

Project 505.0610

Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van antibiotica op microbiologische wijze (Projectleider N.J.G. Broex)

Rapport 88.70

Uitscheiding van antibioticaresiduen in melk na behandeling met mastitispreparaten.

N. J. G. Broex

Mw. ir. B. A. Slaghuis (CMMB)

Medewerkers: G.J.M. Loeffen en J.T. Nuninga (CMMB)

Goedgekeurd; drs. J.M.P. den Hartog

Onderzoek uitgevoerd in samenwerking met het Consulentenschap voor Melkwinning, Melkhygiene en Boerenkaasbereiding.

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Verzendlijst

INTERN

directeur

sectorhoofden

Produktcoördinator dierlijke produkten.

drs. M.M.L. Aerts

ir. H. Stegeman

projectbeheer

bibliotheek

EXTERN

Directie Landbouwkundigonderzoek

directie VZ

directie VKA

Centraal Orgaan voor Melkhygiene

Commissie van Advies van het Centraal Orgaan voor Melkhygiene

Melkcontrolestation Noord

Melkcontrolestation Oost

Melkcontrolestation Zuid

Melkcontrolestation West

Regionaal Orgaan voor Melkhygiene Noord

Regionaal Orgaan voor Melkhygiene Oost

Regionaal Orgaan voor Melkhygiene Zuid

Regionaal Orgaan voor Melkhygiene West

dr. J.F.M. Nouws (RVV 6)

INHOUD

SAMENVATTING

- 1 INLEIDING
- 2 MATERIALEN
- 3 METHODEN
- 4 RESULTATEN EN DISCUSSIE
- 5 CONCLUSIES
- 6 REFERENTIES
- 7 GRAFIEKEN

()

()

SAMENVATTING

Acht lacterende gezonde koeien werden, in koppels van twee, éénmaal intramammair behandeld met een mastitispreparaat in twee kwartieren. Na het toedienen van de preparaten werden de koeien tweemaal per dag op de normale tijden gemolken. Per kwartier werd de produktie gemeten en de melk bemonsterd.

De monsters melk werden onderzocht op het aantal cellen per ml en het voorkomen van bacteriegroeiremmende stoffen. Als onderzoeksmethoden werden toegepast de methoden die bij de kwaliteitscontrole van boerderijmelk worden gebruikt.

Bij een positieve antibiotica test werd de remmende werking nader onderzocht met behulp van de zg. plaatmethode zodat enige semi-kwantitatieve informatie werd verkregen over de met penicilline overeenkomende groeiremming.

De gebruikte mastitisinjectoren waren;

Lincomycineforte, Mastijet fort, Erykana en Mammivert.

Voor de injectoren Lincomycine, Erykana en Mammivert was na de aangegeven wachttermijn geen bacteriegroeiremming meer aantoonbaar in een concentratie $> 0,007$ IE/ml. Bij de injector Mastijet fort werd echter na 6 melkmalen, de officieel geadviseerde wachttermijn, nog bacteriegroeiremming aangetoond in een concentratie $> 0,007$ IE/ml, de officiële EEG-norm voor de kwaliteitscontrole van boerderijmelk per 1-1-'89.

()

()

1 INLEIDING

Aangezien bij de kwaliteitcontrole van boerderijmelk op bacteriegroei-remmende stoffen wat betreft de methoden vooral gericht is op residuen van penicilline en sulfapreparaten is het zinvol om onderzoek te doen naar het uitscheidingspatroon van injectoren zonder penicilline of sulfonamiden.

Het doel van dit onderzoek is enerzijds om de geadviseerde wachttermijn te controleren en anderzijds na te gaan bij welke concentraties deze stoffen bij de huidige kwaliteitscontrole gescreend worden.

Onderzocht zijn injectoren met lincomycine, neomycine, tetracycline, erythromycine, kanamycine, colistine en spiramycine.

2 MATERIALEN

2.1. Mastitisinjectoren

2.1.1. Lincomycine Forte

Bevat lincomycine hydrochloride 200 mg, Neomycine als sulfaat 200 mg, Methylprednisolon 5 mg en Chloorbutanol Polysorbaat 80.

Lotnummer 87J08/TJ023

Vervaldatum 04/89

UpJohn, Nederland

EDE

Opgegeven wachttermijn: 60 uur (5 melkmalen) voor melk van behandelde dieren.

2.1.2. Mastijet Fort

Bevat 200 mg Tetracycline HCl, 250 mg Neomycine base als sulfaat, 2000 IE Bacitracine en 10 mg Prednisolon

Serienummer 370016

Vervaldatum 04-1989

Intervet, Nederland B.V.

Boxmeer

Opgegeven wachttermijn: 3 dagen (6 melkmalen) voor melk van behandelde kwartieren en 1 melkmaal voor melk van onbehandelde kwartieren.

2.1.3. Erykana

Bevat 800 mg Erythromycine thiocynaat, 50 mg Kanamycine sulfaat, 10 mg Prednisolon

Lot R 7073

Vervaldatum 0289

Algin B.V.

Maassluis

Opgegeven wachttermijn; 3 dagen (6 melkmalen) voor melk van behandelde dieren.

2.1.4. Mammivert

Bevat 500.000 IE Colistinesulfaat, 250 IE spiramycine en 5 mg deltahydrocortison.

Rhone-Mérieux

Amstelveen

Opgegeven wachttermijn: 6 dagen (12 melkmalen) voor melk van behandelde dieren.

2.2. Proefdieren

Als proefdieren werden 8 lacterende gezonde koeien van de proefaccommodatie "De Ossekampen" in Wageningen gebruikt. De dieren waren zoveel mogelijk van gelijke leeftijd en ongeveer 200 dagen in lactatie. De dieren zijn paars gewijs ingedeeld naar produktie, d.w.z. een dier met een vrij hoge en een dier met een vrij lage produktie per dag.

Per preparaat werden 2 koeien in het linker voorkwartier en rechter achterkwartier behandeld.

2.3. Monsters

Op normale tijdstippen werden de dieren gemolken met de zg. vierkwartierenmachine avond- en morgenmelk per kwartier bemonsterd.

Na bepalen van de produktie per kwartier werd een monster genomen van de melk per kwartier.

Koe nr.	Preparaat	Behandeld kwartier	
265	Lincomycineforte	links voor (lv) en rechts achter(ra)	
2369	"	lv	ra
268	Mastijet fort	lv	ra
2373	"	lv	ra
354	Erykana	lv	ra
330	"	lv	ra
205	Mammivert	lv	ra
364	"	lv	ra

3 METHODEN.

3.1. De proefdieren werden onmiddellijk na het melken behandeld met een van de genoemde injectoren geheel volgens de instructies als aangegeven op de bijsluiter cq. verpakking.

3.2. Melkhoeveelheid.

De dieren werden op gebruikelijke tijden gemolken en de hoeveelheid melk per kwartier werd gemeten met behulp van de vierkwartierenmachine, waarop vier buizen met maatverdeling aanwezig was. Door aflezen van de hoeveelheid melk na het melken kon de produktie per kwartier tot op 100 ml nauwkeurig bepaald worden.

