

Snelle TOUWtest voor de detectie van antibiotica op levend varken

Dr. Wim Reybroeck

Symposium 'Antibioticagebruik'

Roeselare, 27/02/2017

Uitgangspunt: meer systematische monitoring

Vraag van FEBEV:

Kunnen screeningstesten ingezet worden:

- voor snelle detectie van antibioticaresiduen?
- bij de controle van varkens vóór het slachten (*ante-mortem*)?

Andere sectoren: routinematig gebruik van sneltesten (resultaat <10')
bv. in Europa wordt alle melk verplicht getest op β -lactamantibiotica
vóór het lossen.

Stap 1

Welke antibioticagroepen?

Keuze van de antibioticagroepen

Keuze gebaseerd op

- het gebruik (AMCRA)
- monitoringdata (RASSF-notificaties en FAVV nationaal residuplan)

⇒ optie:

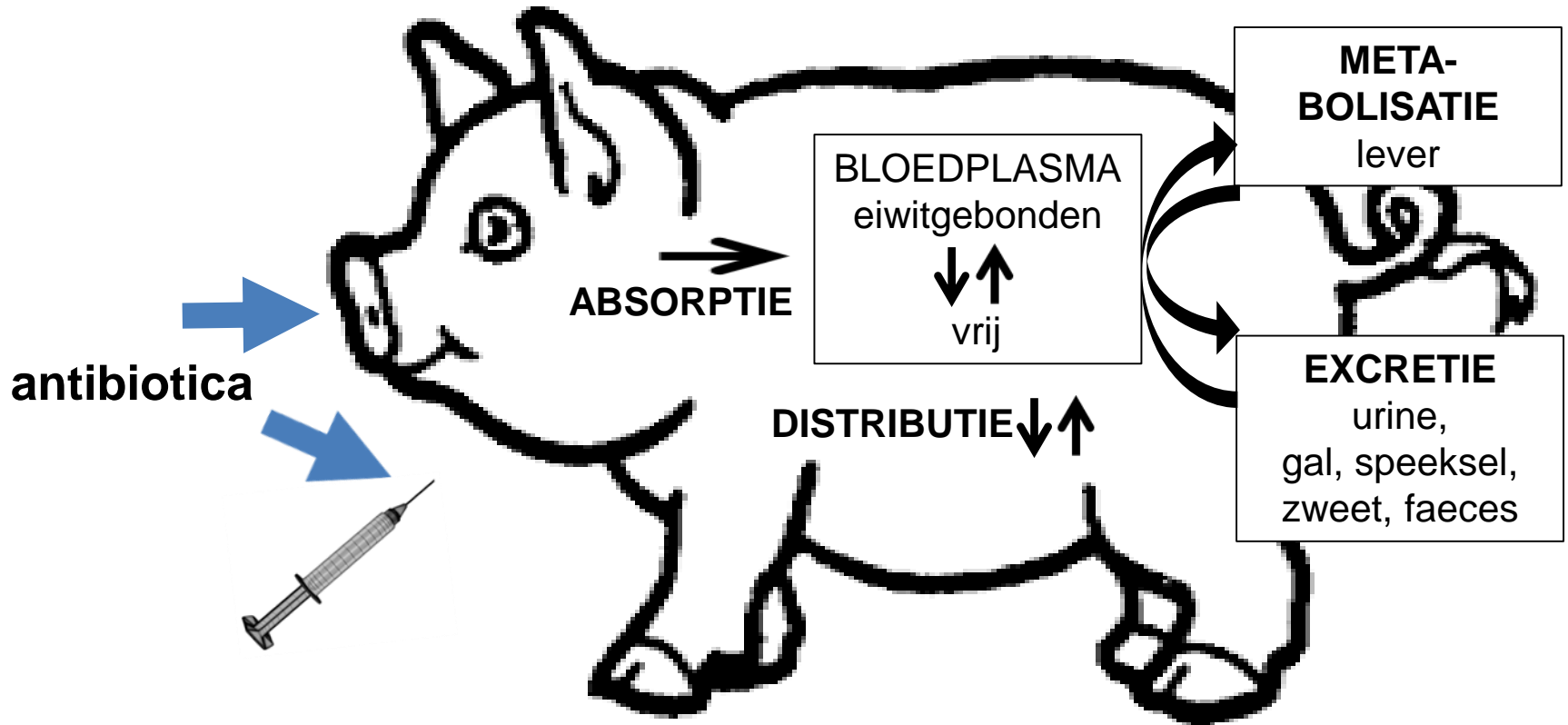
β-lactam, tetracyclines, sulfonamiden, tylosine

- β-lactam (benzylpenicilline, ampicilline, amoxicilline, ceftiofur, cefquinome)
- Tetracyclines (oxytetracycline, chloortetracycline, doxycycline)
- Sulfonamiden (sulfadoxine, sulfadiazine, sulfamethoxazole)
- Tylosine

Stap 2

Welke matrix voor staalname?

