

Dokaz ostataka sulfonamida brzim laboratorijskim testom

Damir Kaša

Stručni rad – Professional paper

UDK: 577.18.01

Sažetak

Sulfonamidi se koriste kao aditivi u krmivima, a značajnu ulogu imaju u tretiranju bakterijskih bolesti, ponajprije mastitisa, intestinalnih infekcija te upale pluća. Negativna strana provođenja antimikrobne terapije muznih životinja je ostatak sulfonamida u mlijeku i mliječnim proizvodima. Svrha ovoga rada je provjera ostataka sulfonamida u mlijeku u odnosu na dopuštene koncentracije prema Pravilniku... (NN RH 39/2003.). Za određivanje koncentracije ostataka sulfonamida korišten je laboratorijski test LabSULFAmilk proizvođača Frank analab d.o.o. U 10 % pretraženih uzoraka utvrđena je pozitivna reakcija na ostatke sulfonamida.

Ključne riječi: mlijeko, ostatci sulfonamida

Uvod

Zdravstvena ispravnost mliječnih proizvoda ovisi ponajprije o sirovini iz koje se proizvode, dakle o mlijeku, potom o okolnostima njegova dobivanja i o tehnološkom procesu proizvodnje kao i o okolnostima njihova čuvanja na mjestu proizvodnje, tržištu ili vlastitom domaćinstvu potrošača. Pod zdravstvenom ispravnošću namirnica podrazumijevamo razinu njihova zagađenja, odnosno nalaz štetnih tvari koje mogu ugroziti zdravlje ljudi. Do kemijskog onečišćenja mlijeka i ugrožavanja javnog zdravstva dolazi upotrebom veterinarskih lijekova u terapijske svrhe i dodatkom stočnoj hrani te upotrebom kemijskih sredstava u zaštiti bilja (Benić, 2001.; Hadžiosmanović, 2001.).

Ekonomska korist od korištenja veterinarskih lijekova opravdava njihovu primjenu iako postoji i određeni rizik zbog mogućnosti zaostajanja farmakološki aktivnih tvari u jestivim životinjskim proizvodima. Suvremene kontrole mlijeka provjeravaju zdravstvenu ispravnost i preradbenu kakvoću. Za kontrolu rezidua danas se koristi program “u tri koraka” koji uključuje izdvajanje pozitivnih uzoraka, utvrđivanje podrijetla lijeka te potvrdu i kvantifikaciju molekule. U tu svrhu dostupni su brojni vrlo osjetljivi mikrobni i kemijski postupci. Kemijske su metode visoko specifične što je prednost pri potvrdi rezultata, ali zahtijevaju orijentaciju o tipu tražene molekule (Aureli i sur. 1996.).

Današnje metode monitoringa neprestano se ponovno vrednuju i provjeravaju, a prednost se daje postupcima kojima se otkriva veći broj ostataka antibiotika i sulfonamida; a troškovi izvođenja su mali. Korištenjem testnih sojeva (*B. stearothermophilus*, *M. luteus*, *Str. thermophilus*, *B. subtilis*), sastava podloge, dodatkom trimetoprima i indikatora razvijeni su brojni testni sustavi.

S obzirom da je promet mlijeka liječenih životinja zabranjen ukoliko je količina rezidua veterinarskih lijekova iznad vrijednosti navedenih u Pravilniku o količinama pesticida... (Narodne novine RH 39/2003.), svrha ovoga rada je provjera zdravstvene ispravnosti mlijeka s obzirom na ostatke sulfonamida te procjena dobivenih rezultata s dopuštenim količinama prema Pravilniku o količinama pesticida... (Narodne novine RH 39/2003.).

Materijal i metode

Utvrđivanje ostataka sulfonamida provedeno je na uzorcima kravljeg mlijeka (n=30) individualnih proizvođača različitih poljoprivrednih gospodarstava iz sabirališta u Pitomači. Muzne životinje držane su u stajskim uvjetima, a o njihovom zdravlju brinu se stručnjaci veterinarske ambulante.