3.3. Bacteriegroeiremmende stoffen.

De aanwezigheid van bacteriegroeiremmende stoffen werd bepaald volgens de methode zoals die door de melkcontrolestations wordt toegepast.

(6.1.)

3.4. Celgetal

Van de monsters is het celgetal bepaald volgens de methode in de instructie bundel van het Centraal Orgaan voor Melkhygiene (6.2.)

4 RESULTATEN

4.1. Hoeveelheid melk.

Behandeling van de dieren met mastitispreparaten heeft geen daling in de melkproduktie tot gevolg gehad. Bij zieke dieren is er normaal gesproken al een produktiedaling opgetreden voordat de dieren behandeld worden. Produktiedaling was in deze proef dan ook niet te verwachten.

4.2. Voorkomen van remmende stoffen

De concentraties zijn, uitgedrukt overeenkomend met IE penicilline per ml, uitgezet in grafieken ten opzichte van het aantal melkmalen. Tevens is aangegeven de EEG norm van 0,007 IE/ml. (nu nog 0,01 IE/ml)

4.2.1. Lincomycine Forte

Grafiek 1 en 2

Het blijkt dat bij beide dieren de remmende werking in de melk van de behandelde kwartieren na 5 melkmalen beneden het niveau van 0,007 IE/ml penicilline ligt.

In de melk van onbehandelde kwartieren van het dier met de laagste produktie werd 2 melkmalen na behandeling een groeiremming gevonden die kleiner was dan met de zg. plaatmethode aangetoond kon worden.

4.2.2. Mastijet Fort

Grafiek 3 en 4

Aantoonbare remmende werking in kwartiermelk van behandelde kwartieren werd bij een dier aangetoond tot 10 melkmalen na toedienen. Bij het andere dier werd tot 8 melkmalen na het toedienen bacteriegroeiremmende werking $> 0,007$ IE aangetoond. Deze resultaten komen niet overeen met door de fabrikant opgegeven wachttermijn (zie 2.1.2).

Af en toe werd een kleine groeiremming (buismethode positief, plaatmethode negatief) aangetoond in onbehandelde kwartieren.

4.2.3. Erykana

Grafiek 13 en 14

Aantoonbare concentraties groter dan 0,007 IE/ml tot 3 a 4 melkmalen na toedienen. De geadviseerde wachttermijn is drie dagen.

In melk van onbehandelde kwartieren van het dier met de hoogste produktie werd een kleine bacteriegroeiremming aangetoond. (buismethode positief).

4.2.4. Mammivert

Grafiek 15 en 16.

Nauwelijks waarneembare bacteriegroeiremmende werking. De aantoonbaarheidsgrenzen voor Colistine-sulfaat en spiramycine liggen erg hoog (zie 4.3.)

In de melk van onbehandelde kwartieren werd geen bacteriegroeiremming aangetoond.

4.3. Aantoonbaarheidsgrens.

Aantoonbaarheidsgrens van de verschillende preparaten met behulp van de agardiffusie methode.

Concentratie die een bacteriegroeiremmende werking heeft op *B. calidolactis* overeenkomend met 0,007 IE penicilline.

Stof	Concentratie	
	µg/ml	IE/ml
Lincomycine	0,8	
Neomycine-sulfaat	10	
Tetracycline-HCl	0,30	
Zn. bacitracine	0,35	0,024
Colistine-sulfaat	> 450	
Spiramycine	10	22
Erythromycine	0,6	
Kanamycine	12	

4.4. Celgetallen

Grafieken 9 t/m 16

Behandeling van gezonde kwartieren laat een duidelijke stijging van het celgetal zien. Deze stijging is het meest duidelijk bij de injector Mammivert. De injector Mastijet fort geeft eveneens een duidelijke verhoging van het celgetal te zien, maar na de geadviseerde wachtttermijn is deze verhoging weer verdwenen.

Bij de beoordeling van de resultaten dient opgemerkt te worden dat deze proef uitgevoerd is met gezonde dieren, die geen produktiedaling vertoonden voor of na behandeling met mastitispreparaten.

Het uitscheidingspatroon kan daarom zeker verschillen met het patroon van zieke dieren.

5 CONCLUSIES

- De door de fabrikanten geadviseerde wachttermijnen stemmen op een uitzondering na overeen met de bevindingen van dit onderzoek.
- Met de mastitisinjector Mammivert kunnen nog tot 10 melkmalen na de laatste behandeling problemen ontstaan bij de kwaliteitscontrole.
(Te hoog celgetal)
- De stoffen lincomycine, neomycine, tetracycline, spiramycine, erythromycine, kanamycine en colistine worden met de huidige methode beperkt gescreend. Verder onderzoek met gevoeligere methodes is noodzakelijk indien nationale of internationale eisen strenger worden.
- Het aantal cellen kan na behandeling tot zeer hoge waarden stijgen en wel zo hoog dat er problemen kunnen ontstaan bij de kwaliteitscontrole van tankmelk indien de aangegeven wachttermijn niet in acht wordt genomen.
- Enig produktieverlies na behandeling van deze gezonde dieren is niet aangetoond.

6 REFERENTIES

6.1. Rikilt rapport 85-04.

Bacteriegroeiremmende stoffen in boerderijmelk.

6.2. Landelijke voorschriften voor de uitvoering van het kwaliteitsonderzoek en voor de klasse-indeling der voor veehouders geleverde melk.
19^e Uitgave Stichting voor Melkhygiene. 's-Gravenhage.

