

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	3
2.1	Tierarzneimittel-Rückstände in der Milch	3
2.1.1	Allgemeines zu Tierarzneimittel-Rückständen in der Milch	3
2.1.2	Ursachen von Tierarzneimittel-Rückständen in der Milch	4
2.1.3	Gesundheitliche und technologische Risiken	6
2.1.4	Rechtliche Grundlagen	8
2.2	Penicilline	12
2.2.1	Allgemeines	12
2.2.2	Struktur und Charakteristika	12
2.2.3	Wirkungsprinzip	15
2.3	Nachweisverfahren für Penicillin-Rückstände in Milch	15
2.3.1	Mikrobiologische Hemmstofftests	15
2.3.1.1	Allgemeines zu mikrobiologischen Hemmstofftests	15
2.3.1.2	Amtliche Untersuchungsmethodik	17
2.3.1.3	Kommerzielle Hemmstofftestsysteme	18
2.3.1.3.1	Brillantschwarz-Reduktionstest	18
2.3.1.4	Nachweis von Hemmstoffen in Ziegenmilch mittels mikrobiologischer Testsysteme	20
2.3.2	Immunologische Verfahren und Schnelltestsysteme	21
2.3.2.1	Enzymimmuntests	22
2.3.2.2	Schnelltests zum Nachweis von β -Laktam-Antibiotika	26
2.3.2.2.1	Beta s.t.a.r	26
2.3.2.2.2	SNAP-Beta-Laktam Test	27
2.3.2.3	Nachweis von Hemmstoffen in Ziegenmilch mittels immunologischer Verfahren und mit Schnelltestsystemen	28
2.3.3	Physikalisch-chemische Verfahren	31
2.3.4	Integriertes Nachweissystem für Tierarzneimittel-Rückstände in Milch	32

3	MATERIAL UND METHODEN	34
3.1	Materialien und Geräte	34
3.1.1	Chemikalien und Biochemika	34
3.1.2	Antibiotika und Penicillinase	34
3.1.3	Puffer und Lösungen	35
3.1.4	Immunreagenzien	36
3.1.5	Probenmaterial	39
3.1.5.1	Kuhmilch	39
3.1.5.2	Ziegenmilch	39
3.1.6	Kommerzielle Hemmstofftestsyste	41
3.1.7	Geräte	41
3.1.8	Sonstige Materialien	41
3.2	Methoden	42
3.2.1	Etablierung und Durchführung der Nachweisverfahren	42
3.2.1.1	Enzymimmunologische Nachweise	42
3.2.1.1.1	Gruppenspezifischer Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillinen	42
3.2.1.1.1.1	Herstellung und Überprüfung des Ampicillin-Enzym-Konjugates	42
3.2.1.1.1.2	Durchführung des Enzymimmuntests	44
3.2.1.1.1.3	Überprüfung der Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	45
3.2.1.1.1.4	Überprüfung der Spezifität des Testsystems	45
3.2.1.1.2	Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	46
3.2.1.1.2.1	Testdurchführung und Auswertung	46
3.2.1.1.2.2	Überprüfung der Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	46
3.2.1.1.3	Enzymimmuntest zum Nachweis von Isoxazolympenicillinen (Cloxacillin, Dicloxacillin, Oxacillin)	47
3.2.1.1.3.1	Testdurchführung und Auswertung	47
3.2.1.1.4	Enzymimmuntest zum Nachweis von Streptomycin	47
3.2.1.1.4.1	Testdurchführung und Auswertung	48
3.2.1.1.5	Enzymimmuntest zum Nachweis von Tetracyclin	48
3.2.1.1.5.1	Testdurchführung und Auswertung	48
3.2.1.1.6	Enzymimmuntest zum Nachweis von Ampicillin	49
3.2.1.1.6.1	Testdurchführung und Auswertung	49