Za određivanje ostataka sulfonamida u mlijeku korišten je LabSULFAMilk test proizvođača *Frank analab d.o.o.*, Hrvatska. To je brz laboratorijski polukvantitativni kolorimetrijski test za utvrđivanje prisustva sulfonamida u mlijeku. Vrlo je pogodan za terenske uvjete jer nije potrebna prethodna priprema i obrada uzoraka. Laboratorijski pribor nije zahtjevan (stalak za epruvete i epruvete, stakleni lijevak i filter-papir te pipete). U upotrebi su četiri vrste različitih kemikalija čiji je kemijski sastav proizvođač zaštitio. Vrijeme potrebno za analizu jednog uzorka je oko 15 minuta. Interpretacija rezultata obavlja se na osnovi usporedbe različitih nijansi specifične ružičaste boje koja se razvija u kemijskoj reakciji eventualno prisutnih sulfonamida i testnih kemikalija. U prilogu testu nalazi se tablica odnosa intenziteta boje i koncentracije sulfonamida. Reakcija je osjetljiva na sulfatiazol, sulfamerazin, sulfametazin, sulfadimetokin, sulfametoksazol, sulfagvanidin, sulfacetamid, sulfakinoksalin, sulfaklozin, sulfametoksipiridazin i sulfanilamid. Granica osjetljivosti testa je 100 ppb, što odgovara dopuštenoj vrijednosti rezidua sulfonamida u mlijeku prema Pravilniku o količinama pesticida... (NN RH 39/2003.).

Usporedno sa svakim testnim uzorkom učinjena je i slijepa proba te na taj način isključena pojava "lažno pozitivnih", odnosno "lažno negativnih" rezultata.

U prilog pouzdanosti LabSULFAmilk testa govore i rezultati njegove provjere korištenjem HPLC metode (Bažulić i sur., 2002.). Autori navode da je pridržavanjem uputa test lako izvesti bez upotrebe dodatnih kemikalija i posebnog pribora jer ne pokazuje "lažno pozitivne" ili "lažno negativne" rezultate, a s obzirom na koncentraciju spojeva koji se nalaze u testovima, ne treba očekivati negativne učinke primjenom dobre laboratorijske prakse.

Rezultati i rasprava

U preliminarnom dijelu istraživanja (tablica 1.) u svrhu kontrole testa LabSULFAmilk uzet je uzorak mlijeka krave liječene TRIMETOSUL 48 % suspenzijom apliciranom i/m nakon postavljene dijagnoze *mastitis chatarrhalis*.

Tablica 1: Koncentracija sulfonamida u uzorku mlijeka nakon terapije

Table 1: Concentration of sulphonamide residues after therapy

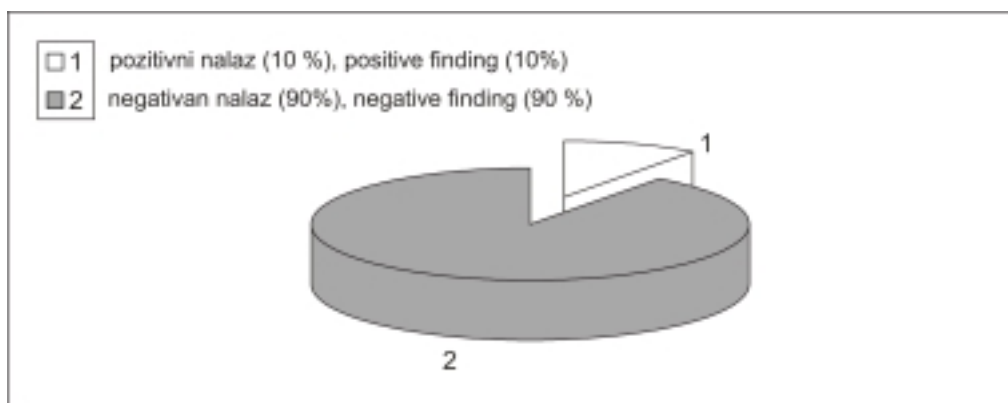
| Vrijeme uzimanja uzorka nakon terapije Time of sampling after therapy | Utvrđena koncentracija sulfonamida Concentration of sulphonamide residues |
|--|--|
| 24 h | 200 ppb |
| 48 h | 100 ppb |
| 72 h | negativno |

Uzorci mlijeka uzeti su 24 sata nakon terapije. Brzim laboratorijskim testom u uzorku je utvrđena specifična ružičasta boja koja svojim intenzitetom odgovara koncentraciji sulfonamida od 200 ppb. Paralelno je rađena i kontrola na uzorku svježeg pasteriziranog mlijeka pri čemu nije utvrđena promjena boje. Uzorak mlijeka je ponovno uzet 48 sati nakon terapije te je također utvrđen pozitivan rezultat na rezidue sulfonamida koji odgovara koncentraciji od 100 ppb. Posljednji uzorak je uzet 72 sata nakon terapije i nije utvrđena promjena boje što ukazuje na negativnu reakciju. Na osnovi dobivenih rezultata može se smatrati da nakon 72 sata po posljednjoj aplikaciji lijeka u mlijeku više nema rezidua sulfonamida.

