



# RAPPORT RINGONDERZOEK ANTIBIOTICA

## - MICROBIOLOGISCHE TESTEN

Delvotest SP-NT, Delvotest T & CMT Milk Test

*Delvotest T 5Pack met flexibele incubatieduur (in validatie)*

*Delvotest T (MINI) (in validatie)*

*Eclipse Farm 3G (oriënterend)*

## - SNELTESTEN

Charm MRL/MRLBL3/MRLBL1 Test, SNAP Beta-Lactam (ST) & Beta-s.t.a.r. (Combo (1.0))

*Quinosensor (in validatie)*

*4-Sensor (in validatie)*

*Delvotest BLF (in validatie)*

**24 OKTOBER 2013**

S. Ooghe & W. Reybroeck

ILVO-T&V Melle

## Inleiding

In het kader van de autocontrole door de zuivelbedrijven van de gecollecteerde melk op antibiotica werd op 24 oktober 2013 een ringonderzoek georganiseerd door het ILVO-T&V betreffende de microbiologische testen Delvotest SP-NT, Delvotest T en CMT Milk Test en de sneltesten Charm MRL Test, Charm MRLBL3 Test, Charm MRLBL1 Test, SNAP  $\beta$ -lactam, SNAP  $\beta$ -lactam ST,  $\beta$ eta-s.t.a.r. (25/100) en  $\beta$ eta-s.t.a.r Combo (1.0).

In het kader van een validatiestudie werd door het ILVO-T&V ook deelgenomen met de microbiologische testen Delvotest T 5 Pack op flexibele incubatieduur (microtiterplaatversie) & Delvotest T (MINI) (versie in ampullen, beiden van DSM Food Specialities bv, NL), alsook met de  $\beta$ -lactam sneltest Delvotest BLF (DSM Food Specialities bv, NL) en de sneltesten Quinosensor & 4-Sensor (beiden van Unisensor s.a., Wandre). Tevens werd verkennend deelgenomen met de microbiologische test Eclipse Farm 3G van Zeulab S.L. (ES).

De zuivelbedrijven werden schriftelijk uitgenodigd om deel te nemen aan dit ringonderzoek. Volgende labo's, gerangschikt in alfabetische volgorde, hebben deelgenomen:

Beauvoords Bakhuis NV  
Belgomilk CVBA, site Kallo  
Belgomilk, site Langemark  
Belgomilk, site Moorslede  
Danone  
Danone Hombourg Récolte  
Fabrelac bvba  
FrieslandCampina Belgium NV, buitendienst  
FrieslandCampina Belgium NV, site Aalter  
FrieslandCampina Belgium NV, site Sleidinge  
Fromunion – Kaasmakerij Passendale  
ILVO-T&V  
Incopack NV  
Inex NV  
Inza  
Laboratorium Douane & Accijnzen  
La Concorde  
Laiterie de Walhorn  
LDA-Coop  
Limelco NV  
MIK NV  
Olympia  
Solarec SA

## 1 Verloop ringonderzoek en identificatie monsters

Op het ILVO-T&V werden twee sets van 8 blind gecodeerde ringmonsters aangemaakt: een eerste set voor de microbiologische testen (codes M-1 t.e.m. t.e.m. M-160, overeenkomstig de universele codes A t.e.m. H) en een tweede set voor de sneltesten (codes S-1 t.e.m. S-200), overeenkomstig de universele codes I t.e.m. P). Voor de codering van de individuele M- en S-monsters wordt verwezen naar Bijlage 1.

Bij de keuze van de verbindingen werd rekening gehouden met de actieve stoffen van diergeneesmiddelen die in België geregistreerd zijn [1]; bij de keuze van de concentratie werd, in de mate van het mogelijke, rekening gehouden met de MRL-wetgeving [2].

De identificatie van de ringmonsters wordt hieronder in detail weergegeven.

### Identificatie ringmonsters microbiologische testen

Ringmonster	Gedopeerd antibioticum of chemotherapeuticum	Concentratie (µg/kg of ppb)	MRL (µg/kg of ppb)
A	Sulfadimethoxine	100	100
B	Cloxacilline	30	30
C	Cefazoline	30	50
D	Chloortetracycline	100	100
E	Blanco	-	-
F	Amoxicilline	4	4
G	Dihydrostreptomycine	200	200
H	Benzylpenicilline	3	4

### Identificatie ringmonsters sneltesten

Ringmonster	Gedopeerd antibioticum of chemotherapeuticum	Concentratie (µg/kg of ppb)	MRL (µg/kg of ppb)
I	Cloxacilline	30	30
J	Benzylpenicilline	4	4
K	Dihydrostreptomycine	200	200
L	Amoxicilline	4	4
M	Marbofloxacin	50	75
N	Cefazoline	50	50
O	Benzylpenicilline	3	4
P	Chloortetracycline	100	100

## Rapport Ringonderzoek Antibiotica – 24 oktober 2013

4

De ringmonsters werden op 22 oktober bereid en getest op het ILVO-T&V en op droogijs verzonden via DHL. De aankomst van de stalen was voorzien op 23 oktober (dag + 1 service, levering vóór 12u). Aan de bedrijven werd gevraagd om de ringmonsters bij ontvangst te bewaren in de koelkast en om de analyses uit te voeren op 24 oktober.

Vermits een aantal zuivelbedrijven niet registreerden wanneer de analyses precies werden uitgevoerd, kon niet nagegaan worden of de analyses wel degelijk op de afgesproken datum werden uitgevoerd. Niet alle bedrijven voerden de analyses uit op de afgesproken dag.

Zuivelbedrijven 20 & 22 rapporteerden hun resultaten na de vooropgestelde datum.

## 2 Delvotest SP-NT & Delvotest T

### 2.1 Inleiding

Vier zuivelbedrijven namen deel met de Delvotest SP-NT, waarvan 3 bedrijven met de Delvotest SP (MINI)-NT (versie in ampullen) en één bedrijf met de Delvotest SP 5 PACK-NT (versie in microtiterplaten). Tien zuivelbedrijven namen deel met de Delvotest T, waarvan negen bedrijven met de Delvotest T (MINI) (versie in ampullen) en één met de Delvotest T 5 Pack (versie in microtiterplaten). Aan de deelnemers werd gevraagd om het type test en het type incubator (blockheater (BH), waterbad (WB) of oven (O)) aan te duiden en het lotnummer, de vervaldatum, de incubatieduur en –temperatuur te noteren. De temperatuur aanbevolen door het ILVO-T&V voor incubatie van de ampullen en de microtiterplaten van de Delvotest bedraagt  $64\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ; door DSM Food Specialties wordt een incubatietemperatuur van  $64\pm 2^{\circ}\text{C}$  toegelaten.

In de bijsluiters van DSM Food Specialties [3 & 4] wordt aanbevolen om de ampullen en de platen af te lezen op 3u of op controletijd. Om valspositieve resultaten te vermijden wordt momenteel door DSM Food Specialties geadviseerd om de Delvotest T ampullen af te lezen op controletijd ( $> 3u$ ) (mondelijke mededeling). Door het ILVO-T&V wordt een incubatieduur van 3u aanbevolen voor de ampullen van de Delvotest SP-NT en de microtiterplaten van de Delvotest T en een aflezing op controletijd van de ampullen van de Delvotest T. De platen van de Delvotest SP-NT worden op het ILVO-T&V afgelezen op controletijd.

Door het ILVO-T&V is bevestigd dat de microtiterplaatversie van de Delvotest T met een vaste incubatieduur van 3u voldoet aan de erkenningsvoorwaarden van het FAVV voor gebruik als officiële remstoffentest door de Interprofessionele Organismen [5]. Hierbij werden op het ILVO-T&V geen exacte testgevoeligheden bepaald voor de Delvotest T 5 Pack; voor een vooropgestelde lijst antibiotica en chemotherapeutica werd enkel nagegaan of deze verbindingen op MRL resp. 3x MRL gedetecteerd werden.

Intussen werden voor diezelfde verbindingen wel testgevoeligheden bepaald met de Delvotest T 5 Pack met een flexibele incubatieduur, alsook werd voor een beperkt aantal verbindingen nagegaan of dezelfde testgevoeligheden gehaald worden met de ampullenversie van de Delvotest T (zie verder bij punt 4.1).

