

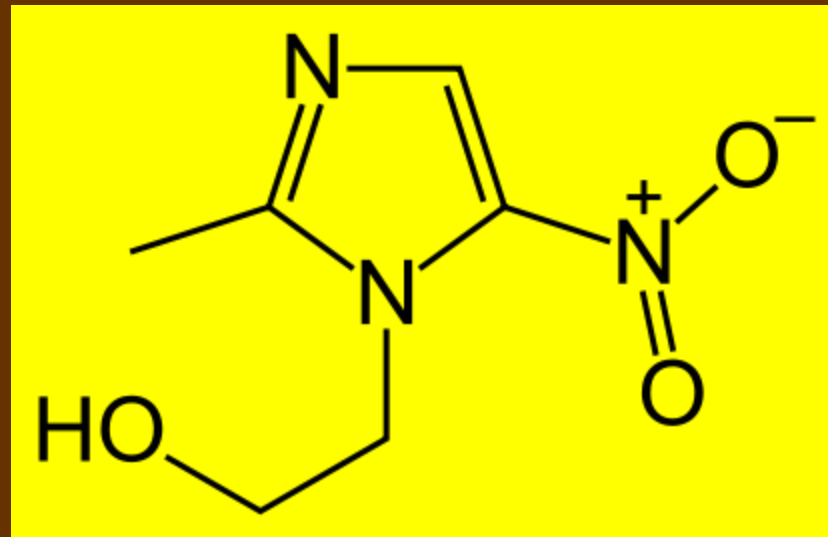
# **The Cases of Metronidazole Residues Detection in Samples of Exported Honey**

**Dr. Dmytro Yanovych**

The State Scientific-Research Control  
Institute of Veterinary Medical Products &  
Feed Additives, Lviv, Ukraine

[www.scivp.lviv.ua](http://www.scivp.lviv.ua)

**Metronidazole, the most noted representative of synthetic antimicrobial drugs nitroimidazoles, was used previously in veterinary medicine for the prevention and treatment of honeybees, infected by microsporidia Nosema Apis.**





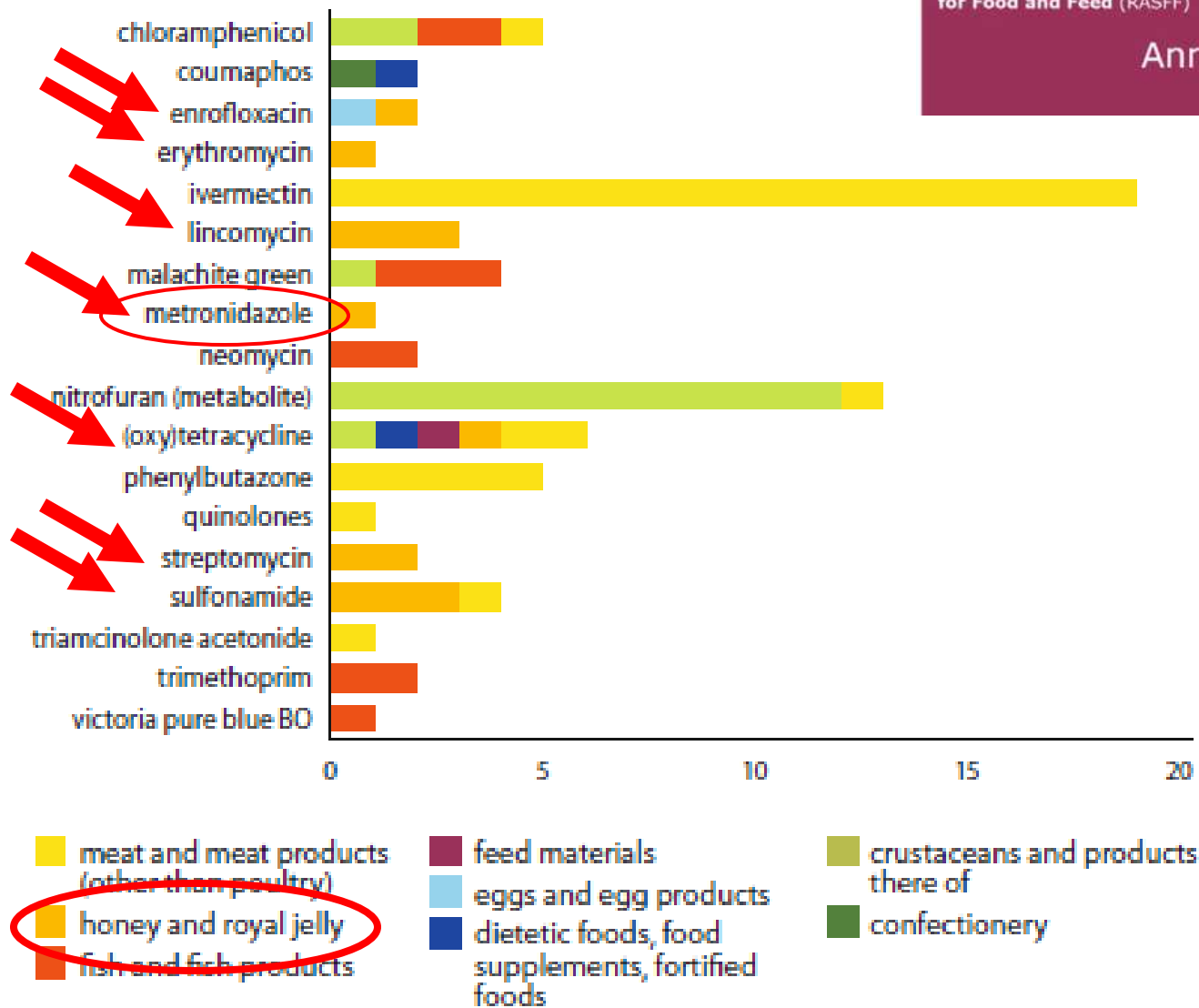
- Annex IV Council Regulation (EEC) No.2377/90 26.06.90
  - dimetridazole,
  - metronidazole,
  - ronidazole

