



Kanton Zürich
Gesundheitsdirektion
Kantonales Labor Zürich

Systeme zum Nachweis von Antibiotikarück- ständen in der Milch: Vor – und Nachteile

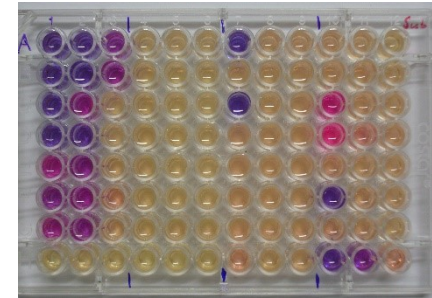
19.04.2018

Inhalt

- I Welche Messverfahren gibt es?**
- II Welche Anforderungen müssen Messverfahren erfüllen?**
- III Wahl des Messverfahren?**
- IV Wie misst das Kantonale Labor Zürich?**
- V Fazit**

Messverfahren

**Mikrobiologische Verfahren
(Hemmstofftests)**



**Immunchemische Verfahren
(ELISA)**



**chemisch-physikalisch
Messverfahren
(LC-MS/MS, LC-HRMS)**



Mikrobiologische Verfahren

Hemmung des Wachstums ausgewählter Testkeime

Name	Kultur
EU 4-Plattentest	B. subtilis pH 6 B. subtilis pH 7.2 B. subtilis pH 8 M. luteus
Premi®Test	B. stearothermophilus
Nouws Antibiotic Test (NAT)	B. subtilis pH 8.5 K. rhizophila pH 8 Y. ruckeri pH 6.5 B. pumilus pH 7 B. cereus pH 6
und weitere...	

Nachweisvermögen

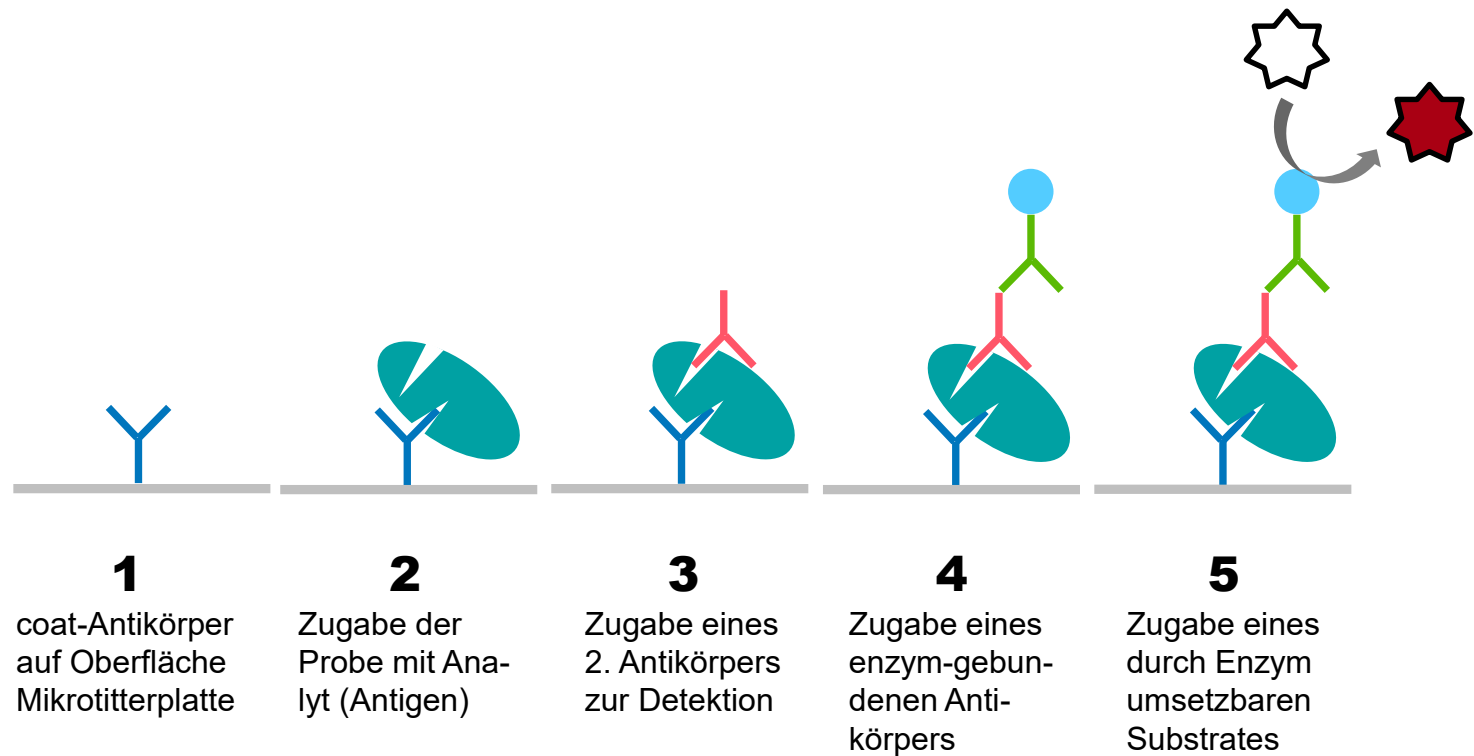
Beispiel: Hemmstofftest

Quelle: NRL Österreich (AGES Wien)

B. cereus	B. subtilis	M. luteus	E. coli	B. stearo- thermophilus
Tetracycline				
	Amino- glycoside			
		Macrolide		Tylosin
			Chinolone	
				Sulfonamide
		Nafcillin		Penicilline
		Cefacetril, Cefquinom, Ceftiofur	Cefacetril, Cefquinom, Ceftiofur	Cephalo- sporine

Immunchemische Verfahren

Sandwich-ELISA (Beispiel)



«Schnelltests»

Innovation – Netzwerk – Transparenz – Information



Milchprüfung Bayern e.V.