### 2.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: Z-waarde + interpretatie								Lotnummer - vervaldatum (type incubator: BH/WB/O)
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H	
<b>Delvotest SP (MINI)-NT</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	-	-	+	-	+	2,37 (+)	13,44 (+)	14,76 (+)	-17,68 (-)	-17,43 (-)	12,10 (+)	-16,94 (-)	14,75 (+)	13H20/11-20/08/14 (BH)
4	+	+	+	-	-	+	-	+									13D18/86-18/04/14 (O)
16	+*	+	+	-	-	+	-	+									13B25/85-25/02/14 (BH)
23	+	+	+	-	-	+	-	+									13B25/85-25/02/14 (BH)

# Rapport Ringonderzoek Antibiotica – 24 oktober 2013

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: Z-waarde + interpretatie								Lotnummer - vervaldatum (type incubator: BH/WB/O)
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H	
<b>Delvotest SP 5 PACK-NT</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	-	-	+	-	+	10,81	17,98	17,78	-4,92	-9,74	15,96	-5,97	17,31	13H09A21-09/08/14 (WB, 2u26min)
9	+	+	+	-	-	+	-	+	11,86	17,25	19,23	-5,42	-6,53	17,71	-5,98	18,32	13H09A21-09/08/14 (WB, 2u26min)
<b>Delvotest T (MINI)</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	+	-	+	-	+	10,90 (+)	12,56 (+)	12,49 (+)	1,48 (+)	-10,09 (-)	11,79 (+)	-6,81 (-)	12,91 (+)	13H09R31- vervaldatum niet vermeld (BH)
2	+	+	+	+*	-	+	-	+									13023/31-23/04/14 (BH)
3	+	+	+	+	-	+	-	+									13F18/31-18/06/15 (BH)
6	+	+	+	+	-	+	-	+									13F18/31-18/07/14 (BH)
8	+	+	+	-	-	+	-	+									13F25A31-25/06/14 (BH)
10	+	+	+	+	-	+	-	+									13D23A31-23/04/14 (BH)
15	+	+	+	-	-	+	-	+									???
19	+	+	+	-	-	+	-	+									13F25/31-25/06/14 (WB)
20	+	+	+	-	-	+	-	+									13G18/31-18/07/14 (BH, <b>3u15min</b> )
22	+	+	+	+	-	+	-	+									13O10/31-10/04/14 (BH, <u>2u50min à 3u</u> )
<b>Delvotest T 5 Pack</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	+	-	+	-	+	9,44	14,48	13,50	2,02	-11,14	11,84	-7,12	12,52	13I25A30-25/09/14 (WB)
14	+	+	+	+	-	+	-	+									13G19A30-19/07/14 (WB)

*De door het ILVO-T&V vooropgestelde cut-off Z-waarde voor de interpretatie van de Delvotest SP 5 PACK - NT en de Delvotest T 5 Pack bedraagt -3,00. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een numerieke waarde geven  $\geq -3,00$  worden als positief beschouwd.*

*\*: randgeval*

## 2.3 Bespreking

- **Ringmonster A** was gedopeerd met 100 ppb sulfadimethoxine (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT:  $\leq 40$  ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 100$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd unaniem door alle laboratoria als (randgeval) positief bevonden met beide Delvotesten.
- **Ringmonster B** was gedopeerd met 30 ppb cloxacilline (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT:  $\leq 15$  ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 30$  ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd unaniem door alle laboratoria als positief bevonden met beide Delvotesten.
- **Ringmonster C** was rauwe melk gedopeerd met 30 ppb cefazoline (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT:  $\leq 25$  ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 50$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als positief geanalyseerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster D** was gedopeerd met 100 ppb chloortetracycline (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT:  $> 375$  ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 100$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V).

Met de Delvotest SP(MINI)-NT werd dit staal unaniem door alle laboratoria correct als negatief gerapporteerd (Z-waarde: -17,68).

Ook met de Delvotest SP 5 PACK-NT, waarbij een kortere incubatieduur gehanteerd wordt, werd dit staal als negatief geanalyseerd door het ILVO-T&V resp. labo 9 (Z-waarden: -4,92 resp. -5,42).

Met de Delvotest T (MINI), de verbeterde versie van de Delvotest voor de opsporing van tetracyclines, werd dit staal, met uitzondering van labo's 8, 15, 19 en 20, door alle overige laboratoria als (randgeval) positief gerapporteerd. Uit de Z-waarde bekomen door het ILVO-T&V met de Delvotest T (MINI) (1,48) blijkt dat dit staal een randgeval betreft. Vermits door de kitfabrikant voor chloortetracycline slechts een testgevoeligheid van 150 ppb geclaimd wordt met de Delvotest T (MINI) bij een vaste incubatieduur van 3 uur [6], worden de negatieve resultaten van labo's 8, 15, 19 en 20 niet beschouwd als valsnegatieve resultaten. De te lange incubatie van de ampullen door labo 20 heeft zeker bijgedragen tot dit negatieve resultaat.

Met de Delvotest T 5 Pack werd dit staal als positief gerapporteerd door het ILVO-T&V (Z-waarde: 2,02) en labo 14.

- **Ringmonster E** was remstofvrije melk. Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als negatief geanalyseerd met beide Delvotesten. M.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster F** was rauwe melk gedopeerd met 4 ppb amoxicilline (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT:  $\leq 2$  ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 4$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd unaniem door alle laboratoria als positief gerapporteerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster G** was gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine, een verbinding die niet of weinig gevoelig gedetecteerd wordt met de Delvotest. Zoals verwacht werd dit staal unaniem door alle laboratoria als negatief geanalyseerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster H** was gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid Delvotest SP 5 PACK-NT: 2 ppb resp. Delvotest T 5 Pack:  $\leq 2$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd unaniem door alle laboratoria als positief gerapporteerd met beide Delvotesten.

## **2.4 Besluit**

De resultaten van de Delvotest SP-NT zijn goed en in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheid zoals destijds bekomen met de Delvotest SP 5PACK-NT) zou verwachten.

Er zijn geen valspositieve resultaten met de Delvotest SP-NT.

Met uitzondering van de negatieve resultaten bekomen door labo's 8, 15, 19 en 20 met de Delvotest T voor ringmonster D (100 ppb chloortetracycline) zijn de overige resultaten goed en in overeenstemming met wat men theoretisch zou verwachten. Vermits door DSM Food Specialities voor chloortetracycline slechts een testgevoeligheid van 150 ppb geclaimd wordt met de Delvotest T (MINI) bij een vaste incubatieduur van 3 uur [6], worden de negatieve resultaten van deze labo's niet beschouwd als valsnegatieve resultaten.

Er zijn geen valspositieve resultaten met de Delvotest T.

Zowel met de Delvotest SP-NT als met de Delvotest T wordt dihydrostreptomycine niet op MRL opgespoord.

Met de Delvotest T wordt chloortetracycline in de meeste gevallen op MRL opgespoord; met de Delvotest SP-NT wordt chloortetracycline niet op MRL gedetecteerd.

De incubatieduur van  $3u \pm 5$  minuten, zoals vooropgesteld door het ILVO-T&V voor de Delvotest T ampullen, werd niet gerespecteerd door labo 20 (3u15min). Door DSM wordt een incubatieduur van 3 uur of aflezing op controletijd [4] vooropgesteld. De langere incubatie heeft zeker bijgedragen tot het negatieve resultaat bekomen door labo 20 voor ringmonster D (100 ppb chloortetracycline).

Uit testen die recent werden uitgevoerd op het ILVO-T&V met Delvotest T ampullen blijkt dat de omslagtijd voor het betreffende lot meer dan 3 uur bedraagt, hetgeen ook door de kitproducent ondersteund wordt.

Labo 15 nam opnieuw niet de moeite om het lotnummer & de vervaldatum van de gebruikte reagentia en de incubatieduur en -temperatuur te vermelden.



### **3 CMT Milk Test**

#### ***3.1 Inleiding***

Van de zes CMT-gebruikers namen vijf zuivelbedrijven deel met de CMT Milk Test Single Test (versie in ampullen); één bedrijf nam deel met de CMT Milk Test Microplate (versie in microtiterplaten).

Aan de deelnemers met de CMT Milk Test werd gevraagd om de cupjes visueel alsook, indien mogelijk, met behulp van een vlakbedscanner af te lezen. Er werd hen eveneens gevraagd om het type test en het type incubator (blockheater (BH) of waterbad (WB)) aan te duiden en het lotnummer, de vervaldatum, de incubatieduur en –temperatuur en, indien van toepassing, de softwareversie van de C-Scan te noteren.

### 3.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: CIF-waarde + interpretatie								Lotnr. – vervaldatum (type incubator: BH of WB)
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H	
<b>CMT Milk Test Single Test</b> (aanbevolen incubatieduur ILVO-T&V: 3u)																	
ILVO-T&V	+	+	+	-	-	+	-	+	3,1 (-)	6,5 (+)	7,4 (+)	0,4 (-)	0,3 (-)	7,2 (+)	0,4 (-)	6,2 (+)	3C01AU6A-01/03/14 (BH)
12	+	+	+	-	-	+	-	+	4,5 +	6,7 +	7,9 +	0,2 -	0,2 -	6,1 +	0,2 -	6,4 +	3E27C46-27/04/14 (BH)
13	+	+	+	-	-	+	-	+	5,8 +	6,6 +	7,4 +	0,3 -	0,6 -	7,0 +	0,2 -	6,8 +	3E27CW66-27/04/14 (BH)
17	+	+	+	-	-	+	-	+	6,4 +	7,7 +	8,0 +	1,9 -	2,1 -	8,0 +	2,3 -	7,2 +	3E27AW6C-27/04/14 (BH, 64,9°C)
18	+	+	+	-	-	+	-	+	6,1 +	6,5 +	6,4 +	1,1 -	1,1 -	6,5 +	1,1 -	6,4 +	3E13A16C-13/04/14 (BH)
21	+	+	+	-	-	+	-	+	5,3 +	6,4 +	6,4 +	0,7 -	0,4 -	6,1 +	0,7 -	6,4 +	3E20E46C-20/04/14 (BH)
<b>CMT Milk Test Microplate</b> (aanbevolen incubatieduur ILVO-T&V: 2u55min)																	
ILVO-T&V	+	+	+	-	-	+	-	+	8,6 +	9,8 +	10,0 +	1,8 -	1,4 -	9,8 +	3,9 -	8,4 +	3N29C37-29/06/14 (WB)
9	+	+	+	-	-	+	-	+	7,9 +	8,7 +	9,4 +	2,7 -	1,7 -	9,3 +	2,1 -	9,2 +	3S23AW7N-23/08/14 (WB)

De bedrijven die de resultaten van de instrumentele aflezing van de CMT Milk Test interpreteerden, hanteerden hierbij de cut-off CIF-waarde van 4,5, vastgelegd door het ILVO-T&V voor microtiterplaten. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een numerieke waarde geven  $\geq 4,5$  worden als positief beschouwd.