**Extensive investigation of nitroimidazoles and their metabolites has proved their carcinogenicity and mutagenicity, which resulted in their prohibition for treatment of food-producing animals in EU. Annex IV to Council Regulation (EEC) No. 2377/90 forbids sale and import of food of animal origin containing the residues of nitroimidazoles and their metabolites.**

## VETERINARY DRUG RESIDUES

The Rapid Alert System  
for Food and Feed (RASFF)

Annual Report  
2010



# Nitroimidazoles ban in Ukraine was introduced in 2002



- ORDER SCVM №15 04.03.02  
**"The prohibition of the use of some veterinary drugs."**

- nitrofurans;
- ronidazole;
- dapsons;
- chloramphenicol;
- dimetridazole;
- chlorpromazine;
- chloroform;
- metronidazole.

- Annex IV Council Regulation (EEC) No.2377/90 26.06.90

- chloramphenicol,
- chloroform,
- chlorpromazine,
- colchicine,
- dapsons,
- dimetridazole,
- metronidazole,
- ronidazole
- nitrofurans (including furazolidone), nifursol nitrofurantoin, and nitrofurazone

**PROHIBITED**

**In order to promote exports of Ukrainian honey in beekeeping of Ukraine prohibited the use of therapeutic and prophylactic medicinal products containing antibiotics and sulfonamides including metronidazole .**

**In the course of 2011 the European Laboratory detected in Ukrainian honey metronidazole residues (Preliminary analysis of samples carried partner companies in Europe)**

**So it was necessary to develop the effective method to control metronidazole residues in honey. We have proposed confirmatory LC-MS/MS method, capable for metronidazole selective determination with LOQ of 0.2 ppb, which is even lower than recommended by EU's CRL in Berlin (3 ppb). Procedure's adequacy evaluation has shown its compliance with EU Commission Decision 2002/657/EC requirements.**



# LC/MS/MS nitroimidazole

(new method for honey sample)

## Honey:

sensitivity (LD) – 0,05ppb;

sensitivity (LQ) – 0,2ppb;

recovery – 62 - 83%;

**In spite of the fact of prohibition, our investigations have shown the presence of metronidazole traces in exported honey of Ukrainian origin.**