3.2.1.2	Mikrobiologische Hemmstofftests und Rezeptorschnelltests	50
3.2.1.2.1	Testdurchführung und Auswertung des mikrobiologischen Testsystems	50
3.2.1.2.2	Testdurchführung und Auswertung der Rezeptorschnelltests	51
3.2.2	Untersuchung der Kuhmilchproben mittels integriertem Nachweissystem	52
3.2.2.1	Probenvorbereitung und künstliche Kontaminierung	52
3.2.2.2	Durchführung der Untersuchungen von Kuhmilch auf Penicillin-Rückstände	56
3.2.3	Untersuchung der Ziegenmilchproben	60
3.2.3.1	Modifikation und Etablierung der enzymimmunchemischen Testsysteme	60
3.2.3.1.1	Gruppenspezifischer Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillinen	60
3.2.3.1.1.1	Optimierung der Anwendbarkeit des Testsystems für die Untersuchung von Ziegenmilch	60
3.2.3.1.1.2	Durchführung des gruppenspezifischen Enzymimmuntests zum Nachweis von Penicillinen	61
3.2.3.1.1.3	Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	61
3.2.3.1.2	Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	61
3.2.3.1.2.1	Optimierung der Anwendbarkeit des Testsystems für die Untersuchung von Ziegenmilch	61
3.2.3.1.2.2	Durchführung des Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	62
3.2.3.2	Probengewinnung und -aufbereitung	62
3.2.3.3	Durchführung der Untersuchungen	62
4	ERGEBNISSE	64
4.1	Etablierung der Nachweisverfahren	64
4.1.1	Enzymimmunologische Nachweise	64
4.1.1.1	Gruppenspezifischer Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin	64
4.1.1.1.1	Überprüfung des Ampicillin-Enzym-Konjugates	64
4.1.1.1.2	Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	64
4.1.1.1.3	Spezifität des Testsystems	66

4.1.1.2	Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	66
4.1.1.2.1	Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	66
4.2	Nachweis von Penicillin-Rückständen in Kuhmilch mittels integriertem Nachweissystem	68
4.2.1	Nachweis von Penicillin-Rückständen in künstlich kontaminierter Kuhmilch	68
4.2.2	Nachweis von Penicillin-Rückständen in hemmstoffpositiver Kuhmilch	69
4.3	Nachweis von Penicillin-Rückständen in Ziegenmilch	72
4.3.1	Modifikation und Etablierung der enzymimmunchemischen Testsysteme	72
4.3.1.1	Gruppenspezifischer Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillinen	72
4.3.1.1.1	Anwendbarkeit des Testsystems für die Untersuchung von Ziegenmilch	72
4.3.1.1.2	Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Testsystems	73
4.3.1.2	Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	74
4.3.1.2.1	Anwendbarkeit des Testsystems für die Untersuchung von Ziegenmilch	74
4.3.2	Ergebnisse der Untersuchung von Ziegenmilch auf Penicillin-Rückstände	74
5	DISKUSSION	76
5.1	Gruppenspezifischer Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin	78
5.2	Enzymimmuntest zum Nachweis von Penicillin G-Metaboliten (Benzylpenicilloylsäure)	79
5.3	Nachweis von Penicillin-Rückständen in Kuhmilch mittels integriertem Nachweissystem	80
5.3.1	Nachweis von Penicillin-Rückständen in künstlich kontaminierter Kuhmilch	80
5.3.2	Nachweis von Penicillin-Rückständen in hemmstoffpositiver Kuhmilch	81

5.4	Nachweis von Penicillin-Rückständen in Ziegenmilch	83
5.4.1	Modifikation und Etablierung der enzymimmunchemischen Testsysteme	83
5.4.2	Ergebnisse der Untersuchung von Ziegenmilch auf Penicillin-Rückstände	84
6	ZUSAMMENFASSUNG	86
7	SUMMARY	88
8	LITERATURVERZEICHNIS	89
9	EIDESSTAATLICHE ERKLÄRUNG	112
10	DANKSAGUNG	113