### 3.3 Bespreking

- **Ringmonster A** was gedopeerd met 100 ppb sulfadimethoxine. Door de kitfabrikant wordt voor sulfadimethoxine een testgevoeligheid van 50 à 100 ppb geclaimd bij een vaste incubatieduur van 3 uur [7]. Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als positief geanalyseerd met de CMT Milk Test. Het ILVO-T&V analyseerde dit staal visueel als positief met de CMT Milk Test Single Test; met de scanner werd evenwel een negatieve CIF-waarde (3,1) bekomen (eindbeoordeling: positief). Ook uit de CIF-waarde (4,5) bekomen door labo 12 blijkt dat dit staal een randgeval betreft.

- **Ringmonster B** was gedopeerde rauwe melk met 30 ppb cloxacilline (testgevoeligheid Copan Milk Test Microplate: 25 ppb – validatiestudie ILVO-T&V) en werd door alle laboratoria unaniem als positief bevonden.
- **Ringmonster C** was gedopeerd met 30 ppb cefazoline (testgevoeligheid Copan Milk Test Microplate: 12 ppb – validatiestudie ILVO-T&V) en werd unaniem door alle labo's als positief geanalyseerd.
- **Ringmonster D** was gedopeerd met 100 ppb chloortetracycline (testgevoeligheid Copan Milk Test Microplate: 500 ppb - validatiestudie ILVO-T&V) en werd unaniem door alle labo's als negatief geanalyseerd.
- **Ringmonster E** was remstofvrije melk. Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als negatief geanalyseerd met de CMT Milk Test. M.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster. Door labo 17 wordt voor dit ringmonster een te hoge CIF-waarde (2,1) bekomen met de CMT Milk Test Single Test.
- **Ringmonster F** was gedopeerd met 4 ppb amoxicilline (testgevoeligheid Copan Milk Test Microplate: 3 ppb – validatiestudie ILVO-T&V) en werd unaniem door alle laboratoria als positief geanalyseerd.
- **Ringmonster G** was rauwe melk gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine, een verbinding die niet of weinig gevoelig wordt opgespoord met de CMT Milk Test. Dit staal werd unaniem door alle laboratoria als negatief geanalyseerd. M.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster. Door labo 17 resp. ILVO-T&V en labo 9 wordt voor dit ringmonster een (te) hoge CIF-waarde (2,3 resp. 3,9 en 2,1) bekomen met de CMT Milk Test Single Test resp. CMT Milk Test Microplate.
- **Ringmonster H** was gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid Copan Milk Test Microplate: 2,5 ppb – validatiestudie ILVO-T&V) en werd door alle laboratoria unaniem als positief geanalyseerd.

### **3.4 Besluit**

De resultaten van de CMT Milk Test Single Test zijn goed en in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheid zoals destijds behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Er zijn geen valspositieve resultaten met de CMT Milk Test.

Met de CMT Milk Test Single Test worden door labo 17 te hoge CIF-waarden bekomen voor de remstofvrije melk (ringmonster E), alsook (te) hoge CIF-waarden voor de melk gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine (ringmonster G).

Met de CMT Milk Test Microplate werden door ILVO-T&V en labo 9 (te) hoge CIF-waarden bekomen voor de melk gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine (ringmonster G).

Zoals verwacht worden chloortetracycline en dihydrostreptomycine niet op MRL gedetecteerd met de CMT Milk Test.

De incubatietemperatuur van  $64 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , zowel vooropgesteld door het ILVO-T&V als door DSM [7]; werd niet gerespecteerd door labo 17 ( $64,9^\circ\text{C}$ ). Merk op dat deze afwijkende incubatietemperatuur mogelijks de hogere CIF-waarden kan verklaren die dit labo bekwam, niet alleen voor de blanco melk en de melk gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine maar ook voor de andere ringmonsters. Door de wat afwijkende incubatietemperatuur wordt er immers trager zuur gevormd.

## 4 Microbiologische testen in validatie op het ILVO-T&V

### 4.1 Delvotest T 5 Pack (flexibele incubatieduur) en Delvotest T (MINI)

#### 4.1.1 Inleiding

In het kader van een validatiestudie werd door het ILVO-T&V deelgenomen aan dit ringonderzoek met de microtiterplaatversie van de Delvotest T, de Delvotest T 5 Pack, op flexibele incubatieduur, alsook met de ampullenversie van de Delvotest T (beiden van DSM Food Specialties, NL).

#### 4.1.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: Z-waarde + interpretatie								Lotnummer - vervaldatum (type incubator: BH/WB/O)
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H	
<b>Delvotest T MINI</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	+	-	+	-	+	9,71 (+)	11,82 (+)	12,05 (+)	1,11 (+)	-9,72 (-)	10,65 (+)	-8,24 (-)	10,95 (+)	13H23P31-vervaldatum niet vermeld (BH, 3u05min)
<b>Delvotest T 5 Pack (flexibele incubatieduur)</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	+	-	+	-	+	9,58 +	12,66 +	12,32 +	4,60 +	-5,96 -	11,36 +	-5,04 -	11,26 +	13D10B30-10/04/14 (WB, 2u50min)

*De door het ILVO-T&V vooropgestelde cut-off Z-waarde voor de interpretatie van de Delvotest T 5 Pack bedraagt -3,00. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een numerieke waarde geven  $\geq -3,00$  worden als positief beschouwd.*

#### 4.1.3 Bespreking

- **Ringmonster A** was gedopeerd met 100 ppb sulfadimethoxine (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 16 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit staal werd positief bevonden met beide Delvotesten.
- **Ringmonster B** was gedopeerd met 30 ppb cloxacilline (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 8 ppb resp. Delvotest T MINI:  $\leq 8$  ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd positief bevonden met beide Delvotesten.
- **Ringmonster C** was rauwe melk gedopeerd met 30 ppb cefazoline (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 4 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit staal werd als positief geanalyseerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster D** was gedopeerd met 100 ppb chloortetracycline (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 80 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit staal werd als positief gerapporteerd met beide Delvotesten.

- **Ringmonster E** was remstofvrije melk. Dit staal werd als negatief geanalyseerd met beide Delvotesten. M.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster F** was rauwe melk gedopeerd met 4 ppb amoxicilline (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 2 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit staal werd als positief gerapporteerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster G** was gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine, een verbinding die niet of weinig gevoelig gedetecteerd wordt met de Delvotest. Zoals verwacht werd dit staal als negatief geanalyseerd met beide Delvotesten.
- **Ringmonster H** was gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid Delvotest T 5 Pack: 1 ppb resp. Delvotest T (MINI):  $\leq 1$  ppb - validatiestudies ILVO-T&V). Dit staal werd als positief gerapporteerd met beide Delvotesten.

### 4.1.4 Besluit

Algemeen werden met de Delvotest T 5 Pack (flexibele incubatieduur) en de Delvotest T (MINI) goede resultaten bekomen en zijn de resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheden zoals behaald in de validatiestudies van het ILVO-T&V) zou verwachten.

In dit ringonderzoek wordt enkel dihydrostreptomycine niet op MRL opgespoord met de Delvotest T.

Er waren geen valspositieve resultaten met de Delvotest T 5 Pack (flexibele incubatieduur) en de Delvotest T (MINI).

## 4.2 Eclipse Farm 3G

### 4.2.1 Inleiding

Door het ILVO-T&V werd verkennend deelgenomen aan dit ringonderzoek met de Eclipse Farm 3G met e-reader (Zeulab S.L., ES).

Bij de Eclipse Farm 3G worden de microtiterplaten geïncubeerd in een kleine droogstoofincubator bij 65°C die terzelfdertijd fungeert als reader (flexibele incubatieduur van 2u15 à 2u45 bepaald door de e-reader op basis van de omslag van het blanco controlemonster).

### 4.2.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: readerwaarde + interpretatie								Lotnummer – vervaldatum Type incubator - incubatieduur
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H	
<b>Eclipse Farm 3G</b>																	
ILVO-T&V	+	+	+	-	-				102	079	120	57	50				13080101-01/08/2014 e-reader – 2u23min (RUN 1)
						+	+	+							85	67	86

De door de e-reader gehanteerde cut-off voor de interpretatie van de Eclipse Farm 3G bedroeg 75 voor de eerste run en 60 voor de tweede run. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een numerieke waarde geven  $\geq$  cut-off worden als positief beschouwd.

