

Afdeling Microbiologie 1987-01-23

Rapport 87.04 Pr.nr. 101.6040

Onderwerp:
Vergelijking van twee screeningsme-
thoden voor het aantonen van sulfama-
thazine- of dapsonresiduen in boerde-
rijmelk

Verzendlijst:
directeur, sektorhoofd, Produktcoördinator dierlijke produkten, direc-
tie VZ (dhr ir R. Klomp), Centraal Orgaan voor Melkhygiene (15x), Re-
gionale Organen voor Melkhygiene (4x), Melkcontrolestations (4x), Gist-
Broccodes (dhr dr R. Beukers), mw Werdmuller, afdeling Microbiologie
(8x)

Rapport 87.04

Pr.nr. 101.6040

Projekt:

Controle en referentietaken voor de kwaliteitscontrole op de Melkcontrolestations t.b.v. het Centraal Orgaan voor Melkhygiene

Onderwerp:

Vergelijking van twee screeningsmethoden voor het aantonen van sulfamethazine- of dapsonresiduen in boerderijmelk

Doel:

Vergelijkend onderzoek naar het detectieniveau van sulfamethazine en dapson uitgevoerd met de zg. buismethode en de DELVO-SP test.

Samenvatting:

Met behulp van een aantal melkmonsters met sulfamethazine- of dapsonresiduen is op de vier melkcontrolestations en het RIKILT vergelijkend onderzoek verricht met beide methodes. In dit rapport zijn de bevindingen van de deelnemende laboratoria verwerkt.

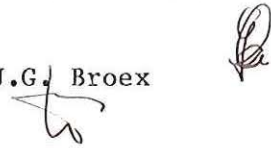
Conclusie:

Uit dit onderzoek blijkt geen groot verschil tussen de beide methodes. Een methode lijkt iets gevoeliger voor sulfamethazineresiduen terwijl de andere methode iets gevoeliger lijkt voor dapsonresiduen. Indien het Centraal Orgaan grenzen aangeeft bij welke concentraties met voldoende zekerheid gescreend moet worden zijn beide methodes goed bruikbaar bij het onderzoek van sulfaresiduen in boerderijmelk.

Verantwoordelijk: N.J.G. Broex

Samenstellers/medewerkers: G.J.M. Loeffen, G.A. Werdmuller,
N.J.G. Broex

Projectleider: N.J.G. Broex



1. Inleiding

Bij de screening van sulfaresiduen in boerderijmelk worden op de melkcontrolestations momenteel twee methodes toegepast nl. de door het Centraal Orgaan voor Melkhygiene voorgeschreven buismethode en de in de handel verkrijgbare DELVO-SP test. De bevestiging van de eventuele verdachte monsters wordt op alle melkcontrolestations uitgevoerd met de buismethode.

Omdat uit enig beperkt orienterend onderzoek was gebleken dat de gevoeligheid voor met name dapson voor beide methodes verschillend zou zijn is na overleg met de Advies Commissie van het Centraal Orgaan voor Melkhygiene besloten een vergelijkend onderzoek uit te voeren met de vier betrokken melkcontrolestations en het RIKILT.

In dit rapport zijn de bevindingen verwerkt van de vijf onderzoekinstellingen nadat zij elk ca. 80 onbekende sulfamethazine- of dapsonresiduen bevattende melkmonsters hebben onderzocht met de beide methodes.

2. Monstermateriaal

Zoals te doen gebruikelijk is bij de ringonderzoeken voor de identificatie van bacteriegroeiremmende stoffen in boerderijmelk werden ook nu aan hoeveelheden steriele volle melk diverse concentraties sulfamethazine of dapson toegevoegd. Na zorgvuldig mengen werden de oorspronkelijke hoeveelheden in porties van 10 ml verdeeld.

Twee weken achter elkaar werd een serie onbekende monsters met sulfaresiduen aan de melkcontrolestations aangeboden.

Concentraties:

Sulfamethazine werd gemengd in concentraties van 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.6 en 2.0 ug/ml. Totaal 33 monsters.

Dapson werd gemengd in concentraties van 0.011, 0.022, 0.027, 0.042, 0.054, 0.064 en 0.084 ug/ml. Totaal 40 monsters.

De monsters werden naar de melkcontrolestations verstuurd en op de dag van ontvangst in onderzoek genomen.

3. Onderzoek

De deelnemende laboratoria was verzocht de monsters, onafhankelijk van elkaar, met beide methodes te onderzoeken.

Methode 1.

Buismethode geheel conform het voorschrift van het Centraal Orgaan voor Melkhygiene.

Methode 2.

In de handel verkrijgbare DELVO-SP test (om enig minimaal verschil in batch te voorkomen werden door Gist-Brocades, voor deze vergelijking, testplaten beschikbaar gesteld uit een batch).

4. Resultaten

In tabel 1 en 2 zijn per methode en per deelnemer aangegeven het aantal malen dat het aanwezige sulfamethazine of dapson niet werd aangetoond.

Door het vergelijken van percentages met de toets van Fisher blijkt uit de tabellen het volgende.

Tabel 1. Dapson

De deelnemer onder code A toont met methode 1 lagere gehalten aan dan met methode 2, de deelnemers onder code B en R hebben dezelfde tendens maar dit is statistisch niet aangetoond. Deelnemer onder code C vindt met beide methodes hetzelfde en deelnemer onder code D toont gemiddeld gezien met beide methodes geen verschil aan, maar vindt met methode 1 de hogere gehalten vaker niet dan de andere deelnemers.

