

Versuche zur Rückstandsbestimmung von Aureomycin in Hühnereiweiss

Autor(en): **Pfaendler, H.R. / Stohler, W. / Schaub, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **64 (1973)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982293>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Versuche zur Rückstandsbestimmung von Aureomycin in Hühnereiweiß

H. R. Pfaendler, W. Stohler, H. Schaub

Lebensmittelinspektorat Kanton Basel-Landschaft, Rheinstraße 31, 4410 Liestal

Die häufig beobachtete, verminderte Wirksamkeit der gebräuchlichen Antibiotika bei Infektionskrankheiten beschäftigt heute nicht nur Forscher, Mediziner und Veterinäre, sondern auch die allgemeine Öffentlichkeit.

Obwohl die Wissenschaftler über das Zustandekommen dieser bakteriellen Resistenz teilweise noch im Unklaren sind und die Sterblichkeit auch bei den gefährlichsten Infektionskrankheiten, wie beispielsweise dem Typhus, in zivilisierten Ländern beständig gesunken ist (1), haben Beiträge in der Presse die Bevölkerung eher verunsichert als erleuchtet. In der Regel wurde die Resistenzentwicklung mit der Verwendung von Antibiotika in der Tierhaltung begründet, was angesichts der dort verwendeten Mengen verständlich erscheint, aber trotzdem nicht dazu verleiten sollte, eine andere mögliche Gefahrenquelle, nämlich die Humanmedizin, aus den Augen zu verlieren (2). Zwar werden dort kleinere Quantitäten, aber umso mehr verschiedenartige Antibiotika umgesetzt*.

Bei eingehender Betrachtung des Problems zeigt sich, daß verschiedene Mechanismen zu einer Resistenzbildung führen können (2): Neben der Anreicherung seit jeher schon vorhandener resistenter Bakterienstämme (Selektion), vererblicher Anpassung an antibiotikahaltige Nährmedien (Mutation bzw. Adaption) (3), Uebertragung der genetischen Elemente (Transduktion) durch Phagen (virenähnliche Kleinstmechanismen), sind in den letzten Jahren auch direkte Uebertragungen der Resistenz von einer Bakterienklasse auf eine andere (Konjugation) bekanntgeworden (4).

Spätere Versuche (5) lehrten jedoch, daß diese *in vitro* erhaltenen Resultate, sich *in vivo* nicht bestätigten**.

Da allfällige Rückstände im Fleisch und anderen Produkten, die aus der Tierhaltung mit nutritiven Mengen von Antibiotika anfallen, nur in geringsten Konzentrationen vorhanden wären, scheint es ausgeschlossen, daß die Resistenz nach dem Genuß solcher Lebensmittel im menschlichen Körper ausgebildet wird. Dennoch erweist sich die Bestimmung der Rückstände als besonders dringlich, nicht

* Im Gegensatz zur Humanmedizin, die auf Antibiotika aus lebenswichtigen Gründen angewiesen ist, könnte auf die Verabreichung von Antibiotika im Tierfutter verzichtet werden. Andererseits bedeutet diese Anwendung einen großen Fortschritt in der Rationalisierung der Landwirtschaft. Der Verzicht dürfte vor allem die Preise für Geflügel erneut erhöhen und birgt zusätzlich die Gefahr, daß die Tierhalter zu neuen, unbekanntenen und möglicherweise weit gefährlicheren Zusatzstoffen greifen.

** Eine eingehende und objektive Beschreibung über die Verwendung von Antibiotika in der Geflügelzucht und deren mögliche Gefahren findet sich in (6).

nur in Bezug auf die Kontrollmöglichkeit zur Einhaltung der bestehenden Fütterungsvorschriften, sondern auch wegen der weitreichenden Konsequenzen und Auswirkungen, die sich durch allfällige Antibiotika-Rückstände auf die Lagerung der Lebensmittel ergeben würden. In der Tat ist unschwer einzusehen, daß beispielsweise antibiotikahaltiges Fleisch weit länger haltbar wäre als von Rückständen freies.

Nicht weniger Schwierigkeiten bereiten die Analysenmethoden selbst. Obwohl viele Berichte über Rückstandsprobleme keine exakten Beschreibungen der experimentellen Versuche enthalten, darf angenommen werden, daß in der Regel die Agardiffusion (7) zu den Untersuchungen herangezogen wurde. Bei dieser Arbeitsweise bringt man Proben des zu untersuchenden Materials auf einen mit Keimen beimpften Nährboden. Rund um das antibiotikahaltige Material diffundiert der Wirkstoff dann in das Nährmedium und hemmt das Wachstum der Keime bei der anschließenden Bebrütung. Neuere Untersuchungen (8) haben jedoch gezeigt, daß Hemmzonen nicht nur durch Antibiotika, sondern auch durch andere unbekannte bakterizide, im Testmaterial vorhandene Substanzen ausgebildet werden und somit die Ergebnisse verfälschen. Damit wird ein großer Teil der in den letzten Jahren veröffentlichten Resultate mikrobieller Rückstandsbestimmungen in Frage gestellt.