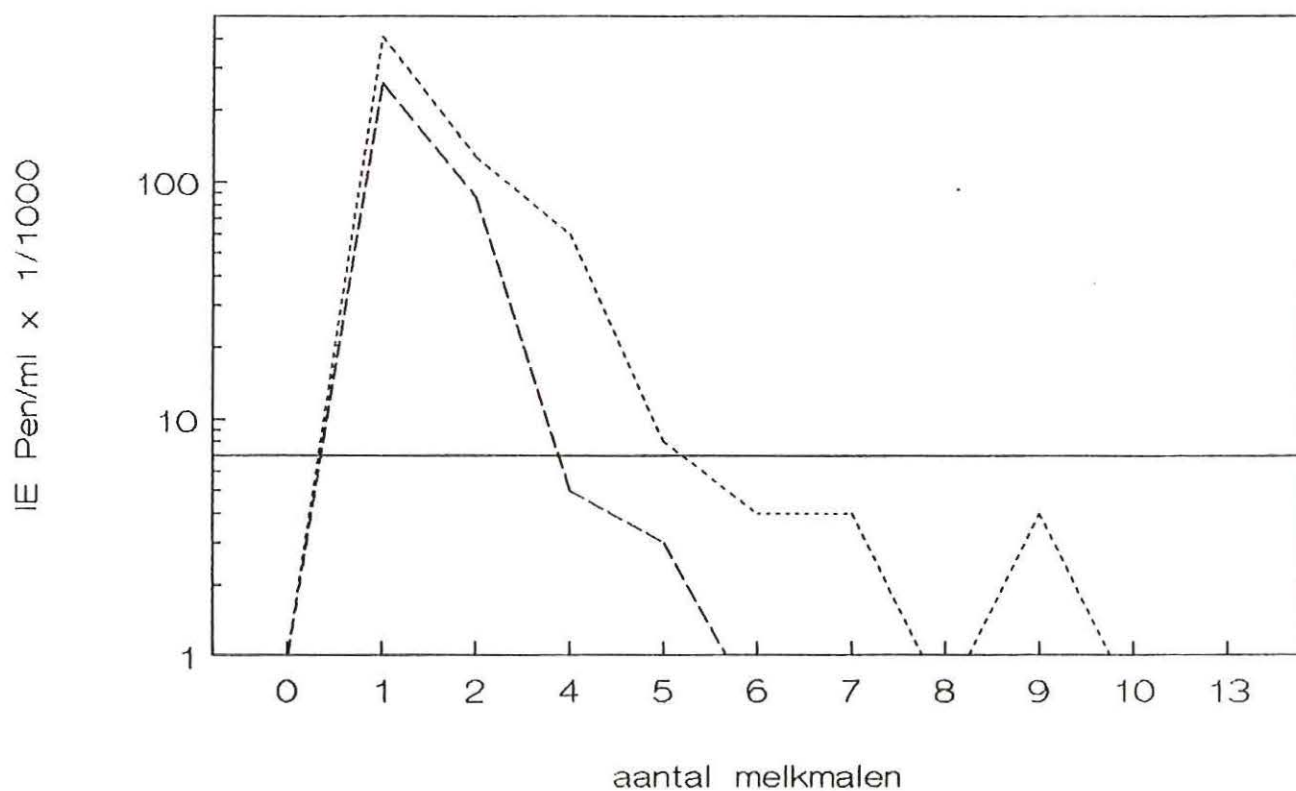
7 GRAFIEKEN

antibiotica koe 265 uitscheidingsproef

..... LV

----- RA

LV en RA behandeld met lincomycine forte

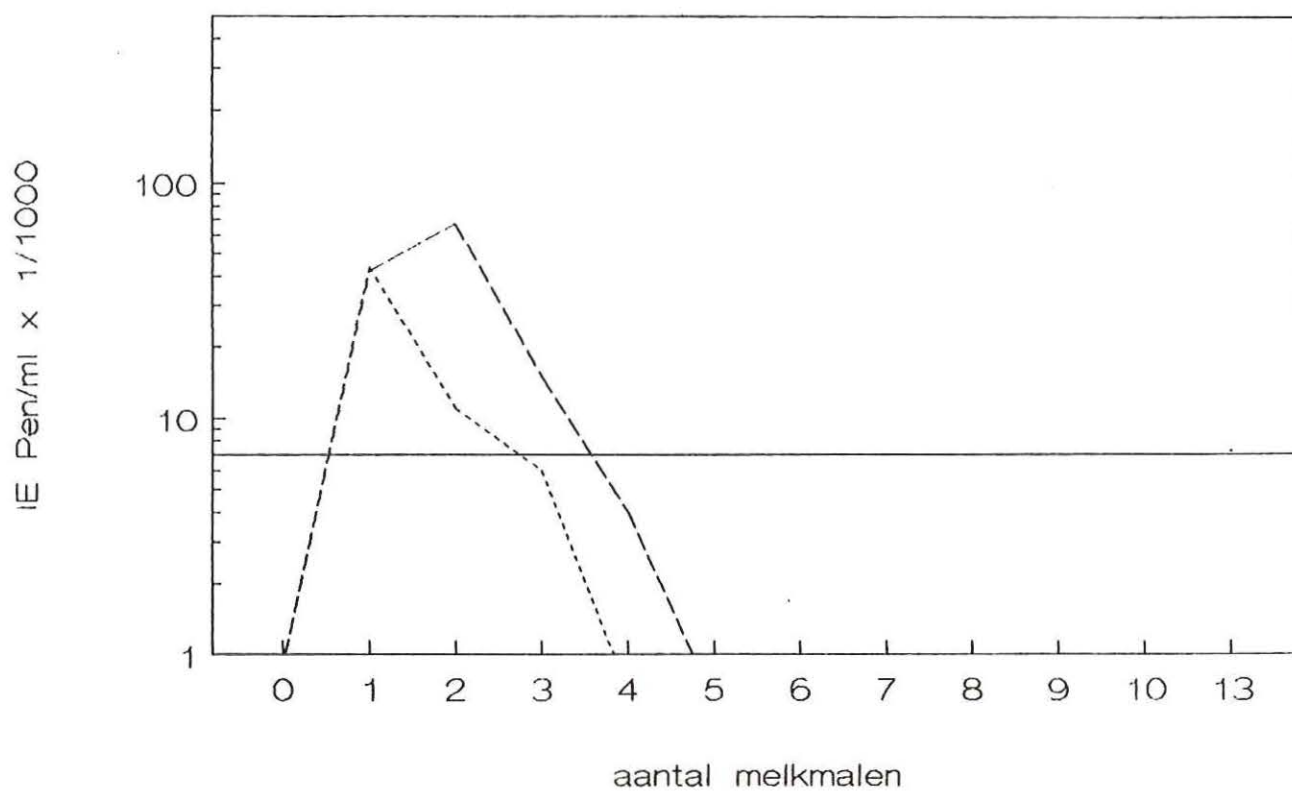


antibiotica koe 2369 uitscheidingsproef

..... LV

----- RA

LV en RA behandeld met lincomycine forte

