

## 6. Zusammenfassung

1. Die Hemmung der Lactatbildung von Starterkulturen kann als Parameter zum Nachweis von Antibiotika- und Sulfonamidrückständen in Milch herangezogen werden. In antibiotikahaltiger Milch wird in Abhängigkeit der Konzentration nach dreistündiger Bebrütung weniger Lactat von den Kulturen gebildet als in einer antibiotikafreien Kontrollmilch. Die konzentrationsabhängige Intensität der Hemmung ist von der jeweils eingesetzten Kultur und dem Antibiotikum abhängig und spiegelt sich in einer sigmoid verlaufenden Dosis-Wirkungskurve wider, die sich mathematisch beschreiben läßt. Die Identifizierung einzelner Antibiotika anhand der Krümmung dieser Dosis-Wirkungskurve ist nicht oder nur teilweise möglich. Bei bekannter Substanz kann man jedoch von der Hemmung auf die Konzentration zurückrechnen.

Zur Bewertung der Empfindlichkeit wird die Konzentration herangezogen, bei der 50 % Hemmung in der Lactatzubildung auftreten. Demnach weist *Sc. thermophilus* die höchste Empfindlichkeit für Penicillin (0,036 IU/ml) auf, gefolgt von Dihydrostreptomycin (0,15 µg/ml), Tetracyclin (0,183 µg/ml) und Chloramphenicol (0,358 µg/ml). Die mesophilen Kulturen *Lc. lactis* und *Lc. cremoris* besitzen eine geringere Empfindlichkeit gegenüber diesen Substanzen. Die im Vergleich zu den Antibiotika geringere Hemmung der Lactatzubildung durch Sulfonamide kann auf deren Wirkungsmechanismus zurückgeführt werden.

Ausgehend von einer "technisch tolerierbaren" Reduktion der Lactatkonzentration von 20 % nach dreistündiger Bebrütung, sind die derzeit gängigen Hemmstoffnachweisverfahren für Penicillin von ausreichender Empfindlichkeit. Bei Chloramphenicol, Tetracyclinen und Erythromycin muß -in Abhängigkeit des gewählten Nachweisverfahrens- mit z.T. erheblichen Säuerungsstörungen auch unterhalb der Nachweisgrenzen dieser Verfahren gerechnet werden.

2. Lysozym, Lactoferrin und die Kombination aus beiden Substanzen beeinflussen in physiologischen Konzentrationen den Bril-

lantschwarz-Reduktionstest "AS" und "Bluestar" nicht. Eine Wirkung des Lactoperoxidasesystems (LPS) kann nur im BRT "AS" bei Konzentrationen von 25  $\mu\text{g/ml}$  LP, 17  $\mu\text{g/ml}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  und 4,05  $\text{mg/ml}$   $\text{SCN}^-$  beobachtet werden. Bei höheren Konzentrationen der Einzelkomponenten kann zwischen der Wirkung des LPS und der von  $\text{H}_2\text{O}_2$  nicht mehr unterschieden werden. Eine Beeinflussung beider Testsysteme durch Reinigungs- und Desinfektionsmittel kann in Konzentrationen, die keine sinnfälligen Veränderungen der Milch zur Folge haben, nicht völlig ausgeschlossen werden.

Die Verwendung des Konservierungsmittels Ly 20 kann auch bei bestimmungsgemäßen Gebrauch zu positiven und "fraglichen" Ergebnissen in beiden Modifikationen des Brillantschwarz-Reduktionstests führen. Von der Verwendung des Konservierungsmittels Bronopol in Proben, die zur Untersuchung auf Hemmstoffe herangezogen werden, ist dringend abzuraten, da noch 6  $\mu\text{g/ml}$  zu falsch-positiven Resultaten führen.

Bei der Untersuchung der Anlieferungsmilch auf Hemmstoffe können falsch-negative Ergebnisse auftreten, die in der Molkerei zu Produktionsstörungen in Form einer Verminderung der Lactatbildung führen. Durch milcheigene antibakterielle Substanzen kann der Brillantschwarz-Reduktionstest zu falsch-positiven Resultaten führen, mit der Folge ungerechtfertigter Preisabzüge beim Milchgeld. Der Gesetzgeber ist daher gefordert, ein neues Konzept zum Nachweis und Bewertung von Antibiotika- und Sulfonamidrückständen (Arzneimittelrückstände) in Milch in rechtlicher Form festzuschreiben.

## 7. Summary

Arthur Peter Schiffmann:

Methodical and juridical problems in the detection of inhibitors in milk.

1. The inhibition of lactic acid produced by starter cultures can be used as a parameter for the detection of antibiotic and sulphonamide residues in milk. After a period of incubation of 3 hours the cultures produce less lactic acid in milk containing inhibitors than in inhibitor-free controls. The intensity of inhibition depends on the type of culture and the concentration of antibiotic. The dose-response curve shows a sigmoidal progress. An identification of the antibiotics by means of crookedness fails or is only possible in some cases. For the assessment of the susceptibility of the cultures the concentration causing a 50 % inhibition is used. *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* shows the highest susceptibility to penicillin (0.036 IU/ml), and less susceptibility to dihydrostreptomycin (0.15 µg/ml), tetracycline (0.183 µg/ml) and chloramphenicol (0.358 µg/ml). The mesophilic lactic cultures *Lc. lactis* ssp. *lactis* and *Lc. lactis* ssp. *cremoris* have a lower susceptibility to these drugs, in particular to sulfonamides.

With regarding to a 20 % "technically tolerable" inhibition of lactic acid production, only the methodes for the detection of penicillin are sufficient.

2. Lysozyme, lactoferrin and a combination of both proteins have no influence on the BRT "AS" and BRT "Bluestar" in physiological concentration. An effect of the lactoperoxidase system (LPS) is only observed at a concentration of 25 µg/ml LP, 17 µg/ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 4.05 mg/ml SCN<sup>-</sup>. At higher concentration levels it is not possible to differentiate between the influence of the LPS or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alone. There is an influence of detergents and desinfectants at concentrations causing no apparent changes of the milk

character. The use of the preservative Ly 20 can lead to false-positive results in both variants of BRT, especially when errors occur during sample preparation. A concentration of 6  $\mu\text{g/ml}$  of the preservative Bronopol makes the test positive. For this test the prohibition of these substances is highly recommended. On the other hand examining inhibitory substances in bulk milk by routine methods, false-negative results can appear, which may however, results in an inhibition of lactic acid produced by startercultures.

Some indigenous factors cause false-positive results which entail in unjustified penalties for the milk producers. For this reason the legislator is invited to create a new concept for the detection and assessment of antibiotic and sulphonamide residues (drug residues) in milk together with the investigator.