Da Rückstandsbestimmungen von Antibiotika in Fleisch (9) nur mit erheblichem Aufwand durchzuführen sind, wobei neben den langdauernden Fütterungsversuchen auch die Schlachtung der Tiere nachteilig ins Gewicht fällt, beschreiben wir hier den Versuch, Antibiotika in einem andern wichtigen Lebensmittel, nämlich dem Hühnerei, nachzuweisen***. Ein Hühnerei wird innerhalb von 24 Stunden gebildet und es scheint daher verständlich, daß allfällige Antibiotika schneller ins Ei als ins Fleisch eingebaut würden. Damit konnten auch die Fütterungsversuche verkürzt werden.

Unsere Wahl fiel auf ein als Futterzusatz weit verbreitetes Produkt, Aureomycin (Chlortetracyclin-Hydrochlorid). Obwohl mikrobiologische Testmethoden wegen der oben aufgeführten Gründe teilweise unzuverlässig sind, wurde versucht, Antibiotika durch Agardiffusion mit dem besonders empfindlichen Testkeim *Bacillus subtilis* nachzuweisen. Es zeigte sich jedoch auch bei unseren Versuchen, daß *unbekannte bakterizide Substanzen in relativ hohen Konzentrationen das Wachstum des Keimes einschränkten*. In der Regel war es jedoch möglich, durch stetiges Verdünnen der Testlösungen, Antibiotika auch in Gegenwart von bakteriziden Fremdsubstanzen zuverlässig nachzuweisen. Dabei wird natürlich die Empfindlichkeit der Methode herabgesetzt. Dennoch wurden beispielsweise mit von Rückständen freien, wässrigen Eiklarlösungen in einer Verdünnung von 1 : 100 noch Hemmzonen festgestellt. *Deshalb mußte das allfällig im Eiklar vorhandene Aureomycin durch ein Extraktionsverfahren möglichst selektiv angereichert werden*. Mit organischen Lösungsmitteln gelang es, 10 g Eiklar zu einer Testlösung aufzuarbeiten, die nur noch 70 mg Fremdsubstanzen in 3 ml enthielt

*** Frühere, ähnliche Versuche (10) zeigten z. T. unterschiedliche Resultate.

und bei den Hemmtests keine unerwünschten Nebenerscheinungen zeigte. Als Neuerung wurden Filterplättchen mit *alkoholischer, statt wässriger Testlösung* getränkt, getrocknet und erst dann auf die Testplatte gelegt. Diese Arbeitsweise erlaubt, wasserlösliche bakterizide und unerwünschte Anteile auf ein Minimum zu reduzieren und garantiert außerdem eine sorgfältigere Diffusion sowie die Keimfreiheit der aufgelegten Filterplättchen.

Beschreibung der Versuche

Drei Gruppen mit je zwei Hühnern wurden während acht Tagen mit Futter und Wasser ernährt. Bei Gruppe A wurde Futter ohne Zusatz von Antibiotika, bei Gruppe B mit 30 mg/kg enthaltende und bei Gruppe C mit 300 mg/kg Aureomycin enthaltende Mischung vorgelegt. Die Eier wurden jeweils am Abend jedes Tages eingesammelt, und gekennzeichnet und bis zu ihrer weiteren Verwendung während höchstens zwei Tagen bei 5 ° C gelagert. Der Abbruch der Fütterungsversuche erfolgte nach acht Tagen. Die Mengen der verfütterten Mischungen betragen 1900 g (Gruppe A), 1300 g (Gruppe B) und 1600 g (Gruppe C). Die Hühner legten 10 (A), 9 (B) und 9 (C) Eier.

Alle verwendeten Glaswaren wurden in Chromschwefelsäure gelagert, dann mit destilliertem Wasser und reinem Methanol gespült. Die mikrobiologischen Versuche erfolgten auf mit *Bacillus subtilis* beimpften Nährplatten «Bactiastrip» der Firma Bactiastrip S. A., 8702 Zollikon-Zürich.

10,0 g vom Eigelb abgetrenntes Eiklar eines vorher äußerlich sorgfältig gereinigten Hühnereies wurden in einem 250 ml-Kolben mit reinstem Methanol und 0,3 ml Eisessig während 1 Stunde am Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das ausgefällte Protein abzentrifugiert, die verbleibende Lösung abgehebert, filtriert und das Filtrat im Vakuum-Rotationsverdampfer vollständig eingedampft.