\*: randgeval

### 4.2.3 Bespreking

- **Ringmonster A**, gedopeerd met 100 ppb sulfadimethoxine, werd positief bevonden met de Eclipse Farm 3G. Door de kitfabrikant wordt voor sulfadimethoxine een testgevoeligheid van 50 ppb geclaimd met de e-reader.
- **Ringmonster B** was gedopeerd met 30 ppb cloxacilline en werd positief bevonden met de Eclipse Farm 3G. Uit de readerwaarde blijkt duidelijk dat dit staal een randgeval betreft. Door Zeulab wordt voor cloxacilline een testgevoeligheid van 25 ppb geclaimd met de e-reader.
- **Ringmonster C** was rauwe melk gedopeerd met 30 ppb cefazoline en werd als positief geanalyseerd met de Eclipse Farm 3G.
- **Ringmonster D**, gedopeerd met 100 ppb chloortetracycline, werd als negatief gerapporteerd met de Eclipse Farm 3G.
- **Ringmonster E** was remstofvrije melk. Dit staal werd als negatief geanalyseerd met de Eclipse Farm 3G. M.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster F** was rauwe melk gedopeerd met 4 ppb amoxicilline en werd als positief gerapporteerd met de Eclipse Farm 3G. Door de kitproducent wordt voor amoxicilline een testgevoeligheid van 4 ppb geclaimd met de e-reader.

- **Ringmonster G** was gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine en werd als randgeval positief geanalyseerd met de Eclipse Farm 3G. Uit de readerwaarde blijkt duidelijk dat dit staal een randgeval betreft. Zeulab claimt echter slechts een testgevoeligheid van 500 ppb met de e-reader.
- **Ringmonster H**, gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline, werd als positief gerapporteerd met de Eclipse Farm 3G. Door de kitfabrikant wordt voor benzylpenicilline een testgevoeligheid van 3 ppb geclaimd met de e-reader.

### 4.2.4 Besluit

Algemeen werden met de Eclipse Farm 3G goede resultaten bekomen en zijn de resultaten in overeenstemming met de testgevoeligheden die geclaimd worden door de kitproducent. Enkel dihydrostreptomycine wordt gevoeliger opgespoord dan geclaimd door Zeulab S.L..

Merk op dat chloortetracycline niet op MRL wordt opgespoord met de Eclipse Farm 3G doch dat dihydrostreptomycine wel op MRL wordt opgespoord.

Er waren geen valspositieve resultaten met de Eclipse Farm 3G.

## 5 Charm MRL Test, Charm MRLBL3 Test en Charm MRLBL1 Test

### 5.1 Inleiding

Vijf bedrijven namen deel met de klassieke Charm MRL Test (8 minuten), één bedrijf nam deel met de Charm MRLBL3 Test (3 minuten) en één bedrijf nam deel met de Charm MRLBL1 Test (1 minuut). Qua uitvoering verschillen deze drie testen in een verschillende incubatieduur hetgeen ook resulteert in andere testgevoeligheden.

Aan de deelnemers werd gevraagd om de waarde van de reader op de bijhorende fiche te noteren, alsmede het lotnummer en de vervaldatum van de kit. Tevens werd aan de deelnemers gevraagd om de dipsticks visueel af te lezen.

Labo's 5 en 7 lazen de resultaten enkel visueel af.

### 5.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: numerieke waarde + resultaat								Lotnummer - vervaldatum (Type reader)
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>Charm MRL Test</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	+	+	-	1061	2358	-1010	1691	-818	3511	1902	-1533	084 - 11/2013 (Rosa Reader)
									+	+	-	+	-	+	+	-	
5	-	+	-	+	-	+	+	-									084 - 03/2014
7	-	+	-	+	-	+	+	-									084 - 02/2014
9	+	+	-	+	-	+	+	-	612	1840	-1092	1320	-932	2763	1559	-993	084 - 03/2014 (Rosa Reader)
									+	+	-	+	-	+	+	-	
16	-	+	-	+	-	+	+	-	-0,640	+1796	-1342	+0,968	-1614	+3426	+1262	-1799	084 - 03/2014 (Rosa Pearl Reader)
									-	+	-	+	-	+	+	-	
23	+	+	-	+	-	+	+	-	+0926	+3054	-1268	+2127	-1189	+4206	+2029	-1238	084 - 10/2013 (Rosa Pearl Reader)
									+	+	-	+	-	+	+	-	
<b>Charm MRLBL3 Test</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	+	+	-	2394	3476	-1753	1538	-1790	2147	2330	-1154	002 - 01/2014 (Rosa Pearl Reader)
									+	+	-	+	-	+	+	-	
6	+	+	-	+	-	+	+	-	+2534	+2319	-1947	+565	-1487	+1421	+1604	-1562	003-04/2014 (Rosa Pearl Reader)
									+	+	-	+	-	+	+	-	



Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: numerieke waarde + resultaat								Lotnummer - vervaldatum (Type reader)
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>Charm MRLBL1 Test</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	+	+	-	874	941	-712	677	-688	1180	445	-748	Lot 006 – 06/2013 (EZ Reader)
8	+	+	-	-	-	+	-	-	1003	903	-1146	-703	-1249	526	-323	-1247	Lot 005 – 04/2014 Charm EZ
									+	+	-	-	-	+	-	-	

De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 0000 bij de Rosa (Pearl) Reader en de EZ Reader. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een numerieke waarde geven gelegen boven deze cut-off waarde (> 0000) worden als positief beschouwd.

### 5.3 Bespreking

- **Ringmonster I** bevatte 30 ppb cloxacilline (testgevoeligheid Charm MRL(BL3) Test: 25 ppb resp. Charm MRLBL1 Test: 16 ppb – validatiestudies ILVO-T&V).  
Met uitzondering van labo's 5, 7 en 16 die dit ringmonster als negatief analyseerden, werd dit ringmonster door de overige labo's als positief geanalyseerd met de Charm MRL Test. Vermits door Charm Sciences slechts een testgevoeligheid van 25 à 35 ppb geclaimd wordt met de Charm MRL Test voor cloxacilline, worden de negatieve resultaten bekomen door labo's 5, 7 en 16 niet als valsnegatieve resultaten beschouwd.  
Met de Charm MRLBL3 Test en de Charm MRLBL1 Test werd dit staal door alle laboratoria als positief geanalyseerd.
- **Ringmonster J** was gedopeerd met 4 ppb benzylpenicilline en werd door alle laboratoria unaniem als positief geanalyseerd. Benzylpenicilline wordt gedetecteerd vanaf 2 ppb met de Charm MRL Test en de Charm MRLBL1 Test en vanaf 3 ppb met de Charm MRLBL3 Test (validatiestudies ILVO-T&V).
- **Ringmonster K** bevatte 200 ppb dihydrostreptomycine, een antibioticum dat niet met de Charm MRL testen wordt opgespoord.  
Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster L** was gedopeerd met 4 ppb amoxicilline, (testgevoeligheid Charm MRL Test: 3 ppb resp. Charm MRLBL3/MRLBL1 Test: 4 ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Dit ringmonster, dat in 95% van de gevallen positief zou moeten tekenen met de Charm MRLBL1 Test, werd als negatief gerapporteerd door labo 8. Alle overige laboratoria analyseerden dit ringmonster als positief.
- **Ringmonster M** was gedopeerd met 50 ppb marbofloxacine, een antibioticum dat niet met de Charm MRL testen wordt opgespoord.  
Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster N** was gedopeerd met 50 ppb cefazoline (testgevoeligheid Charm MRL Test: 10 ppb resp. Charm MRLBL3 Test: 25 ppb resp. Charm MRLBL1 Test: 20 ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Dit ringmonster werd door alle laboratoria unaniem als positief geanalyseerd.
- **Ringmonster O** was een rauw melkmonster met een concentratie van 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid Charm MRL Test en Charm MRLBL1 Test: 2 ppb resp. Charm MRLBL3 Test: 3 ppb – validatiestudies ILVO-T&V).  
Alle laboratoria analyseerden dit ringmonster als positief met de Charm MRL Test en de Charm MRLBL3 Test.

Met de Charm MRLBL1 Test werd dit staal als positief geanalyseerd door het ILVO-T&V doch als negatief door labo 8. Uit de readerwaarden bekomen met de Charm MRL1 Test blijkt duidelijk dat dit staal een randgeval betreft. Vermits ook door Charm Sciences een testgevoeligheid van 2 à 3 ppb geclaimd wordt voor benzylpenicilline met de Charm MRLBL1 Test, wordt het resultaat van labo 8 beschouwd als een **valsnegatief resultaat**.

- **Ringmonster P** was gedopeerd met 100 ppb chloortetracycline, een antibioticum dat niet met de Charm MRL testen wordt opgespoord. Dit staal werd door alle laboratoria unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.

### **5.4 Besluit**

Algemeen werden goede resultaten bekomen met de Charm MRL Test en de Charm MRLBL3 Test.

Met uitzondering van de resultaten bekomen door labo's 5, 7 en 16 met de Charm MRL Test voor het ringmonster gedopeerd met 30 ppb cloxacilline (ringmonster I) zijn de resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheden zoals destijds behaald in de validatiestudies van het ILVO-T&V) zou verwachten. Vermits door Charm Sciences slechts een testgevoeligheid van 25 à 35 ppb geclaimd wordt voor cloxacilline met de Charm MRL Test, worden deze negatieve resultaten niet beschouwd als valsnegatieve resultaten.

