

Zakład Farmakologii i Toksykologii,

*Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, PIWet. w Puławach

NIEDZIELSKA J., WOŹNIAK B. *, POSYNIAK A.

Ocena immunoenzymatycznych metod oznaczania klenbuterolu w materiale biologicznym

Method evaluation of enzyme immunoassays for determination of clenbuterol in biological samples

Klenbuterol, lek z grupy β -agonistów, może być nielegalnie stosowany w tuczu zwierząt jako stymulator wzrostu. Obecność tego leku w produktach spożywczych zwierzęcego pochodzenia może zagrażać zdrowiu konsumentów ze względu na rozległe działania uboczne. W badaniach monitoringowych pozostałości klenbuterolu są wykrywane i oznaczane metodami chromatograficznymi, lub przy użyciu testów enzymatycznych. Do wstępnych, skryningowych analiz szczególnie przydatne są testy immunologiczne (ELISA) ze względu na możliwość jednoczesnego przebadania dużej ilości próbek.

W ramach przeprowadzonych badań dokonano oceny porównawczej przydatności trzech różnych testów ELISA przeznaczonych do wykrywania klenbuterolu w materiale biologicznym. Zestawy odczynników do przeprowadzenia reakcji ELISA pochodziły z firm Ridascreeen, Randox oraz Euro-Diagnostica i były przekazane nieodpłatnie. Do badań przygotowano próbki moczu i wątrób wieprzowych, do których uprzednio dodano określone ilości klenbuterolu.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że dwa testy nadawały się do bezpośredniego oznaczania klenbuterolu w próbkach moczu. Natomiast w trzecim teście wykonanie analiz możliwe było dopiero po oczyszczeniu próbki moczu przy zastosowaniu techniki powinowactwa immunologicznego.

Pewne trudności występowały przy wykonywaniu oznaczeń w próbkach wątrób. Zastosowana procedura ekstrakcji do fazy stałej (SPE) niezbyt dokładnie oczyszczała otrzymywane ekstrakty i w efekcie otrzymywano fałszywie dodatnie wyniki. Procedura z techniką powinowactwa immunologicznego wymagała złożonego postępowania, co wydłużało czas przygotowania próbek. Najbardziej przydatny wydaje się być test, w którym zastosowano do oczyszczania ekstraktów podział między dwie nie mieszające się fazy. Pewnym ograniczeniem jakie pojawiło się przy tym teście były dość niskie odzyski (ok. 65%).

Z przeprowadzonych badań wynika, że zastosowane procedury przygotowujące próbki do badań nadają się do wykonania oznaczeń klenbuterolu przy zastosowaniu chromatografii cieczowej natomiast dla testów ELISA próbki materiału biologicznego muszą być dokładniej oczyszczane, dotyczy to szczególnie próbek wątroby.

Dostępne na rynku zestawy do oznaczeń klenbuterolu nie zawsze umożliwiają wykonanie prawidłowych oznaczeń zawartości tego leku w tkankach zwierząt przy użyciu testów ELISA, w związku z czym należy dokładnie sprawdzić ich przydatność przed zastosowaniem do rutynowych oznaczeń.