Der trockene Rückstand (200 mg) wurde im verschlossenen Kolben unter kurzem Erwärmen auf dem Wasserbad mit 3,0 ml reinem Alkohol suspendiert. Erneute Filtration lieferte eine Lösung, die für die mikrobiologischen Tests diente.

Eine Testscheibe wurde in der erhaltenen alkoholischen Lösung getränkt, unter einem warmen Luftstrom vollständig getrocknet und auf die beimpfte Testplatte gelegt. Nach 12stündigem Bebrüten bei 37 ° C waren keine Hemmzonen ausgebildet. Dies entspricht einem Aureomycingehalt im Eiklar von weniger als 0,3 ppm.

Eine Vergleichsprobe von 3,0 µg (0,3 ppm) zum Eiklar zugemischten Aureomycin zeigte, daß sich eine deutliche Hemmung des Wachstums der Bakterien ergab. Dies bestätigt, daß Aureomycin bei der Extraktion seine Hemmfähigkeit bewahrt.

Da Aureomycin wasser- jedoch nicht fettlöslich ist, wurde auf eine Analyse des Eigelbs verzichtet. Dieser Nachweis dürfte wegen des hohen Gehaltes an Fett im Eidotter (11) eine andere Extraktionsmethode erfordern.

Versuchsergebnisse

Es zeigte sich, daß nach der beschriebenen Arbeitsmethode (Abbildung 1), deren Nachweisgrenzen bei 0,3 ppm liegen, aus dem während den achttägigen Fütterungsversuchen erhaltenen Eiklar keine Antibiotika nachzuweisen waren. Auch nach der Fütterung von Mischungen mit Zusatz von 300 mg Aureomycin pro kg, d. h. einem weit höheren, als dem für nutritive Zwecke erlaubten Gehalt, waren keine Rückstände durch die angewendete Methode erfaßbar.