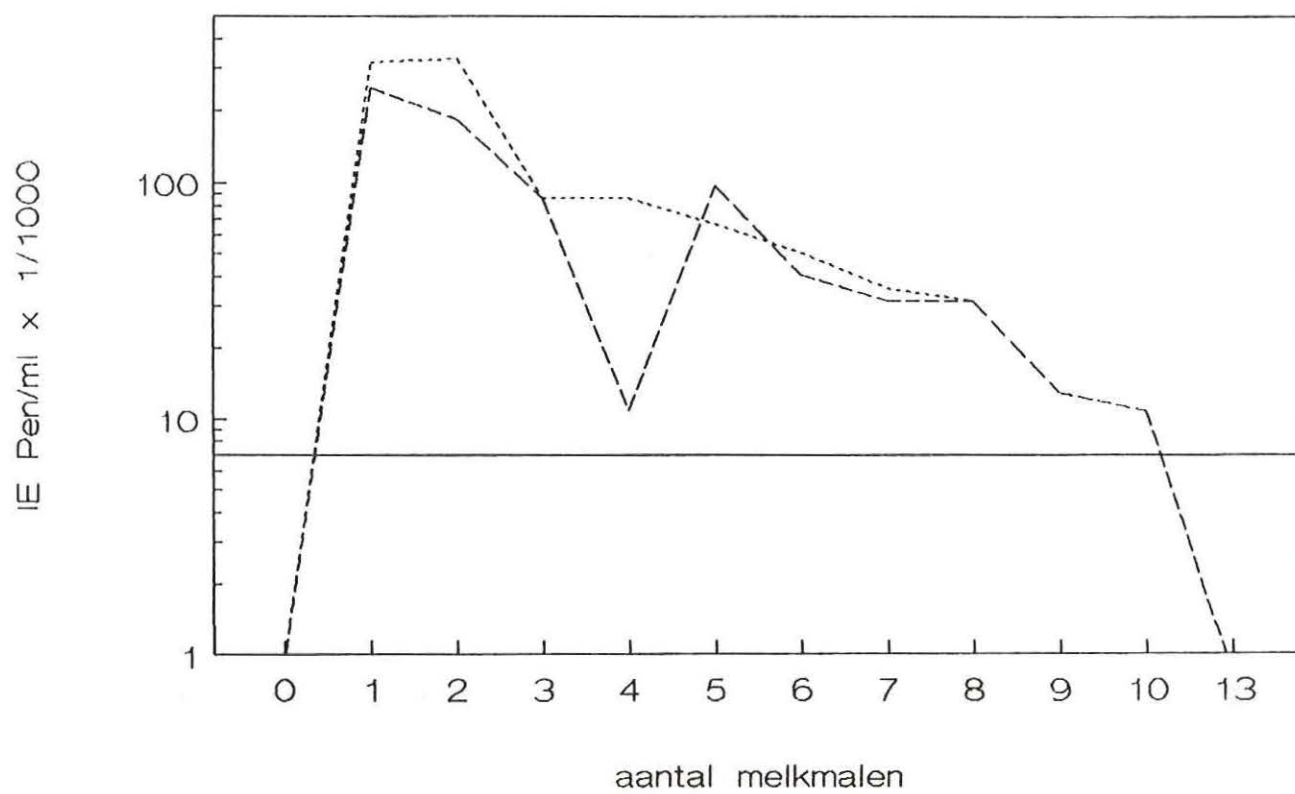


antibiotica koe 268 uitscheidingsproef

..... LV

----- RA

LV en RA behandeld met Mastijet fort

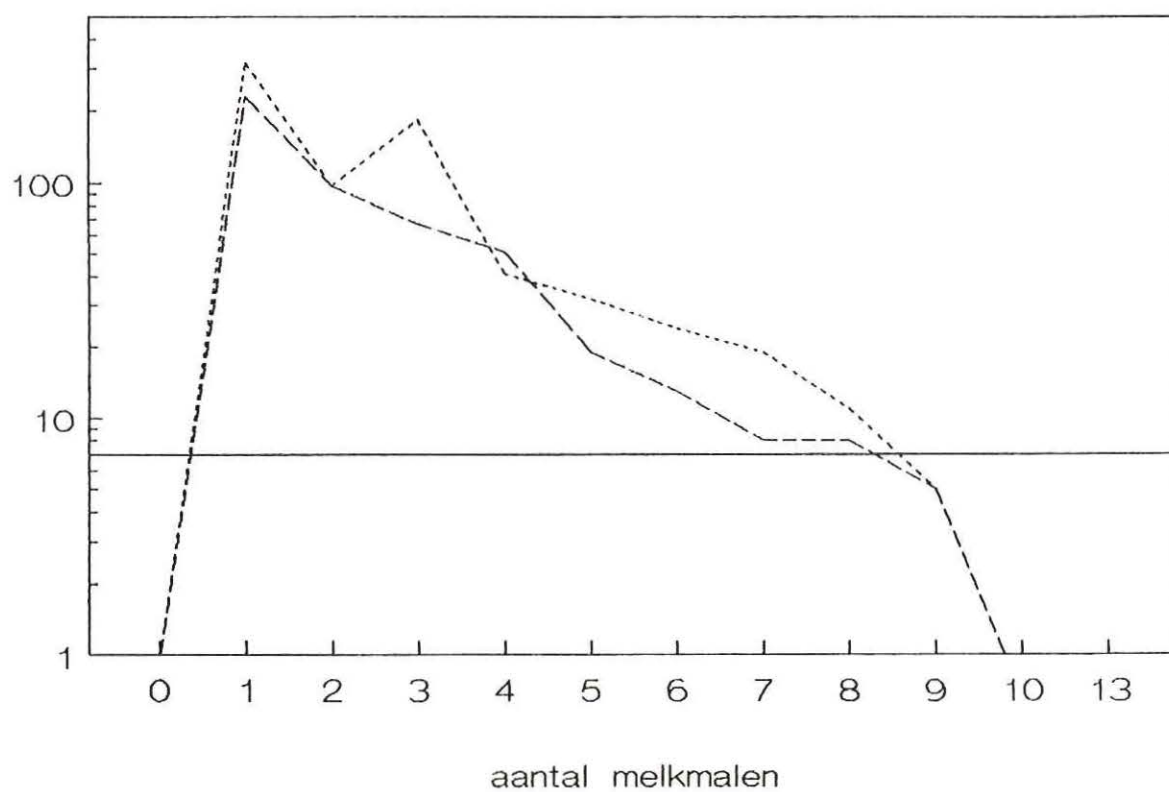


antibiotica koe 2373
uitscheidingsproef

..... LV

----- RA

LV en RA behandeld met Mastijet fort

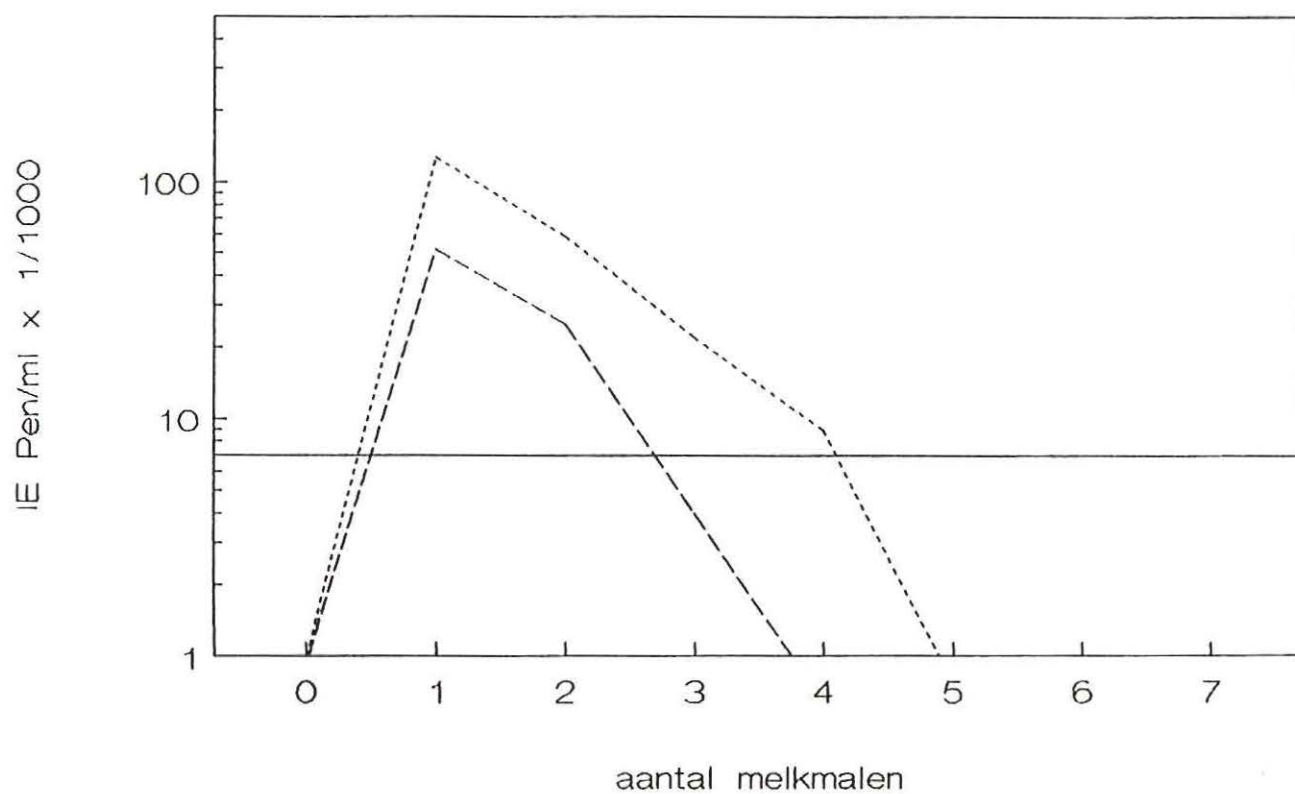