Rezultati određivanja koncentracije sulfonamida u uzorcima mlijeka uzorkovanim na terenu prikazani su u grafikonu 1.

*Grafikon 1: Rezultati određivanja koncentracije sulfonamida u mlijeku
(N = 30)*

Graph 1: Results of sulphonamides residues concentration in milk (N = 30)



Prisutnost ostataka sulfonamida utvrđena je u tri uzorka (10 %). U jednom uzorku je iznosila 200 ppb, dok je u druga dva uzorka ta vrijednost bila 100 ppb. Negativna strana provođenja antimikrobne terapije muznih životinja ostatak je biološki aktivnih tvari u mlijeku i mliječnim proizvodima. Osim značajne uloge u tretiranju bakterijskih bolesti, ponajprije mastitisa, intestinalnih infekcija te upale pluća, sulfonamidi se koriste i kao aditivi u krmivima. Kravlje mlijeko u kojem koncentracija sulfonamida iznosi više od 100 ppb, prema Pravilniku o količinama pesticida... (NN RH 39/2003.) ne smije biti stavljeno u promet.

Zaključak

Sve veća upotreba antibiotika i sulfonamida u stočarstvu uvjetuje pojačanu sustavnu provjeru ostataka veterinarskih lijekova u mlijeku. Rezultati ovog rada pokazuju da u 10% uzoraka mlijeka uzorkovanih sa sabirnog mjesta sadrži nedopuštenu koncentracija sulfonamida.

EVIDENCE OF SULPHONAMIDE RESIDUES BY RAPID LABORATORY TEST

Summary

In addition to the significant role in the treatment of bacterial diseases, primarily mastitis, intestinal infections and pneumonia, sulphonamides are

used as fodder additives. The disadvantage of antimicrobial therapy in dairy cows is the residue presence, of biologically active substances, in milk and milk products. The purpose of this paper is to control milk for sulphonamide residues in relation to the amounts as permitted by the Regulations (Official Gazette of the Republic of Croatia No. 39/2003). To determine sulphonamides, the laboratory test LabSULFAmilk, manufactured by Frank analab d.o.o., was used. Positive reaction to sulphonamide residues was found in 10 % of the examined samples.

Key words: milk, sulphonamide residues

Literatura

AURELI, P., A. M. FERRINI, V. MANNONI (1996.): Presumptive identification of sulphonamide and antibiotic residues in milk by microbial inhibitor tests, Food Control, Vol. 7, No. 3, pp.165-168

BAŽULIĆ, D., G. STUHE, M. GRUBELIĆ, J. SAPUNAR-POSTRUŽNIK, H. KUBALA-DRINČIĆ, D. MAJNARIĆ (2002.): Valjanost screening testa za određivanje sulfonamida. Veterinarski dani, 2002. Znanstveno-stručno savjetovanje s međunarodnim sudjelovanjem. Zbornik, str. 57-58.

BENIĆ, M. (2001.): Mastitis u krava. Tečaj Mastitisi. Suzbijanje mastitisa i kakvoća mlijeka na obiteljskim polj. gospodarstvima. Hrvatski veterinarski institut. Garmond, Zagreb.

HADŽIOSMANOVIĆ, M. (2001.): Ocjena higijenske kakvoće mlijeka. Tečaj mastitisi. Projekt: Razvitak službi za potporu obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Zagreb, 2001.

Pravilnik o količinama pesticida... (NN RH 39/2003.)

Kaša, D. (2003.): Dokaz ostataka sulfonamida u mlijeku brzim laboratorijskim testom. Zavod za higijenu i tehnologiju animalnih namirnica. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Diplomski rad. Str. 26.

Adresa autora – Author's addresses:

Damir Kaša, dr. vet. med.

J. J. Strosmyera 61, Pitomača

Prispjelo – Received: 20. 01. 2004.

Prihvaćeno – Accepted: 06. 05. 2004.