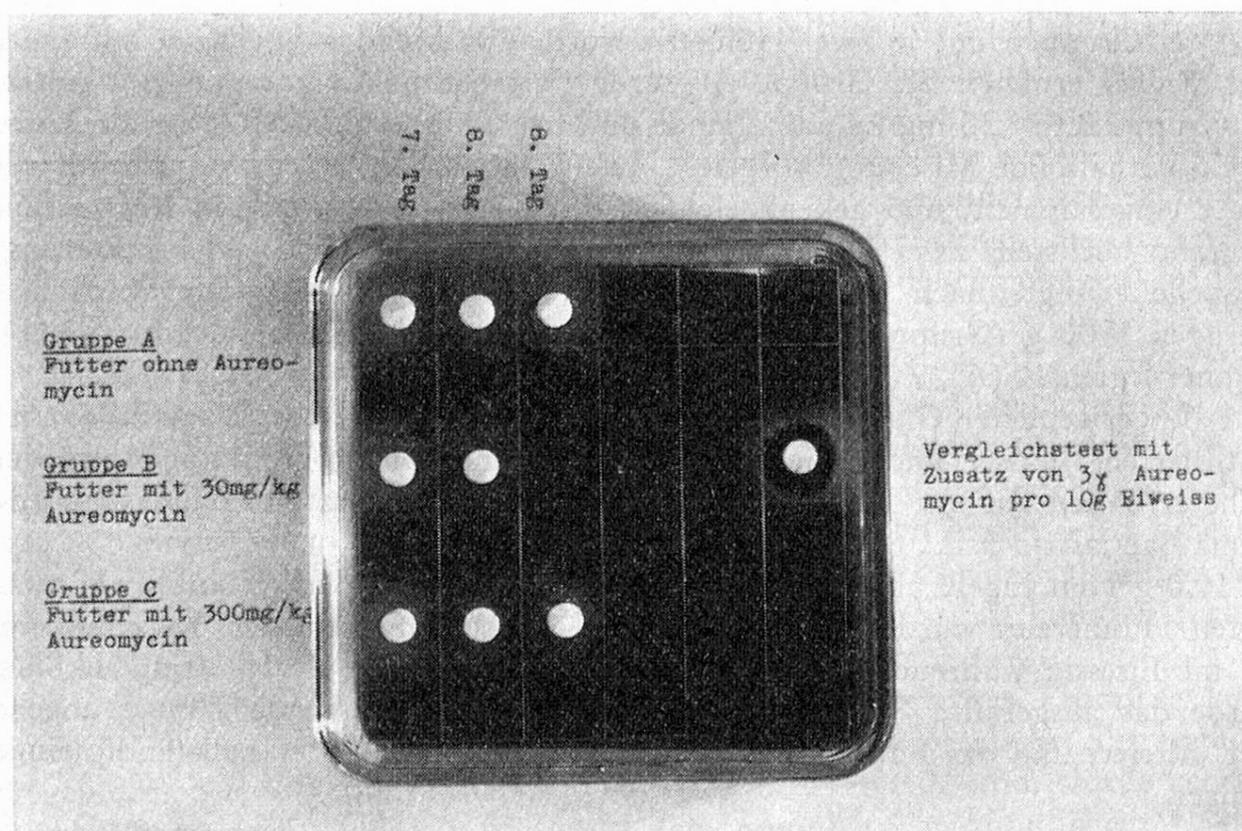


Abbildung 1. Hemmtest der Eiklarextrakte vom 7. und 8. Tag der Fütterungsversuche.

Zusammenfassung

Drei Gruppen mit je zwei Hühnern wurde während 8 Tagen Fertigfutter mit Null, 30 und 300 ppm Aureomycin (Chlortetracyclin) verabreicht. Die im Parallelversuch erhaltenen Eier wurden mit dem Agardiffusionstest geprüft und die Resultate miteinander verglichen. Durch ein Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln konnte die Zuverlässigkeit der bestehenden Methodik gesteigert werden. Die Untersuchungen zeigen, daß im Eiklar die Antibiotikarückstände bei Verabreichung bis zu 300 ppm Aureomycin als Tagesration kleiner als 0,3 ppm waren.

Résumé

Trois groupes de deux poules ont reçu pendant huit jours une nourriture contenant respectivement zéro, 30 et 300 ppm d'aureomycine (chlorotétracycline). Les œufs obtenus ont été soumis à l'essai de diffusion sur agar et les résultats comparés entre eux. L'emploi de solvants organiques pour l'extraction des antibiotiques s'est révélé nécessaire. Ces recherches ont montré que la concentration en résidus d'antibiotiques dans le blanc d'œuf était inférieure à 0,3 ppm pour des poules recevant une nourriture contenant jusqu'à 300 ppm d'aureomycine.

Summary

To three groups of two chicken, feed containing zero, 30 and 300 ppm of aureomycine (chlorotetracycline) was given, the obtained eggs analyzed and the results compared to those eggs containing no residues. Extraction of the antibiotics with organic solvents was necessary. Based on a slightly modified microbiological test the presence of chlorotetracycline in the white of egg was $< 0,3$ ppm.

Literaturverzeichnis

1. *Manten A. et al.*: Bull. Wld. Hlth. Org. **45**, 85 (1971).
2. «Infektionskrankheiten und ihre Erreger», Documenta Geigy, J. R. Geigy AG., Basel, Pharmazeutisches Departement. S. 133 (1967).
3. *Abraham et al.*: Nature **158**, 818 (1946); Dean u. Giordan: Proc. roy. Soc. B. **161**, 571 (1965).
4. *Watanabe T.*: Bac. Rev. **27**, 87 (1963); Lebek G.: Z. Hyg. Infekt. Kr. **149**, 255 (1963).
5. *Smith H. W.*: Vet. Rec. **85**, 31 (1969).
6. *Bickel H.*: Geflügel und Kleinvieh **18**, 3 (1972).
7. *Mutschler E.*: «Arzneimittelwirkungen», Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 320 (1970);
Hawker L. E., Linton A. H., Folkes B. F., Carlile M. J.: Einführung in die Biologie der Mikroorganismen», Georg Thime Verlag, Stuttgart, S. 431 (1962);
Linton A. H.: J. Bact. **76**, 94 (1958).
8. *Schuler A.*: Schw. Arch. Tierheilk. **144**, 413 (1972), *Terplan G., Zaadhof K.-J., Angersbach H., Skarlakidou M.*: Arch. Lebensmittelhyg. **24**, 90 (1973).
9. *Knothe H.*: Schweiz. med. Wochenschr. **90**, 1302 (1970); *Martin W. H., Claydon T. J. und Bartley E. E. J.*: Dairy Sci. **1**, 47 (1955); *Broquist H. P. und Kohler R.*: Antibiotics Annual 1953/54, 401 (1954); *Brüggemann J. und Merckenschlager M.*: Arch. Lebensmittelhyg. **9**, Nr. 9 (1958); *Brüggemann J. und Zucker H.*: Z. Tierern. u. Futtermittelk. **11**, 65 (1956).
10. *Merckenschlager M.*: Habilitationsschrift München (1962); *Ferrando R.*: «Antibiotics in Agriculture», Proc. of fifth Symposium of the Group of European Nutritionists in Joy-en-Josas 1966, Verlag S. Karger, Basel, S. 120 (1968).
11. *Rauch W.*: «Eier», Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. 3/2. Teil, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, S. 886 (1968).