Tabel 2. Sulfamethazine

Deelnemer onder code D toont met methode 2 lagere gehalten aan dan met methode 1; hoewel bij de andere deelnemers (met uitzondering van deelnemer onder code B) deze tendens ook aanwezig is, is dit statistisch niet aangetoond.

Deelnemer onder code D kan met methode 1, de lagere gehalten, minder goed aantonen dan de andere deelnemers.

5. Conclusies

Met beide methoden wordt 0.04 ug/ml dapson goed aangetoond.

De zg. buismethode, volgens COM-voorschrift, is voor de lagere concentraties dapson iets gevoeliger dan de DELVO-SP test.

0.02 ug/ml of meer dapson wordt met de buismethode door de deelnemers onder code A, B en R voor 100% en de deelnemers onder code C voor 94% en D voor 88% aangetoond, bij de DELVO-SP test variëren deze percentages tussen 94% en 85%.

Met beide methodes wordt 1.0 ug/ml sulfamethazine goed aangetoond. De DELVO-SP test is voor de lagere concentraties sulfamethazine iets gevoeliger dan de buismethode.

0.5 ug/ml of meer sulfamethazine wordt met de buismethode door de deelnemer onder code D voor 75% en door de overige deelnemers tussen 89-100% aangetoond, bij de DELVO-SP test is dit voor de deelnemers onder code A, B en C, 100% en voor de deelnemers onder code R en D, 96%.

Tabel 1.

Dapson, aantal malen niet aangetoond. n=40.

Methode 1.

| Totaal aantal | 6x | 6x | 5x | 6x | 5x | 6x | 6x | tot | |
|-------------------|---------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-------------|---------------|-------------|
| Gehalte in ug/ml | 0.011 | 0.022 | 0.027 | 0.042 | 0.054 | 0.064 | 0.080 | | > 0.020 |
| Lab. | | | | | | | | | |
| A | 3 | | | | | | | 3 | |
| B | 3 | | | | | | | 3 | |
| C | 6 | 1 | 1 | | | | | 8 | 2 |
| D | 1 | 2 | | | 1 | | 1 | 5 | 4 |
| R | 3 | | | | | | | 3 | |
| Tot. | 16 (53,3%) | 3 (10,0%) | 1 (4,0%) | 0 (0,0%) | 1 (4,0%) | 0 (0%) | 1 (3,3%) | 22 (11,0%) | 6 (3,5%) |
| Tot. aantal anal. | 30 | 30 | 25 | 30 | 25 | 30 | 30 | 200 | 170 |

Methode 2

| Totaal aantal | 6x | 6x | 5x | 6x | 5x | 6x | 6x | tot | |
|---------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
| Gehalte in ug/ml | 0.011 | 0.022 | 0.027 | 0.042 | 0.054 | 0.064 | 0.080 | | > 0.020 |
| Lab. | | | | | | | | | |
| A | 6 | 3 | 1 | | | 1 | | 11 | 5 |
| B | 4 | | 2 | | | | | 6 | 2 |
| C | 6 | 3 | 1 | | | | | 10 | 4 |
| D | 4 | 3 | 1 | 1 | | | | 9 | 5 |
| R | 6 | 2 | 1 | | | | | 9 | 3 |
| Tot. | 26 (86,7%) | 11 (36,7%) | 6 (24,0%) | 1 (3,3%) | 0 (0,0%) | 1 (3,3%) | 0 (0,0%) | 45 (22,5%) | 19 (11,1%) |
| Totaal aantal anal. | 30 | 30 | 25 | 30 | 25 | 30 | 30 | 200 | 170 |

Tabel 2

Sulfamethazine, aantal malen niet aangetoond. n=33

Methode 1

| Totaal aantal | 5x | 6x | 6x | 6x | 6x | 4x | tot | |
|-----------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|
| Gehalte in ug/ml Lab. | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.6 | 2.0 | | > 0.5 |
| A | 4 | | | | | | 4 | |
| B | | | | | | | 0 | |
| C | 4 | 1 | 1 | | | | 6 | 2 |
| D | 4 | 2 | 2 | 3 | | | 11 | 7 |
| R | 5 | 2 | 1 | | | | 8 | 3 |
| Tot. | 17 (68,0%) | 5 (16,7%) | 4 (13,3%) | 3 (10,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 29 (17,6%) | 12 (8,6%) |
| Tot. aantal anal. | 25 | 30 | 30 | 30 | 30 | 20 | 165 | 140 |

Methode 2

| Totaal aantal | 5x | 6x | 6x | 6x | 6x | 4x | tot | |
|-----------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| Gehalte in ug/ml Lab. | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.6 | 2.0 | | > 0.5 |
| A | 1 | | | | | | 1 | |
| B | 2 | | | | | | 2 | |
| C | 3 | | | | | | 3 | |
| D | | 1 | | | | | 1 | 1 |
| R | 4 | 1 | | | | | 5 | 1 |
| Totaal | 10 (40,0%) | 2 (6,7%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) | 12 (7,3%) | 2 (1,4%) |
| Totaal aantal anal. | 25 | 30 | 30 | 30 | 30 | 20 | 165 | 148 |