

## **ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПАНГАСИУСА В РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ**

**Красникова М.С., Брюсова М.Б., Козлова А.Д., Горбачева Н.С.,  
Долинская К.Г., Лозовая Е.А., Яцентюк С.П.**

ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации  
лекарственных средств для животных и кормов», Москва,  
Российская Федерация

*Ассортиментная фальсификация рыбной продукции осуществляется путем замены одного более ценного вида рыбы на другой, менее ценный. Часто подмену морских видов рыб осуществляют таким аквакультурным пресноводным видом, как пангасиус. Подобная фальсификация может приводить к снижению питательной ценности продукции, а также влиять на здоровье потребителей. Разработана методика выявления ДНК рыб семейства Pangasiidae в рыбной продукции с помощью ПЦР в режиме «реального времени». Методика протестирована на 111 образцах рыбной продукции, отобранной в московском регионе. В пяти образцах выявлена ДНК пангасиуса, не заявленного в составе. Предложенная методика может быть рекомендована для совершенствования контроля рыбной продукции и выявления фальсификации. **Ключевые слова:** рыбная продукция, рыба, пангасиус, фальсификация, ДНК, ПЦР в режиме «реального времени».*

## **DETECTION OF PANGAS DNA IN FISH PRODUCTS BY REAL- TIME PCR**

**Krasnikova M.S., Bryusova M.B., Kozlova A.D., Gorbacheva N.S.,  
Dolinskaya K.G., Lozovaya E.A., Yatsentyuk S.P.**

Federal State Budgetary Institution «The Russian State Center for Animal  
Feed and Drug Standardization and Quality», Moscow, Russian Federation

*Assortment fish fraud is carried out by replacing one more valuable fish species with another, less valuable one. Often, marine fish species are substituted with such aquacultured freshwater fish as Pangas. Such falsification can lead to a decrease in the nutritional value of the product, as well as affect the health of consumers. A method for detecting Pangasiidae family DNA in fish products using RT-PCR has been developed. The method was tested on 111 fish products from Moscow region retail. Pangas DNA, not declared in the composition, was detected in five samples. The proposed method can be recommended for improving the control of fish products and detecting falsification. **Keywords:** fishery products, fish, pangas, fish frauds, DNA, real-time PCR.*

**Введение.** Пангасиус является популярной пресноводной рыбой, часто встречающейся на прилавках магазинов во многих странах. К пангасиусам относят представителей двух родов семейства *Pangasiidae* сомообразных рыб. Пангасиуса разводят на специальных фермах, по большей части, в южноазиатских странах, особенно во Вьетнаме в устье реки Меконг. Он быстро растет, хорошо переносит различные условия содержания и имеет высокую плодовитость, что делает его привлекательным для коммерческого разведения.

Пангасиус, как любая рыба, весьма полезен в рационе человека, однако, нарушения безопасной технологии выращивания этой рыбы приводят к накоплению в рыбной продукции вредных веществ и микроорганизмов. Исследования зарубежных специалистов показали случаи опасного превышения содержания ртути [1] и алюминия [2] в филе пангасиуса, импортируемого из Вьетнама. По этой причине некоторые страны ограничили закупки пангасиуса во Вьетнаме. По неопубликованным данным пищевого мониторинга, проведенного за 7 месяцев 2024 года в ФГБУ «ВГНКИ» Россельхознадзора, в исследованных образцах пангасиуса, поступавшего из Вьетнама, выявляли значительное превышение допустимого содержания мышьяка и антибиотиков тетрациклиновой группы. Тем не менее, к настоящему моменту поступление пангасиуса из Вьетнама в Россию остается на высоком уровне.

В последние годы в мировом масштабе все чаще выявляются случаи преднамеренной подмены рыбной продукции [3]. Дешевизна выращивания пангасиуса делает его одним из видов рыб, которыми выгодно подменять более ценную рыбу в случаях, когда визуальная идентификация вида рыб недоступна. Это делает актуальной разработку быстрых скрининговых методов выявления фальсификации рыбной продукции.

Задачей данной работы была разработка методики на основе ПЦР в режиме «реального времени» для выявления ДНК пангасиуса в разных видах рыбной продукции.

**Материалы и методы исследований.** В работе использованы 111 образцов рыбной продукции (филе, фарш, котлеты, рыбные палочки, крабовые палочки, готовые салаты и др.), отобранной из торговых точек в московском регионе, а также контрольная панель, включающая 41 образец ДНК промысловых видов костистых рыб, некоторых млекопитающих и птиц, идентифицированная методом секвенирования митохондриального генома.

Выделение суммарной ДНК проводили коммерческим набором ДНК Сорб-ГМО Б (ООО Синтол). Амплификацию проводили с использованием подобранных специфических олигонуклеотидов и готовой смеси для ПЦР 5X Fast probe qPCR Mastermix (ООО БелБиоЛаб). Для проведения амплификации, детекции продуктов и анализа результатов использовали приборы Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

**Результаты исследований.** Разработана методика выявления генетического материала пангасиуса в рыбной продукции с помощью

полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени». Методика основана на использовании специфических праймеров, комплиментарных к фрагменту гена 16S рРНК митохондрия пангасиевых рыб и олигонуклеотидов, амплифицирующих ДНК, общую для всех животных, в целях контроля качества выделения ДНК и предотвращения получения ложноотрицательных результатов.

При исследовании контрольной панели методика показала 100% специфичность. Предел абсолютной чувствительности методики составил  $1 \times 10^4$  копий/мл. Показана возможность использования методики для исследования образцов, подвергшихся кулинарной обработке (воздействие температуры, соли и уксуса).

При апробации предложенной методики выявлено несоответствие маркировке и обнаружена ДНК пангасиуса, не заявленная производителем в составе пищевого продукта. Наличие ДНК пангасиуса выявили в трех образцах филе, рыбной котлете и крабовых палочках разных производителей. Несответствия, выявленные методикой, в однокомпонентной продукции (филе) подтверждали секвенированием по ГОСТ 34106-2017 [4] и получили 100% идентичность фрагментов с соответствующими последовательностями *Pangasianodon hypophthalmus*.

**Заключение.** Разработанная методика выявления ДНК пангасиуса может быть использована для тестирования разных видов рыбной продукции с высокой эффективностью. Полученные результаты выявлений фальсификации подчеркивают актуальность контроля рыбной продукции. Предложенная методика может быть полезна для мониторинга пищевой безопасности и выявления случаев фальсификации на рынке.

**Литература.** 1. Ferrantelli V., Giangrosso G., Cicero A., et al. Evaluation of mercury levels in Pangasius and Cod fillets traded in Sicily (Italy) // *Food Additives & Contaminants - 2012 - Part A*. 29(7). P. 1046–1051. 2. Gisele Silva Costa Duarte, Ricardo Massato Takemoto, Mirian Ueda Yamaguchi, Liliane Stedile de Matos and Gilberto Cezar Pavanelli. Evaluation of the Concentration of Heavy Metals in Fillets of *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878), Panga, Imported From Vietnam // *International Journal of Development Research – 2019 - 09(10)*. P. 30181-30186 3. ФАО. 2018. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры 2018 – Достижение целей устойчивого развития. Рим. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO 4. ГОСТ 34106-2017 Продукция пищевая и сырье. Метод секвенирования фрагментов митохондриального генома животных и рыб для определения видовой принадлежности в однокомпонентной продукции. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/64819/> (дата обращения 27.08.24).