



RIKILT

WAGENINGEN UR



Verdeling van oxytetracycline (afkomstig van versleping) in diervoeders

RIKILT Rapport 2012.003

A.A.M. Stolker, T. Zuidema, H.J. van Egmond, J. de Jong, P.J.M. Haelermans en J.H. Hooglugt



Nederlandse Voedsel- en
Warenautoriteit
Ministerie van Economische
Landbouw en Innovatie



Verdeling van oxytetracycline (afkomstig van versleping) in diervoeders

A.A.M. Stolker, T. Zuidema, H.J. van Egmond, J. de Jong, P.J.M. Haelermans¹ en J.H. Hooglugt¹

Rapport 2012.003

Oktober 2012

Projectnummer: 122.72.594.01
BAS-code: WOT-02-004-008
Projecttitel: Het in kaart brengen van de bijdrage van antibiotica-versleping
via diervoeders aan de resistentieproblematiek

Projectleider: A.A.M. Stolker

**RIKILT Wageningen UR (University &
Research centre)**

Akkermaalsbos 2, 6708 WB Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Tel. 0317 480 256
Internet: www.wageningenUR.nl/RIKILT

¹ **Nederlandse Voedsel en Waren
Autoriteit (NVWA)**

Catharijnesingel 59, 3511 GG Utrecht,
Postbus 43006, 3540 AA Utrecht
Tel. 088 223 33 33
Internet www.vwa.nl.

Copyright 2012, RIKILT – Wageningen UR.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het RIKILT Wageningen UR is het niet toegestaan:

- a) *dit door RIKILT Wageningen UR uitgebrachte rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b) *dit door RIKILT Wageningen UR uitgebrachte rapport, c.q. de naam van het rapport of RIKILT Wageningen UR, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c) *de naam van RIKILT Wageningen UR te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

Dit onderzoek is (mede) gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie (WOT 02 Voedselveiligheid thema Diervoeders).

Verzendlijst:

- Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie (E.R. Deckers)
- Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit (R.G. Herbes)
- Deelnemende mengvoederbedrijven

Bij de totstandkoming van dit rapport is de grootst mogelijke zorgvuldigheid betracht. Tenzij vooraf schriftelijk anders overeengekomen aanvaardt RIKILT Wageningen UR geen aansprakelijkheid voor schadeclaims die worden uitgebracht n.a.v. de inhoud van dit rapport.

Samenvatting

De laatste jaren is er een toenemende aandacht voor de mogelijke bijdrage van therapeutisch gebruik van antibiotica in de dierhouderij op de ontwikkeling van antimicrobiële resistentie. Een additionele bron van blootstelling van landbouwhuisdieren aan antibiotica is versleping via diervoeders. In principe levert iedere partij gemedicineerd voeder, meerdere spoelcharges op met residuen van antibiotica. Landbouwhuisdieren worden door dit 'door versleping' gecontamineerde voer onbedoeld blootgesteld aan antibiotica.

Het huidige onderzoek heeft tot doel inzicht te krijgen in het verloop van de versleping van het antibioticum oxytetracycline (OTC) binnen de eerste spoelcharge na de bereiding van een gemedicineerd mengvoeder met OTC. Daartoe zijn spoelcharges van 4 verschillende bedrijven (A t/m D) bemonsterd na productie van met OTC gemedicineerd varkensvoer. Bij 3 bedrijven (A t/m C) betrof dit een spoelcharge van alleen de perslijn. En bij één bedrijf (D) betrof dit een spoelcharge van zowel de maal-/meng- als perslijn. Tijdens de productie van de eerste spoelcharge is de eerste 20 minuten met een tijdsinterval van 2 minuten een monster voeder genomen en daarna met een tijdsinterval van 5 minuten. Dit resulteert in ca. 20 monsters per spoelcharge. Deze monsters zijn vervolgens onderzocht op het gehalte aan OTC.

De OTC gehalten in het bemonsterde deel van de "spoelcharge" varieerden aanzienlijk binnen en tussen de vier bezochte bedrijven:

- Bedrijf A: 3,0 - 38,0 mg/kg (gewogen gem. 9.4 mg/kg)
- Bedrijf B: <1 - 18,6 mg/kg (gewogen gem. 2.4 mg/kg)
- Bedrijf C: 3,5 - 27,6 mg/kg (gewogen gem. 7.8 mg/kg)
- Bedrijf D: 3,1 - 77,6 mg/kg (gewogen gem. 9.1 mg/kg)

In het kader van antibiotica resistentieproblematiek heeft de staatssecretaris van EL&I een handhavings limiet voor de versleping van antibiotica in diervoeders van 2,5% van de laagst toegestane dosering afgekondigd [8]. Voor OTC betekent dit 2,5% van 300 mg/kg: 7,5 mg/kg. In dit onderzoek zijn van de 77 monsters er 25 (=32%) met een concentratie aan OTC $\geq 7,5$ mg/kg.

Elk spoelcharge vertoont een specifiek verloop van de concentratie aan OTC. Deze lijkt met name afhankelijk van de mengvoederinstallatie en in mindere mate van de gebruikte premix.

Bij alle bedrijven was het OTC gehalte in de "kop" van de spoelcharge (= eerste minuten van de productie) het hoogst. Bij twee bedrijven (bedrijven C en D) zakte het OTC gehalte nadat er ± 800 kg spoelcharge geproduceerd was onder de 7,5 mg/kg. Bij de twee overige bedrijven (bedrijven A en B) gebeurde dit pas nadat er ± 2500 kg spoelcharge was geproduceerd. Bij bedrijven A, C als D kwamen in het vervolg van de productie nog wel incidenteel ondermonsters met OTC gehalten hoger dan 7,5 mg/kg voor.

Om de gemeten versleping van OTC te vergelijken met de bedrijfseigen-%versleping (door de bedrijven zelf bepaald met hulpstoffen zoals Mn, tracers) zijn de OTC concentraties in mg/kg omgerekend naar percentages. Hiervoor zijn drie rekenmodellen gehanteerd. Bij het eerste model wordt de concentratie aan OTC per meetpunt uitgedrukt in %, t.o.v. concentratie van het gemedicineerde voer. Vervolgens wordt een gewogen gemiddelde (% versleping) berekend per spoelcharge. Voor het tweede rekenmodel worden alle absolute hoeveelheden aan OTC in de

bemonsterde spoelcharge (in g) uitgedrukt in %, t.o.v. absolute hoeveelheid OTC (in g) van de gemedicineerde batch. Daarbij is aangenomen dat de spoelcharge maximaal de omvang heeft van de menger. Het derde rekenmodel is gelijk aan het tweede rekenmodel met dat verschil dat in dit model gerekend wordt met de gehele spoelcharge (niet begrensd door het volume van de menger). De via deze rekenmodellen gevonden %-versleping zijn vervolgens vergeleken met de bedrijfseigen %-versleping. Hieruit blijkt dat de rekenmodellen één en twee overeenkomstige resultaten geven en dat de gemeten (gemiddelde) OTC versleping lager is dan de opgegeven bedrijfseigen versleping. Verder blijkt dat met de resultaten van rekenmodel drie de bedrijfseigen %-versleping het dichtst worden benaderd. Daarbij zijn er twee resultaten hoger en twee lager dan de bedrijfseigen %-versleping.

De 4 onderzochte "spoel" charges zijn op homogeniteit getest conform de 'Ovocom Homogeniteitstest voor versleping'. Hierbij werden alle 4 onderzochte spoelcharges als niet-homogeen (voor OTC) geclassificeerd. Hier dient bij de bemonstering rekening mee gehouden te worden.

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1 Inleiding	7
2 Materiaal en methoden	8
2.1 Monstername	8
2.1.1 Selectie bedrijven	8
2.1.2 Details bemonsterde partijen	8
2.1.3 Monstername procedure	9
2.2 Monsteranalyse	10
2.3 Homogeniteitstest	10
3 Resultaten en discussie	11
3.1 Resultaten monster analyses	11
3.2 Gemeten concentratie OTC in gemedicineerd voer	14
3.3 Vergelijking bedrijfseigen %-versleping versus gemeten %-versleping	15
3.3.1 Versleping berekend op basis van OTC concentratie per monstername punt en OTC concentratie van gemedicineerde partij (rekenmodel 1)	15
3.3.2 Versleping berekend op basis van absolute gehalten aan OTC in spoelcharge en gemedicineerde partij (rekenmodel 2)	16
3.3.3 Versleping berekend op basis van absolute gehalten aan OTC in spoelcharge en gemedicineerde partij (rekenmodel 3)	18
3.3.4 Vergelijken van de berekeningsmethoden van OTC versleping met het bedrijfseigen-verslepingspercentage	19
3.4 Homogeniteit spoelcharges	20
4 Conclusies en aanbevelingen	21
Literatuurlijst	22
Annex I Monster informatie formulier	23
Annex II Analyse resultaten	25
Annex III Berekening absolute hoeveelheid OTC in (bemonsterde) spoelcharge ...	29

1 Inleiding

De laatste jaren is er een toenemende aandacht voor de mogelijke bijdrage van therapeutisch gebruik van antibiotica in de dierhouderij op de ontwikkeling van antimicrobiële resistentie. De reden voor deze zorg is dat er een continue toename in therapeutisch antibiotica gebruik en een toename in het voorkomen van resistentie in de dierhouderij wordtesignaleerd.

