

Anpassung mikrobiologischer Qualitätsbestimmung bei Rohmilch an moderne Produktionsbedingungen durch Entwicklung und Integration innovativer Schnellmethoden (NextMilQ)

FKZ 281A105716

Teilprojekt sifin diagnostics gmbh

Entwicklung und Validierung diagnostischer Methoden für den selektiven Nachweis von Pseudomonaden und Streptokokken in Rohmilch

A. Reeh, L. Gessert, B. Seidel, M. Voetz

Entwicklung eines antikörperbasierten Nachweises von Pseudomonaden in Rohmilch zur Quantifizierung mittels Durchflusszytometrie

Methode

- Immunisierung von Mäusen mit einem Cocktail aus fünf milchrelevanten Vertretern der Gattung *Pseudomonas*
- Herstellung muriner Hybridoma-Zelllinien zur Gewinnung von spezifischen monoklonalen Antikörpern
- Produktion der monoklonalen Antikörper und Konjugation mit dem Fluoreszenzfarbstoff R-Phycoerythrin für den Nachweis im Durchflusszytometer (FCM)

Ergebnisse

- Gewinnung von unabhängigen Zelllinien, die einen gattungsspezifischen bzw. speziesspezifischen Antikörper produzieren

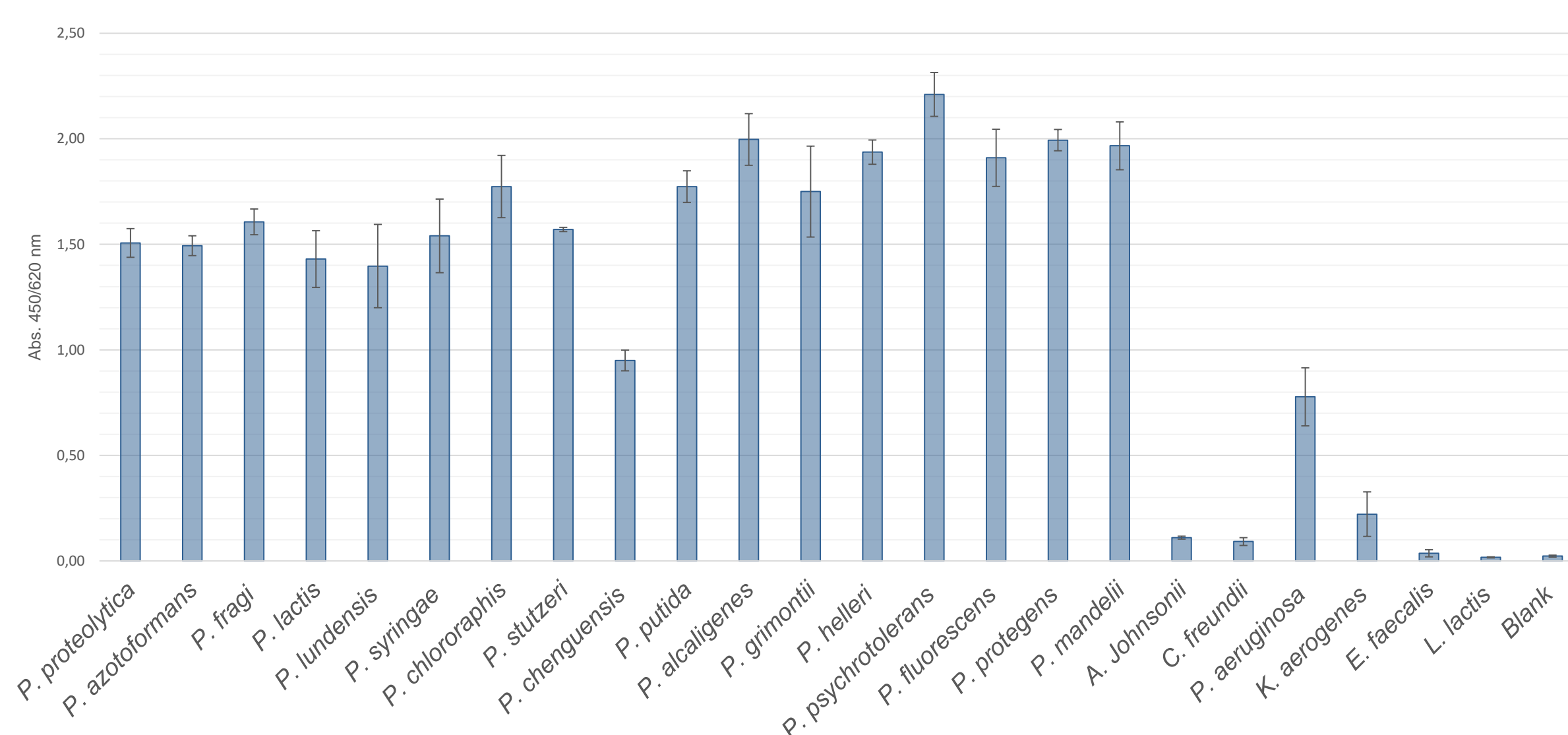


Abb. 1: ELISA-basierte Untersuchung der Spezifität des Antikörpers. Positive Reaktion auf eine Auswahl an *Pseudomonas*-Stämmen. Keine Kreuzreaktivität gegenüber anderen Gram-negativen und Gram-positiven Stämmen