Farmacokinetiek van diergeneesmiddelen: AMDE



AMDE: absorptie, metabolisatie, distributie en excretie

Keuze van de matrix

Ante-mortem onderzoek



- urine

- **speeksel**



- bloed(serum)



- faeces



Post-mortem onderzoek

- vlees

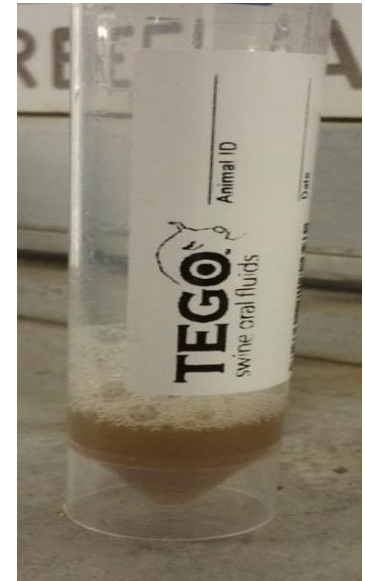


- nier



Staalname van speeksel: bijttouw

TEGO - Swine Oral Fluids touwen of gelijkaardig



Stap 3

Welke screeningstesten?

Kenmerken & Keuze van de testen

- Ante-mortem onderzoek

- snel (<10 minuten)
- uitvoerbaar op urine, speeksel, faeces of bloed(serum)
- eenvoudig, uitvoerbaar door een vrachtwagenchauffeur
- geschikt detectiespectrum
- goedkoop

⇒ **Dipstick** (LFD) sneltesten zoals gebruikt in de melkindustrie

- Post-mortem onderzoek

- relatief snel (4 uur – overnacht)
- uitvoerbaar op spier- of nierweefsel
- eenvoudig, uitvoerbaar in slachthuis
- geschikt detectiespectrum (componenten op EU-MRL)
- goedkoop

⇒ **Microbiologische inhibitortesten** (Premitest, Explorer 2.0, NBNT) of **dipstick** sneltesten

Bestaande testen in melk

Keuze voor:

- TriSensor Milk & TyloSensor Milk (Unisensor s.a.)
- In melk:

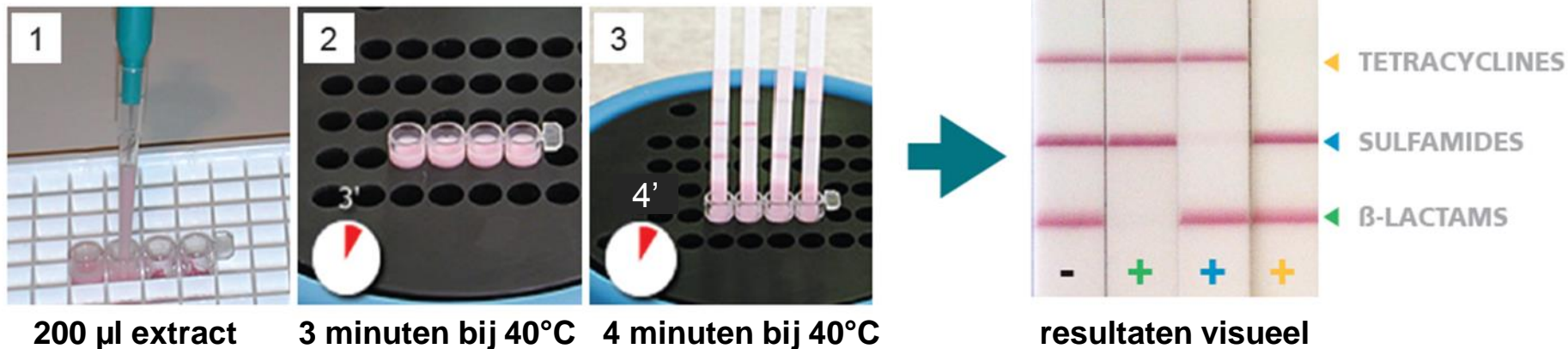
TriSensor Milk	β -lactam, tetracyclines, sulfonamiden	6 minuten
TyloSensor Milk	tylosine	6 minuten