Een andere bron van blootstelling van landbouwhuisdieren aan antibiotica is versleping via diervoeders. In principe levert iedere partij gemedicineerd voeder, meerdere spoelcharges op met residuen van antibiotica. De bijdrage die deze 'versleping' levert aan de totale blootstelling aan antibiotica is substantieel. In mengvoederbedrijven zijn verslepiingspercentages in de orde van 2 – 10% gangbaar. Bovendien worden voeders in bulk geproduceerd en dus gedurende langere tijd toegediend. In 2006 zijn de antimicrobiële groeibevorderaars (=AMGB's) definitief verboden in verband met de risico's van resistentieontwikkeling. De concentraties aan antibiotica die worden gemeten als gevolg van versleping zijn vergelijkbaar met de niveaus van AMGB's die destijds werden gemeten. Het is dus zeer aannemelijk dat deze concentraties aan antibiotica (vergelijkbaar met AMGB's) tot resistentie kunnen leiden [1,2].

In het kader van antibiotica resistentieproblematiek heeft de directeur Bureau Risicobeoordeling en Onderzoeksprogrammering van de NVWA aan de ministers van EL&I en VWS geadviseerd [3] om bij de versleping een veiligheidsmarge van 2.5% - van de laagst gebruikelijke therapeutische concentratie - te hanteren. Voor OTC betekent dit 2.5% van de 300 mg/kg (=laagst geregistreerde therapeutische concentratie)=7,5 mg/kg.

Eind 2008/begin 2009 zijn 25 mengvoederbedrijven (representatief voor meer dan 90% van de mengvoederproductie) bezocht en zijn monsters van spoelcharges genomen die vervolgens zijn geanalyseerd op antibiotica residuen. Naast monsternamen is informatie over de bestemming van de spoelcharges en tijdsduur van voeren verzameld. Het rapport met analyseresultaten kwam begin 2010 beschikbaar [1]. Omdat bleek dat lang niet in alle gevallen de door de mengvoederfabrikant opgeven versleping (bedrijfseigen verslepiings%) overeen kwam met de gemeten versleping is besloten om vervolg onderzoek te starten naar het gedrag van het antibioticum binnen de spoelcharge (hoe is het concentratieverloop binnen de charge?). Aan de hand van dit concentratieverloop kan worden getoetst of het huidige monsternamen protocol toepasbaar is voor spoelcharges. Tevens zou hiermee onderzocht kunnen worden of het bedrijfseigen verslepiings% (vaak bepaald met Mn-eiwit of microtracer) representatief is voor het antibioticum verslepiings%.

De resultaten uit het project antibiotica versleping (RIKILT-rapport 2010.005) zijn gebruikt om een selectie te maken van bedrijven met hoge en lage versleping. Op deze bedrijven werden onder gecontroleerde omstandigheden monsters (+ondermonsters) genomen en onderzocht op het gehalte aan antibiotica. Voor dit onderzoek is het antibioticum oxytetracycline (OTC) als teststof geselecteerd. OTC wordt regelmatig gebruikt en is representatief voor een bredere groep antibiotica.

De resultaten van het onderzoek en de evaluatie zijn in dit RIKILT rapport uitgewerkt.

2 Materiaal en methoden

2.1 Monstername

2.1.1 Selectie bedrijven

Op basis van de versleppingsniveaus van mengvoederbedrijven zoals vermeld in RIKILT rapport 2010.005 was er een selectie gemaakt voor de bemonstering van 2 met laag (<2%), 2 met midden (2-6%) en 2 met hoog bedrijfs-eigen versleppingsniveau (>6%). De monstername is uitgevoerd door de medewerkers van de NVWA in de periode oktober 2010 en maart 2011.

Uiteindelijk zijn slechts 4 bedrijven bezocht en bemonsterd, omdat het aantal bedrijven dat OTC verwerkte sinds eind 2010 sterk was afgenomen. Daardoor was het binnen de beschikbare tijd niet mogelijk om 6 bedrijven te vinden voor de bemonstering van OTC. De bemonsterde bedrijven vielen met betrekking tot versleping in de categorie "hoog" (bedrijven A en B) en "midden" (bedrijven C en D). Zie voor verdere details Tabel 1.

Tabel 1. De bedrijfseigen versleppingspercentage van de bemonsterde bedrijven.

Mengvoederbedrijf	Methode	Bedrijfseigen versleppingspercentage		
		Maal-menglijn	Perslijn	totaal
Bedrijf A	Microtracer	4,1	5,7	9,8
Bedrijf B	?(info niet aangeleverd)	4,8	6,4	11,2
Bedrijf C	Mangaan/eiwit	2,4	3,4	5,8
Bedrijf D	Microtracer	1,2	1,1	2,3

2.1.2 Details bemonsterde partijen

Bij elk bedrijf zijn monsters genomen van:

- 1) Het gemedicineerde voeder.
- 2) De direct daarna geproduceerde spoelcharge.

In Tabel 2 staat de details van gemedicineerd voeder partijen (producties) per bedrijf weergegeven.

Tabel 2. Produktiedetails van de partijen gemedicineerd voeder per bedrijf.

Mengvoeder-bedrijf	Inhoud menger (kg)	Gemedicineerd voeder				
		Aantal charges	Partijgrootte (kg)	Bemonsterd (kg)	REG NL	OTC gehalte (mg/kg)
Bedrijf A	2000	3	6000	6000	2158	400
Bedrijf B	4000	1	4000	4000	2004	500
Bedrijf C	4800	5	24000	24000	2158	400
Bedrijf D	4000	2	8000	8000	2004	500

Bij bedrijven A, B en C is alleen de "spoel" charge van de perslijn (de eerste charge die na het gemedicineerd voeder op dezelfde perslijn geproduceerd is) bemonsterd. Deze spoelcharge bevat dus alleen de versleping van de perslijn. De spoelcharge van de maal-/menglijn is over een andere perslijn gegaan en niet bemonsterd.

Bij bedrijf D is de eerste charge die geproduceerd werd na het gemedicineerde voeder over dezelfde maal-/meng en perslijn als het gemedicineerde voeder gegaan. Deze spoelcharge bevat hierdoor zowel de versleping van de maal-/menglijn als van de perslijn. In Tabel 2 staan de produktiedetails van de "spoel" charge weergegeven.

Tabel 3. Produktiedetails van de bemonsterde partijen per bedrijf.

Mengvoeder-bedrijf	Inhoud menger (kg)	spoelcharge				
		Aantal charges	Partij-grootte (kg)	Bemonsterd (kg)	Spoeltraject	Bestemming
Bedrijf A	2000	3	6000	6000	Perslijn	Zeugen
Bedrijf B	4000	5	20000*	12000	Perslijn	Biggen
Bedrijf C	5000?	2	10000	10000	Perslijn	Biggen
Bedrijf D	3000?	2	6000	6000	Maalmeng- en perslijn	Zeugen

* Eerste 12000 kg bemonsterd.

Bij Bedrijf A zijn 3 charges van 2000 kg in persmeelcel tot 1 charge gecombineerd. Het spoelvoeder was op dat moment nog schoon, omdat de maal-menglijn al met een ander spoelvoeder schoongespoeld was. De gehele spoelcharge is bemonsterd.

Bij Bedrijf B zijn 5 charges uit de menger in persmeelcel tot 1 charge gecombineerd. Het spoelvoer was op dat moment nog schoon, omdat de maal-menglijn al met een ander spoelvoeder schoongespoeld was. De bemonstering was tot een omvang van 3 charges (12000 kg)

Bij Bedrijf A zijn 2 charges van 5000 (4800) kg in persmeelcel tot 1 charge gecombineerd. Het spoelvoeder was op dat moment nog schoon, omdat de maal-menglijn al met een ander spoelvoeder schoongespoeld was. De gehele spoelcharge is bemonsterd.

Bij Bedrijf D zijn 2 charges van 3000 kg in persmeelcel tot 1 charge gecombineerd. Het spoelvoeder was op dat moment al "gecontamineerd" met OTC in het traject van de menger tot aan de persmeelcel. De gehele spoelcharge is bemonsterd.

2.1.3 Monstername procedure

De monstername van de gemedicineerde voeders is uitgevoerd conform 152/2009/EC. Hetgeen inhoudt dat de (onder)monsters gemengd zijn tot één verzamelmonster. Dit verzamelmonster is verkleind tot één analysemonster, één contra-monster en één bedrijfsmonster. De monsters zijn genomen bij de inloop van de gereed produktcel en betroffen in alle gevallen de gehele partij.

Bij de productie van de spoelcharges is gedurende de eerste 20 minuten elke 2 minuten een (onder) monster genomen en vervolgens elke 5 minuten (zie monstername protocol Annex I).

De monsters zijn genomen bij de inloop van de gereed produktcel. In totaal zijn per spoelcharge maximaal 20 monsters genomen daardoor is bij bedrijf B niet de volledige spoelcharge bemonsterd. De monsters zijn niet gemengd en afzonderlijk onderzocht.

Tabel 4. Per bedrijf het aantal genomen (onder)monsters en gewicht hiervan.

Mengvoederbedrijf	Gemedicineerd voer		spoelcharge	
	Aantal genomen (onder)monsters	Gewicht (onder) monsters (g)	Aantal genomen (onder)monsters	Gewicht (onder) monsters (g)
Bedrijf A	20 *	ca. 250	19	ca. 200
Bedrijf B	17 *	ca. 150	20	ca. 150
Bedrijf C	38 *	ca. 150	20	ca. 150
Bedrijf D	20 *	ca. 150	18	ca. 150

* Gemengd tot één verzamelmonster.

2.2 Monsteranalyse

De monsters zijn in zijn geheel gemalen en vervolgens geanalyseerd op aanwezigheid van OTC volgens SOP A0929 [4]. De procedure is kort samengevat als volgt:

De monsters worden geëxtraheerd met een 1 M McIlvain / EDTA-buffer pH=4,0. Na pH stellen en centrifugeren wordt het extract verdund en geanalyseerd met behulp van vloeistofchromatografie gekoppeld aan massa spectrometrische detectie (LC-MS/MS). De kwantificering is uitgevoerd door gebruik te maken van een 'matrix matched standard' ijkreeks. De bepaalbaarheidsgrens voor OTC bedraagt 1 mg/kg. De uitgebreide meetonzekerheid van deze methode is 50% op het niveau van 1-10 mg/kg OTC en 23% op het niveau van 10-20000 mg/kg OTC. De monsters zijn in duplo geanalyseerd.

