



Puławy, 2012.07.04

ZHZ-066/490/12

## OPINIA

**Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu  
Badawczego w Puławach, Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia  
Zwierzęcego – Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. pozostałości  
substancji przeciwbakteryjnych (B1) na temat przydatności testu Delvotest  
SP-NT do wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych  
w mleku**

1. Producent testu: DSM Food Specialties, Dairy Ingredients, PO Box 1, 2600 MA Delft, The Netherlands
2. Dystrybutor w Polsce: DSM Food Specialties Poland Sp. z o.o., ul. Tarczyńska 113, 96-320 Mszczonów
3. Zasada metody

Delvotest SP-NT jest mikrobiologicznym testem jakościowym, przeznaczonym do wykrywania pozostałości antybiotyków lub innych substancji o działaniu przeciwbakteryjnym w mleku. Zasada metody opiera się na zjawisku hamowania wzrostu szczepu testowego *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* przez substancje hamujące zawarte w badanym materiale. W przypadku braku takich substancji wzrost szczepu testowego w czasie inkubacji powoduje zakwaszenie podłoża, czego efektem jest zmiana barwy z purpurowo-fioletowej na żółtą. Brak lub tylko częściowa zmiana barwy podłoża po okresie inkubacji dowodzi obecności w badanym mleku substancji o działaniu przeciwbakteryjnym.

#### 4. Opis testu

Delvotest SP-NT oferowany jest w dwóch formach:

- probówkowej (Delvotest SP-NT) – zestawy po 25 lub 100 ampułek, ze strzykawką i jednorazowymi końcówkami do nanoszenia próbek mleka;

- płytkowej (Delvotest SP 5 Pack NT) – zestaw 5 płytek, po 96 studzienek, z możliwością podziału na paski zawierające 2 x 8 studzienek.

## 5. Wykonanie badania

Przy pomocy strzykawki (test próbówkowy) lub pipety automatycznej (test płytkowy) jednorazowymi, sterylnymi końcówkami należy przenieść na pożywkę testową po 100  $\mu$ l badanych próbek mleka. Próbkę należy inkubować w bloku grzejnym lub na łaźni wodnej, w temperaturze  $64 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Ze względu na fakt, że wg danych producenta istnieją rozbieżności pomiędzy poziomami wykrywalności dla poszczególnych substancji w zależności od czasu inkubacji, przed rozpoczęciem właściwych badań należy ustalić tzw. czas kontrolny, tj. czas, po którym nastąpiła zmiana barwy pożywki w próbkach i w studzienkach z kontrolną próbką negatywną, z purpurowo-fioletowej na żółtą lub inkubować próbki przez 3 godziny. Interpretacji wyniku dokonuje się na podstawie barwy dolnych 2/3 wysokości słupka agaru. Zmiana barwy z purpurowo-fioletowej na żółtą oznacza brak substancji hamujących w badanym mleku. Brak zmiany barwy pożywki świadczy o wyniku dodatnim, to znaczy obecności substancji hamujących.

## 6. Przydatność testu

Na podstawie własnego doświadczenia, dostarczonej dokumentacji oraz danych z piśmiennictwa można potwierdzić przydatność Delvotest SP-NT do wykrywania pozostałości antybiotyków lub innych substancji o działaniu przeciwbakteryjnym w mleku. Test został zwalidowany i oceniony w wielu krajach, jest również szeroko stosowany na świecie. Charakterystyczna dla *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* wysoka wrażliwość na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe pozwala na ich wykrywanie w stężeniach niższych lub równych wartościom MRL (Maximum Residue Limits) przyjętych dla pozostałości w mleku. Również poziom wykrywalności dla sulfonamidów jest zbliżony do wartości MRL ustalonych dla pozostałości tych substancji w mleku. W pozostałych przypadkach poziomy wykrywalności Delvotest SP-NT są podobne, jak innych metod mikrobiologicznych przeznaczonych do wykrywania pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w mleku.

## 7. Piśmiennictwo

Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y., Kihal M.: Evaluation de la qualite hygienique du lait dans l'ouest algerien. Revue Med. Vet, 2009, 12, 590-595

Andersson I.: Konsten att analysera antibiotica. Svenskmjolk, 2010, 8, 1-2

AOAC Research Institute. Certificate of Performance Tested <sup>SM</sup> Status. Certificate No. 011102. Delvotest SP-NT Visual

Bilandžić N., Solomun Kolanović B., Varenina I., Scortichini G., Annunziata L., Brstilo M., Rudan N.: Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control*, 2011, 22, 1941-1948

da S. Costa A., Lobato V.: Avalicao da presenca de residuos de antimicrobianos em leite e bebida lactea UHT por teste de inibicao microbiana comercial. *Rev I Latic „Candida Tostes”*, 2009, 64, 72-76

Le Breton M.H., Savoy-Perroud M.C., Diserens J.M.: Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. *Anal Chim Acta*, 2007, 586, 280-283

Manafi M., Hesari J., Abbas Rafat S.: Monitoring of antibiotic residue in raw and pasteurised milk in East Azerbaijan of Iran by Delvotest method. *J Food Res*, 2011, 20/3, 125-131

Navratilova P.: Screening methods used for the detection of veterinary residues in raw cow milk – a review. *Czech J Food Sci*, 2008, 26, 393-401

Nikolić N., Mirecki S., Blagojević M.: Presence of inhibitory substances in raw milk in the area of Montenegro. *Mljekarstvo*, 2011, 61, 182-187

NSW Food Authority. General Circular 03/2006. Antibiotic detection method approved for use.

O'Donnell S.: The efficacy of antibiotic residue screening test for the detection of natural antimicrobials in milk. Academic Dissertation. University of Connecticut, 2011

Salomskiene J., Jonkuvienė D., Paserpskiene M.: Comparison of Delvo-x-press and other methods for determining inhibitors in milk. *Vet Med. Zool*, 2009, 45, 73-80

Stead S.L., Ashwin H., Richmond S.F., Sharman M., Langev Stark P.C., Keely B.J.: Evaluation and validation according to international standards the Delvotest SP-NT screening assay for antimicrobial drugs in milk. *Int Dairy J*, 2008, 18, 3-11

Syrovkova Goffova Z., Kožarova I., Mate D., Marcincak S., Gondova Z, Sopkova D.: Comparison of detection sensitivity of five microbial inhibition tests for the screening of aminoglycoside residues in fortified milk. Czech J Food Sci, 2012, 4, 314-320

Wang J.: Analysis of antibiotics in milk and its products. Chapter 35 s. 887-905. CRC Press, 2010. In: Safety analysis of foods of animal origin.

Opinię przygotowała: dr Hanna Różańska

*Micińska*

ZASTĘPCA DYREKTORA  
DS. NAUKOWYCH

*Prof. dr hab. Jacek Kuźmak*