IE Pen/ml $\times 1/1000$ 

antibiotica koe 354
uitscheidingsproef

..... LV

---- RA

LV en RA behandeld met Erykana



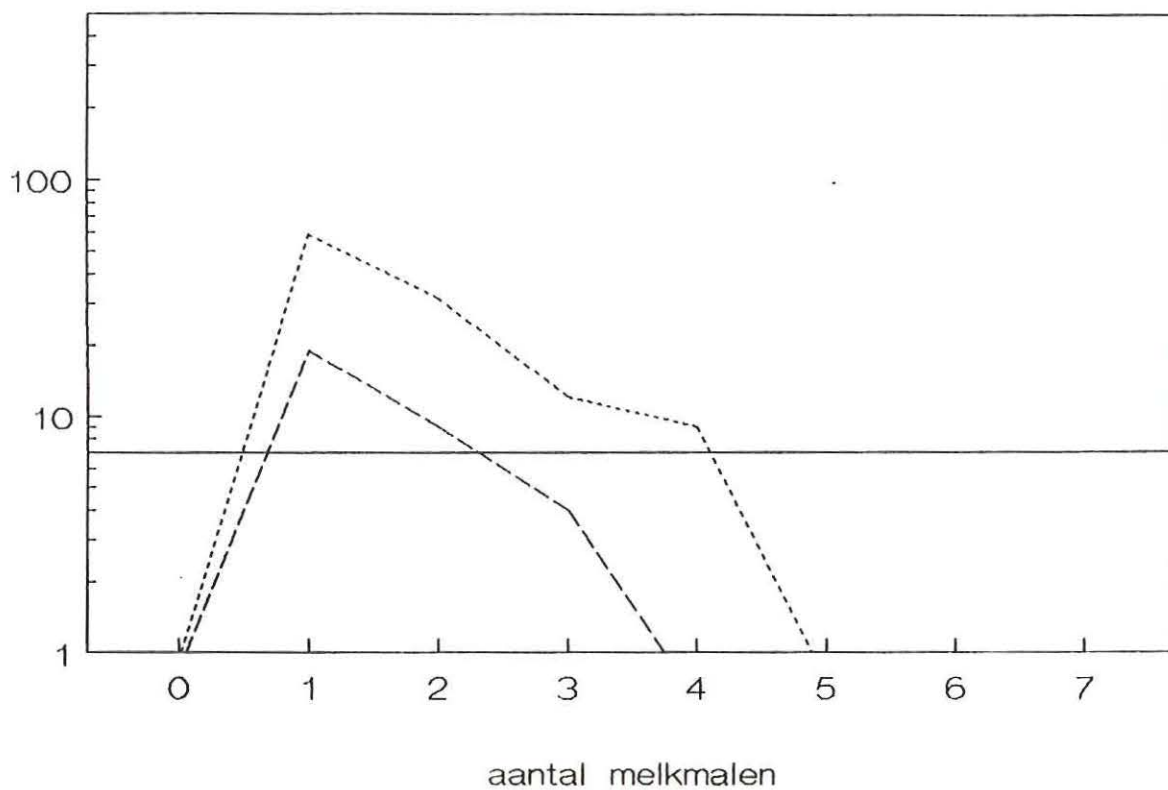
antibiotica koe 330 uitscheidingsproef

..... LV

----- RA

LV en RA behandeld met Erykana

IE Pen/ml x 1/1000

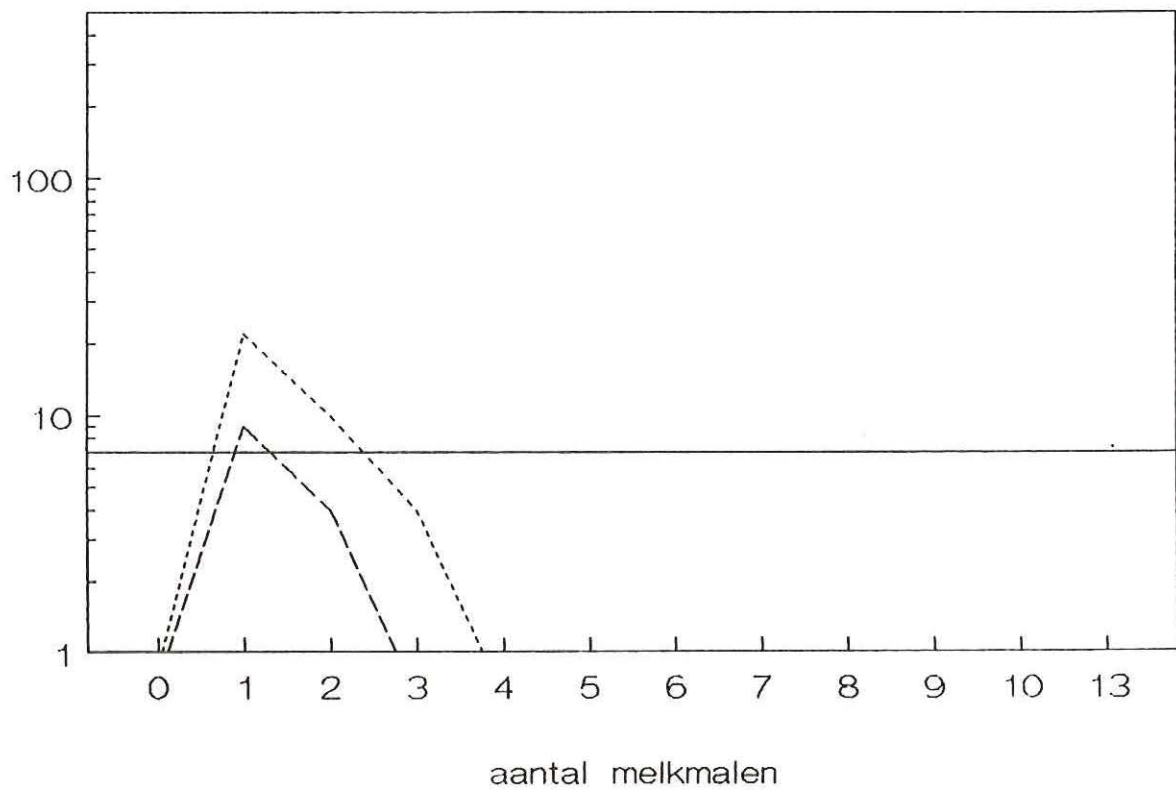


