

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen Filosofian tiedekunta tiedekunta		Laitos — Institution Farmasian laitos	
Tekijä — Forfattare Carlsson, Kerstin Synnöve			
Työn nimi — Arbets titel Oksitetrasykliinijäämien osoittaminen lehmän maidosta kokeellisessa utaretulehduksessa			
Oppiaine — Läroämne Biofarmasia			
Työn laji — Arbets art Kokeellinen pro gradu		Aika — Datum Huhtikuu 1995	Sivumaara — Sidoantal 55
Tiivistelmä — Referat Maitoa pidetään puhtaana luonnontuotteena ja sen laatuun kohdistuu paljon odotuksia. Maidon tulee olla paitsi hygieenisesti korkealaatuista myös vapaa erilaisista jäämistä. Meijerit testaavat sinne tulevan tankkimaidon ja satunnaisesti myös tilatankkeja, sillä pienikin määrä antibioottijäämiä voi häiritä meijeriteollisuudessa juustojen ja hapannaitotuotteiden valmistusta. Oksitetrasykliini on yleisesti eläinlääkinnässä käytetty antibiootti, jota käytetään myös utaretulehduksen hoitoon. Eri eläinlääkejäämille pyritään säätämään kansainvälisesti suurin sallittu jäämätaaso, MRL-arvo (maximum residue limit), joka oksitetrasykliinille on 100 ng/ml. Jäämätastauksen tavoitteena on, että tilalta ei lähde antibioottia sisältävää maitoa meijeriin. Ongelmia voi esiintyä silloin, kun on käytetty OTC-lääkitystä, koska määräkseen mukaan maito saa sisältää oksitetrasykliiniä korkeintaan 100 ng/ml, eikä millään mikrobiologisella testimenetelmällä pystytä osoittamaan niin pieniä pitoisuuksia. Lisäksi utaretulehduksen aiheuttamat tulehdusmuutokset häiritsevät mikrobiologisen antibioottijäämätestin luotettavaa toimintaa. Kokeen tarkoituksena oli selvittää tulehtuneen ja terveen utareneljännekseen ero siinä, miten paljon ja kuinka kauan oksitetrasykliiniä erittyy maitoon lihaksensisäisen kerta-annoksen jälkeen. Jäämävalvonnan kannalta tämä on tärkeä tietää, koska on mahdollista, että lääkeainetta erittyy tulehtuneeseen neljännekseen kauemmin ja suurempina pitoisuuksina kuin terveeseen neljännekseen. Tarkoitus oli myös selvittää, miten mikrobiologiset antibioottijäämätetit käyttäytyvät, kun maitonäytteet otetaan utaretulehdusta sairastavalta lehmältä ja onko lääkevalmisteelle määrätty varo aika riittävän pitkä. Lisäksi työn tarkoituksena oli verrata mikrobiologisilla antibioottijäämätesteillä saatuja tuloksia kemiallisella menetelmällä saatuihin tuloksiin ja selvittää miten suuria antibioottipitoisuuksia oli vielä maidossa silloin, kun mikrobiologinen antibioottijäämätesti antoi negatiivisen testituloksen. Kuudelle terveille lypsylehmälle aiheutettiin kokeellinen utaretulehdus ruiskuttamalla yhteen utareneljännekseen <i>E. coli</i> -endotoksiinia, joka oli eristetty kliinisestä utaretulehduksesta. Kun utaretulehdusoireet ilmenivät, lehmille annettiin oksitetrasykliiniä (10 mg/kg, Engemycin 100 mg/ml, Intervet) lihaksensisäisesti. Utaretulehduksen aiheuttamia tulehdusmuutoksia maidossa seurattiin kolmella eri menetelmällä. Soluluvut määritettiin silmämääräisesti Californian Mastitis testillä (CMT) ja tarkemmin solupitoisuus laskettiin laboratoriossa Fossomatic-menetelmällä. Solujen entsyymiaktiivisuus määritettiin NAGaasi-aktiivisuuden perusteella fluorometrisesti. Koe- ja kontrollineljänneksistä sekä kannumaidosta kerättiin näytteitä yhteensä kuusi vuorokautta ja verinäytteitä neljä vuorokautta. Oksitetrasykliinijäämien osoittamiseen maidosta käytettiin sekä mikrobiologisia antibioottijäämätestejä että kemiallista HPLC-menetelmää. Mikrobiologisista antibioottijäämätesteistä Suomessa on käytössä T101-testi (Valio, Oy) ja Delvo-SP-testi (Gist-brocades, Hollanti). Koska antibioottijäämätetit eivät ole riittävän herkkiä osoittamaan lähellä MRL-arvoa olevia oksitetrasykliinijäämiä, niin varmistustestausta varten käytettiin herkkää HPLC-menetelmää. Seerumin oksitetrasykliinipitoisuus määritettiin fluorometrisellä menetelmällä. Tulehdusmuutokset häiritsevät mikrobiologisia testejä, koska antibioottiposiitivisia testituloksia saatiin, vaikka HPLC-varmistus osoitti sen, että maitonäytteissä ei ollut antibiootteja. Mikrobiologiset testit ovat epäherkkiä oksitetrasykliinille. HPLC-menetelmällä saatiin yli MRL-arvon (100 ng/ml) olevia pitoisuuksia silloin, kun mikrobiologiset testit antoivat antibioottinegatiivisen testituloksen. Myös koaneljänneksen ja kontrollineljänneksen väliset erot tulivat esiin ja koaneljänneksen maitonäytteissä oksitetrasykliinin C_{max} oli korkeampi kuin vastaava kontrollineljänneksestä saatu C_{max} . Vaikka lehmäkohtaisia eroja oli oksitetrasykliinin erittymisessä maitoon, käytössä olleelle valmisteelle määrätty varo aika oli riittävä testattaessa yhden lehmän kannumaitoa. Utaretulehduksen ja antibioottihoidon yhteydessä tulisi pelkästään terveet utareneljännekset lypsää yhteismaitoon ja jättää antibiooteilla hoidetun, sairaan neljänneksen maito pois kannumaidosta. Silloin varmistutaan siitä, että varoajan päättymisenkään jälkeen kannumaitoon ei tule antibioottijäämiä tai tulehdustekijöitä. Mikrobiologiset antibioottijäämätetit eivät ole riittävän luotettavia, kun tutkitaan oksitetrasykliinijäämiä maidosta ja kun tutkimuskohteena on tulehdusmaito. Mikrobiologisten testien tulosten varmistamiseksi tarvitaan entistä herkkiä määrittymenetelmiä, jotka kykenevät osoittamaan alle MRL-arvojen olevia jäämätaasoja ja johon tulehdusmuutokset eivät vaikuta. Näin voidaan varmistaa kuluttajalle puhdasta ja jäämävapaa maitoa.			
Avainsanat — Nyckelord Oksitetrasykliini, antibioottijäämät maidossa, kokeellinen utaretulehdus			
Säilytyspaikka — Förvaringställe Farmasian laitos, Biofarmasian ja farmakokinetiikan osasto			
Muuta tietoa — Övriga uppgifter Työ suoritettiin Eläinlääkintä- ja elintarvikelaitoksella (EELA), Hämeentie 57, 00231 Helsinki Työn ohjaajat olivat, Tuula Honkanen-Buzalski, Professori ja Kaija-Leena Saraste, farmaseutti, MMM.			