

## 6. Zusammenfassung

Der in der MGVo vorgeschriebene Blättchentest und der im LMBG diesem gleichgestellte und in der Routine von den Molkereien und Regionallaboratorien bevorzugt eingesetzte BRT "AS" (Testkeim beider Verfahren *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953) erfüllen nur zum Teil die Anforderungen der milchverarbeitenden Industrie. Trotz negativer Hemmstofftestergebnisse kann es zu Produktionsstörungen in den Betrieben kommen, da die zur Fermentation verwendeten Mikroorganismen teilweise hemmstoffempfindlicher als der amtliche Testkeim sind. Die Testdauer beider Verfahren ist mit ca. drei Stunden im allgemeinen für den Produktionsablauf der Molkereien zu lang; Milch gelangt schon vor dem Testergebnis in die Verarbeitung oder in den Verkehr.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Molkereimischkultur aus *B. bifidus*, *Lb. acidophilus* und *Sc. thermophilus* (Betriebskultur) zur Hemmstoffeffassung in Verbindung mit der Leitfähigkeitsmessung eingesetzt. Als Maß diente die Hemmung der Leitfähigkeitszunahme nach einstündiger Inkubation bei 44° C von mit 8 % Betriebskulturen beimpften Rohmilchproben, die unterschiedliche Konzentrationen von Mastitis- und Trockenstellpräparaten enthielten, im Vergleich zu Kontrollansätzen ohne Hemmstoffe.

Im Vergleich der pH- und der Leitfähigkeitsmethode war in den eigenen Versuchen das verwendete Leitfähigkeitsmeßgerät unkomplizierter in der Handhabung und die errechneten Differenzen zwischen den Meßzeitpunkten nach der Beimpfung und einstündiger Inkubation waren bei der Leitfähigkeitsmethode größer. Mit der luminometrischen ATP-Messung, die auch zur Bestimmung des Wachstums der verwendeten Milchsäurebakterien eingesetzt wurde, sind Hemmstofftestergebnisse nach 20 bis 30 Minuten denkbar. Diese enzymatische Methode ist für den Routineeinsatz unwirtschaftlich.

Als Grenzwert für ein hemmstoffpositives Ergebnis mit dem Leitfähigkeitsverfahren wurde die 10 %ige Hemmung der Leitfähigkeitszunahme herangezogen. Die Hemmstoffempfindlichkeit war

mit der des BRT "AS" bei 12 Präparaten und den damit eingestellten Verdünnungsstufen vergleichbar. Zwei Präparate, eins mit dem Wirkstoff Benzylpenicillin-Procaïn (zweifelhaftes Ergebnis) und eins mit dem Wirkstoff Trimethoprim wurden mit dem BRT "AS" in der 10-fach höheren Verdünnung erfaßt. Die Hemmstoffempfindlichkeit der Leitfähigkeitsmethode lag für das Präparat mit den Wirkstoffen Oxytetracyclin, Oleandomycin und Neomycin bei einem Zehntel der Konzentration (53 % Hemmung), die noch mit dem BRT "AS" erfaßt wurde.

Unterschiedliche Ergebnisse mit gleichen Wirkstoffen, die in den Versuchen auftraten, können durch verschiedene Wirkstoffkombinationen und Substanzverfügbarkeiten (z.B. Trockenstell- oder Mastitispräparat) in den Präparaten verursacht werden. Dies im Zusammenhang mit differierenden Wirkstoffkonzentrationen kann die teilweise von Präparat zu Präparat unterschiedlichen Verdünnungsstufen (MHK-Werte der Verdünnungsstufen zwischen  $10^{-2}$  und  $10^{-7}$ ), die zu positiven Hemmstoffergebnissen geführt haben, erklären.

Das Leitfähigkeitsverfahren eignet sich zur schnelleren Erfassung (1 Stunde Inkubationszeit im Gegensatz zu 2,5 bis 3 Stunden im BRT "AS") von Hemmstoffen in der Anlieferungsmilch für Molkereien. Werden den Ansätzen für das Leitfähigkeitsverfahren ebenfalls, wie dem BRT "AS" Antifolate zugesetzt, so kann eventuell dadurch die Empfindlichkeit noch gesteigert werden.

## 7. Summary

Dirk Brandes:

Detection of chemotherapeutics in milk by the inhibition of conductivity increase in comparison to the brilliantblack-reduction-test "AS".

The agar diffusion test with paperdiscs as stipulated by the Milch-Güteverordnung and the brilliantblack-reduction-test "AS" (BRT "AS") which is likewise accepted by the Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz and preferentially used for routine testing of bulk milk (both tests with *Bac. steurothermophilus* var. *calidolactis* C 953 as testorganism) only partly satisfy the needs of the milk industry. Thus even if negative, disturbances of milk fermentation processes can arise, e.g. during production of different milk products, because of different sensitivities of starter cultures in comparison to *B. steurothermophilus*.

Also the required testing period of three hours is still too long and contaminated milk may already be in processing or even in circulation.

In this thesis a bulk starter culture containing *B. bifidus*, *Lb. acidophilus* and *Sc. thermophilus* was used to determine remains of various mastitis drugs at different concentrations by measuring the conductivity increase during fermentation. Appropriate conditions to determine the inhibition rate of conductivity increase was one hour at 44° C using an inoculation with 8 % bulk starter in comparison to a control without inhibitors.

The conductivity measurement proved to be easier and more precise than the pH-measurement.

Using ATP-determination by bioluminescence results could be obtained after 20 to 30 minutes. This method, however, is too expensive for routine use.

As a limit for a positive inhibitory result with the conductivity method a 10 % inhibition of the conductivity increase was

defined. For 12 drugs the inhibitory susceptibility was the same in the chosen dilution rates than that for the BRT "AS". Two drugs, one containing benzylpenicillin-procain (doubtful result) and one containing trimethoprim were detected by the BRT "AS" in the 10 times higher dilution. The drugs containing oxytetracyclin, oleandomycin and neomycin showed an inhibition of 53 % of conductivity increase at one tenth of the detection limit of the BRT "AS".

Various results with the same substances which were obtained could be due to the different substance combinations and availabilities in the drugs. The different dilution rates between  $10^{-2}$  and  $10^{-7}$  necessary, determine the detection limits can also be explained by the different substance concentrations in the drugs.

The conductivity method is a suitable and fast test (1 hour incubation time in contrast to 2,5 to 3 hours with BRT "AS") to detect inhibitory substances delivered in rawmilk to the dairies. Adding antifolates, like in the BRT "AS", to the milk samples for conductivity measurements could possibly further increase the sensitivity of this method.