antibiotica koe 205
uitscheidingsproef

..... LV

---- RA

LV en RA behandeld met Mammivert

IE Pen/ml $\times 1/1000$ 

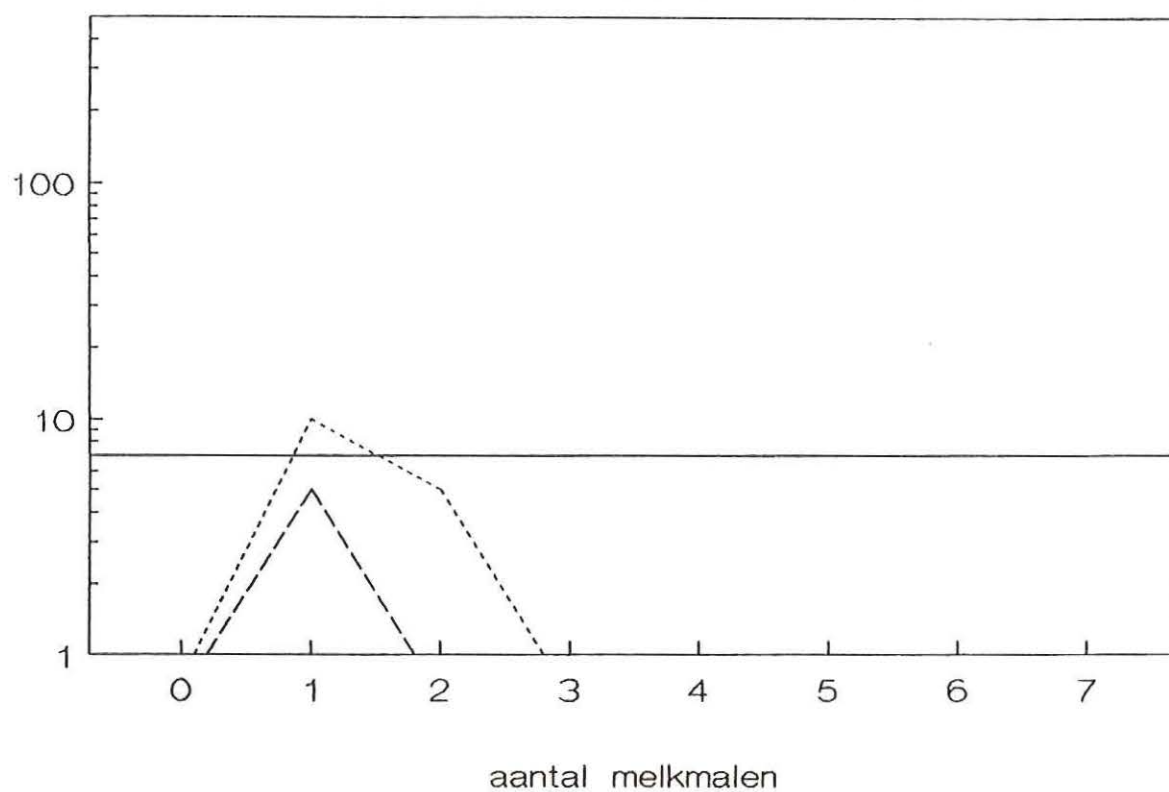
antibiotica koe 364 uitscheidingsproef

..... LV

---- RA

LV en RA behandeld met Mammivert

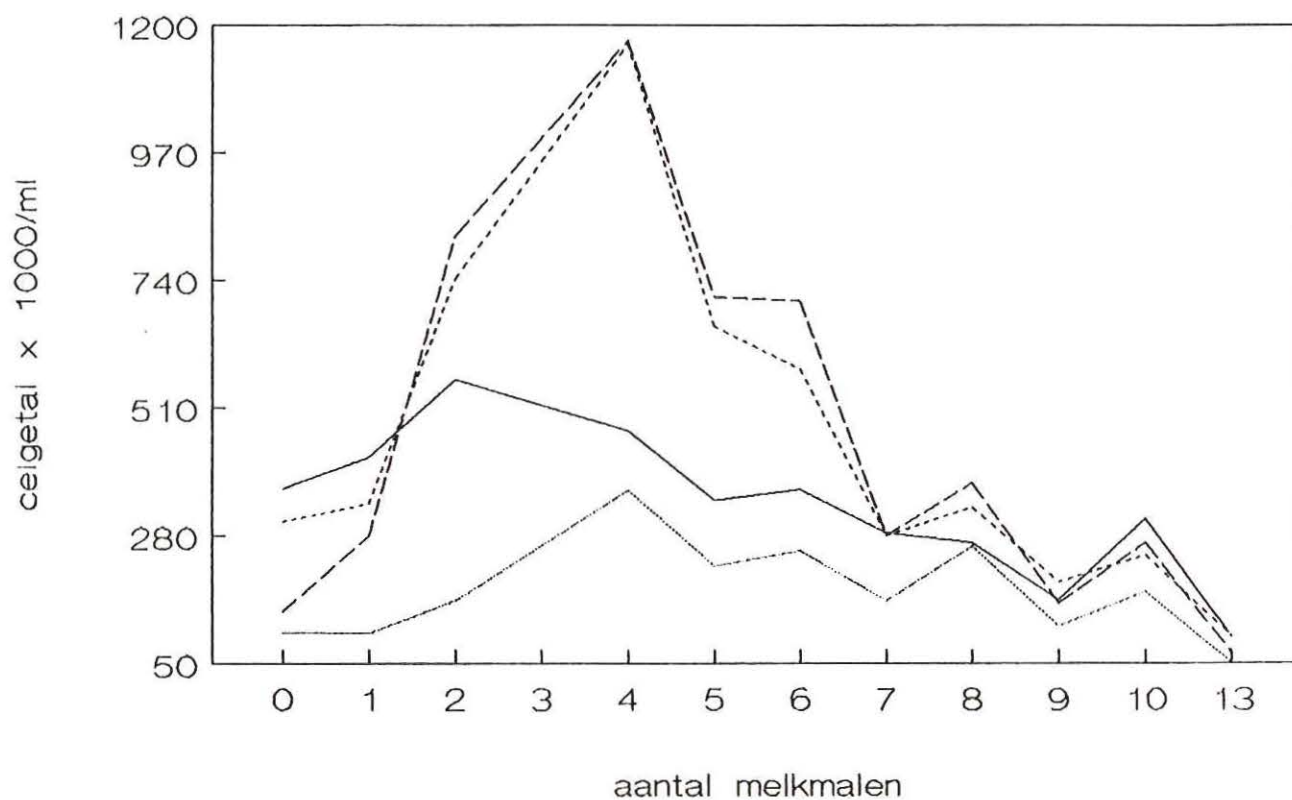