**In 20% of honey samples detected  
metronidazole residues**

**0,2-40 ppb\***

**\*- dates from laboratory of SCIVP**



# STATE MONITORING PLAN

[www.vet.gov.ua](http://www.vet.gov.ua)

http://www.vet.gov.ua/data/law\_ua/doc\_954.xls - Microsoft Internet Explorer

Адрес: http://www.vet.gov.ua/data/law\_ua/doc\_954.xls

Групи речовин, які будуть перевірені	Кількість зразків		СПОЛУКИ, ЩО АНАЛІЗУЮТЬСЯ	ОБ'ЄКТ АНАЛІЗУ	СКРИНІНГОВІ МЕТОДИ	ПІДТВЕРДЖУЮЧИ МЕТОДИ	МЕЖА ДЕТЕКТУВАННЯ СКРИНІНГОВОГО МЕТОДУ (µg/Kg)	МЕЖА ДЕТЕКТУВАННЯ ПІДТВЕРДЖУЮЧОГО МЕТОДУ (µg/Kg)	РІВЕНЬ МЕЖИ (µg/Kg)	
	МІН	ПЛАН								
А6	хлорамфенкол + нітрофурані + нитроїмазолі	33	80							
	ХЛОРАМФЕНКОЛ		40	Хлорамфенкол	Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,18	0,29	Позитивний результат
	НІТРОФУРАНИ				Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,6	1	Позитивний результат
	Метаболіти нітрофуранів		20	АНД	Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,6	1	Позитивний результат
	Метаболіти фуралатодону			АМОЗ	Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,6	1	Позитивний результат
	Метаболіти фуразолідону			АОЗ	Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,7	1	Позитивний результат
	Метаболіти нітрофуразону			SEM	Мед	ELISA	LC-MS/MS	0,6	1	Позитивний результат
			10	Дапсон	Мед		LC-MS/MS		10	Позитивний результат
			10	Колхіцин	Мед		LC-MS/MS		0,9	5
				Тетрациклін	Мед		LC-MS/MS		10	Позитивний результат
В1	АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ СУБСТАНЦІЇ	82	150							
				Хлортетрациклін	Мед		LC-MS/MS		10	Позитивний результат
				Окситетрациклін	Мед		LC-MS/MS		10	Позитивний результат
				Доксидин	Мед		LC-MS/MS		10	Позитивний результат
				Сульфадиметоксипіразол	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфадиметоксин	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфадіметоксин	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфадіанідин	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфадіазин	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфамезазин	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфаметоксазол	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфаметоксазол	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Сульфаніламід	Мед		HPLC/FLD		10	Позитивний результат
				Тілозин	Мед		LC-MS/MS		5	Позитивний результат
				Ністатин	Мед		LC-MS/MS		5	Позитивний результат
				Стрептоміцин	Мед		LC-MS/MS		40	Позитивний результат
				Еритроміцин	Мед		LC-MS/MS		20	Позитивний результат

Страница 1

Listed proposal for mandatory control in honey residues of metronidazole

ЯЛОВИЧИНА / СВИНИНА / КОНИНА / Курятина / Гусятина / АКВАКУЛЬТУРА-РИБА / МОЛОКО КОРОВ'ЯЧЕ / ЯЙЦА КУРЯЧІ / МЕД



**Using ELISA test gives a partial opportunity to resolve the issue of control in laboratories exporters**

# There is a need to conduct additional expensive analysis

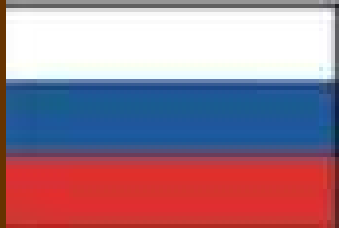
<b>chloramphenicol</b>	<b>&lt;0,3 ppb</b>
<b>streptomycin</b>	<b>&lt;10 ppb</b>
<b>tetracyclin</b>	<b>&lt;10 ppb</b>
<b>nitrofurantoin (AOZ)</b>	<b>&lt;0,6 ppb</b>
<b>nitroimidazoles (MTZ)</b>	<b>&lt;0,2 ppb</b>
<b>sulfonamide (STZ)</b>	<b>&lt;3 ppb</b>

\*- Ukrainian national plan for control veterinary drug residues

**Exporters of honey have to control every batch of honey. For one batch (20 ton) they must perform at least 10 tests for all the above parameters. The cost of such tests is very high so the cost of kits is a very important indicator**

**+ Nitroimidazole analysis**

# Causes of the problem





**The results obtained indicate possible illegal import of metronidazole preparations to Ukraine from neighbouring countries, where these drugs are permitted. Particularly, preparations “Nozemat” and “Nozemapol” with metronidazole as one of active substances are still registered in Russia for honeybees treatment.**