Rapid Test Detecting Aminoglycosides In Milk

FOR are rapid assay in
 nation of milk samples

Rapid Test Detecting Betalactams, Sulfonamides And Tetracyclins In Milk

ting the
 cyclines

Delvo T Test (früher Delvo SP Test)

Erfahrungen des NRL Österreich (AGES Wien)

Nachweisvermögen der Antibiotika grossteils am MRL geprüft.

Gut funktionieren (Nachweisvermögen \leq MRL):

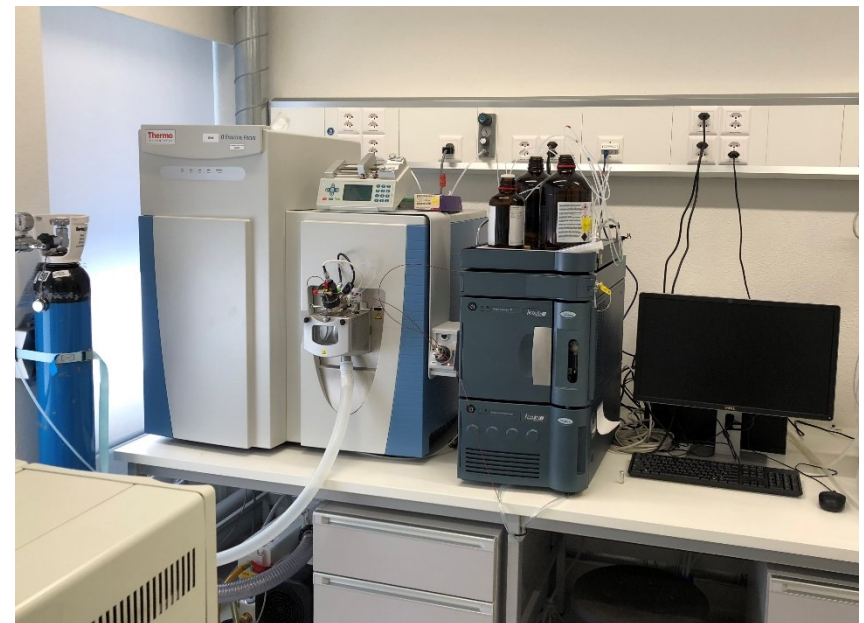
- **Sulfonamide**
- **β -Lactame (Ausnahme: Cefquinom und Desfuroylceftiofur $>$ MRL)**
- **Tetracycline (Ausnahme: 4-Epimere: $>$ MRL)**

Schlecht funktionieren (Nachweisvermögen $>$ MRL):

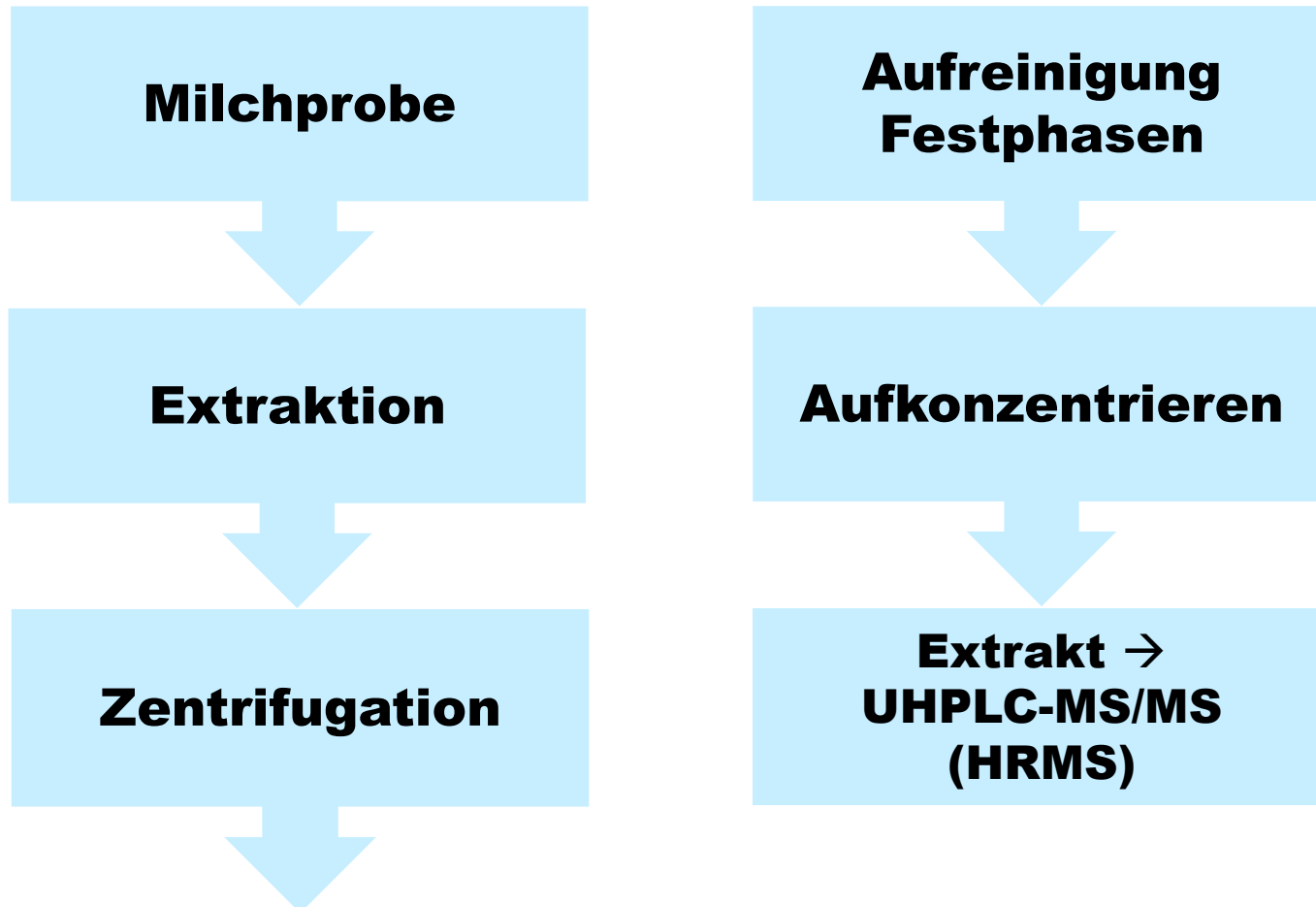
- **Trimethoprim**
- **Aminoglykoside (Ausnahme: Neomycin \leq MRL)**
- **Makrolide**
- **Lincosamide**
- **Chinolone**
- **Rifaximin**
- **Colistin**