IE Pen/ml $\times 1/1000$



celgetal koe 265
uitscheidingsproef

— RV - - - LV - - - RA — LA

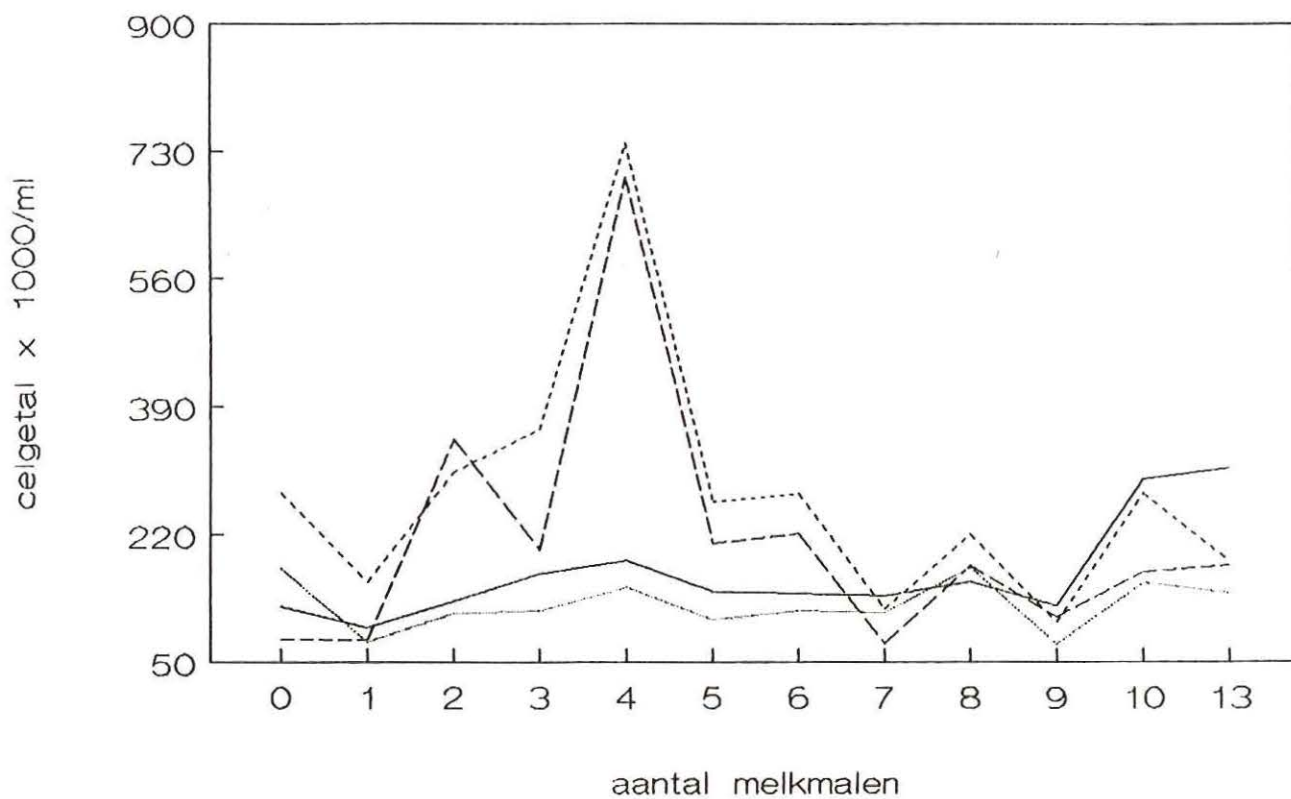
LV en RA behandeld met Lincomycine forte



celgetal koe 2369 uitscheidingsproef

— RV LV ---- RA — LA

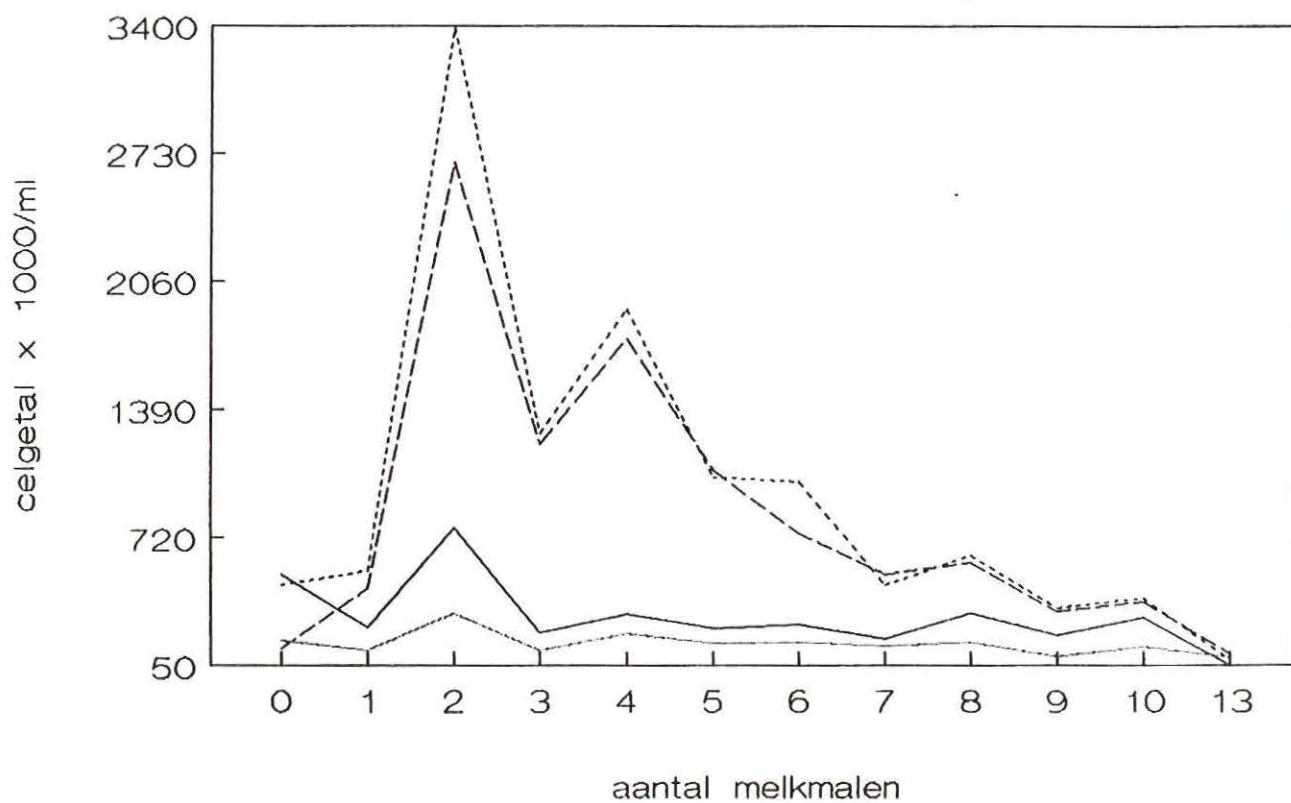
LV en RA behandeld met Lincomycine forte