- Erfolgreicher Einsatz der Antikörper im ELISA und in der Durchflusszytometrie (siehe Abb. 1 und Abb. 2)
- Detektion von *P. proteolytica* mit speziesspezifischem monoklonalem Antikörper in verdünnter Rohmilch möglich

Ausblick

- Validierung der Antikörper in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern
- Optimierung der Detektion von Pseudomonaden in Rohmilch
- Produktion weiterer monoklonaler Zelllinien momentan in Arbeit

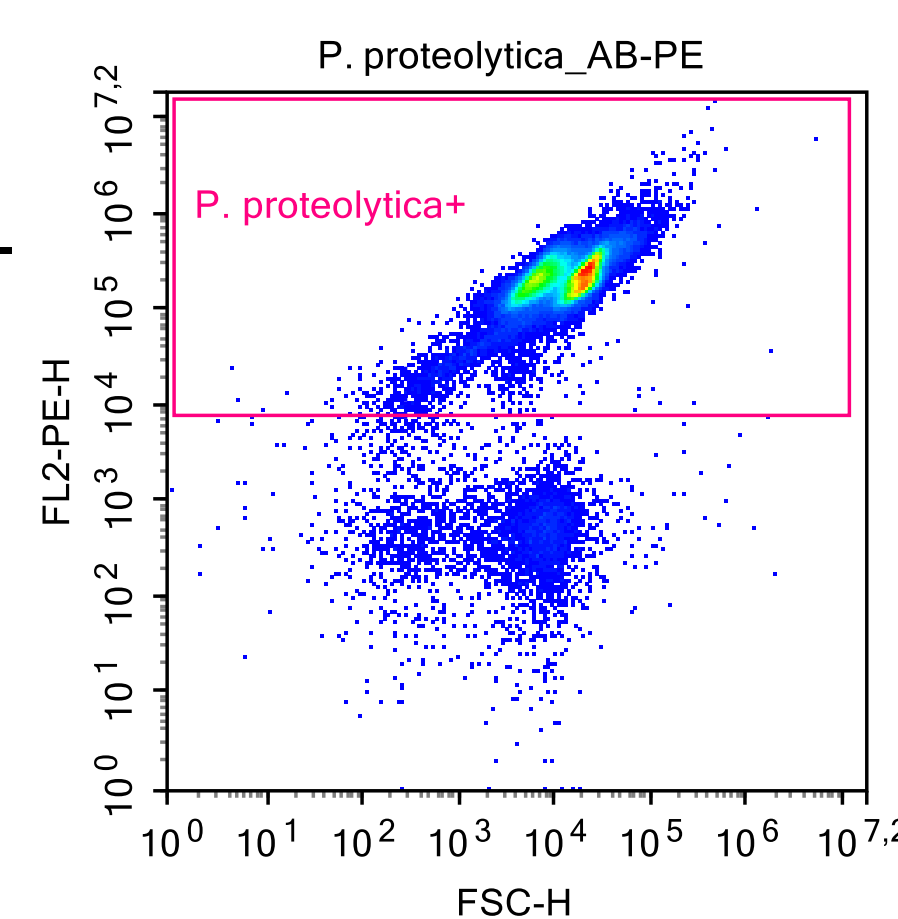


Abb. 2: Untersuchung des speziesspezifischen AK im FCM

Entwicklung eines Selektivmediums zum Nachweis von Mastitiserregern aus der Gattung *Streptococcus*

Methode

- Etablierung eines innovativen Grundmediums ohne Blutzusatz
- Auswahl chromogener Substrate basierend auf speziesspezifischen Enzymaktivitäten von *S. uberis*, *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae*
- Optimierung der Kulturbedingungen

Ergebnisse

- Optische Differenzierung bereits nach 24 h Inkubation durch charakteristische Koloniefärbung der u.g. *Streptococcus* Arten möglich (siehe Abb. 3)



Abb. 3: Selektives Streptokokkenmedium beimpft mit einem Mix aus *S. uberis*, *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae* nach 24 h mikroaerophiler Inkubation bei 37°C

- *Streptococcus uberis* → türkisgrün mit dunklem Hof
- *Streptococcus agalactiae* → orange-braun
- *Streptococcus dysgalactiae* → helltürkis

- Weitgehende Unterdrückung Gram-negativer Begleitflora
- Ausbleibende Koloniefärbung Gram-positiver Begleitflora

Ausblick

- Validierung der Selektivität und Spezifität auf Basis einer erweiterten Stammauswahl
- Untersuchung der Produktstabilität
- Validierung des Nachweisverfahrens unter Verwendung von Praxisproben

Ein besonderer Dank gilt der TUM und dem LGL für die Bereitstellung der Mikroorganismen.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages



sifin diagnostics gmbh
Berliner Allee 317-321
13088 Berlin
www.sifin.de
info@sifin.de