chemisch-physikalische Messverfahren

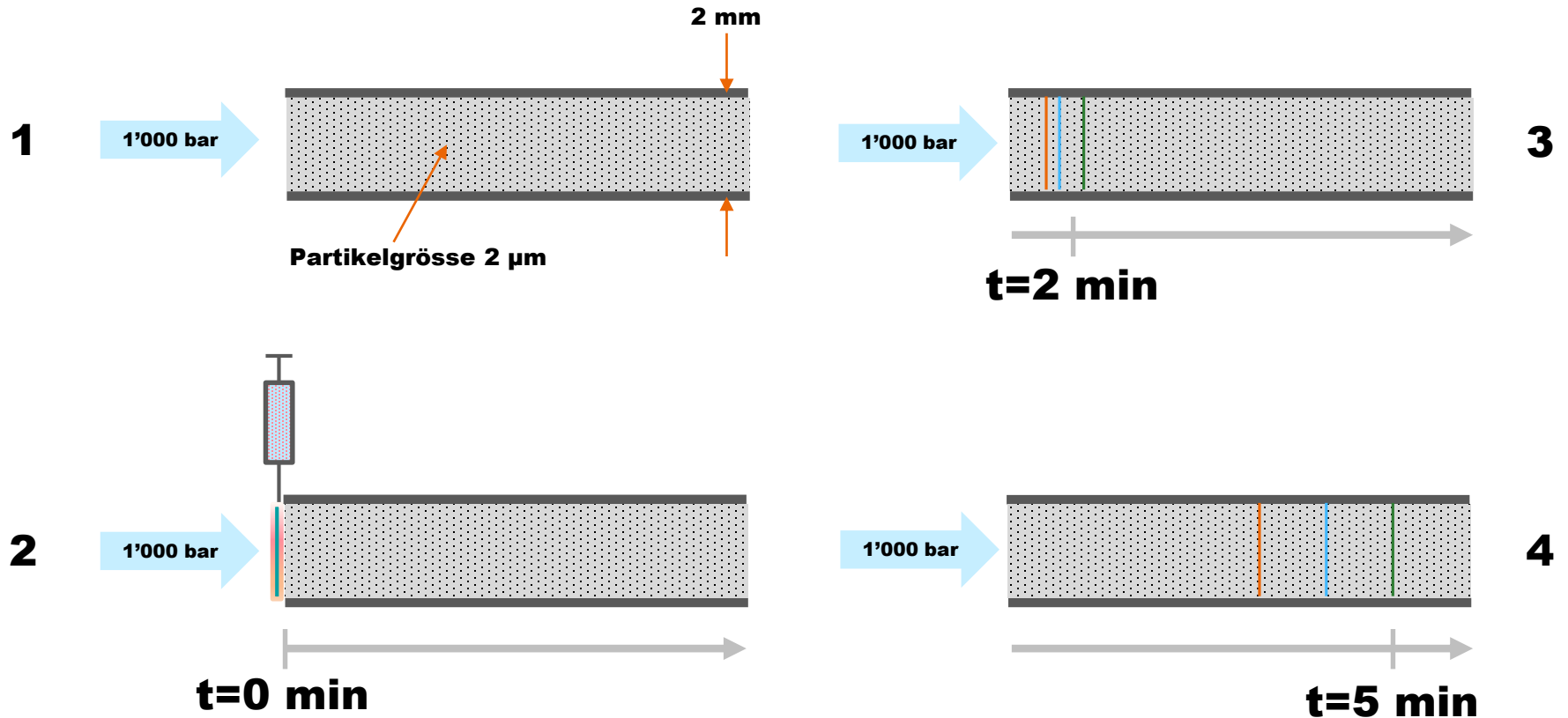
Kopplung Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS, UHPLC-MS/MS, UHPLC-HRMS)