Bijgevolg wordt cloxacilline niet steeds op MRL opgespoord met de Charm MRL Test.

Met uitzondering van het valsnegatieve resultaat bekomen door labo 8 met de Charm MRLBL1 Test voor het ringmonster gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (ringmonster O), zijn de overige resultaten goed en in overstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheden zoals destijds behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Merk op dat voor lot 084 van de Charm MRL Test vier verschillende vervaldata doorgegeven werden, zijnde 10/2013, 11/2013, 02/2014 en 03/2014 ! Hiervoor zal zeker navraag gedaan worden bij de kitleverancier/-producent.

Merk op dat labo 16 voor ringmonsters I en L decimale getallen doorgeeft (bvb. -0,640 i.p.v. -0640). Waarden bekomen met de Rosa Pearl Reader zijn steeds gehele getallen. Hetzelfde labo (dezelfde operator) gaf in het ringonderzoek van 18 oktober 2012 eveneens foutieve waarden door voor de Beta-s.t.a.r. !

Er waren geen valspositieve resultaten met de Charm MRL Test, de Charm MRLBL3 Test of de Charm MRLBL1 Test.

## 6 SNAP $\beta$ -Lactam en SNAP $\beta$ -Lactam ST

### 6.1 Inleiding

Acht zuivelbedrijven namen deel met de SNAP ( $\beta$ -lactam); drie bedrijven namen deel met de SNAP ( $\beta$ -lactam) ST.

De SNAP ST (Simplified Technology) is een eenvoudigere en verbeterde versie van de SNAP. Eenvoudiger omdat de incubatie bij kamertemperatuur plaatsvindt (geen incubator meer vereist) en verbeterd omdat er meer penicillines op MRL en meerdere cefalosporines dichterbij MRL gedetecteerd worden. Aan de deelnemers werd gevraagd om de cartouches zowel visueel als met de reader af te lezen en, waar van toepassing, de waarde van de reader op de bijhorende fiche te noteren, alsmede het lotnummer en de vervaldatum van de kit.

### 6.2 Resultaten

Met uitzondering van bedrijf 11, maakten de overige bedrijven gebruik van een Snapshot Reader.

Zuivelbedrijf 1 rapporteerde voor alle ringmonsters een negatief resultaat met de SNAP ST. Er werd onmiddellijk telefonisch contact opgenomen met het betreffende zuivelbedrijf dat na goede resultaten bij het vorige ringonderzoek overgeschakeld was van de SNAP op de SNAP ST. Na onderzoek bleek dat het labo bij het ringonderzoek gebruik maakte van SNAP reagentia doch hierop het protocol van de SNAP ST uitvoerde. Door deze verkeerde uitvoering werden over de ganse lijn negatieve resultaten bekomen. Dit bewijst ook dat labo 1 geen gebruik maakt van positieve controlemonsters om de goede uitvoering van de test na te gaan !

Bij wijze van corrigerende maatregel analyseerde labo 1 de ringmonsters opnieuw met de SNAP met incubatie in een incubator waarbij ditmaal wel goede resultaten bekomen werden (resultaten niet opgenomen in dit rapport).

De resultaten van labo 1 worden bijgevolg niet verder besproken in punt 6.3.

# Rapport Ringonderzoek Antibiotica – 24 oktober 2013

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: ratio + resultaat								Lotnummer - vervaldatum
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>SNAP B-Lactam</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	+	+	-	1,42	2,06	0,72	1,03	0,75	>10,0	1,97	0,90	EJ168B – 30/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
9	+	+	-	-	-	+	+	-	1,37	2,68	0,79	0,90	0,75	6,59	1,58	0,77	EJ168B – 30/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
10	+	+	-	+	-	+	+	-	1,60	2,66	0,68	<b>0,96</b>	0,86	> 5	2,02	0,63	CJ180B - 03/02/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
12	+	+	-	+	-	+	+	-	1,07	1,41	0,66	1,18	0,78	> 5,0	1,16	0,76	CJ180B - 03/02/2014
									+	+	-	+	-	+	+	-	
13	-	+	-	-	-	+	+	-	<b>1,11</b>	2,61	0,74	0,91	0,70	> 5,0	1,78	0,70	EJ168 - 08/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
17	+	+	-	-	-	+	+	-	1,28	2,3	0,64	0,98	0,72	> 5,0	1,88	0,74	EJ168B – 30/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
18	+	+	-	-	-	+	+	-	1,09	4,03	0,75	0,91	0,57	> 5,0	1,64	0,69	EJ168 – 08/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
19	+	+	-	+	-	+	+	-	1,58	4,04	0,85	1,14	0,69	> 10	2,18	0,73	EJ168 - 08/04/2014
									+	+	-	+	-	+	+	-	
21	+	+	-	+	-	+	+	-	1,70	> 5,0	0,49	<b>1,01</b>	0,50	> 5,0	1,99	0,49	EJ168 - 08/04/2014
									+	+	-	-	-	+	+	-	
<b>SNAP B-Lactam ST</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	+	+	-	> 5,0	2,29	0,60	1,45	0,68	2,26	1,58	0,69	KH330 – 07/11/2013
									+	+	-	+	-	+	+	-	
<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>0,73</b>	<b>0,81</b>	<b>0,71</b>	<b>0,67</b>	<b>0,77</b>	<b>0,84</b>	<b>0,68</b>	<b>0,78</b>	<b>EJ168 – 08/04/2014</b>
									-	-	-	-	-	-	-	-	
3	+	+	-	+	-	+	+	-	> 5,0	2,68	0,64	2,13	0,68	3,01	2,13	0,72	BS943B-22/04/2014
									+	+	-	+	-	+	+	-	
11	+	+	-	+	-	+	+	-									BS943B-22/04/2014

De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 1,05 bij de Snapshot Reader. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een ratio geven gelegen boven deze cut-off waarde (> 1,05) worden als positief beschouwd.

\*: randgeval

### 6.3 Bespreking

- **Ringmonster I** bevatte 30 ppb cloxacilline. Cloxacilline wordt in 95 % van de gevallen pas gedetecteerd op 35 ppb met de SNAP doch reeds op 5 ppb met de SNAP ST (validatiestudies ILVO-T&V).  
Met de SNAP kan dit staal dus zowel negatief als positief tekenen. Alle laboratoria analyseerden dit staal als positief. Labo 13 analyseerde dit staal visueel als negatief doch instrumenteel als positief (eindbeoordeling: positief). Uit de readerwaarden blijkt duidelijk dat dit staal een randgeval betreft. Door Idexx Laboratories wordt voor cloxacilline slechts een testgevoeligheid van 30 à 40 ppb geclaimd met de SNAP [8].  
Met de SNAP ST werd door alle labo's een positief resultaat bekomen.
- **Ringmonster J** was een rauw melkmonster gedopeerd met 4 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid SNAP (ST): 3 ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Alle laboratoria gaven dit staal als positief door met de SNAP (ST).
- **Ringmonster K** was gedopeerd met 200 ppb dihydrostreptomycine, een antibioticum dat niet met de SNAP (ST) wordt opgespoord.  
Dit staal werd door alle laboratoria (beide testen) unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster L** bevatte 4 ppb amoxicilline, een  $\beta$ -lactamverbinding die op 4 ppb gedetecteerd wordt met de SNAP ST doch pas op 7 ppb met de SNAP (validatiestudies ILVO-T&V).  
Dit ringmonster werd door labo's 12 en 19 zowel instrumenteel als visueel als positief geanalyseerd. ILVO-T&V analyseerde dit staal instrumenteel als negatief doch visueel als randgeval positief (eindbeoordeling: positief). Labo's 10 en 21 analyseerden dit staal instrumenteel als negatief doch visueel als positief (eindbeoordeling: negatief). Labo's 9, 13, 17 en 18 rapporteerden dit staal zowel instrumenteel als visueel als negatief. Uit de readerwaarden blijkt duidelijk dat dit staal een randgeval betreft. Ook door de kitfabrikant wordt voor amoxicilline een testgevoeligheid van 3,5 à 10 ppb geclaimd met de SNAP [8].  
Met de SNAP ST werd door alle labo's een positief resultaat bekomen.
- **Ringmonster M** was gedopeerd met 50 ppb marbofloxacin, een antibioticum dat niet met de SNAP (ST) wordt opgespoord.  
Dit staal werd door alle laboratoria (beide testen) unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster N** was gedopeerd met 50 ppb cefazoline (testgevoeligheid SNAP: 15 ppb resp. SNAP ST: 30 ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Dit ringmonster werd door alle laboratoria (beide testen) als positief geanalyseerd.
- **Ringmonster O** was gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid SNAP (ST): 3 ppb – validatiestudies ILVO-T&V). Alle laboratoria gaven dit staal als positief door met de SNAP (ST).
- **Ringmonster P** bevatte 100 ppb chloortetracycline, een antibioticum dat niet met de SNAP (ST) wordt opgespoord.  
Dit staal werd door alle laboratoria (beide testen) unaniem als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.