2.3 Homogeniteitstest

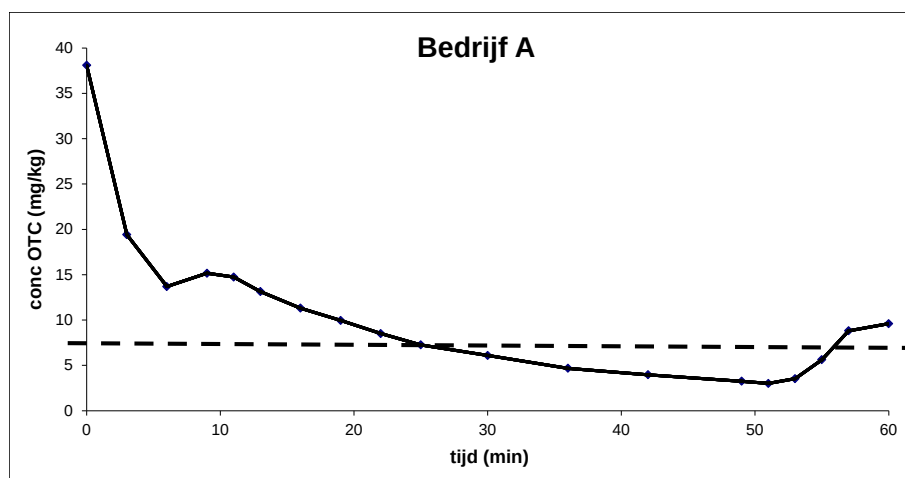
Er bestaan verschillende statistische testen om de homogeniteit te bepalen. In dit rapport is de homogeniteitstest gebruikt die beschreven is in een Belgisch GMP document: BT-08 Deel B Partie B; Homogeniteit en versleping (datum 3-07-2008)[5]. Daarbij worden de (onder)monsters genomen binnen een partij geanalyseerd en wordt van de resultaten de variatiecoëfficiënt (VC) bepaald. Hierbij komt de VC overeen met de RSD (relative standard deviation: $\frac{\text{Std} \times 100}{\text{gemiddelde}}$). Indien deze $VC \geq 12\%$ is de partij (batch, charge) niet-homogeen. Is $VC \leq 8\%$ dan is de partij homogeen en tussen 8 en 12% is de partij aanvaardbaar homogeen (zie Tabel 2 van het genoemde document).

3 Resultaten en discussie

De gedetailleerde afzonderlijke onderzoeksresultaten staan vermeld in Annex II.

3.1 Resultaten monster analyses

Elk bedrijf vertoont een specifiek verloop van de concentratie aan oxytetracycline (OTC) in de spoelcharge. Deze is namelijk van veel verschillende factoren afhankelijk zoals de constructie van de installatie, gebruikte premix, doorloopsnelheid van het voeder en de concentratie aan OTC in het gemedicineerde voer [6,7]. Hieronder worden de resultaten per bedrijf grafisch weergegeven.

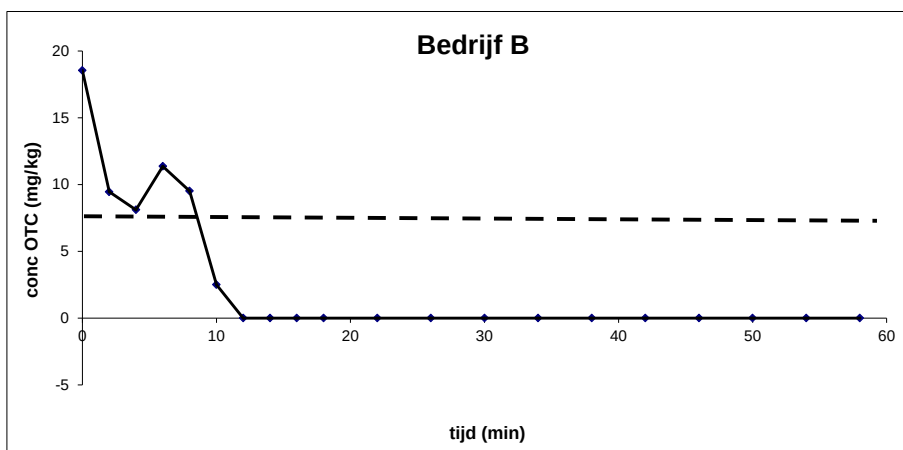


Figuur 1. Concentratie verloop oxytetracycline in spoelvoeder van Bedrijf A (productiesnelheid = 6000 kg/uur); --- 7.5 mg/kg niveau.

Bij bedrijf A is de concentratie in het spoelvoeder van de perslijn op tijdstip $t=0$ min maximaal: 38 mg/kg. Vervolgens is een duidelijke afname van de concentratie te constateren en na 25 min. ($= \pm 2500$ kg) is deze afgenomen tot onder de 7,5 mg/kg. Opmerkelijk is dat bij deze installatie een verhoging van de concentratie aan OTC waarneembaar is na ca. 50 min. Bij laatste 500 kg van de productie ($t=55$ tot $t=60$) neemt het OTC gehalte weer toe tot ruim boven de 7,5 mg/kg. Wat hiervan de oorzaak is, is moeilijk te achterhalen. Mogelijk wordt de productstroom kleiner tegen het eind van de productie en kan de installatie meer gaan rammelen waardoor er eventueel licht aangekoekt product losgeschud wordt.

Het gewogen gemiddelde OTC gehalte voor het bemonsterde deel van de spoelcharge is $((15.1 \text{ mg/kg} \cdot 2500 \text{ kg}) + (5.4 \text{ mg/kg} \cdot 3500 \text{ kg})) / 6000 \text{ kg} = 9.4 \text{ mg/kg}$ (zie Annex II). Van de 19 deelmonsters bevatten 11 monsters een concentratie OTC $\geq 7.5 \text{ mg/kg}$ (handhavings limiet van 2.5% [3]).

Bij de vergelijking met de bedrijfseigenversleping wordt met de eerste 2000 kg van de spoelcharge gerekend. De versleping hierin is gemiddeld 16,6 mg/kg OTC.



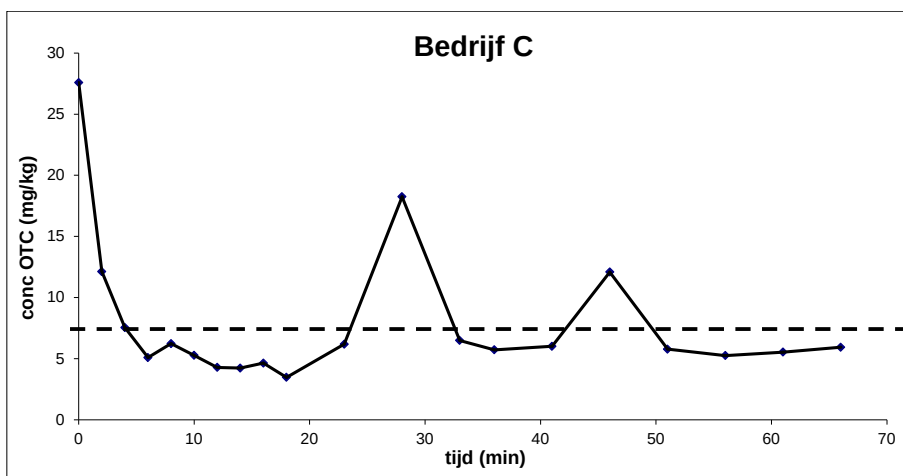
Figuur 2. Concentratie verloop oxytetracycline in spoelvoeder van Bedrijf B (productiesnelheid = 12000 kg/uur); --- 7.5 mg/kg niveau.

Bij bedrijf B is het verloop duidelijk anders dan bij bedrijf A. De concentratie aan OTC in spoelvoeder van de perslijn op tijdstip $t=0$ min bedraagt 18 mg/kg, echter na 12 min ($= \pm 2800$ kg) is het niveau aan OTC onder het detectieniveau van 1 mg/kg gedaald en dit blijft zo tot aan het eind van de productie.

Na 10 minuten daalt het OTC niveau onder de 7,5 mg/kg. Op dat moment is er ongeveer 2400 kg spoelcharge geproduceerd. Dit aantal kilo's is goed vergelijkbaar met bedrijf A.

Het gewogen gemiddelde OTC gehalte voor het bemonsterde deel van de spoelcharge is $((6.1 \text{ mg/kg} \cdot 4000 \text{ kg}) + (0.5 \text{ mg/kg} \cdot 8000 \text{ kg})) / 12000 \text{ kg} = 2.4 \text{ mg/kg}$ (zie Annex II). Daarbij is voor de berekening $<1 \text{ mg/kg}$ gelijk gesteld aan 0.5 mg/kg. Van de 20 deelmonsters bevatten 5 monsters een concentratie OTC $\geq 7.5 \text{ mg/kg}$ (voorgestelde maximale limiet van 2.5% [3]).

Bij de vergelijking met de bedrijfseigenversleping wordt met de eerste 4000 kg van de spoelcharge gerekend. De versleping hierin is gemiddeld 6,0 mg/kg OTC.