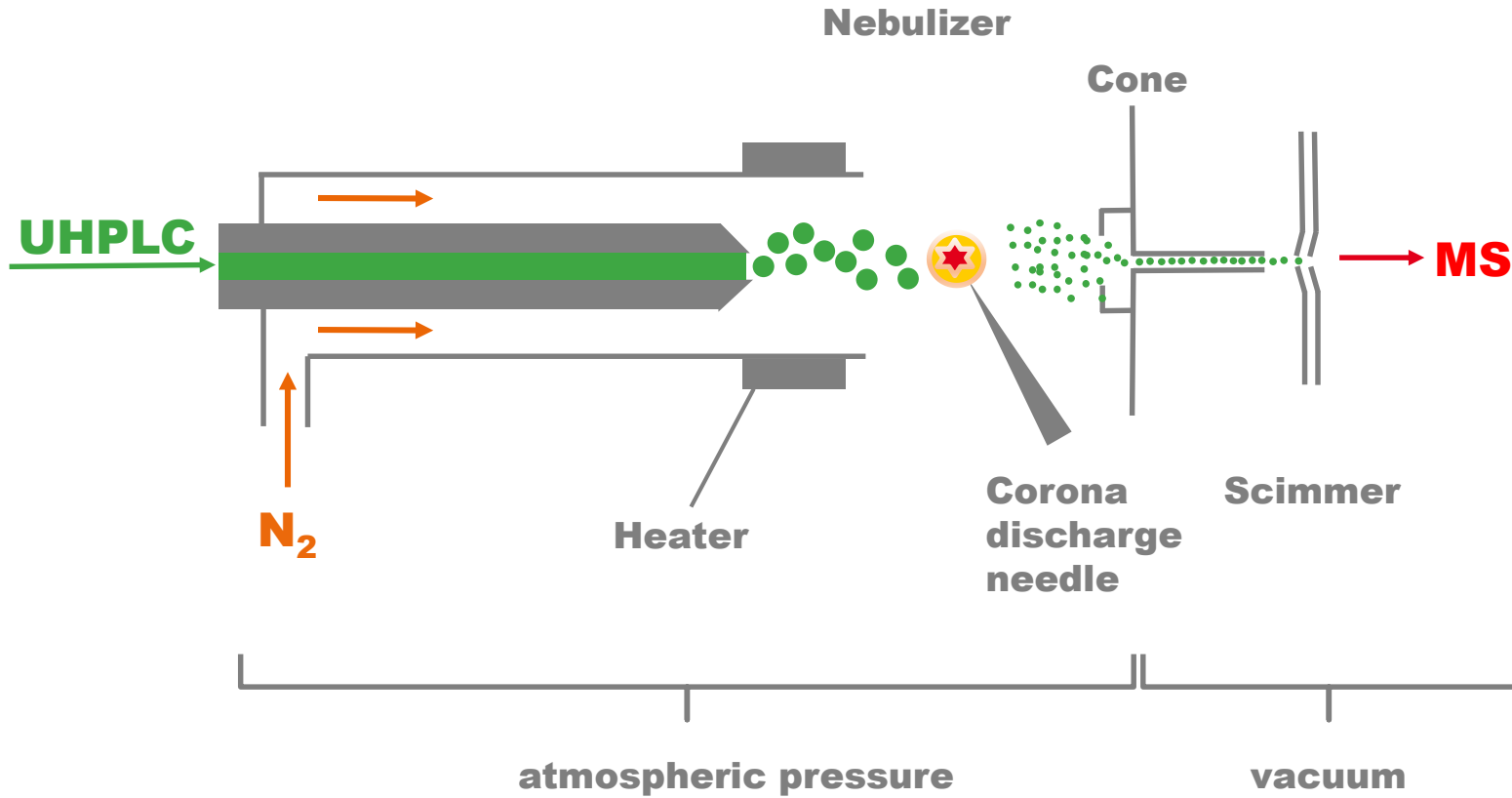
Aufarbeitung



Ultrahochdruckflüssig- chromatografie (UHPLC)