#### **6.4 Besluit**

Met uitzondering van de resultaten bekomen door labo 1, werden goede resultaten bekomen met de SNAP en de SNAP ST. Bovendien zijn deze resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheden zoals destijds behaald in de validatiestudies van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Labo 1 maakte bij dit ringonderzoek gebruik van SNAP reagentia doch analyseerde de ringmonsters volgens het protocol van de SNAP ST waardoor alle ringmonsters negatief tekenden. Dit is een duidelijk bewijs dat labo 1 geen positieve controlemonsters analyseert en toont duidelijk het belang aan van de analyse van controlemonsters ter controle van de goede uitvoering van de test. Tevens bewijst het de waarde van deelname aan ringonderzoeken.

Merk op dat cloxacilline (ringmonster I) en amoxicilline (ringmonster L) niet steeds op MRL worden gedetecteerd met de SNAP.

Er waren geen valspositieve resultaten met de SNAP of de SNAP ST.

## 7 beta-s.t.a.r.

### 7.1 Inleiding

Twee zuivelbedrijven namen deel met de Beta-s.t.a.r. 25; twee bedrijven namen deel met de Beta-s.t.a.r. 100. Het enige verschil tussen de Beta-s.t.a.r. 25 en de Beta-s.t.a.r. 100 is dat de receptor van de Beta-s.t.a.r. 100 na reconstitutie nog uitverdeeld dient te worden in individuele eppendorfcupjes.

Aan de deelnemers werd gevraagd om de dipsticks visueel af te lezen en, waar van toepassing, de waarde van de reader op de bijhorende fiche te noteren, alsmede het lotnummer en de vervaldatum van de kit.

### 7.2 Resultaten

Enkel de resultaten bekomen door het ILVO-T&V werden ook m.b.v. een reader afgelezen; bij de overige zuivelbedrijven werden de dipsticks uitsluitend visueel afgelezen.

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: ratio + resultaat								Lotnr. – vervaldatum (Type reader)
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>Beta-s.t.a.r. 25</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	-	+	-	0,008	0,003	12,291	0,097	8,607	1,739	0,007	10,501	30430-30/04/2014 (Reveal AccuScan III)
	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	
2	+	+	-	+	-	+	+	-									21107-07/11/2013
22	+	+	-	+	-	+	+	-									30319A-19/03/14
<b>Beta-s.t.a.r. 100</b>																	
ILVO-T&V	+	+	-	+	-	-	+	-	0,002	0,001	11,342	0,070	13,739	2,048	0,035	12,156	30724E-24/07/2014 (Reveal AccuScan III)
	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	
15	+	+	-	-	-	-	-	-									???
20	+	+	-	+	-	-	+	-									30520-20/05/2014

De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 1,000 bij de AccuScan III Reader. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een ratio kleiner of gelijk aan deze cut-off waarde ( $\leq 1,000$ ) geven, worden als positief beschouwd.

\*: randgeval

### 7.3 Bespreking

- **Ringmonster I** was gedopeerd met 30 ppb cloxacilline (testgevoeligheid Beta-s.t.a.r. 25(0): 6 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit ringmonster werd door alle labo's unaniem als positief geanalyseerd.

- **Ringmonster J** was een rauw melkmonster gedopeerd met 4 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid  $\beta$ -s.t.a.r. 25(0): 3 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit staal werd door alle labo's unaniem als positief gerapporteerd. Voor het monster belast met 4 ppb benzylpenicilline wordt door het ILVO-T&V een ratio van 0,003 bekomen met de  $\beta$ -s.t.a.r. 25. Bijgevolg zou dit lot voldoen aan de voorwaarde vooropgesteld voor dit controlemonster in het kader van de uitbetaling van de rauwe melk aan kopers door de Interprofessionele Organismen, nl. een ratio  $\leq 0,040$ .
- **Ringmonster K** bevatte 200 ppb dihydrostreptomycine, een antibioticum dat niet met de  $\beta$ -s.t.a.r. wordt opgespoord. Dit ringmonster werd door alle labo's als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster L** bevatte 4 ppb amoxicilline (testgevoeligheid  $\beta$ -s.t.a.r. 25(0): 4 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit ringmonster zou dus in 95% van de gevallen positief moeten tekenen met de  $\beta$ -s.t.a.r. Met uitzondering van labo 15 analyseerden alle laboratoria dit ringmonster als positief.
- **Ringmonster M** was gedopeerd met 50 ppb marbofloxacin, een antibioticum dat niet met de  $\beta$ -s.t.a.r. wordt opgespoord. Dit ringmonster werd door alle labo's als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.
- **Ringmonster N** bevatte 50 ppb cefazoline (testgevoeligheid  $\beta$ -s.t.a.r. 25(0): 60 ppb - validatiestudie ILVO-T&V). Dit ringmonster kan dus zowel een negatief als een positief resultaat opleveren. ILVO-T&V en labo's 15 en 20 analyseerden dit staal als negatief; labo's 2 en 22 analyseerden dit staal als (randgeval) positief.
- **Ringmonster O** was gedopeerd met 3 ppb benzylpenicilline (testgevoeligheid  $\beta$ -s.t.a.r. 25(0): 3 ppb - validatiestudie ILVO-T&V), een monster dat dus in 95% van de gevallen positief zou moeten tekenen met de  $\beta$ -s.t.a.r.. Met uitzondering van labo 15 analyseerden alle laboratoria dit ringmonster als positief. Voor het monster belast met 3 ppb benzylpenicilline wordt door ILVO-T&V een ratio van 0,007 bekomen met de  $\beta$ -s.t.a.r. 25 waardoor dit lot niet zou voldoen aan de voorwaarde vooropgesteld voor dit controlemonster in het kader van de uitbetaling van de rauwe melk aan kopers door de Interprofessionele Organismen, nl. een ratio  $> 0,040$ . Meer nog, zonder verdunning zou met dit lot geen onderscheid kunnen gemaakt worden tussen het monster belast met 3 ppb benzylpenicilline (ringmonster O) en het monster belast met 4 ppb benzylpenicilline (ringmonster J).
- **Ringmonster P** bevatte 100 ppb chloortetracycline, een antibioticum dat niet met de  $\beta$ -s.t.a.r. wordt opgespoord. Dit ringmonster werd door alle labo's als negatief geanalyseerd, m.a.w. er zijn geen valspositieve resultaten voor dit ringmonster.

### 7.4 Besluit

Algemeen werden goede resultaten bekomen met de  $\beta$ -s.t.a.r. en zijn deze resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheden zoals destijds behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Merk op dat cefazoline (ringmonster N) niet steeds op MRL wordt opgespoord met de  $\beta$ -s.t.a.r..

Er zijn indicaties dat labo 15 de dipsticks visueel onvoldoende streng afleest. Gezien de readerwaarden bekomen door het ILVO-T&V zouden ringmonster L (4 ppb amoxicilline) en ringmonster O (3 ppb benzylpenicilline) in principe geen negatieve resultaten mogen opleveren.

Labo 15 nam opnieuw niet de moeite om het lotnummer en de vervaldatum van de gebruikte reagentia te vermelden.



## 8 $\beta$ -s.t.a.r. Combo (1.0)

### 8.1 Inleiding

Eén zuivelbedrijf nam deel met de  $\beta$ -s.t.a.r. Combo (1.0), een sneltest waarmee gelijktijdig  $\beta$ -lactam antibiotica en tetracyclines kunnen opgespoord worden. Ook bij de  $\beta$ -s.t.a.r. Combo bestaan twee types reagentia: de  $\beta$ -s.t.a.r. Combo (1.0) met een testduur van 5 minuten (2 + 3) en de  $\beta$ -s.t.a.r. Combo 3.0 met een testduur van 3 minuten (1 + 2).

Aan de deelnemer werd gevraagd om de dipsticks visueel af te lezen en, waar van toepassing, de waarde van de reader op de bijhorende fiche te noteren, alsmede het lotnummer en de vervaldatum van de kit.

### 8.2 Resultaten

Nr. labo	Instrumentele aflezing: ratio + resultaat																Lotnummer - vervaldatum Type reader
	$\beta$ -lactam kanaal								Tetracycline kanaal								
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b><math>\beta</math>-s.t.a.r. Combo (1.0)</b>																	
ILVO-T&V	0,004 +	0,002 +	7,218 -	0,086 +	6,388 -	0,812 +	0,049 +	9,495 -	1,838 -	1,544 -	2,741 -	2,499 -	4,202 -	2,360 -	1,902 -	0,042 +	30808-08/08/14 (Reveal AccuScan III)
14	VISPOS	VISPOS	VISNEG	VISPOS	VISNEG	VISNEG	VISPOS	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISPOS	30716B-16/07/14

De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 1,000 bij de AccuScan III Reader. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een ratio kleiner of gelijk aan deze cut-off waarde ( $\leq 1,000$ ) geven, worden als positief beschouwd.

VISPOS: visuele aflezing positief; VISNEG: visuele aflezing negatief.

### 8.3 Bespreking

Volgende verbindingen met volgende testgevoeligheden worden onder meer op het  $\beta$ -lactam-kanaal van de  $\beta$ -s.t.a.r. Combo (1.0) opgespoord:  $\leq 10$  ppb voor cloxacilline,  $\leq 4$  ppb voor benzylpenicilline,  $\leq 4$  ppb voor amoxicilline en  $\leq 80$  ppb voor cefazoline (validatiestudie ILVO-T&V).