# Unauthorized use of Russian Veterinary Medical Products has led to the appear of metronidazole in Ukrainian honey

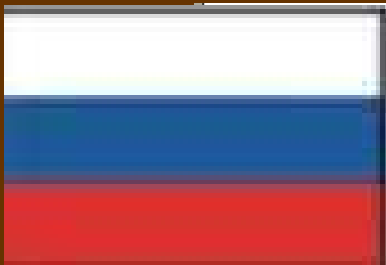


**Among 250 samples of Ukrainian honey analyzed in our laboratory 20% contained >0.5 ppb of metronidazole, and in individual cases >40 ppb. Obtained data confirm the suggestion that Ukrainian beekeepers may illegally use metronidazole containing preparations, which are not registered in Ukraine for beekeeping.**



**Nitroimidazoles ban in Russia was introduced in 2011 but only dimetridazole and ronidazole. But why not metronidazole**

**4.2 Honey and beekeeping products must not contain traces of chloramphenicol, chloropharmazene, colchicine, dapsone, dimetridazole, nitrofuranes or ronidazole. The content of coumaphos shall not exceed 100 mg/kg, and the content of amitraz shall not exceed 200 mg/kg**



## ЕДИНЫЕ ВЕТЕРИНАРНЫЕ (ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ) ТРЕБОВАНИЯ, предъявляемые к товарам,

последних 3 месяцев на территории хозяйства.

Мед и продукты пчеловодства должны быть признаны пригодными в пищу.

К ввозу на таможенную территорию таможенного союза и (или) перемещению между Сторонами не допускаются мед и продукты пчеловодства:

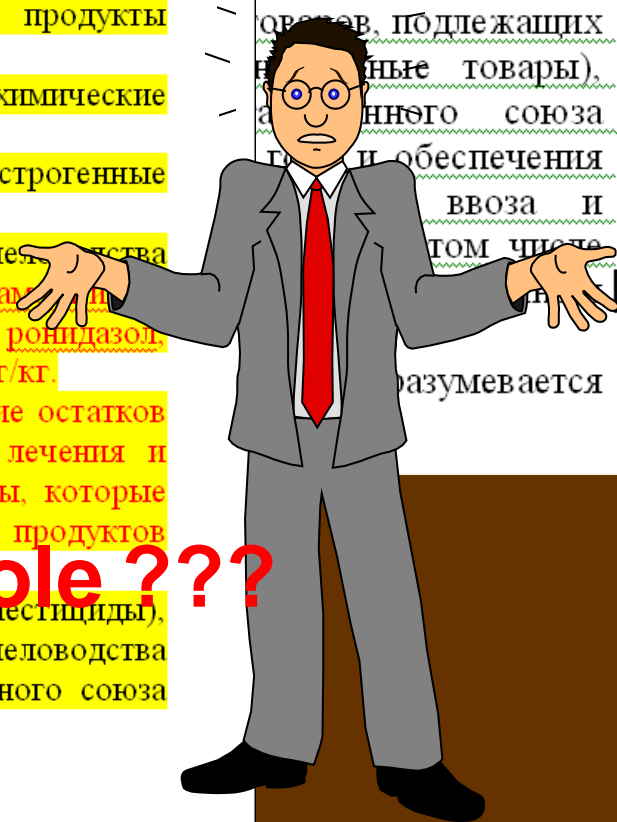
- имеющие измененные органолептические, физико-химические показатели или нарушения целостности упаковки;
- содержащие натуральные или синтетические эстрогенные гормональные вещества, тиреостатические препараты.

Не допускается наличие в натуральном меде и продуктах пчеловодства остатков таких лекарственных препаратов как хлорамфеникол, хлорфармазин, колхицин, дапсон, диметридазол, нитрофураны, ронидазол, а также кумафос – не более 100 мкг/кг и ампизид – не более 200 мкг/кг.

Не допускается в меде и продуктах пчеловодства содержание остатков других лекарственных препаратов, которые применялись для лечения и обработки пчел. Производитель должен указывать все пестициды, которые были использованы в ходе сбора меда и производства продуктов пчеловодства.

Химико-токсикологические (тяжелые металлы, пестициды), радиологические и другие показатели меда и продуктов пчеловодства должны соответствовать действующим на территорию таможенного союза ветеринарным и санитарным правилам и нормам.

адзору)  
онные) требования,  
контролю (надзору)  
ов, подлежащих  
ые товары),  
нного союза  
и обеспечения  
ввоза и  
том числе  
азумевается



**But why not metronidazole ???**

# Conclusions

**Estimation of available Internet data has shown that mentioned veterinary drugs are actually offered for Ukrainian beekeepers. The presence of banned substance in honey may be dangerous for consumers' health as well as result in negative effect on trade relations of Ukraine with EU.**