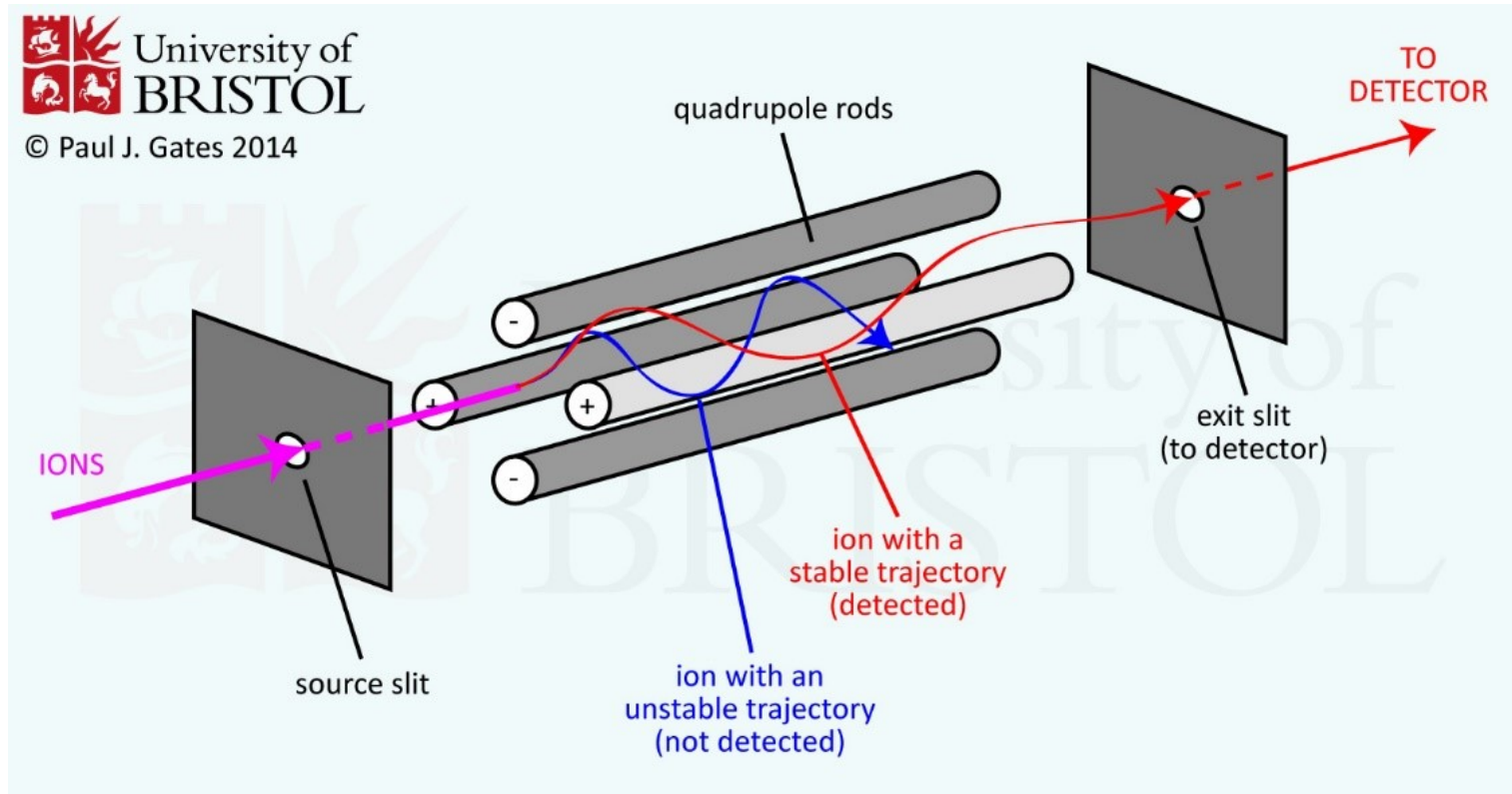


Ionisation



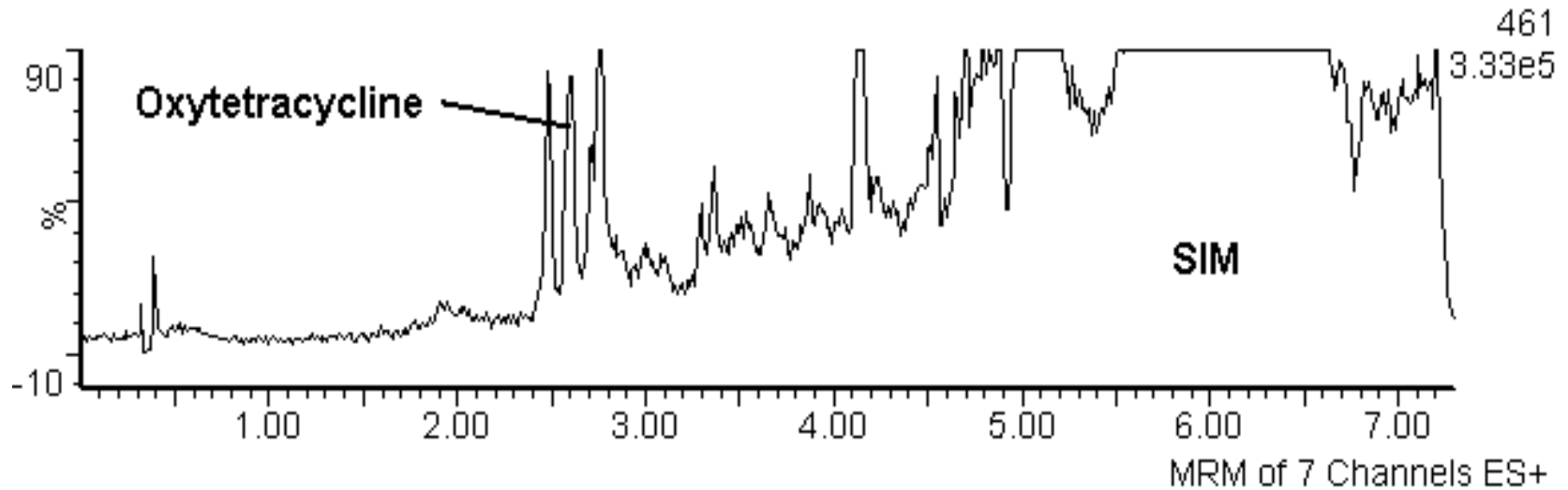
Massenspektrometrie

Messung m/z von Ionen (Beispiel Quadrupol)



Massenspektrometrie

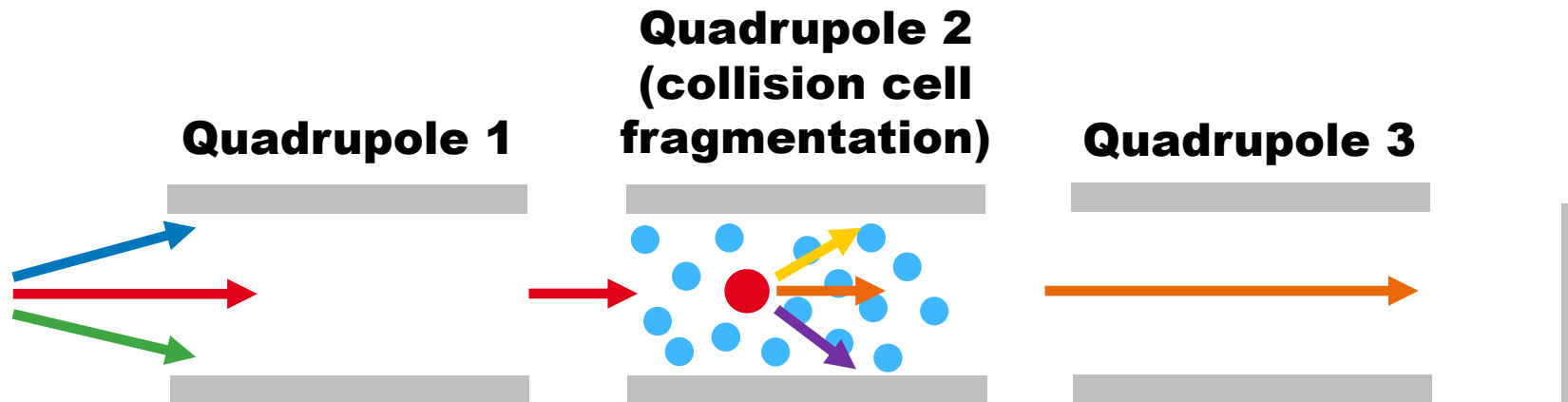
LC-MS medium selectivity



Tetracyclines in fish (100 µg/kg)