**Ringmonster I**, belast met 30 ppb cloxacilline werd door beide laboratoria als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonster J**, belast met 4 ppb benzylpenicilline werd door beide laboratoria als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonsters K, M & P**, die geen  $\beta$ -lactamantibiotica bevatten, werden door beide laboratoria als negatief geanalyseerd. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters op het  $\beta$ -lactam-kanaal.

**Ringmonster N**, belast met 50 ppb cefazoline kan zowel negatief als positief tekenen met de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0). Dit ringmonster werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam door het ILVO-T&V en als negatief door labo 14.

**Ringmonster L**, belast met 4 ppb amoxicilline werd door beide laboratoria als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonster O**, belast met 3 ppb benzylpenicilline werd door beide laboratoria als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

Het tetra-kanaal van de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0) is verantwoordelijk voor de detectie van de tetracyclines. Voor chloortetracycline bedraagt de testgevoeligheid van de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0)  $\leq 100$  ppb (validatiestudie ILVO-T&V).

**Ringmonsters I, J, K, L, M, N en O**, die geen tetracyclines bevatten, werden door beide laboratoria als negatief geanalyseerd voor tetracyclines. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters.

**Ringmonster P**, belast met 100 ppb chloortetracycline, werd door beide laboratoria als positief geanalyseerd voor tetracyclines.

### **8.4 Besluit**

Algemeen werden met de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0) goede resultaten bekomen en zijn deze resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheid zoals destijds behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Er waren geen valspositieve resultaten met de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0).

Merk op dat cefazoline (ringmonster N) niet steeds op MRL wordt opgespoord met de Beta-s.t.a.r. Combo (1.0).

## 9 Sneltesten in validatie op het ILVO-T&V

### 9.1 $\beta$ -lactam sneltest Delvotest BLF

#### 9.1.1 Inleiding

In het kader van een validatiestudie werd door het ILVO-T&V deelgenomen aan dit ringonderzoek met de Delvotest BLF (Beta-Lactam Fast, DSM Food Specialties, NL).

De Delvotest BLF is een sneltest voor de detectie van  $\beta$ -lactamantibiotica in melk in de vorm van dipsticks die met een eenvoudige reader in sleutelhangerformaat kunnen afgelezen worden. Hierbij worden geen numerieke waarden of ratio's bekomen, enkel een aanduiding “-“ of “+”.

#### 9.1.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing								Lotnummer – vervaldatum Type reader
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>Delvotest BLF</b>																	
ILVO-T&V	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	13H0801-08/08/2013 DSM Delvotest Reader

#### 9.1.3 Bespreking

**Ringmonster I**, belast met 30 ppb cloxacilline werd als negatief geanalyseerd.

**Ringmonster J**, belast met 4 ppb benzylpenicilline, werd als positief geanalyseerd.

**Ringmonsters K, M & P**, die geen  $\beta$ -lactamantibiotica bevatten, werden als negatief geanalyseerd. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters.

**Ringmonster L** gedopeerd met 4 ppb amoxicilline, werd als positief geanalyseerd.

**Ringmonster N**, belast met 50 ppb cefazoline, werd als positief geanalyseerd.

**Ringmonster O**, belast met 3 ppb benzylpenicilline, werd als positief geanalyseerd.

#### 9.1.4 Besluit

Algemeen werden met de Delvotest BLF goede resultaten bekomen.

Merk op dat cloxacilline (ringmonster I) niet op MRL wordt opgespoord met de Delvotest BLF.

Er waren geen valspositieve resultaten met de Delvotest BLF.

## 9.2 Quinolone sneltest Quinosensor

### 9.2.1 Inleiding

In het kader van een validatiestudie werd door het ILVO-T&V ook deelgenomen aan dit ringonderzoek met de Quinosensor (Unisensor s.a., Wandre). De Quinosensor is een receptortest voor de snelle screening van quinolones in melk.

### 9.2.2 Resultaten

Nr. labo	Visuele aflezing								Instrumentele aflezing: ratio + resultaat								Lotnummer – vervaldatum Type reader
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>Quinosensor</b>																	
ILVO-T&V	-	-	-	-	+	-	-	-	3,37	3,06	2,86	3,47	0,62	2,93	2,77	2,91	13204D – 15/12/2014 ReadSensor
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	

*De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 1,10 bij de ReadSensor. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een ratio geven gelegen kleiner dan of gelijk aan deze cut-off waarde ( $\leq 1,10$ ) worden als positief beschouwd.*

### 9.2.3 Bespreking

Met de Quinosensor wordt onder meer marbofloxacin opgespoord op 30 ppb (validatiestudie ILVO-T&V).

**Ringmonsters I, J, K, L, N, O en P** die geen quinolones bevatten, werden als negatief geanalyseerd. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters.

**Ringmonster M**, belast met 50 ppb marbofloxacin, werd als positief geanalyseerd.

### 9.2.4 Besluit

Algemeen werden met de Quinosensor goede resultaten bekomen en is het resultaat van ringmonster M (50 ppb marbofloxacin) in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheid zoals behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Er waren geen valspositieve resultaten met de Quinosensor.

### 9.3 Sneltest 4-Sensor

#### 9.3.1 Inleiding

In het kader van een validatiestudie werd door het ILVO-T&V ook deelgenomen aan dit ringonderzoek met de 4-Sensor (Unisensor s.a., Wandre). Deze sneltest met 4 teststreepjes werd speciaal ontwikkeld voor de export van melk naar de Russische Federatie waarbij specifieke eisen opgelegd worden voor (de) penicilline(s) (4 ppb), de groep van de tetracyclines (10 ppb), chlooramphenicol (0,3 ppb) en streptomycine (200 ppb).

#### 9.3.2 Resultaten

Nr. labo	Instrumentele aflezing: ratio + resultaat																Lotnummer - vervaldatum Type reader
	I	J	K	L	M	N	O	P	I	J	K	L	M	N	O	P	
<b>4-Sensor</b>																	
ILVO-T&V	BETALACTAM-kanaal								STREPTO-kanaal								13192F- 18/06/2014- ReadSensor
	0,44 +	0,00 +	3,05 -	0,69 +	3,26 -	0,00 +	0,41 +	2,69 -	2,75 -	2,68 -	0,50 +	2,45 -	2,79 -	2,94 -	1,59 -	2,40 -	
	VISPOS	VISPOS	VISNEG	VISPOS	VISNEG	VISPOS	VISPOS	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISPOS	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	
	CAP-kanaal								TETRA-kanaal								
	2,32 -	2,26 -	2,39 -	2,07 -	2,10 -	2,36 -	2,08 -	1,98 -	3,98 +	4,18 -	4,14 -	3,58 -	4,03 -	4,31 -	3,69 -	0,00 +	
	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISNEG	VISPOS	

De door de fabrikant ingestelde cut-off waarde bedraagt 1,10 bij de ReadSensor. Melkmonsters die bij instrumentele aflezing een ratio geven gelegen kleiner dan of gelijk aan deze cut-off waarde ( $\leq 1,10$ ) worden als positief beschouwd.

VISPOS: visuele aflezing positief; VISNEG: visuele aflezing negatief.

#### 9.3.3 Bespreking

Door Unisensor s.a. worden onder meer volgende testgevoeligheden geclaimd voor het  $\beta$ -lactam-kanaal van de 4-Sensor: 6 à 8 ppb voor cloxacilline, 2 à 3 ppb voor benzylpenicilline, 3 à 4 ppb voor amoxicilline en 18 à 22 ppb voor cefazoline.

**Ringmonster I**, belast met 30 ppb cloxacilline werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonster J**, belast met 4 ppb benzylpenicilline werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonsters K, M & P**, die geen  $\beta$ -lactamantibiotica bevatten, werden als negatief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters op het  $\beta$ -lactam-kanaal.

**Ringmonster N**, belast met 50 ppb cefazoline werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonster L**, belast met 4 ppb amoxicilline werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

**Ringmonster O**, belast met 3 ppb benzylpenicilline werd als positief geanalyseerd voor  $\beta$ -lactam.

Op het tetracycline-kanaal van de 4-Sensor worden de tetracyclines gedetecteerd. Door Unisensor s.a. wordt o.a. voor chloortetracycline een testgevoeligheid van 5 à 7 ppb geclaimd met de 4-Sensor.

Ringmonsters **I, J, K, L, M, N en O**, die geen tetracyclines bevatten, werden als negatief geanalyseerd voor tetracyclines. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters op het tetracycline-kanaal.

Ringmonster **P**, belast met 100 ppb chloortetracycline, werd als positief geanalyseerd voor tetracyclines.

Op het chlooramphenicol-kanaal van de 4-Sensor wordt chlooramphenicol opgespoord.

Geen enkel ringmonster bevatte chlooramphenicol. Bijgevolg werden alle ringmonsters als negatief geanalyseerd voor chlooramphenicol. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters op het chlooramphenicol-kanaal.