Detectie meeste antibiotica op MRL

Ontwikkeling protocol monstervoorbereiding

Gebruik melktesten bij andere matrices (vlees, speeksel, voeder, drinkwater,...) : specifieke staalvoorbereiding

→ **speeksel**: verdunning met blanco melk



Resultaat instrumenteel: ratio testlijn / referentielij

Cut-off = 1,10 (ratio $\leq 1,10$ positief; ratio $> 1,10$: negatief)

Stap 4

Welk monitoringprotocol?

Drie adviezen



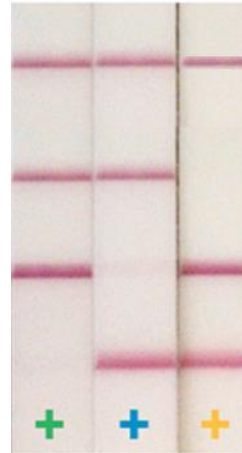
1. Screen op de hoeve, *ante-mortem*
 - staalname van elke toom
 - door chauffeur van de ophaalwagen of een werknemer van het slachthuis
2. Gebruik speeksel als matrix: prima indicator en gemakkelijk
3. Monitor precies en quasi sluitend
 - Screening van β -lactam, tetracyclines, sulfa's met TriSensor Milk
 - Screening van tylosine met TyloSensor Milk

Beslissingsboom

Touwtest (speeksel)



+



“Positief”
screeningsresultaat



varkens niet opgeladen
uitstel van slachten

staalname en analyse van
voeder en drinkwater



2^{de} Touwtest na x dagen



—

“Negatief”
screeningsresultaat:



Stap 5

Welke wetenschappelijke bewijzen hebben we voor de speekseltest?

Staalnames op hoeves met of zonder lopende antibioticabehandeling

7 hoeves met dieren in behandeling

- sulfadiazine
- tylosine
- doxycycline



RESULTAAT:

- alle speekselstalen positief voor telkens de betreffende AB-groep
- + gevallen van kruiscontaminatie

Staalnames op hoeves met of zonder lopende antibioticabehandeling

101 stallen: geen lopende antibioticabehandeling

Verwacht: negatieve speekseltesten

Toch: tiental positieve speekseltesten
(screening)

Dubbelcheck en bevestiging: LC-MS/MS analyse
meestal lage concentraties

Mogelijke redenen:

Positieve voederstalen (carry-over)

Positieve waterstalen

Eerdere behandeling

→ **Bijsturing testprotocol** (zie verder)

Stap 6

**Welke relatie tussen
residuen in het speeksel en
residuen in het vlees
(en andere matrices)?**

Enkel stalen van dieren onder antibioticabehandeling

23 hoeves (26 compartimenten)

Toegepaste antibiotica: (soms combinatie)

- β -lactam: amoxicilline, benzylpenicilline
- tetracyclines: doxycycline
- sulfonamiden: sulfadiazine, sulfadoxine
- macroliden: tylosine
- andere families: lincomycine, spectinomycine, tilmicosine

Staalname van:

- speeksel / drinkwater / voeder
- (na speciale slachting) eetbare delen: bloed / vlees / lever / nier

Analyse:

- snelle receptortesten (Trisensor Milk & Tylosensor Milk)
- LC-MS/MS (ILVO, Dr. Els Daeseleire)