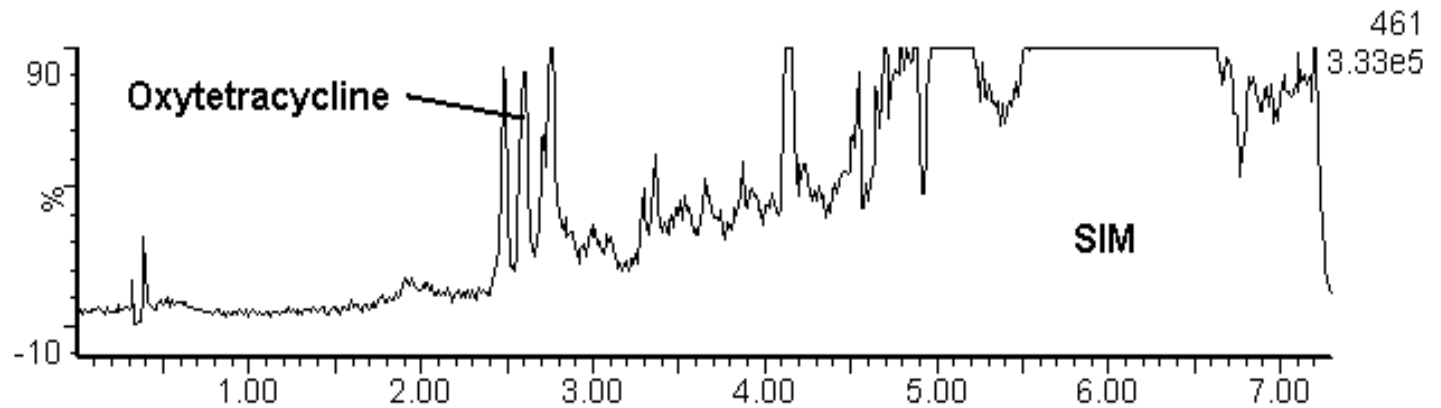
Massenspektrometrie

Tandem-Quadrupole

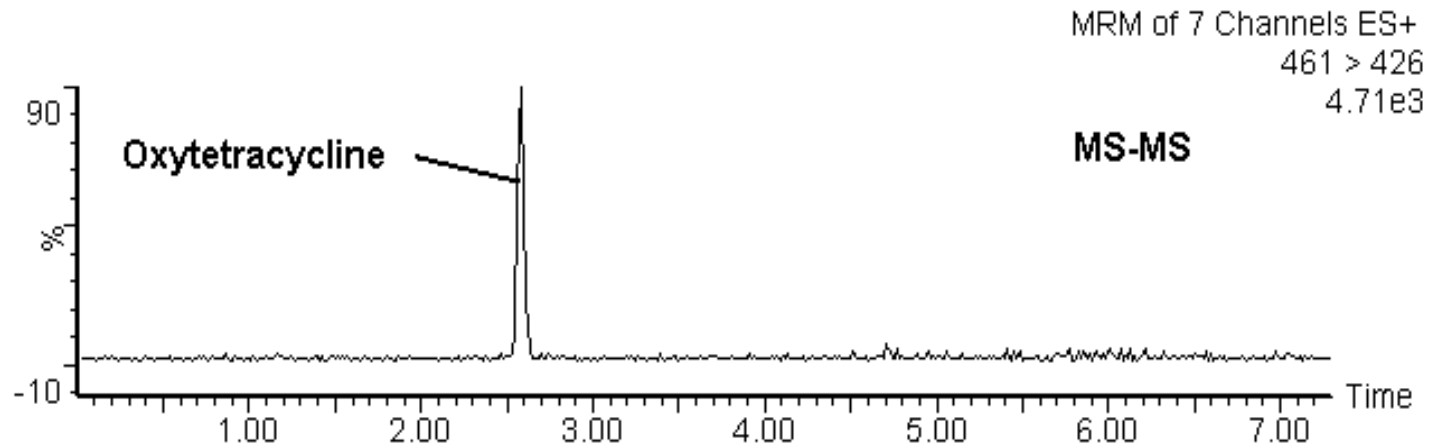


Massenspektrometrie

**LC-MS
medium
selectivity**



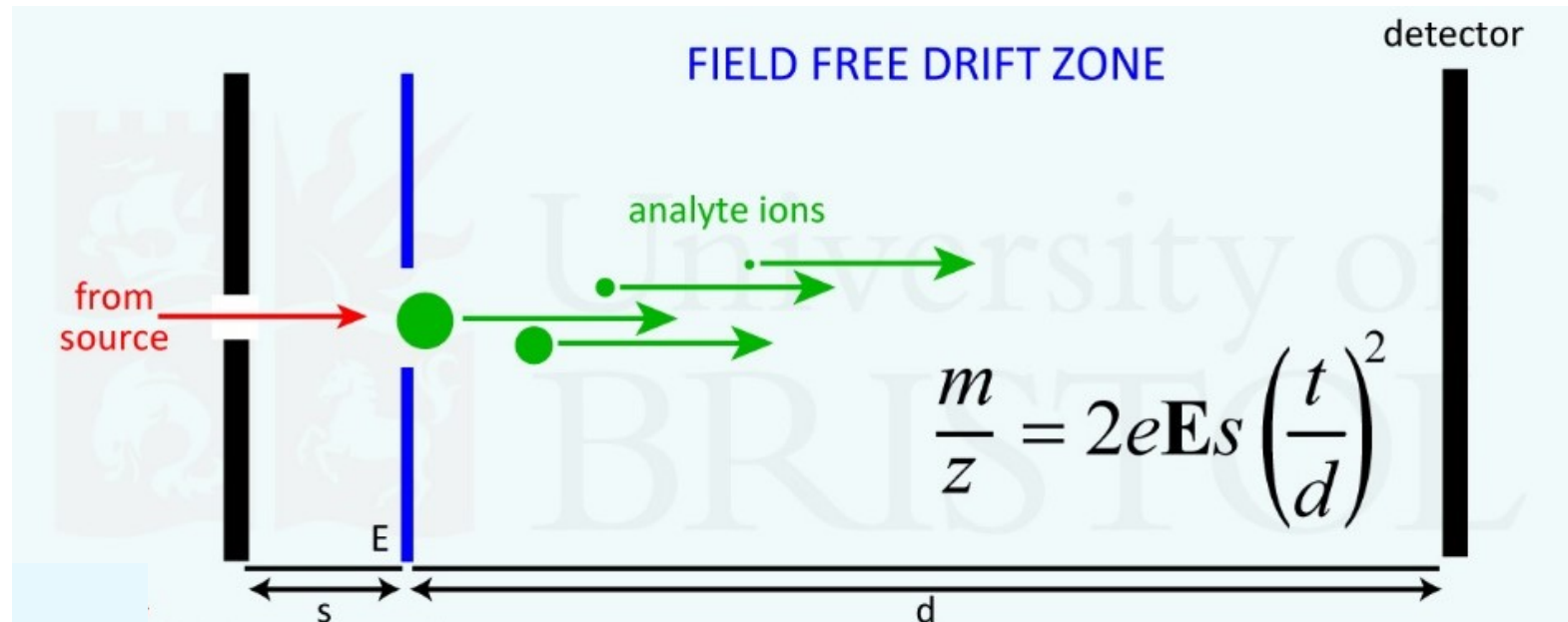
**LC-MS/MS
high
selectivity**



Tetracyclines in fish (100 µg/kg)

Massenspektrometrie

Hochauflösende Massenspektrometrie: z. B. Time-of-flight



Quelle: <http://www.chm.bris.ac.uk>

Massengenauigkeit: 0.000'1 – 0.000'5 Da

Nachweisvermögen

**Beispiel: Multi-TAM-Methode Milch KLZH
 (114 Wirkstoffe, UHPLC-HRMS)**

Wirkstoffgruppe	LOD [µg/kg]	f = MRL/LOD
Chinolone	0.2 – 2	2 – 50
Sulfonamide	2	50
Tetracycline	0.4 – 2	2 - 50
Penicilline	2	2 - 50
Cephalosporine	2	25 - 50
Nitroimidazole	0.2 – 1	1 - 5
Makrolide	0.2 - 20	5 – 1'000
Lincosamide	0.2	2 - 750

Inhalt

- I Welche Messverfahren gibt es?**
- II Welche Anforderungen müssen Messverfahren erfüllen?**
- III Wahl des Messverfahren?**
- IV Wie misst das Kantonale Labor Zürich?**
- V Fazit**

Akkreditierung - Validierung

Anforderungen an Messlabor:

- **EN17025 akkreditiert**
- **Methode im akkreditieren Bereich**
- **Methode validiert gemäss
2002/657/EG**
- **Beherrschung der Methode
mit Ringversuchen belegt**

