

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird die Möglichkeit der qualitativen und quantitativen Nachweisbarkeit von Aminoglykosid-Antibiotika in Harn sowie Muskulatur- und Organproben untersucht. Zu diesem Zweck wird 44 Schweinen ein Penicillin-Dihydrostreptomycin-, Neomycin- oder Gentamicin-Präparat injiziert und am lebenden Tier Harnproben, bzw. nach der Schlachtung Muskel- und Organproben gewonnen. Als Nachweisverfahren finden ein erweiterter mikrobiologischer Hemmstofftest, ein mikrobiologisch-chemisches Verfahren in Kombination mit Differenzierungstestkeimen sowie ein radioimmunologisches Verfahren Anwendung. Die Dihydrostreptomycin-Rückstände werden ferner im Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Hannover mittels LC-MS/MS qualitativ und quantitativ bestimmt.

- Der mikrobiologische Hemmstofftest ist als Screening-Verfahren weiterhin unverzichtbar. Durch Erweiterung um spezifisch empfindliche oder resistente Nährboden-Testkeim-Kombinationen kann mittels Hemmzonenbildern eine qualitative Vordifferenzierung erreicht werden, die die Richtung der weiterführenden Untersuchungen bestimmt. Diese Vordifferenzierung ist nur bei Vorliegen eines Wirkstoffes möglich, bei Kombinationen kommt es zu Überlagerungen.
- Der Harn ist für die Aminoglykosid-Antibiotika das Probenmaterial der Wahl, da Rückstände in hohen Konzentrationen unverändert über die Nieren ausgeschieden werden und im Harn am längsten nachweisbar sind. Bei wiederholten negativen Ergebnissen des Harnes ist mit keinen nachweisbaren Rückständen im Tierkörper zu rechnen. Die festgesetzten Wartezeiten werden durch positive Ergebnisse der Harnuntersuchung nicht annähernd erreicht.
- Durch die gewonnenen Ergebnisse kann die Einsetzung von gemeinsamen Wartezeiten für alle eßbaren Gewebe nicht unterstützt werden. Die Muskulatur ist für Aminoglykosid-Antibiotika kein Zielgewebe, so daß Rückstände nur kurz und in geringen Mengen auftreten. Wenn für die Muskulatur eine ebensolange Wartezeit, wie sie für die Niere notwendig ist, eingehalten werden muß, ist die Möglichkeit des therapeutischen Einsatzes der Substanz in Frage gestellt.
- Durch Einsatz der Hochspannungselektrophorese in Kombination mit spezifisch resistenten Testkeimen als mikrobiologisch-chemisches Verfahren gelingt der qualitative Nachweis der Hemmstoffe. Da Gentamicin und Neomycin nach der Extraktion in der Elektrophorese in mehrere Fraktionen zerfallen, ist die parallele Untersuchung durch einen empfindlichen und einen spezifisch resistenten Testkeim zur Identifizierung unabdingbar.
- Der Einsatz des Charm-II-Tests erweist sich aufgrund seiner Spezifität nur dann als praktikabel, wenn bereits eine qualitative Vordifferenzierung, z.B. im mikrobiologischen Hemmstofftest, stattgefunden hat. Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse war aufgrund großer tagesabhängiger Schwankungen der Werte der Eichreihen nicht möglich. Eine täg-

liche Erstellung von Eichreihen wäre notwendig, war jedoch aus arbeitstechnischen wie finanziellen Gründen nicht durchführbar.

- Durch die Untersuchung mittels LC-MS/MS gelingt die qualitative und quantitative Bestimmung von Dihydrostreptomycin. Mit dieser Methode lassen sich Höchstmengenüberschreitungen feststellen.
- Die Einflußfaktoren „pathologische Zustände“ und „Alter“ auf die Nachweisbarkeit von Rückständen wird, ebenso wie die Möglichkeit der Kontamination von unbehandelten Tieren durch behandelte und sich daraus ergebende Konsequenzen, diskutiert.

6. Summary

Birte Könnecke

Microbiological detection and qualitative evaluation of residues of aminoglycoside antibiotics in urine and tissues.

In this thesis, the possibility of the qualitative and quantitative detection of aminoglycoside antibiotics in urine and tissues is investigated. Therefore 44 pigs are treated with a penicillin-dihydrostreptomycin-, neomycin- or gentamicin-preparation. Urine is collected from living animals, or tissues after necropsy respectively. For the detection, a microbiological assay, a microbiological-chemical procedure (electrophoreses), combined with specific resistant microorganisms, as well as a radioimmunoassay is used. Residues of dihydrostreptomycin are furthermore qualitatively and quantitatively analysed in the „Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Hannover“ by LC-MS/MS.

- The microbiological assay is unrenounceable as a screening test. When extended by specific sensitive or resistant microorganisms, a qualitative prescreening through inhibition zone patterns is possible, which determines the direction of further investigations. This prescreening is only possible if a single drug exists. In case of combinations no identification can be made because of the overlapping of the patterns.
- For aminoglycoside antibiotics urine is the best sample-material since residues are excreted unchanged in high concentrations by the kidneys and are found the longest period of time in the urine. After repeated negative results in the urine, it can be concluded that there is no detectable residue in the tissues. The withdrawal periods are not reached by positive results in the urine.
- With the results of this study, the introduction of common withdrawal periods for all eatable tissues cannot be supported. The muscles are not a target tissue for aminoglycoside antibiotics, so residues will only occur for a short period of time and in small amounts. If the withdrawal time for muscles will be as high as it is necessary to be for kidneys, the therapeutic use of the substance will be in question.
- By using high-voltage-electrophoresis in combination with specific resistant microorganisms as a microbiological-chemical-assay, a qualitative evaluation of the residues is possible. Since gentamicin and neomycin disintegrate in several fractions, the parallel investigation with a sensitive and a resistant microorganism is necessary for the identification.
- Because the Charm-II-Test is so highly specific, it is only useful after a prescreening, i.e. with a microbiological assay. A quantitative evaluation of the results was impossible, because of high daily differences in the standards. A daily measurement of the standards

would have been necessary, but, due to operational and financial reasons, this was not possible.

- The investigation by LC-MS/MS made it possible to detect dihydrostreptomycin qualitatively and quantitatively. With this method, excesses of maximum residue levels are detectable.
- The influence of „pathological conditions“ and „age“ on the detection of residues is discussed, as well as the possibility of contamination between treated and non-treated animals with the resulting consequences.