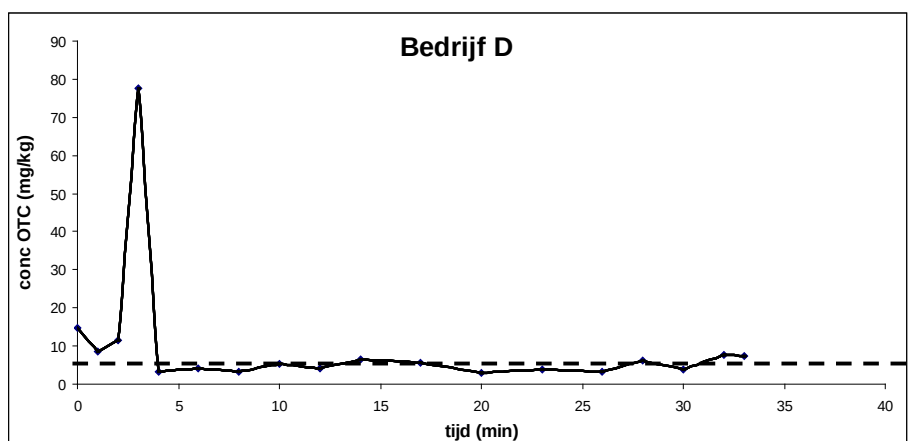


Figuur 3. Concentratie verloop oxytetracycline in spoelvoeder van Bedrijf C (productiesnelheid = 9000 kg/uur); --- 7.5 mg/kg niveau.

Bij installatie C is het verloop van OTC - in het spoelvoeder van de perslijn - 27 mg/kg op t=0 min en deze daalt vrij snel (binnen 6 min, 900 kg) naar een concentratie niveau onder de 7,5 mg/kg. Echter op tijdstip t=28 min en t= 46 min zien we pieken optreden van respectievelijk 18 en 12 mg/kg. Het lijkt erop dat er op die momenten iets in het productieproces gebeurt waardoor er voeder vrijkomt dat eerder geproduceerd is. Na 68 minuten (= 10000 kg voeder) is de OTC concentratie niveau nog rond de 5-6 mg/kg.

Het gewogen gemiddelde OTC gehalte voor het bemonsterde deel van de spoelcharge is $((8,0 \text{ mg/kg} \cdot 3000 \text{ kg}) + (7,7 \text{ mg/kg} \cdot 7000 \text{ kg})) / 10000 \text{ kg} = 7.8 \text{ mg/kg}$ (zie Annex II). Van de 20 deelmonsters bevatten 5 monsters een concentratie OTC $\geq 7.5 \text{ mg/kg}$ (voorgestelde maximale limiet van 2.5% [3]).

Bij de vergelijking met de bedrijfseigenversleping wordt met de eerste 5000 kg van de spoelcharge gerekend. De versleping hierin is gemiddeld 9,1 mg/kg OTC.



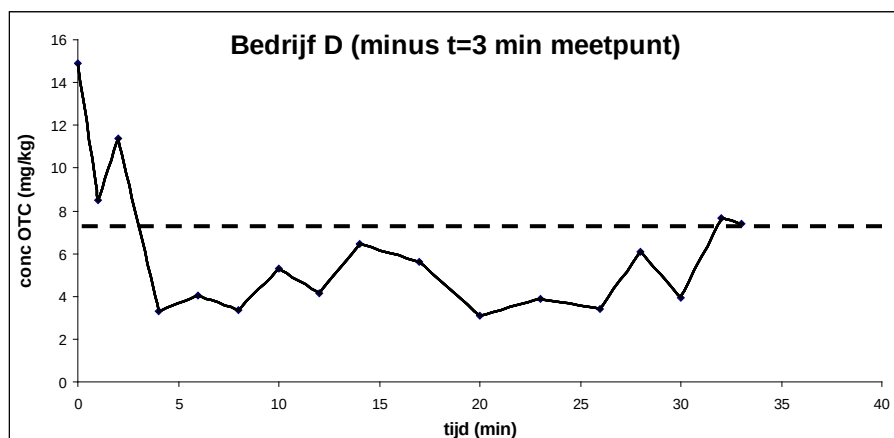
Figuur 4. Concentratie verloop oxytetracycline in spoelvoeder van Bedrijf D (productiesnelheid = 12000 kg/uur); --- 7.5 mg/kg niveau.

Bij bedrijf D is de gemeten concentratie aan OTC ca. 14 mg/kg bij t=0 min en daalt vervolgens om bij t=3 min een enorme uitschieter te geven naar een concentratie van 77 mg/kg. Het lijkt erop of er ergens in de installatie nog een beetje gemedicineerd voeder is achtergebleven wat op dit tijdstip met het spoelvoeder meekomt. In Figuur 5 is nogmaals het verloop van de curve weergegeven maar nu zonder het punt op t=3 min. Hierbij blijkt dat de curve nu meer overeenkomt met de bedrijven A t/m C. Ook bij dit bedrijf loopt de curve weer licht omhoog aan het eind van de productie van de spoelcharge.

Direct na de piek van 77 mg/kg OTC zakt het OTC niveau onder de 7,5 mg/kg. Dit is na de productie van ongeveer 800 kg voeder. Na 30 minuten stijgt het gehalte weer tot een niveau rond de 7,5 mg/kg.

Het gewogen gemiddelde OTC gehalte voor het bemonsterde deel van de spoelcharge is $((13,9 \text{ mg/kg} \cdot 3000 \text{ kg}) + (5,4 \text{ mg/kg} \cdot 3000 \text{ kg})) / 6000 \text{ kg} = 9.5 \text{ mg/kg}$ (zie Annex II). Van de 18 deelmonsters bevatten 4 monsters een concentratie OTC $\geq 7.5 \text{ mg/kg}$ (voorgestelde maximale limiet van 2.5% [3]).

Bij de vergelijking met de bedrijfseigenversleping wordt met de eerste 4000 kg van de spoelcharge gerekend. De versleping hierin is gemiddeld 8,7 mg/kg OTC.



Figuur 5. Verloop van de oxytetracycline concentratie in het spoelvoeder van bedrijf D (minus uitschieter op t=3 min) (productiesnelheid = 12000 kg/uur); --- 7.5 mg/kg niveau.

3.2 Gemeten concentratie OTC in gemedicineerd voer

Bij alle bedrijven zijn monsters genomen van het gemedicineerde voeder om het gehalte aan gedoseerd OTC hierin te bepalen. De resultaten van dit onderzoek staan vermeld in Tabel 5.

Tabel 5. Gedoseerde OTC concentratie versus gemeten concentratie OTC in gemedicineerde batch.

Mengvoederbedrijf	REG NL	Gedoseerd OTC gehalte in het gemedicineerd voeder (mg/kg)	Gemeten conc.* OTC in het gemedicineerd voer	Terugvindings%
Bedrijf A	2158	400	244	61
Bedrijf B	2004	500	397	79
Bedrijf C	2158	400	409	102
Bedrijf D	2004	500	498	100

* Gemiddelde van duplo bepaling.

Uit Tabel 4 blijkt dat bij 2 bedrijven (bedrijven C,D) de gedoseerde OTC concentratie goed wordt teruggevonden in het gemedicineerde voeder. Bij de 2 overige bedrijven (bedrijven A,B) is de concentratie in het gemedicineerde voeder aanzienlijk lager dan gedoseerd. Hierbij is geen relatie met de gebruikte formulering. Mogelijk is de dosering in de praktijk toch lager geweest dan

Bedrijven A en B zijn de bedrijven met een hoog bedrijfseigen-verslepiingspercentage. In de spoelcharges wordt dit OTC-verlies echter lang niet teruggevonden. Het dan ook niet aannemelijk dat dit verlies veroorzaakt wordt door versleping. Mogelijk is er op het mengvoederbedrijf tekort gedoseerd.

3.3 Vergelijking bedrijfseigen %-versleping versus gemeten %-versleping

Om de gemeten versleping van OTC te vergelijken met de de bedrijfseigen-%versleping (door de bedrijven zelf bepaald) moeten de OTC concentraties in mg/kg worden omgerekend naar %. Daartoe zijn twee rekenmodellen gehanteerd. Voor het eerste model wordt de concentratie aan OTC per meetpunt uitgedrukt in %, t.o.v. concentratie van het gemedicineerde voer. Vervolgens wordt een gewogen gemiddelde (% versleping) berekend per spoelcharge. Voor het tweede rekenmodel worden alle absolute hoeveelheden aan OTC in de gehele bemonsterde spoelcharge (in g) uitgedrukt in %, t.o.v. absolute hoeveelheid OTC (in g) van de gemedicineerde batch.

3.3.1 Versleping berekend op basis van OTC concentratie per monstername punt en OTC concentratie van gemedicineerde partij (rekenmodel 1)

Uitgaande van de gemeten concentratie aan OTC in de spoelcharge in mg/kg per monster per tijdstip kan de versleping worden berekend t.o.v. de gedoseerde concentratie in het gemedicineerde voeder (mg/kg). Bijvoorbeeld de gemeten concentratie aan OTC in spoelcharge op t=0 min voor Bedrijf A bedraagt 38.1 mg/kg. De gemedicineerde batch heeft een concentratie van 400 mg/kg OTC. Hier is dus sprake van een versleping van $(38.1/400) \times 100\% = 9.5\%$. De resultaten van deze berekening van de versleping staan vermeld in Annex II.

Uit de verslepingsresultaten vermeld in Annex II valt af te leiden dat de maximale versleping wordt gemeten in het tijdsinterval tussen 0 en 15 min en varieert van 3.7% voor bedrijf B tot 15.5% voor bedrijf D. Bij bedrijf B was de gemeten uitgangskoncentratie 397 i.p.v. 500. indien dit reëel is hiervan uitgaan

Na ca. 15 minuten is voor Bedrijf B de versleping gereduceerd tot onder het detectieniveau van de analysemethode (versleping < 1 mg/kg) voor de overige drie bedrijven blijft de versleping meetbaar en constant op het niveau van ca. 3-10 mg/kg (met soms een enkele uitschieter van 18,2 mg/kg en 12,1 mg/kg voor Bedrijf C).