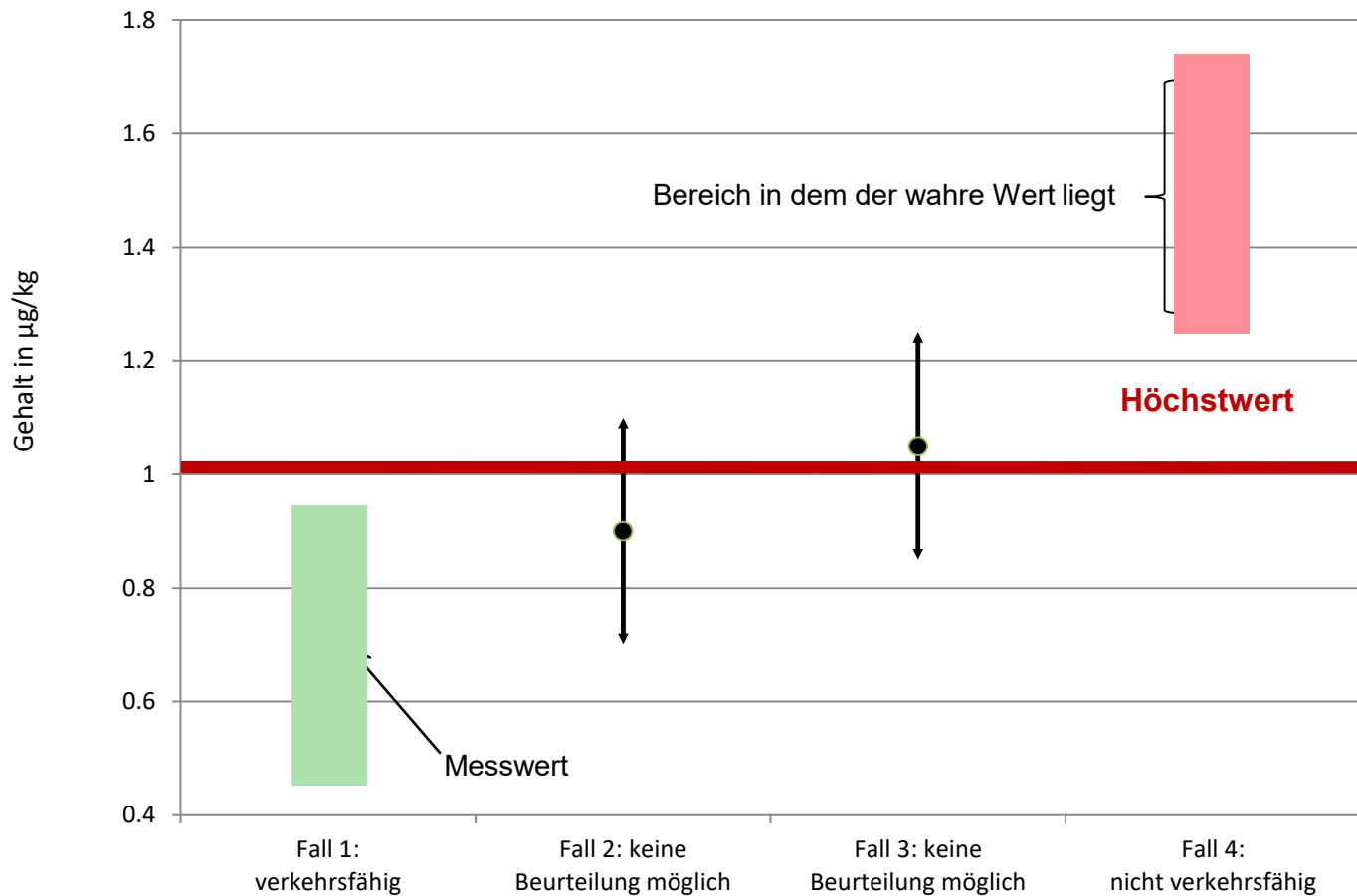
ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION
vom 12. August 2002
zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analyse-
methoden und die Auswertung von Ergebnissen
(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 3044)
(Text von Bedeutung für den EWR)
(2002/657/EG)

cc- α : Mass zur Erkennung FP
cc- β : Mass zur Erkennung FN

Screeningergebnisse RV

Jahr Wirkstoffe	Total FN	mikrobio. Tests FN	biochem. Tests FN	chem./phys. Tests FN
2015 Sulfonamide/Trimethoprim Makrolide exkl. b-Lactame	7 %	23 %	0 %	0 %
2014 Tetracycline Aminoglycoside Lincosamide/Makrolide	5 %	15 %	0 %	0 %
2013 Tetracycline Chinolone b-Lactame Kokkzidistatika	7 %	21 %	0 %	4 %
2009 Makrolide Chinolone Aminoglycoside	53 %	73 %	50 %	22 %

Messunsicherheit



Inhalt

- I Welche Messverfahren gibt es?**
- II Welche Anforderungen müssen Messverfahren erfüllen?**
- III Wahl des Messverfahren?**
- IV Wie misst das Kantonale Labor Zürich?**
- V Fazit**

Geeignetes Messverfahren

**Mikrobiologische
Verfahren**

**Immunchemische
Verfahren (ELISA)**

**physikalischen
Messverfahren
(LC-MS/MS, LC-HRMS)**



Screeningergebnis

Ergebnis positiv



2002/657/EG

Bestätigungsverfahren

Vergleich

	Screening	Bestätigung/ Quantifizierung
Mikrobiologische Verfahren	+	-
Immunchemische Verfahren (ELISA)	+	-
chem./phys. Messverfahren (LC-MS/MS, LC-HRMS)	+	+

Analyse – ja, aber welche?

Was weiss ich:

Verabreichtes Medikament?

Bemerkung

**Spezifische Analyse
vs. Multimethode**

Was will ich wissen:

**Rückstandskonzentration? Ware
lebensmittelrechtlich konform?**

> MRPL, > MRL



Inhalt

- I Welche Messverfahren gibt es?**
- II Welche Anforderungen müssen Messverfahren erfüllen?**
- III Wahl des Messverfahren?**
- IV Wie misst das Kantonale Labor Zürich?**
- V Fazit**

...und was macht das KLZH?

Messverfahren

- **3 UHPLC-HRMS**
- **ELISA (nur Harnscreening auf Aminoglycoside und Chloramphenicol)**

Aufwand, Leistungen

- **über 30 Jahre Erfahrung**
- **500 Stellen-%**
- **1'500 Proben/Jahr**
- **50 % des NFUP**
- **Grenztierärztliches Monitoring und Expressanalysen**
- **seit anfangs 2018 NRL für Fremdstoffe in Lebensmitteln tierischer Herkunft**

Daten aus der Praxis

NFUP Milchproben 2014 – 2018 untersucht mit Multi-TAM-Methode im KLZH

	Anzahl Proben	Wirkstoff
untersucht	426	
mit Rückständen <MRL	9	Cloxacillin (3) Tetracylin (2) Sulfadimidin (1) Tetracyclin, Cloxacillin (1) Spiramycin (2)
mit Rückständen >MRL	1	Sulfadimidin, Sulfadiazin, Sulfathiazol

Inhalt

- I Welche Messverfahren gibt es?**
- II Welche Anforderungen müssen Messverfahren erfüllen?**
- III Wahl des Messverfahren?**
- IV Wie misst das Kantonale Labor Zürich?**
- V Fazit**

Alle Messverfahren haben Vor- und Nachteile – man muss sie kennen!





Kanton Zürich
Kantonales Labor Zürich

33