Op het streptomycine-kanaal van de 4-Sensor worden streptomycine en dihydrostreptomycine gedetecteerd. Door Unisensor s.a. wordt o.a. voor dihydrostreptomycine een testgevoeligheid van 40 à 60 ppb geclaimd met de 4-Sensor.

Ringmonsters **I, J, L, M, N, O & P**, die geen streptomycines bevatten, werden als negatief geanalyseerd voor (dihydro)streptomycine. Er zijn dus geen valspositieve resultaten voor deze ringmonsters op het streptomycine-kanaal.

Ringmonster **K**, belast met 200 ppb dihydrostreptomycine, werd als positief geanalyseerd voor streptomycines.

### 9.3.4 Besluit

Algemeen werden met de 4-Sensor goede resultaten bekomen en waren de resultaten in overeenstemming met wat men theoretisch (gebaseerd op de testgevoeligheid zoals behaald in de validatiestudie van het ILVO-T&V) zou verwachten.

Er waren geen valspositieve resultaten met de 4-Sensor.

## 10 Algemeen besluit

Volgende **afwijkingen** werden in het kader van dit ringonderzoek vastgesteld en vereisen **opvolging en/of correctie door het betreffende labo**:

- het niet respecteren van de incubatieduur door labo 20 (3u15minuten) bij de Delvotest T.
- het opnieuw niet doorgeven van het lotnummer & de vervaldatum van de gebruikte Delvotest T reagentia, alsook van de gehanteerde incubatietemperatuur & -duur bij labo 15.
- het niet respecteren van de incubatietemperatuur van  $64\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  door labo 17 ( $64,9^{\circ}\text{C}$ ) bij de CMT Milk Test Single Test.
- opnieuw te hoge CIF-waarden bekomen door labo 17 met de CMT Milk Test Single Test voor de remstofvrije melk (ringmonster E).
- het valsnegatieve resultaat bekomen door labo 8 met de Charm MRLBL1 Test voor het monster belast met 3 ppb benzylpenicilline (ringmonster O).
- de foutieve registratie van de numerieke waarden bekomen met de Rosa Pearl Reader door labo 16 voor ringmonsters I en L (Charm MRL Test).
- de foutieve uitvoering van de SNAP ST met SNAP reagentia door labo 1 waardoor over de ganse lijn negatieve resultaten bekomen werden !
- het opnieuw niet doorgeven van het lotnummer en de vervaldatum van de  $\beta$ -s.t.a.r. 100 door labo 15.
- het visueel onvoldoende streng aflezen van de dipsticks door labo 15 met de  $\beta$ -s.t.a.r. 100.

**Vaststellingen die door het ILVO-T&V verder worden opgevolgd:**

- de opgave van verschillende vervaldata door Charm Sciences voor lot 084 van de Charm MRL Test. Dit zal nagevraagd worden bij de kitverdelers/kitproducent.

**Vaststellingen die door het ILVO-T&V verder werden opgevolgd:**

- de negatieve resultaten bekomen door labo's 5, 15 en 20 met de Delvotest T voor het monster belast met 100 ppb sulfadoxine (ringmonster F) in het **ringonderzoek van 25 april 2014**. Vermits nu ook door de kitfabrikant wordt aangegeven dat sulfadoxine met de Delvotest T op MRL zou moeten opgespoord worden bij een incubatieduur van 175 min (gemiddelde Z-waarde = 2,58), worden de resultaten bekomen door labo's 5, 15 en 20 voor ringmonster F van het vorige ringonderzoek beschouwd als **valsnegatieve resultaten** !

**Vraag van het ILVO-T&V aan de labo's (en vnl. aan labo 15):**

- volledige registratie van de gevraagde gegevens (lotnummer, vervaldatum, datum analyse, ...) op het resultatenformulier

## 11 Referenties

- [1] Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et de Produits de Santé Animale commercialisés en Belgique (2006). Publication sous la direction éditoriale de S. Petit. Les éditions du Point Vétérinaire (Maisons-Alfort, FR).
- [2] Commission Regulation (EU) No. 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union (20.1.2010), L 15/1-L 15/72.
- [3] Bijsluiter Delvotest SP NT (642).
- [4] Bijsluiter Delvotest T (664).
- [5] FAVV-nota LB/LABO/795820 van 13/12/2011. Voorwaarden voor de erkenning van een remstoffentest voor de screening van antibiotica en sulfonamiden in rauwe melk gebruikt door de Interprofessionele Organismen.
- [6] Technical Bulletin Delvotest T (2012).
- [7] Bijsluiter CMT Milk Test (43A).
- [8] Actual situation & compilation of commercial available screening methods for the detection of inhibitors/antibiotics residues in milk. Jean-Marc Diserens *et al.*. IDF-JAT organic contaminants and veterinary residues. Draft, May 2009.
- Validatierapporten ILVO-T&V.



## 12 Bijlagen

Bijlage 1: universele codering individuele M- en S-monsters

A	M-	2	16	24	27	33	48	49	61	71	79	83	89	98	108	119	126	135	141	150	159					
<b>B</b>	<b>M-</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>22</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>46</b>	<b>52</b>	<b>57</b>	<b>72</b>	<b>76</b>	<b>81</b>	<b>95</b>	<b>104</b>	<b>110</b>	<b>117</b>	<b>127</b>	<b>136</b>	<b>138</b>	<b>149</b>	<b>157</b>					
C	M-	8	13	18	31	35	43	53	58	65	78	85	91	102	105	116	123	130	137	146	158					
<b>D</b>	<b>M-</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>21</b>	<b>25</b>	<b>38</b>	<b>47</b>	<b>54</b>	<b>63</b>	<b>67</b>	<b>74</b>	<b>82</b>	<b>96</b>	<b>97</b>	<b>111</b>	<b>115</b>	<b>128</b>	<b>129</b>	<b>139</b>	<b>147</b>	<b>156</b>					
E	M-	6	15	23	29	34	44	56	62	70	77	88	92	101	107	114	124	134	144	148	154					
<b>F</b>	<b>M-</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>19</b>	<b>32</b>	<b>36</b>	<b>41</b>	<b>51</b>	<b>64</b>	<b>69</b>	<b>80</b>	<b>84</b>	<b>94</b>	<b>99</b>	<b>109</b>	<b>120</b>	<b>122</b>	<b>133</b>	<b>142</b>	<b>151</b>	<b>160</b>					
G	M-	5	14	20	28	37	42	55	59	68	75	87	90	103	112	118	121	132	140	152	155					
<b>H</b>	<b>M-</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>26</b>	<b>39</b>	<b>45</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	<b>66</b>	<b>73</b>	<b>86</b>	<b>93</b>	<b>100</b>	<b>106</b>	<b>113</b>	<b>125</b>	<b>131</b>	<b>143</b>	<b>145</b>	<b>153</b>					
I	S-	8	13	22	27	34	45	52	63	71	73	88	95	98	108	117	124	131	144	150	160	165	173	178	189	197
<b>J</b>	<b>S-</b>	<b>1</b>	<b>14</b>	<b>18</b>	<b>29</b>	<b>36</b>	<b>42</b>	<b>53</b>	<b>60</b>	<b>72</b>	<b>76</b>	<b>84</b>	<b>94</b>	<b>100</b>	<b>106</b>	<b>118</b>	<b>127</b>	<b>133</b>	<b>142</b>	<b>148</b>	<b>159</b>	<b>168</b>	<b>176</b>	<b>184</b>	<b>188</b>	<b>198</b>
K	S-	2	15	21	28	38	44	56	58	69	80	81	96	97	109	119	126	136	140	147	154	163	175	182	190	200
<b>L</b>	<b>S-</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>24</b>	<b>30</b>	<b>37</b>	<b>41</b>	<b>51</b>	<b>59</b>	<b>67</b>	<b>79</b>	<b>87</b>	<b>91</b>	<b>103</b>	<b>107</b>	<b>114</b>	<b>123</b>	<b>129</b>	<b>139</b>	<b>151</b>	<b>153</b>	<b>162</b>	<b>174</b>	<b>179</b>	<b>186</b>	<b>193</b>
M	S-	4	11	20	25	39	46	50	64	70	75	86	93	99	112	115	128	134	141	149	156	167	170	177	192	194
<b>N</b>	<b>S-</b>	<b>7</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>26</b>	<b>35</b>	<b>43</b>	<b>55</b>	<b>61</b>	<b>68</b>	<b>77</b>	<b>83</b>	<b>90</b>	<b>104</b>	<b>105</b>	<b>120</b>	<b>122</b>	<b>130</b>	<b>143</b>	<b>146</b>	<b>158</b>	<b>161</b>	<b>171</b>	<b>183</b>	<b>187</b>	<b>195</b>
O	S-	3	12	23	32	33	48	54	57	66	74	82	92	102	111	113	121	132	137	152	155	164	172	181	185	196
<b>P</b>	<b>S-</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>31</b>	<b>40</b>	<b>47</b>	<b>49</b>	<b>62</b>	<b>65</b>	<b>78</b>	<b>85</b>	<b>89</b>	<b>101</b>	<b>110</b>	<b>116</b>	<b>125</b>	<b>135</b>	<b>138</b>	<b>145</b>	<b>157</b>	<b>166</b>	<b>169</b>	<b>180</b>	<b>191</b>	<b>199</b>