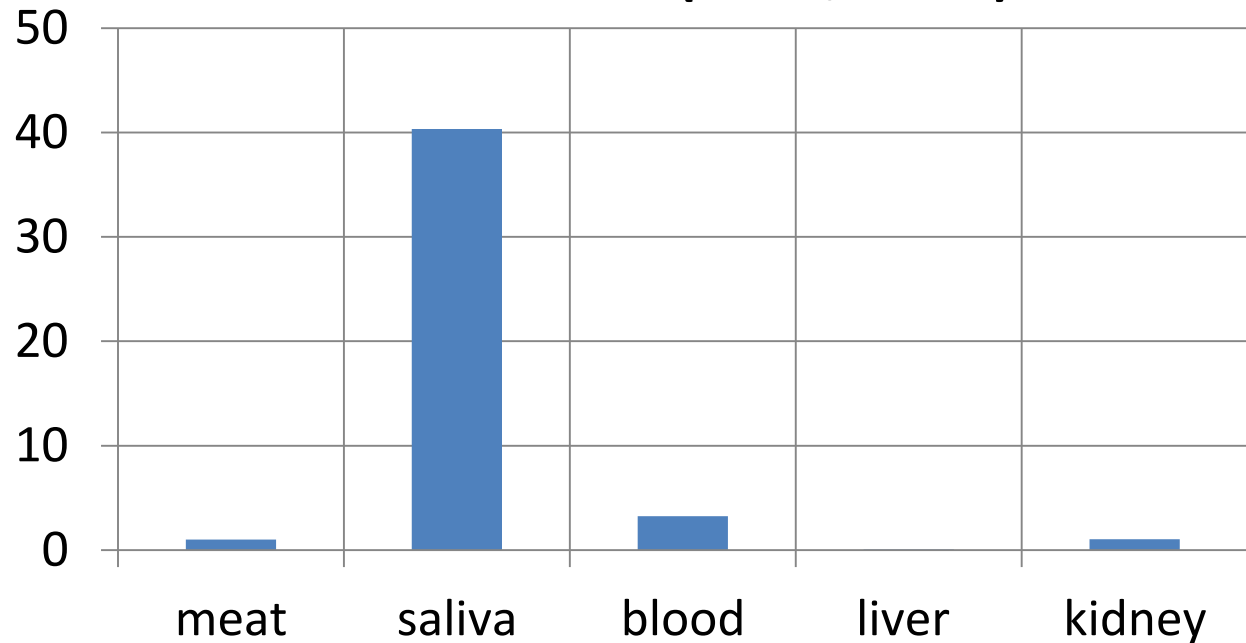
Resultaat: Residuen in SPEEKSEL duidelijker aanwezig dan in ANDERE MATRICES

Voorbeeld: dier onder behandeling met sulfadiazine

	vlees	speeksel	bloed	lever	nier
gemidd. conc. (ppb)	814	6452	3163	17	1442
MRL (ppb)	100	--	--	100	100
ratio* (matrix : vlees)	1,0	40,3	3,2	0,1	1,0

> MRL

sulfadiazine (n=12, oraal)



ratio* : gemiddelde van alle apart berekende ratiowaarden

Besluit qua concentraties speeksel versus bloed/vlees/nier/lever (bij antibioticabehandeling)

Orale behandeling (behalve amoxicilline): concentratie in het speeksel >>> in het vlees

Intramusculaire behandeling (florfenicol en lincomycine):

- concentratie in het vlees > concentratie in het speeksel (n=2)
- concentratie in het speeksel > concentratie in het vlees (n=6)

Tijdens behandeling: overschrijding van de MRL is mogelijk in het vlees, de nieren en de lever

Zeer grote variaties te wijten aan interfererende factoren

- kwantiteit en duur van voeder- of wateropname
- resorptie
- gewicht en gezondheidstoestand van het dier, ...

Step 7

Besluit en Advies

Bepaling antibioticaresiduen bij levend varken?

Speeksel is een geschikte matrix om varkens *ante-mortem* te monitoren op antibioticaresiduen

Gezien hogere concentraties in het speeksel dan in het vlees: extractie kan worden bijgestuurd

⇒ minder positieve speekselresultaten

⇒ toch beveiliging van de karkassen op MRL

Systeem is klaar om in een testfase geïmplementeerd te worden

Dank U wel

Wim.Reybroeck@ilvo.vlaanderen.be

Speciale dank: Eline De Wispelaere voor het praktisch werk en Stephaan De Bie voor hulp bij de staalname

Instituut voor Landbouw-,
Visserij- en Voedingsonderzoek

Brusselsesteenweg 370
9090 Melle – België
T + 32 (0)9 272 30 11
F +32 (0)9 272 30 01

t&vbu@ilvo.vlaanderen.be
www.ilvo.vlaanderen.be



Flanders
is agriculture and fisheries

ILVO
Instituut voor Landbouw-
en Visserijonderzoek