De verslepingspercentages per tijdstip kunnen niet gemiddeld worden omdat de tijdsintervallen tussen twee bemonsteringen niet hetzelfde zijn gedurende de productie van de spoelcharge. M.a.w. aan het begin van de productie worden vaker monsters genomen dan aan het eind. Middelen van alle percentages zou een overschatting van het verslepingspercentage geven. In Annex II is per bemonsteringstraject de versleping weergegeven.

Bijvoorbeeld bij Bedrijf A is dit gemiddeld 3,8% voor de eerste 2500 kg van de spoelcharge en gemiddeld 1,35% voor de volgende 3500 kg van de spoelcharge. Voor de totale spoelcharge geldt dan een gemiddelde versleping van $((2500 \times 3,8) + (3500 \times 1,35)) / 6000 = 2,4\%$.

Deze percentages kunnen echter nog niet direct vergeleken worden met de bedrijfseigen- verslepingspercentages omdat chargegrootte ook een rol speelt.

Bij de bepaling van de bedrijfseigenverslepings% wordt normaliter met charges gewerkt die maximaal de inhoud van de menger hebben. De in deze studie geproduceerde spoelcharges zijn veel groter. Om een goede vergelijking mogelijk te maken is de daarom chargegrootte van de spoelcharge op maximaal de inhoud van de menger gesteld.

Bijvoorbeeld: Bij Bedrijf A zijn 3 charges (van 2000 kg) uit de menger in de persmeelcel tot 1 charge spoelvoeder van 6000 kg gecombineerd. Voor de berekening gebruiken we alleen de OTC data van de eerste 2000 kg van de spoelcharge. In deze 2000 kg zit gemiddeld 16,6 mg/kg OTC hetgeen een OTC versleppingspercentage van $16,6/400 \cdot 100 = 4,15\%$ geeft. In het gemedicineerde voeder is echter geen 400 mg/kg OTC aangetroffen, maar 244 mg/kg. Uitgaande van dit lagere gehalte zou het versleppingspercentage $16,6/244 \cdot 100 = 6,80\%$ bedragen.

In Tabel 6 staat aangegeven welke chargegroottes van de spoelcharge bij de berekening gebruikt zijn en gemiddelde OTC gehalten en OTC versleppingspercentages bij deze chargegrootte.

Tabel 6. De omvang (kg) van de spoelcharge welke gebruikt is bij de dataverwerking en de OTC gehalten/versleppingspercentages bij deze chargegrootte.

Mengvoederbedrijf	Gebruikte data bij spoelcharge		
	Chargegrootte (kg)	Gemiddeld OTC gehalte bij deze chargegrootte (mg/kg)	OTC versleppings% bij deze chargegrootte *
Bedrijf A	2000	16,6	4,15 (6,80)
Bedrijf B	4000	6,0	1,20 (1,50)
Bedrijf C	5000	9,1	2,25 (2,22)
Bedrijf D	4000	8,7	1,74 (1,75)

* Tussen haakjes de versleppingspercentages uitgaande van de daadwerkelijk gemeten OTC concentratie in het gemedicineerde voeder.

In Tabel 7 worden de berekende OTC versleppingspercentages vergeleken met de bedrijfseigen- versleppingspercentages.

Tabel 7. Gemiddelde gemeten versleping OTC volgens rekenmodel 1 versus bedrijfseigen versleping.

Mengvoederbedrijf	OTC versleping (%) *	Bedrijfseigen versleping *	Verschil (%)
Bedrijf A	4,15 (6,80)	5,7%	-3,3 (+1,1)
Bedrijf B	1,20 (1,50)	6,4%	-5,2 (-4,9)
Bedrijf C	2,25 (2,22)	3,4%	-1,15 (-1,18)
Bedrijf D	1,74 (1,75)	2,3%	-0,56 (-0,55)

* Bij bedrijven A, B en C is dit alleen de versleping van de perslijn, bij bedrijf D is dit de som van versleping van de maal-/menglijnen perslijn.

Zoals blijkt uit Tabel 7 is met deze berekeningswijze bij alle bedrijven het OTC versleppingspercentage lager dan het bedrijfseigen-versleppingspercentage. Wanneer gerekend wordt met het daadwerkelijk aanwezige OTC gehalte in het gemedicineerde voeder, dan wordt voor bedrijf A het OTC versleppingspercentage hoger dan het bedrijfseigen-versleppingspercentage.

3.3.2 Versleping berekend op basis van absolute gehalten aan OTC in spoelcharge en gemedicineerde partij (rekenmodel 2)

De berekening van de versleping is ook mogelijk door de hoeveelheid absoluut gemeten OTC in de spoelcharge te vergelijken met de absolute hoeveelheid toegevoegde OTC in het gemedicineerde voeder.

Berekening van de absolute hoeveelheid OTC in de spoelcharge

Per gedefinieerd tijdsinterval is de concentratie OTC genomen die is gemeten op een specifiek tijdstip. Bijvoorbeeld voor bedrijf A is voor de eerste 1.5 min met een concentratie van 38.1 mg/kg en voor de volgende 3 min met een concentratie van 19.4 mg/kg gerekend. In principe wordt op deze manier het oppervlakte onder de grafieken (zie figuren 1 t/m 4) berekend. Vervolgens is berekend hoeveel voeder er per min wordt verwerkt. Voor bedrijf A bijvoorbeeld wordt in 60 min 6000 kg van de spoelcharge verwerkt = $6000/60=100$ kg per min. De absolute hoeveelheid aan OTC in de spoelcharge (binnen de periode van monsternamen) is dus gelijk aan: Totale hoeveelheid OTC in mg = tijdsinterval (min) * concentratie OTC in monster binnen dit tijdsinterval (mg/kg) * hoeveelheid voeder per tijdseenheid (kg/min)

In Annex III staat voor alle bedrijven de berekening van de absolute hoeveelheid aan OTC in de spoelcharge vermeld.

Voor een juiste vergelijking met de bedrijfseigen-versleppingspercentages wordt (evenals bij rekenmodel 1) bij de berekening de chargegrootte van de spoelcharge op maximaal de inhoud van de menger gesteld. In Tabel 8 staat aangegeven welke chargegroottes van de spoelcharge bij de berekening gebruikt zijn en de absolute hoeveelheid (h.h.) OTC bij deze chargegrootte.

Tabel 8. De omvang (kg) van de spoelcharge welke gebruikt is bij de dataverwerking en de absolute OTC hoeveelheid in de spoelcharge bij deze chargegrootte.

Mengvoederbedrijf	Gebruikte data van de spoelcharge	
	Chargegrootte (kg)	Absolute OTC h.h. bij deze chargegrootte (g)
Bedrijf A	2000	31,55
Bedrijf B	4000	20,08
Bedrijf C	4800	40,35
Bedrijf D	4000	33,57

De totale hoeveelheid aangetroffen OTC in de spoelcharge (vermeld in bijlage 3) zijn:

Bedrijf A: 53,82 gram OTC.

Bedrijf B: 20,08 gram OTC.

Bedrijf C: 74,87 gram OTC.

Bedrijf D: 43,76 gram OTC.

Bij bedrijven A, C, D was de installatie nog niet schoon op het moment dat de volledige charge spoelvoeder geproduceerd was.

Berekening van de absolute hoeveelheid OTC in het gemedicineerde voeder

De absolute hoeveelheid aan OTC in het gemedicineerde voeder is afhankelijk van het volume van de partij en de gedoseerde concentratie. In Tabel 9 staan de resultaten weergegeven.

Tabel 9. De hoeveelheid (h.h.) OTC in de laatste batch gemedicineerd voeder.

Mengvoeder-bedrijf	OTC conc. (mg/kg) gemedicineerd voeder *	Gewicht partij gemedicineerd voeder (kg)	OTC h.h. in gemedicineerd voeder (kg)*
Bedrijf A	400 (244)	2000	0,8 (0,488)
Bedrijf B	500 (397)	4000	2,0 (1,588)
Bedrijf C	400 (409)	4800	1,92 (1,963)
Bedrijf D	500 (498)	4000	2,0 (1,992)

* Tussen haakjes de daadwerkelijk gemeten OTC concentratie en de hieruit berekende OTC h.h. in het gemedicineerde voeder.

Berekening versleppings%

De bij 3.2.2.1 bepaalde absolute h.h. OTC in de spoelcharge gedeeld door de bij 3.3.2.2 berekende absolute h.h. OTC in de gemedicineerd voeder geeft het versleppingspercentage. De resultaten staan vermeld in Tabel 10.

Tabel 10. Berekende versleppingspercentages volgens rekenmodel 2 versus bedrijfseigen versleping.

Mengvoeder-bedrijf	OTC h.h. in gemedicineerd voeder (kg)	Absoluut h.h. OTC spoelcharge (kg)	Versleppings% *		
			OTC	Bedrijfseigen	Verschil **
Bedrijf A	0,8	0,03155	3,9 (6,5)	5,7	-3,5 (+0,8)
Bedrijf B	2,0	0,0204	1,0 (1,3)	6,4	-5,4 (-5,1)
Bedrijf C	1,92	0,04035	2,1 (2,1)	3,4	-1,3 (-1,3)
Bedrijf D	2,0	0,03357	1,7 (1,7)	2,3	-0,6 (-0,6)

* Bij bedrijven A, B en C is dit alleen de versleping van de perslijn, bij bedrijf D is dit de som van versleping van de maal-/menglijnen perslijn.

** Tussen haakjes de versleppingspercentages uitgaande van de daadwerkelijk gemeten OTC concentratie in het gemedicineerde voeder.

