

Nachweis von β -Lactam-Antibiotika in Milchlischgetranken mit dem Delvo-X-Press Test

R. PFLEGER und E. ZIEGELWANGER

Einleitung und Problemstellung

Der Nachweis von Penicillinen in Milchlischgetranken mit dem in der milchwirtschaftlichen Kontrollpraxis am häufigsten eingesetzten Test, nämlich dem BR-Test, ist nur bedingt möglich, da Bestandteile der Zumischungen – vor allem im Falle von Trinkkakao – falsch positive Ergebnisse auslösen können.

Ziel der Arbeit war es, neben dem Penicillin G auch die in der Mastitistherapie häufig eingesetzten Penicilline Cloxacillin, Ampicillin sowie Amoxicillin in die Untersuchungen einzubeziehen. Es sollte die Empfindlichkeit und die Stabilität der käuflich erwerbbaeren Testkits überprüft werden.

Zu Vergleichszwecken wurde auch der BR-Test und der Delvotest SP eingesetzt.

Material und Methoden

Die Herstellung der Milchlischgetranke erfolgte im hauseigenen Technologiezentrum unter Anwendung garantiert hemmstofffreier Milch (Keimzahl 10^5 KBE/ml, Zellzahl $1,5 \cdot 10^5$ /ml). Es wurde Trinkkakao, Eiskaffee, Erdbeermilch, Bananenmilch und Vanillemilch unter Zuhilfenahme von Fruchtmischungen verschiedener Produzenten hergestellt.

Die Proben der Milchlischgetranke wurden vor der Analyse mit den betreffenden Antibiotika versetzt und zwar in Konzentrationen von:

Penicillin G: 0, 2, 4 und 6 ng/ml

Ampicillin: 0, 4, 6 und 8 ng/ml

Cloxacillin: 0, 30, 45 und 60 ng/ml

Amoxicillin: 0, 4, 6 und 8 ng/ml

Delvo-X-Press Test:

Dieser Test ist ein kompetitiver ELISA Test; die eingesetzten Antikörper werden aus *B. stearothermophilus var. calidolactis* gewonnen, als Enzym dient Meerretichperoxidase; die sich entwickelnde

blaue Färbung wird bei 660 nm gemessen. Es kamen 3 verschiedene Chargen der Testkits Delvo-X-PRESS β L-II zur Anwendung.

Delvotest SP, BR-Test und BR-AS-Test Agar-diffusionstests unter Anwendung des *B. stearothermophilus var. calidolactis*.

Ergebnisse und Diskussion

In den *Tabellen 1* und *2* sind die Ergebnisse der Untersuchungen zusammengefasst.

Ein hell unterlegtes Feld bedeutet, dass bei Anwendung von 1 oder 2 Testkitchargen die dargestellte Empfindlichkeit erreicht wurde; ein dunkel unterlegtes Feld bedeutet, dass die Ergebnisse bei Anwendung aller drei Testkitchargen erreicht werden konnten.

Wie den Darstellungen zu entnehmen ist, war am Ende der Haltbarkeitsfrist der Testkits eine deutliche Erhöhung der Nachweisgrenze feststellbar.

Dies war vor allem beim Nachweis von Cloxacillin der Fall, wo mit keinem der drei Testkits ein positiver Hemmstofftest bei einer Anwendungskonzentration von 30 ppb vorgefunden wurde.

Unterschiedliche Testempfindlichkeiten ergaben sich auch in Abhängigkeit von der Sorte der Milchlischgetranke; so wurden bei der Analyse von Kakao- und Erdbeermilch bzw. Eiskaffee die schlechtesten Ergebnisse erzielt.

Dies gilt sowohl für die Empfindlichkeit bei Einlangen der Testkits als auch für die Prüfung bei deren Ablaufdatum.

Tabelle 1: Testempfindlichkeit bei Einlangen der 3 Testkitchargen

Penicilline	Konz. In ppb	NG I. Herst.	Kakao	Vanille	Banane	Erdbeere	Eiskaffee
Penicillin G	0						
	2						
	4						
	6						
Ampicillin Amoxicillin	0						
	4						
	6						
	8						
Cloxacillin	0						
	30						
	45						
	60						

Tabelle 2: Testempfindlichkeit am Ende der Haltbarkeit der Testkitchargen

Penicilline	Konz. in ppb	NG I. Herst.	Kakao	Vanille	Banane	Erdbeere	Eiskaffee
Penicillin G	0						
	2						
	4						
	6						
Ampicillin Amoxicillin	0						
	4						
	6						
	8						
Cloxacillin	0						
	30						
	45						
	60						

Autoren: Dr. Renate PFLEGER, Bundesanstalt für Milchwirtschaft, Wolfpassing 1, 3261 STEINAKIRCHEN/FORST und E. ZIEGELWANGER, HBLA Francisco-Josephinum, Schloss Weinzierl, 3260 WIESELBURG;

In der EU gelten folgende MRLs: Penicillin G, Ampicillin und Amoxicillin 4 und Cloxacillin 30 ppb. Diese Werte konnten mit Ausnahme der Bananenmilch in keinem Milchlischgetrank sicher nachgewiesen werden (d.h. von allen 3 gestesteten Kitchargen sicher erfasst werden).

Bei vergleichender Untersuchung von pasteurisierter Milch (Ausgangsmilch zur Herstellung der Milchlischgetranke) konnten folgende Antibiotikagehalte sicher nachgewiesen werden:

Penicillin G 4 ppb; Amoxicillin und Ampicillin 6 ppb sowie Cloxacillin 45 ppb. Die zu Vergleichszwecken durchgefuhr-

ten Untersuchungen der Milchlischgetranke mit dem Delvotest SP ergaben, dass dieser empfindlicher war als der Delvo-X-Press Test und die von der EU festgesetzten MRLs sicher nachgewiesen werden konnten.

Bei Untersuchung der Milchlischgetranke mit Hilfe des BR-Tests "Bluestar" mussten im Falle von Trinkkakao und bei einer der beiden Sorten Bananenmilch falsch positive Ergebnisse festgestellt werden.

Bei Einsatz des BR-AS Tests trat ein falsch positives Ergebnis im Falle einer Vanillemilchprobe auf. Die MRLs wurden auch von dieser Testvariation sicher erfasst.

Der DELVO-X-Press Test ist für die Analyse von Milchlischgetranken prinzipiell geeignet, jedoch kann die erforderliche Nachweisempfindlichkeit nicht erreicht werden, um die Einhaltung der gesetzlich vorgeschriebenen Grenzwerte für Antibiotika in Milch und Milchprodukten sicher nachzuweisen.

Für die routinemäßige Kontrolle der Milchlischgetranke kann jedoch der Test durchaus Verwendung finden, da bei einer vorsätzlichen oder fahrlassigen Verarbeitung antibiotikumhaltiger Milch der Hemmstoffgehalt weit über den gesetzlichen Höchstwerten liegen wird.