

# Methodenentwicklung für die simultane Bestimmung und Quantifizierung 11 verschiedener $\beta$ -Lactam-Antibiotika in tierischen Muskelgeweben

Hasler Frank

Molecular Life Sciences, Chemie

Kantonales Laboratorium Basel-Landschaft, 4410 Liestal

## KURZZUSAMMENFASSUNG

In der heutigen Nutztierhaltung sind  $\beta$ -Lactam-Antibiotika zur Vorbeugung oder Behandlung bakterieller Erkrankungen nicht mehr wegzudenken. Alleine in Europa wurden im Jahre 2009 rund 322t Penicilline an Masttiere verfüttert.<sup>1</sup> Nebenbei wird durch deren Applikation das Wachstum der Tiere beschleunigt und damit die Effizienz der Futtergabe gesteigert. Ein missbräuchlicher Einsatz derartiger Antinfektiva kann jedoch zu Rückständen in tierischen Produkten führen, welche wiederum negative Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit haben können.

Um sicherzustellen, dass die Konsumenten keinen potentiell gefährlichen Konzentrationen ausgesetzt sind, wurden von der EU Rückstandshöchstmengen (MRLs) definiert. In der vorliegenden Arbeit wurde eine validierte Analysemethode entwickelt, welche 11 Wirkstoffe aus den Gruppen der Penicilline sowie der Cephalosporine einschliesst und in der Lage ist, die Einhaltung der MRL-Werte zu überprüfen sowie allfällige Antibiotikarückstände zu quantifizieren.

## EINLEITUNG

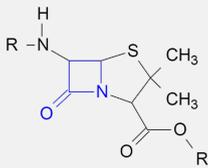


Abb. 1: Penicilline

Die allgemeinen Strukturen der untersuchten Penicilline und Cephalosporine sind in den Abbildungen 1 resp. 2 gezeigt. Beide Substanzklassen werden durch den viergliedrigen  $\beta$ -Lactamring charakterisiert. Unter Ringöffnung kann dieser kovalent an das aktive Zentrum der Transpeptidase



Abb. 2: Cephalosporine

binden und damit die Mureinsynthese proliferierender Keime hemmen, was zur Zellyse führt.

Für die Analyse der 11 Substanzen stand ein UPLC-triple quadrupole Massenspektrometer in Kombination mit einer ESI-Ionenquelle der Firma Waters zur Verfügung.

## RESULTATE

### 1. Probenaufarbeitung

Es wurden zwei Clean-up Methoden entwickelt, wobei die Dispersive SPE (verwandt mit QuEChERS für Pestizide) der klassischen SPE trotz grosserer Matrixeffekte vorgezogen wurde. Gründe für den Entscheid:

- weniger Arbeitsschritte notwendig
- Störanfälligkeit geringer
- schneller & günstiger
- sehr robuste Methode



### 2. Anwendbarkeit

Die Dispersive SPE wurde erfolgreich an Kalb-, Rind- und Schweinefleisch getestet.

### 3. UPLC-Methode

Für die chromatographische Trennung erwies sich eine Waters Acquity UPLC HSS T3 Säule als geeignet (vgl. Abbildung 3).

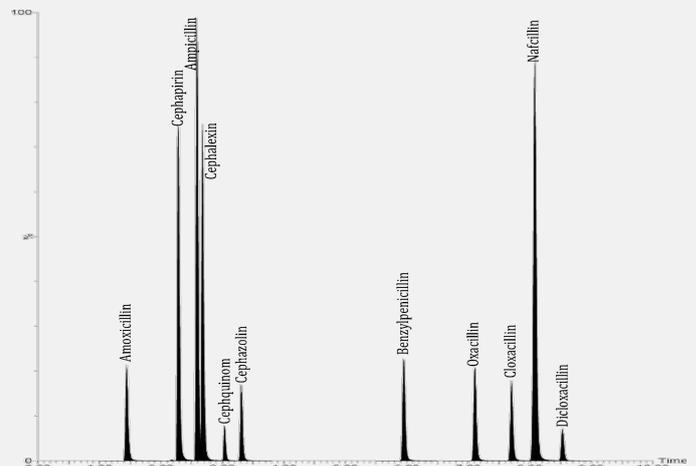


Abb. 3: Chromatographische Trennung der Wirkstoffe

### 4. Validierung

Methode sehr empfindlich (LOQs = 5 $\mu$ g/kg; LODs  $\leq$  1 $\mu$ g/kg). Lineare Abhängigkeiten über grossen dynamischen Bereich.

## SCHLUSSFOLGERUNG

Die entwickelte Methode überzeugt insbesondere durch den hohen Probendurchsatz, welcher von der schnellen Probenaufarbeitung in Verbindung mit der UPLC bewerkstelligt

wird. Im Weiteren ist für die Überprüfung einer MRL-Überschreitung eine einfache Post-Addition möglich. Die hohe Methodenstabilität zeigte sich während einer Fleischkampagne.

## REFERENZEN

<sup>1</sup>European Medicines Agency. 'Trends in the sales of veterinary antimicrobial agents in nine European countries'. (2011).

**Examinator**  
**Industriebetreuer**  
**Experte**

Prof. Dr. G. Schlotterbeck  
Dipl. Chem. J. Noser  
Dr. M. Ehrat