3.3.3 Versleping berekend op basis van absolute gehalten aan OTC in spoelcharge en gemedicineerde partij (rekenmodel 3)

Rekenmodel 3 is identiek aan rekenmodel 2, met als enige verschil dat de chargegrootte van de spoelcharge niet op maximaal de inhoud van de menger gesteld wordt. Met andere woorden bij rekenmodel 3 wordt met alle in de spoelcharge aangetroffen OTC gerekend. De totale hoeveelheid aangetroffen OTC in de spoelcharges (vermeld in bijlage 3 en paragraaf 3.3.3.1) is:

Bedrijf A: 53,82 gram OTC.

Bedrijf B: 20,08 gram OTC.

Bedrijf C: 74,87 gram OTC.

Bedrijf D: 43,76 gram OTC.

Hierbij was bij bedrijven A, C, D de installatie nog niet schoon op het moment dat de volledige charge spoelvoeder geproduceerd was.

Deze absolute h.h. OTC in de spoelcharge gedeeld door de bij 3.3.2.2 berekende absolute h.h. OTC in de gemedicineerd voeder geeft het verslepiingspercentage. De resultaten staan vermeld in Tabel 11.

Tabel 11. Berekende verslepiingspercentages volgens rekenmodel 2 versus bedrijfseigen versleping.

Mengvoeder-bedrijf	OTC h.h. in gemedicineerd voeder (kg)	Absoluut h.h. OTC spoelcharge (kg)	Verslepiings% *		
			OTC	Bedrijfseigen	Verschil **
Bedrijf A	0,8	0,05382	6,7 (11,0)	5,7	+1,0 (+5,3)
Bedrijf B	2,0	0,0204	1,0 (1,3)	6,4	-5,4 (-5,1)
Bedrijf C	1,92	0,07487	3,9 (3,8)	3,4	+0,5 (+0,4)
Bedrijf D	2,0	0,04376	2,2 (2,2)	2,3	-0,1 (-0,1)

* Bij bedrijven A, B en C is dit alleen de versleping van de perslijn, bij bedrijf D is dit de som van versleping van de maal-/menglijnen perslijn.

** Tussen haakjes de verslepiingspercentages uitgaande van de daadwerkelijk gemeten OTC concentratie in het gemedicineerde voeder.

Uit de resultaten blijkt dat het verslepiingspercentage bij bedrijven A, C en D omhoog gaat bij deze berekeningswijze en goed overeenkomt met de bedrijfseigen-verslepiingspercentages.

3.3.4 Vergelijken van de berekeningsmethoden van OTC versleping met het bedrijfseigen-verslepiingspercentage

In onderstaande tabel zijn de resultaten van de verschillende rekenmodellen samengevat.

Tabel 12. Gemeten versleping versus bedrijfseigen versleping.

Mengvoeder-bedrijf	Verslepiings% *			
	Rekenmodel 1 op basis van OTC concentraties in spoelcharge ter grootte van de menger **	Rekenmodel 2 op basis van absolute h.h. OTC in spoelcharge ter grootte van de menger **	Rekenmodel 3 op basis van absolute h.h. OTC in totale spoelcharge **	Bedrijfseigen versleping
Bedrijf A	4,2 (6,8)	3,9 (6,5)	6,7 (11,0)	5,7
Bedrijf B	1,2 (1,5)	1,0 (1,3)	1,0 (1,3)	6,4
Bedrijf C	2,2 (2,2)	2,1 (2,1)	3,9 (3,8)	3,4
Bedrijf D	1,7 (1,7)	1,7 (1,7)	2,2 (2,2)	2,3

* Bij bedrijven A, B en C is dit alleen de versleping van de perslijn, bij bedrijf D is dit de som van versleping van de maal-/menglijnen perslijn.

** Tussen haakjes de verslepiingspercentages uitgaande van de daadwerkelijk gemeten OTC concentratie in het gemedicineerde voeder.

Uit Tabel 12 blijkt dat er tussen rekenmodel 1 en 2 slechts marginale verschillen optreden. Bij beide methode is de berekeningswijze zo optimaal mogelijk afgestemd op de berekeningswijze van de bedrijfseigen-verslepiingspercentages. Omdat bijvoorbeeld bij de bepaling van de bedrijfseigenverslepiings% normaliter gewerkt wordt met charges die maximaal de inhoud van de menger hebben, is dit bij beide methoden ook gedaan.

Rekenmodel 3 worden alle OTC moleculen die in de fabriek achterblijven na de productie van een gemedicineerd voeder meegenomen in de berekening. Dit wordt bij de berekening van het bedrijfseigen-verslepiingspercentages in de praktijk niet gedaan. Uit Tabel 12 blijkt dat de resultaten van rekenmodel 3 echter het beste overeenkomen met de bedrijfseigen-verslepiingspercentages. Een verklaring hiervoor kan zijn dat OTC zich anders gedraagt dan de tracerstoffen die gebruikt worden bij verslepiingsexperimenten, en het bijvoorbeeld meer hecht aan wanden van de installatie en het hierdoor langer duurt voordat de installatie "schoon" is.

Met geen enkel rekenmodel komt de OTC versleping bij bedrijf B in de buurt van het bedrijfs-eigen-verslepiingspercentage. Mogelijk wordt bij dit bedrijf het bedrijfseigen-verslepiingspercentages op een afwijkende manier uitgevoerd, bijvoorbeeld door kleinere charges te gebruiken voor dit onderzoek.

Indien gerekend wordt met het de werkelijk gemeten OTC concentratie in het gemedicineerd voeder en niet met het gedoseerde gehalte, dan zou bij bedrijf A de gemeten OTC versleping hoger zijn dan de bedrijfseigen-versleping. Bij de andere bedrijven maakt dit weinig uit.

3.4 Homogeniteit spoelcharges

Wanneer de spoelcharges worden getest op homogeniteit met behulp van een homogeniteitstest volgens Ovocom (zie Ovocom document GMP BT-08 Deel B partitie B Homogeniteit en versleping [5]) blijken alle Variatiecoëfficiënten (VC's) van de spoelcharges $\geq 12\%$ te bedragen. Bij een $VC \geq 12\%$ is de batch niet-homogeen (volgens dit document). Voor bedrijf B zijn veel metingen < 1 mg/kg. Voor de berekening van de homogeniteit is voor deze monsters gerekend met 0.5 mg/kg.

Tabel 13. Homogeniteitstoets voor spoelcharges.

Mengvoederbedrijf	Aantal metingen aan ondermonsters	Gemiddelde	RSD	VC%	Conclusie*
Bedrijf A	38	10.7	8.2	77	Niet homogeen
Bedrijf B	40	3.5	5.2	>100	Niet homogeen
Bedrijf C	40	7.9	5.8	73	Niet homogeen
Bedrijf D	36	10.0	19	>100	Niet homogeen

* Volgens Ovocom document $VC \geq 12\%$; batch niet-homogeen [5].

4 Conclusies en aanbevelingen

In dit onderzoek is bij 4 mengvoederfabrikanten de eerste spoelcharge - door de mengvoederfabrikant geproduceerd - na een gemedicineerd voeder met oxytetracycline (OTC), onderzocht op versleping van OTC. Bij 3 bedrijven (A t/m C) betrof dit een spoelcharge van alleen de perslijn. En bij één bedrijf (D) betrof dit een spoelcharge van zowel de maal-/meng- als perslijn.

De volgende conclusies kunnen op basis van de resultaten getrokken worden:

- De OTC gehalten in het bemonsterde deel van de spoelcharge varieerden aanzienlijk binnen en tussen de vier bezochte bedrijven:
 - o Bedrijf A: 3,0 - 38,0 mg/kg (gem. 9.0 mg/kg)
 - o Bedrijf B: <0,2 -18,6 mg/kg (gem. 1.7 mg/kg)
 - o Bedrijf C: 3,5 - 27,6 mg/kg (gem. 7.5 mg/kg)
 - o Bedrijf D: 3,1 - 77,6 mg/kg (gem. 7.3 mg/kg)
- In dit onderzoek zijn van de 77 monsters er 25 (=32%) met een concentratie aan OTC boven de door EL& I afgekondigde handhavingsgrens van 7,5 mg/kg OTC.
- Elk spoelcharge vertoont een specifiek verloop van de concentratie aan OTC. Deze lijkt met name afhankelijk van de mengvoederinstallatie en in mindere mate van de gebruikte premix. Bij alle bedrijven was het OTC gehalte in de "kop" van de spoelcharge (= eerste minuten van de produktie) het hoogst. Bij twee bedrijven (bedrijven C en D) zakte het OTC gehalte nadat er $\pm$ 800 kg spoelcharge geproduceerd was onder de 7,5 mg/kg. Bij de twee overige bedrijven (bedrijven A en B) gebeurde dit pas nadat er $\pm$ 2500 kg spoelcharge was geproduceerd. Bij bedrijven A, C als D kwamen in het vervolg van de productie nog wel incidenteel ondermonsters met OTC gehalten hoger dan 7,5 mg/kg voor.
- Alle 4 onderzochte "spoel" charges worden met de "Ovocom GMP homogeniteitstoets voor versleping" als niet-homogeen (voor OTC) gekwalificeerd (VC > 12%).
- Uit de resultaten blijkt dat een vergelijking van de gemeten OTC versleping met de bedrijfseigen% versleping (bepaald met microtracer of Mangaan-eiwit) moeilijk is omdat verschillende rekenmodellen verschillende resultaten opleveren.

Aanbevelingen:

- Uit dit onderzoek blijkt dat het OTC gehalte in de spoelcharges inhomogeen verdeeld was. Het wordt daarom aanbevolen om bij de bemonstering van een spoelcharge rekening te houden met de inhomogeniteit van de analyt in de spoelcharge. Het in 152/2009/EC beschreven monsternamen protocol voor "stoffen die niet gelijkmatig in het diervoeder verdeeld zijn" lijkt hier de aangewezen procedure voor.

