, 5-metilmorfolino-3-amino-2-oksazolidinona, 1-amino-hidantoina hidroklorida, semikarbazid hidroklorida in hidrazina 3,5-dinitro-salicilne kisline iz različnih živil. Te snovi so v Uredbi Komisije (EU) št. 37/2010 o farmakološko aktivnih snoveh in njihovi razvrstitvi glede mejnih vrednosti ostankov v živilih živalskega izvora uvrščene v Tabelo 2 Prepovedane snovi. Nekatere od naštetih imajo določeno referenčno vrednost za ukrepanje (RPA), pri tistih ki te nimajo, pa smo upoštevali EURL guidance on minimum method performance requirements (MMPRs) for specific pharmacologically active substances in specific animal matrices, version 2, April 2022. Priprava vzorca vključuje kislinsko hidrolizo vzorca in s tem sprostitvev metabolitov nitrofurantov, ki so vezani na proteine. Skupaj s hidrolizo poteka tudi derivatizacija. Sledi nevtralizacija in čiščenje ekstraktov s QuEChERS (hitra, učinkovita, poceni, lahka, robustna in varna tehnika za ekstrakcijo - ang. Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe). Umeritveno krivuljo je vedno potrebno pripraviti v preskušancu, ker pomembno vpliva na meritev. Metodo smo preskusili na naravnih ovitkih za mesne izdelke (črevih) in mesu, enak postopek pa je mogoče uporabiti tudi za jajca in mleko. Meja detekcije je ustrezno nizka, s ponovljivostjo pri večini analitov ni težav. Napisali smo dokument z navodili za izvedbo celotnega postopka, standardni operativni postopek, ki je objavljen kot eden od dokumentov sistema kakovosti na intranetni spletni strani Veterinarske fakultete. V navodila so vključene tudi kritične točke postopka in vzorci za kontrolo kakovosti, s katerimi spremljamo veljavnost rezultatov (analiza slepega vzorca reagentov, slepega vzorca, obogatenega slepega vzorca in standardne raztopine enake koncentracije kot so v obogatenem vzorcu). Pripravili smo validacijski načrt skladen z Izvedbeno uredbo Komisije (EU) 2021/808. Kot prvi preizkušane smo izbrali ovčja čreva, naknadno smo validacijo razširili še na prašičja in goveja čreva. Z validacijo smo ugotovili, da je metoda primerna za ugotavljanje prisotnosti vseh v validacijo vključenih prepovedanih snovi. Z opisano metodo lahko simultano potrdimo identiteto ter določimo koncentracije vseh naštetih spojin razen klorpromazina in nitroimidazola karnidazola (CRZ). Za ugotavljanje identitete klorpromazina in koncentracije CRZ v

³ Na tem mestu je potrebno napisati izvleček vsebinskega raziskovalnega poročila -študije, ki je obvezen element tega obrazca (Priloga 1). V izvlečku mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

črevih metoda ni dovolj ponovljiva, da bi zadoščala kriterijem iz (EU) 2021/808. Še vedno pa lahko metodo uporabimo kot presejalno metodo za omenjena analita. Nadaljevali smo z validacijo govejega mesa, ki smo jo razširili še na perutnino, prašičje, ovčje meso in meso različnih rib. Rezultati validacije mesa so podobni kot pri črevih, le da aminogvanidina (AMG) ni mogoče določati, ker se pojavlja v vseh vrstah mesa, karnidazol je neponovljiv v prašičjem mesu, klorpromazina v ribjem mesu ni mogoče določati, ravno tako kot ne dapsona v sardinjem mesu zaradi prenizkega izkoristka. Vse ugotovitve so predstavljene v validacijskem poročilu. Z razvito metodo smo sodelovali v medlaboratorijski kontroli, ki jo je organiziral Evropski referenčni laboratorij (EURL) za ostanke zdravil v živilih živalskega izvora ANSES (EURL za antibiotike in barvila v živilih živalskega izvora). Prejeli smo dva vzorca črev, v katerih smo ugotavljali koncentracijo kloramfenikola. Rezultati obeh vzorcev so bili ocenjeni kot ustrezni. Pravilnost postopka za druge skupine analitov in preizkušancev smo dokazali s sodelovanjem na več komercialnih medlaboratorijskih primerjavah, saj pripravljena metoda vsebuje parametre iz različnih skupin prepovedanih snovi. V marcu je metodo in njeno validacijo podrobno pregledala zunanja ustanova, Slovenska akreditacijska služba. Predlagali so nekaj manjših popravkov, ki smo jih že izvedli in dokazila o tem poslali na Slovensko akreditacijo. Pričakujemo potrdilo o novem obsegu laboratorija, v katerem bo med akreditiranimi metodami tudi metoda, ki smo jo razvili in validirali v okviru tega CRP. Rezultate našega dela bomo predstavili zainteresirani javnosti na Slovenskem veterinarskem kongresu oktobra 2024.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen rezultatov in učinkov vašega raziskovalnega projekta⁴:

F.12 izboljšanje obstoječe storitve

F.24 izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev

F.26 izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev

G.08 varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta⁵:

⁴ Vpišete lahko več odgovorov. Uporabite šifrant rezultatov pod točko F, učinkov pod točko G), ki je dostopen na spletnem naslovu: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/inc/sif-razisk-rezult.pdf>

⁵ Šifrant je dostopen na spletnem naslovu: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/inc/klasif-druz-b-ekon-09.pdf>

8 Kmetijstvo – veterina in druge kmetijske znanosti

12.1 Splošni napredek znanja – Naravoslovne vede – kemijske vede

3.3. Kateri so neposredni rezultati vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

V okviru tega projekta smo razvili in validirali multi-metodo, ki izpolnjuje vse zakonske kriterije, da bo uporabna za uradni nadzor. Nadomestila bo več trenutno uporabljenih metod in omogočila boljši nadzor, saj bo v vsakem vzorcu preverjen širok nabor snovi. Ker jo je že presojal akreditacijski organ, bo že v letu 2025 uporabna za uradni nadzor.

3.4. Kakšni so lahko dolgoročni rezultati vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Ob pripravi načrta nadzora ostankov zdravil v živilih za leto 2025 bomo pristojnemu organu predlagali uporabo v CRP šifra V4-2227 razvite metode. Do sedaj smo uporabljali metode, ki so omogočale testiranje posamezne skupine snovi v vzorcu. Tak način dela predstavlja velik finančni zalogaj za naročnika, kar ima za posledico manjše število analiz glede na razpoložljiva sredstva, v laboratoriju pa predstavlja daljši čas izvedbe analiz in zasedenosti analitikov in opreme. Z razvito in validirano metodo pa bo mogoče testirati veliko več različnih skupin snovi v istem vzorcu. Poleg tega, da smo združili različne skupine v skupno metodo, smo dodali tudi nove preizkušance, uvrščene na leta 2022 posodobljen seznam snovi. Metoda nam bo omogočila nov sistem nadzora, ki bo zaradi večjega števila testiranih snovi zagotavljal učinkovitejši nadzor nad živili ne da bi pri tem presegli kapacitete laboratorija in močno povečali stroške nadzora. Snovi, ki jih odkrivamo z razvito metodo, dokazano ogrožajo zdravje ljudi, zato je nujna čimprejšnja odstranitev neskladnih živil.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

☐ a) v domačih znanstvenih krogih;

☐ b) v mednarodnih znanstvenih krogih;

X c) pri domačih uporabnikih;

☐ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Ker gre za zelo specifično področje, s katerim se ukvarja peščica laboratorijev v Evropi, bodo naše storitve koristile predvsem sofinancerju. Občasno jih bodo potrebovali uvozniki, ki živila živalskega izvora uvažajo iz tretjih držav, v katerih velja drugačna zakonodaja in je uporaba v Evropski skupnosti prepovedanih veterinarskih zdravil še vedno mogoča.

3.7. Število diplomantov, magistrrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi institucijami.

Datum: _____

Podpis vodje projekta:

ANDREJ KIRBIŠ Digitally signed by ANDREJ KIRBIŠ
Date: 2024.10.16 08:44:25 +02'00'

Podpis in žig izvajalca:

 Digitalni podpis
Podpisnik: Dekanja VF
Izdajatelj: SIGEN-CA G2
Številka certifikata: 00ACACE2C9000000005727C6F9
Potek veljavnosti: 12. 10. 2026
Čas podpisa: 16. 10. 2024 16:48
Št. dokumenta: 802-3/2024-20

Priloga 1: Vsebinsko poročilo – študija

Priloga 1 je obvezen element zaključnega poročila. Študija je raziskovalno poročilo za naročnika (MKGP), ki mora vključevati vse elemente raziskovalnega dela :

- *povzetek (v slovenskem in angleškem jeziku)*
- *opis problema in ciljev;*
- *kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature;*
- *uporabljena metodo dela;*
- *rezultati raziskave*
- *razprava, zaključki in priporočila naročniku.*
- *morebitne priloge k poročilu.*

Jasno je potrebna izpostaviti raziskovalni kontekst naloge, doseganje zastavljenih ciljev iz razpisa in tudi možnosti aplikacije in potrebe po dodatnih raziskavah.

Pričakujemo minimalni obseg poročila 20.000 znakov brez presledkov (brez prilog). Oblika poročila je prepuščena avtorjem. Priporočena je uporaba oblike in stila pisanja znanstvenih objav. Presoja študije bo potekala iz vsebinskega pa tudi oblikovnega vidika, saj bo objavljena na spletnih straneh digitalne knjižnice.