Literatuurlijst

1. RIKILT Rapport 2010.005 Omvang en implicaties van antibiotica-versleping inmengvoeders voor varkens. T. Zuidema, F.L. van Holthoon, H.J. van Egmond, J. Hooglugt, P. Bikker, H. Aarts, E. Olde Heuvel. Juli 2010.
2. H.J. van der Fels-Klerx, L.F. Puister-Jansen, E.D. van Asselt and S.L.G.E. Burgers. Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. J. Animal Sci.; 89 (2011) 1922-1929.
3. Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling en Onderzoeksprogrammering aan de minister van EL&I en de minister van VWS; advies voer resistentietoename door subtherapeutische concentraties antibiotica als gevolg van versleping; nVWA/BuRo/2010/22988; Den Haag, 18 november 2010.
4. RIKILT Standard Operation Procedure A0929; Titel: Diervoeders; Het bepalen en bevestigen van tetracyclinen met LC-MS/MS.
5. GMP BT-08 Deel B Partitie B; Homogeniteit en versleping (datum 3-07-2008).
6. Jef Verhaeren; Voorkomen versleping obsessie; in tijdschrift 'De Molenaar' nr. 6 van 14 maart 2008, pagina 9-13.
7. S. Borràs, R. Companyó, M. Granados, J. guiteras, a.M. Pérez-Vendrell, J. Brufau, M. Medina and J. Bosch. Analysis of antimicrobial agents in animal feed. Trends in Analytical Chemistry; 30 (2011) 1042-1064.
8. Reactie van staatsecretaris H. Bleker op de voorstellen van de taskforce Antibioticumresistentie Dierhouderij; Ministerie van EL&I Directie Voedsel, Dier en Consument; VDC 10.3126 van 8 Den Haag, december 2010.

Annex I

Monster informatie formulier

Naam mengvoederbedrijf	
Adres	
Plaats	
Gesproken met	
Telefoonnr	
Datum	
Gegevens gemedicineerde voeder	
VWA monsternummer	66
Naam voeder + code nummer	
Gewicht totale partij	
Aantal charges	
Gewicht per charge	
Hoeveelheid oxytetracycline per 1000 kg voer	mg/kg
Attestnummer	
Diergeneesmiddel	Naam RegNL
Maalmenglijn nummer	
Chargenr maalmenglijn.	
Perslijn nr.	
Tijd begin monsterneming	
Tijd eind monsterneming	
Gesproken met	
Telefoonnr	
Datum	
Gegevens spoelvoeder	

VWA monsternummer	66
Perslijn nummer	
Naam voeder + code	
Gewicht totale partij.	
Gewicht bemonsterde partij	
Spoelvoeder van	☐ maalmenglijn + perslijn ☐ alleen perslijn
Perslijnnr	
Versleavingspercentage maalmenglijn + rapport (liefst digitaal)	Mangaan % Eiwit % Micro tracers % ☐ niet van toepassing.
Datum versleavingsonderzoek	
Versleavingspercentage perslijn	Mangaan % Eiwit % Micro tracers %
Datum versleavingsonderzoek.	
Tijd begin monstername	uur
Tijd eind monstername	uur
Totaal aantal monsters	
Perscapaciteit per uur	
Aantal kg per lossing van de koeler	

Annex II

Analyse resultaten

Bedrijf A

Monster nr.	Tijdstip (min)	Globale productie h.h. (kg)	OTC gehalte (mg/kg)			Versleppings % *	Gemiddeld versleppings% per tijdsinterval
			Gemeten	Gemiddelde	Gemiddeld per tijdsinterval		
1	0		38,3	38,1	15,1 mg/kg OTC in 2500 kg voer	9,5	3,8% in 2500 kg voer
			37,9				
2	3	300	19,2	19,4		4,9	
			19,6				
3	6	600	11,9	13,7		3,4	
			15,4				
4	9	900	14,3	15,2		3,8	
			16,0				
5	11	1100	14,9	14,7		3,7	
			14,5				
6	13	1300	13,6	13,1		3,3	
			12,6				
7	16	1600	11,0	11,3		2,8	
			11,6				
8	19	1900	10,4	10,0		2,5	
			9,5				
9	22	2200	9,0	8,5	5,4 mg/kg OTC in 3500 kg voer	2,1	1,35% in 3500 kg voer
			8,0				
10	25	2500	7,6	7,3		1,8	
			6,9				
11	30	3000	6,1	6,1		1,5	
			6,1				
12	36	3600	5,0	4,7		1,2	
			4,4				
13	42	4200	4,1	4,0		1,0	
			3,8				
14	49	4900	3,4	3,3		0,8	
			3,1				
15	51	5100	3,0	3,0		0,8	
			3,0				
16	53	5300	3,9	3,5		0,9	
			3,2				
17	55	5500	5,3	5,6		1,4	
			5,9				
18	57	5700	8,9	8,8		2,2	
			8,7				
19	59	6000	9,8	9,6		2,4	
			9,4				

* Uitgaande van het gedoseerde gehalte van 400 mg/kg OTC.

Bedrijf B

Monster nr.	Tijdstip (min)	Globale produktie h.h. (kg)	OTC gehalte (mg/kg)			Verslepiings % *	Gemiddeld verslepiings% per tijdsinterval*
			Gemeten	Gemiddeld	Gemiddeld per tijdsinterval		
1	0	400	16,6	18,56	6,0 mg/kg OTC in ± 4000 kg voer	3,7	1,2% in ± 4000 kg voer
			20,5				
2	2	800	10,5	9,4		1,9	
			8,4				
3	4	1200	8,3	8,1		1,6	
			7,9				
4	6	1600	12,4	11,4		2,3	
			10,4				
5	8	2000	9,3	9,5		1,9	
			9,7				
6	10	2400	2,9	2,5		0,5	
			2,1				
7	12	2800	<1	<1		- (<0.2)	
			<1				
8	14	3200	<1	<1		- (<0.2)	
			<1				
9	16	3600	<1	<1		- (<0.2)	
			<1				
10	18	4000	<1	<1		- (<0.2)	
			<1				
11	22	4800	<1				
			<1				
12	26	5600	<1				
			<1				
13	30	6400	<1				
			<1				
14	34	7200	<1				
			<1				
15	38	8000	<1				
			<1				
16	42	8800	<1				
			<1				
17	46	9600	<1				
			<1				
18	50	10400	<1				
			<1				
19	54	11200	<1				
			<1				
20	58	12000	<1				
			<1				

* Uitgaande van het gedoseerde gehalte van 500 mg/kg OTC.

Bedrijf C

Monster nr.	Tijdstip (min)	Globale produktie h.h. (kg)	OTC gehalte (mg/kg)			Versleping % *	Gemiddeld versleping % per tijdsinterval*
			Gemeten	Gemiddeld	Gemiddeld per tijdsinterval		
1	0	100	27,90	27,6	8,0 mg/kg OTC in ± 3000 kg voer	6,9	2,0% in ± 3000 kg voer
			27,27				
2	2	400	11,38	12,1		3,0	
			12,86				
3	4	700	6,34	7,5		1,9	
			8,74				
4	6	1000	5,94	5,1		1,3	
			4,23				
5	8	1300	6,83	6,2		1,6	
			5,63				
6	10	1600	4,67	5,3		1,3	
			5,85				
7	12	1900	4,40	4,3		1,1	
			4,16				
8	14	2200	4,23	4,2		1,1	
			4,23				
9	16	2500	4,15	4,6		1,2	
			5,11				
10	18	2800	3,57	3,5		0,9	
			3,37				
11	23	3550	5,70	6,2	7,7 mg/kg OTC in ± 7000 kg voer	1,6	1,9% in ± 7000 kg voer
			6,67				
12	28	4300	17,35	18,2		4,6	
			19,14				
13	33	5050	6,16	6,5		1,6	
			6,80				
14	36	5500	4,47	5,7		1,4	
			6,97				
15	41	6250	6,22	6,0		1,5	
			5,80				
16	46	7000	11,58	12,1		3,0	
			12,58				
17	51	7750	6,79	5,8		1,5	
			4,75				
18	56	8500	5,17	5,3		1,3	
			5,34				
19	61	9250	5,68	5,5		1,4	
			5,37				
20	66	10000	6,49	5,9		1,5	
			5,38				

* Uitgaande van het gedoseerde gehalte van 400 mg/kg OTC.

Bedrijf D

Monster nr.	Tijdstip (min)	Globale produktie h.h. (kg)	OTC gehalte (mg/kg)			Versleppings % *	Versleppings % *
			Gemeten	Gemiddeld	Gemiddeld per tijdsinterval		
1	0	80	15,1	14,9	13,9 mg/kg OTC in ± 3000 kg voer	3,0	2,8% in ± 3000 kg voer
			14,7				
2	1	265	9,1	8,5		1,7	
			8,0				
3	2	450	11,0	11,4		2,3	
			11,7				
4	3	635	78,7	77,6		15,5	
			76,5				
5	4	820	3,1	3,3		0,7	
			3,5				
6	6	1190	3,8	4,0		0,8	
			4,2				
7	8	1560	3,7	3,4		0,7	
			3,1				
8	10	1930	5,1	5,3		1,1	
			5,5				
9	12	2300	4,1	4,1		0,8	
			4,1				
10	14	2670	6,9	6,4		1,3	
			6,0				
11	16	3040	5,4	5,6	5,1 mg/kg in ± 3000 kg voer	1,1	1,0% in ± 3000 kg voer
			5,8				
12	19	3595	3,0	3,1		0,6	
			3,2				
13	22	4150	4,0	3,9		0,8	
			3,7				
14	25	4705	3,3	3,4		0,7	
			3,5				
15	27	5075	5,9	6,1		1,2	
			6,3				
16	29	5445	3,6	3,9		0,8	
			4,3				
17	31	5815	7,7	7,7		1,5	
			7,6				
18	32	6000	7,7	7,4		1,5	
			7,1				

* Uitgaande van het gedoseerde gehalte van 500 mg/kg OTC.

Annex III

Berekening absolute hoeveelheid OTC in (bemonsterde) spoelcharge

Bedrijf A							
Monster nr.	Tijdstip monster-name (min)	Tijds-interval (min)	OTC conc. binnen tijdsinterval (mg/kg)	OTC h,h, per tijdsinterval (mg)*	Productie-tijd cumulatief (min)	Productie-volume cumulatief (kg)	OTC h.h. cumulatief (g)
1	0	1.50	38,1	5712,2	1.5	150	5,71
2	3	3.00	19,4	5824,1	4.5	450	11,54
3	6	3.00	13,7	4107,0	7.5	750	15,64
4	9	2.50	15,2	3789,9	10.0	1000	19,43
5	11	2.00	14,7	2948,2	12.0	1200	22,38
6	13	2.50	13,1	3283,1	14.5	1450	25,66
7	16	3.00	11,3	3393,7	17.5	1750	29,06
8	19	3.00	10,0	2986,6	20.5	2050	32,04
9	22	3.00	8,5	2551,4	23.5	2350	34,60
10	25	4.00	7,3	2902,7	27.5	2750	37,50
11	30	5.50	6,1	3352,5	33	3300	40,85
12	36	6.00	4,7	2810,3	39	3900	43,66
13	42	6.50	4,0	2579,0	45.5	4550	46,24
14	49	4.50	3,3	1463,0	50	5000	47,70
15	51	2.00	3,0	603,0	52	5200	48,31
16	53	2.00	3,5	706,8	54	5400	49,01
17	55	2.00	5,6	1125,3	56	5600	50,14
18	57	2.00	8,8	1762,3	58	5800	51,90
19	59	2.00	9,6	1919,2	60	6000	53,82

* absoluut gehalte aan OTC in spoelcharge in mg per berekend door ($t \cdot c \cdot (\text{kg voer/min})$) waarin t = tijdsinterval in min.

c = concentratie OTC in mg/kg per tijdsinterval.

kg voer/min = totaal bemonsterde hoeveelheid spoelcharge gedeeld door aantal minuten monstername (bedrijf A=6000 kg/60 min=100 kg/min).

Bedrijf B							
Monster nr.	Tijdstip monster-name (min)	Tijds-interval (min)	OTC conc. binnen tijdsinterval (mg/kg)	OTC h,h, per tijdsinterval (mg)*	Produktie-tijd cumulatief (min)	Produktie-volume cumulatief (kg)	OTC h.h. cumulatief (g)
1	0	1.0	18.5	3707.9	1.0	200	3.71
2	2	2.0	9.4	3780.0	3.0	600	7.49
3	4	2.0	8.1	3242.4	5.0	1000	10.73
4	6	2.0	11.4	4547.3	7.0	1400	15.28
5	8	2.0	9.5	3804.7	9.0	1800	19.08
6	10	2.0	2.5	1000.3	11.0	2200	20.08
7	12	2.0	0.5*	200.0	13.0	2600	20.08
8	14	2.0	-		15.0	3000	20.08
9	16	2.0	-		17.0	3400	20.08
10	18	3.0	-		20.0	4000	20.08
11	22	4.0					
12	26	4.0					
13	30	4.0					
14	34	4.0					
15	38	4.0					
16	42	4.0					
17	46	4.0					
18	50	4.0					
19	54	4.0					
20	58	4.0					

* op dit tijdstip is bij <1 mg/kg gerekend met 0.5 mg/kg.

** absoluut gehalte aan OTC in spoelcharge in mg berekend door ($t \cdot c \cdot (kg \text{ voer/min})$) waarin

t = tijdsinterval in min.

c = concentratie OTC in mg/kg per tijdsinterval.

$kg \text{ voer/min}$ = totaal bemonsterde hoeveelheid spoelcharge gedeeld door aantal minuten monsternamen (bedrijf B=12000 kg/60 min=200 kg/min).

Bedrijf C							
Monster nr.	Tijdstip monster-name (min)	Tijds-interval (min)	OTC conc. binnen tijdsinterval (mg/kg)	OTC h,h, per tijdsinterval (mg)*	Produktie-tijd cumulatief (min)	Produktie-volume cumulatief (kg)	OTC h.h. cumulatief (g)
1	0	1.0	27.6	4054.60	1.0	147	4.05
2	2	2.0	12.1	3563.66	3.0	441	7.62
3	4	2.0	7.5	2216.17	5.0	735	9.83
4	6	2.0	5.1	1495.06	7.0	1029	11.33
5	8	2.0	6.2	1831.75	9.0	1324	13.16
6	10	2.0	5.3	1546.96	11.0	1618	14.71
7	12	2.0	4.3	1257.48	13.0	1912	15.97
8	14	2.0	4.2	1243.00	15.0	2206	17.21
9	16	2.0	4.6	1362.16	17.0	2500	18.57
10	18	3.5	3.5	1785.13	20.5	3015	20.36
11	23	5.0	6.2	4543.78	25.5	3750	24.90
12	28	5.0	18.2	13409.84	30.5	4485	38.31
13	33	4.0	6.5	3811.09	34.5	5074	42.12
14	36	4.0	5.7	3362.21	38.5	5662	45.48
15	41	5.0	6.0	4415.65	43.5	6397	49.90
16	46	5.0	12.1	8879.84	48.5	7132	58.78
17	51	5.0	5.8	4242.84	53.5	7868	63.02
18	56	5.0	5.3	3860.67	58.5	8603	66.88
19	61	5.0	5.5	4062.65	63.5	9338	70.94
20	66	4.5	5.9	3923.46	68.0	10000	74.87

*absoluut gehalte aan OTC in spoelcharge in mg berekend door ($t \cdot c \cdot (\text{kg voer/min})$) waarin t = tijdsinterval in min.

c = concentratie OTC in mg/kg per tijdsinterval.

kg voer/min = totaal bemonsterde hoeveelheid spoelcharge gedeeld door aantal minuten monsternamen (bedrijf C=10000 kg/68 min=147 kg/min).

Bedrijf D							
Monster nr.	Tijdstip monster-name (min)	Tijds-interval (min)	OTC conc. binnen tijdsinterval (mg/kg)	OTC h,h, per tijdsinterval (mg)*	Produktie-tijd cumulatief (min)	Produktie-volume cumulatief (kg)	OTC h.h. cumulatief (g)
1	0	0.5	14.9	1311.3	0.5	88	1.31
2	1	1.0	8.5	1499.7	1.5	265	2.81
3	2	1.0	11.4	1999.8	2.5	441	4.81
4	3	1.0	77.6	13660.4	3.5	618	18.47
5	4	1.5	3.3	873.7	5.0	882	19.34
6	6	2.0	4.0	1420.0	7.0	1235	20.76
7	8	2.0	3.4	1186.1	9.0	1588	21.95
8	10	2.0	5.3	1862.0	11.0	1941	23.81
9	12	2.0	4.1	1452.7	13.0	2294	25.27
10	14	2.5	6.4	2835.0	15.5	2735	28.10
11	17	3.0	5.6	2962.9	18.5	3265	31.06
12	20	3.0	3.1	1631.6	21.5	3794	32.70
13	23	3.0	3.9	2056.1	24.5	4324	34.75
14	26	2.5	3.4	1492.6	27.0	4765	36.24
15	28	2.0	6.1	2151.1	29.0	5118	38.39
16	30	2.0	3.9	1388.6	31.0	5471	39.78
17	32	1.5	7.7	2022.4	32.5	5735	41.81
18	33	1.5	7.4	1952.0	34.0	6000	43.76

absoluut gehalte aan OTC in spoelcharge in mg berekend door ($t \cdot c \cdot (\text{kg voer/min})$) waarin
 t = tijdsinterval in min.

c = concentratie OTC in mg/kg per tijdsinterval.

kg voer/min = totaal bemonsterde hoeveelheid spoelcharge gedeeld door aantal minuten monsternamen
 (bedrijf D = $6000 \text{ kg} / 34 \text{ min} = 176 \text{ kg/min}$).

RIKILT Wageningen UR is onderdeel van de internationale kennisorganisatie Wageningen University & Research centre. RIKILT doet onafhankelijk onderzoek naar de veiligheid en kwaliteit van voedsel. Het instituut is gespecialiseerd in de detectie, identificatie, functionaliteit en (mogelijk schadelijke) effectiviteit van stoffen in voedingsmiddelen en diervoeders.

RIKILT adviseert nationale en internationale overheden bij het vaststellen van normen en analyse-methoden. Ook tijdens incidenten en voedselcrises staat RIKILT 24 uur per dag en zeven dagen in de week paraat.

Het Wageningse onderzoeksinstituut is het nationaal referentielaboratorium (NRL) voor melk, genetisch gemodificeerde organismen en vrijwel alle chemische stoffen, en het Europees referentielaboratorium (EU-RL) voor stoffen met hormonale werking.

RIKILT maakt deel uit van verschillende nationale en internationale expertisecentra en netwerken. Het grootste deel van onze opdrachten voeren wij uit voor het ministerie van Economische Zaken, Landbouw & Innovatie en de nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit. Andere opdrachtgevers zijn de Europese Unie, de European Food Safety Authority (EFSA), buitenlandse overheden, maatschappelijke organisaties en bedrijven.

Meer informatie: www.wageningenUR.nl/rikilt