celgetal koe 268
uitscheidingsproef

— RV LV ---- RA — LA

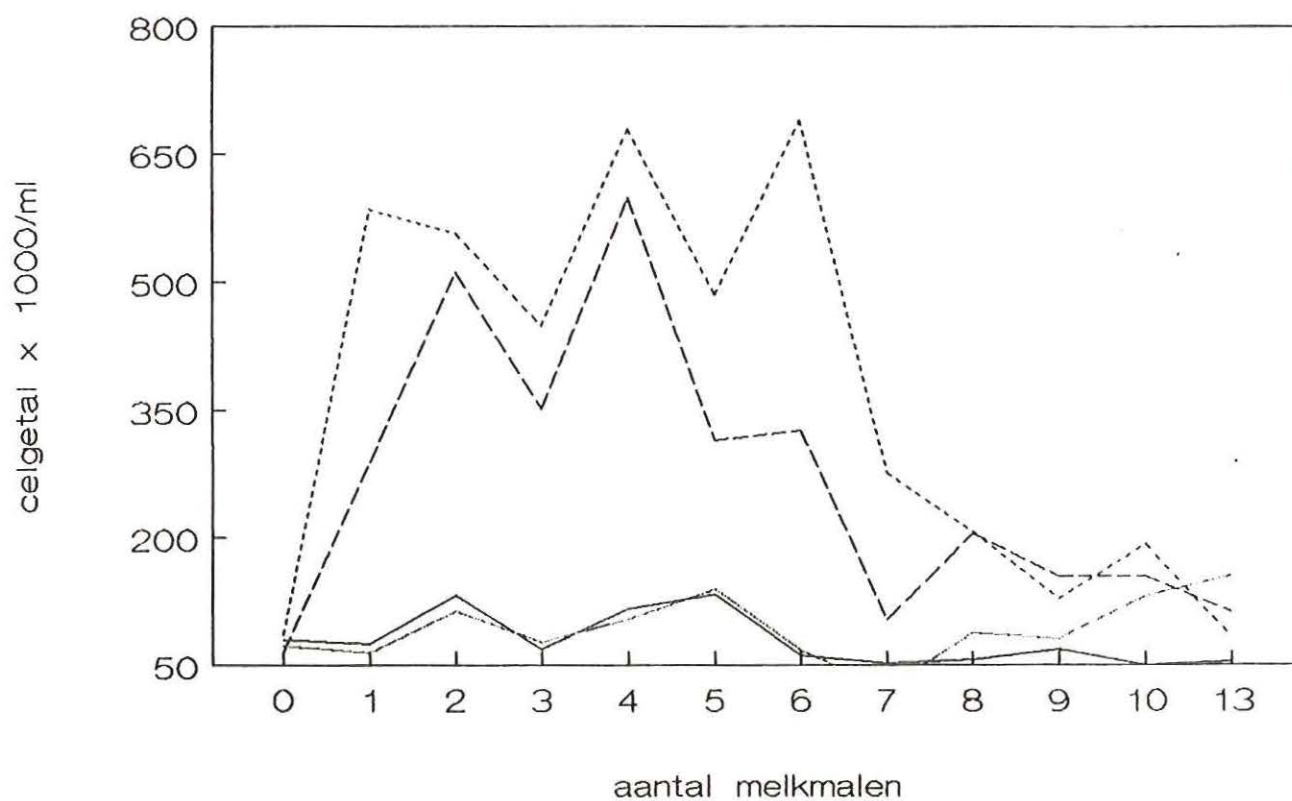
LV en RA behandeld met Mastijet fort



celgetal koe 2373
uitscheidingsproef

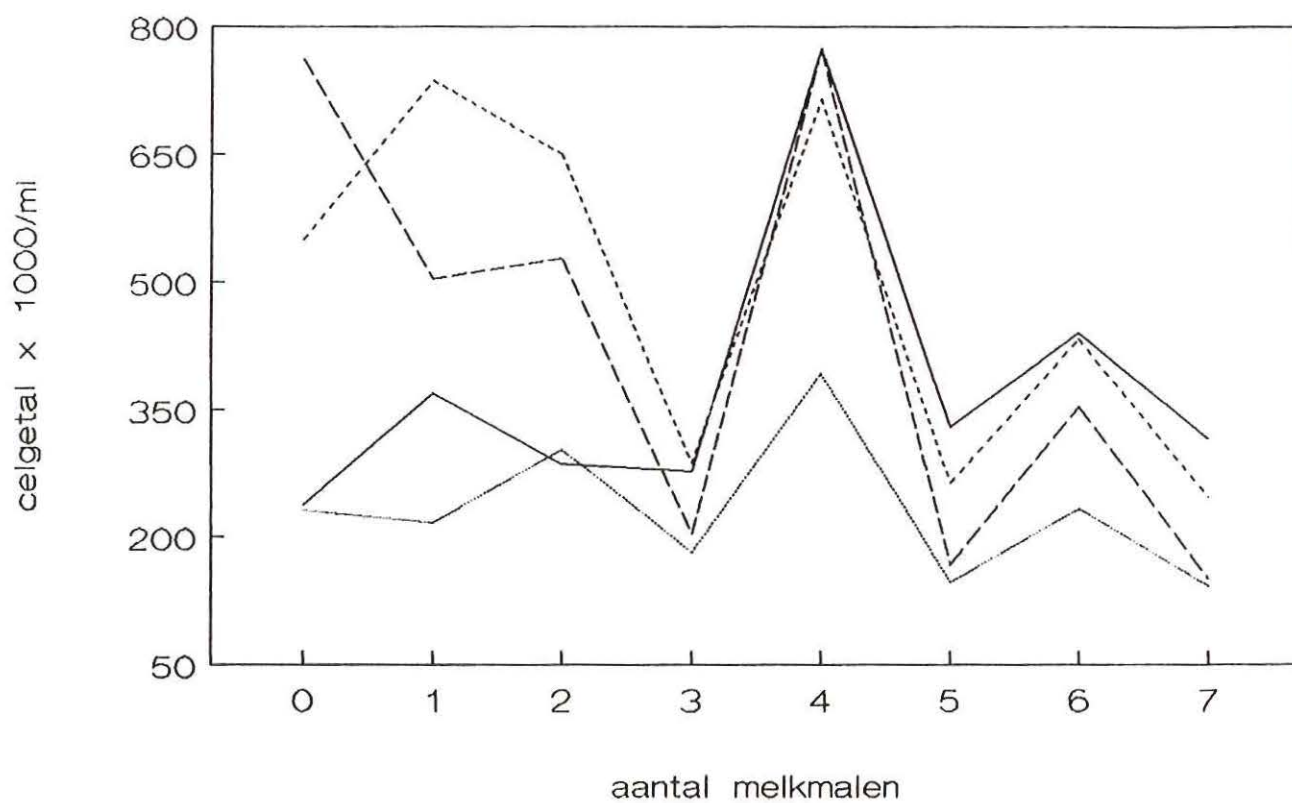
— RV LV ---- RA - - - - LA

LV en RA behandeld met Mastijet fort



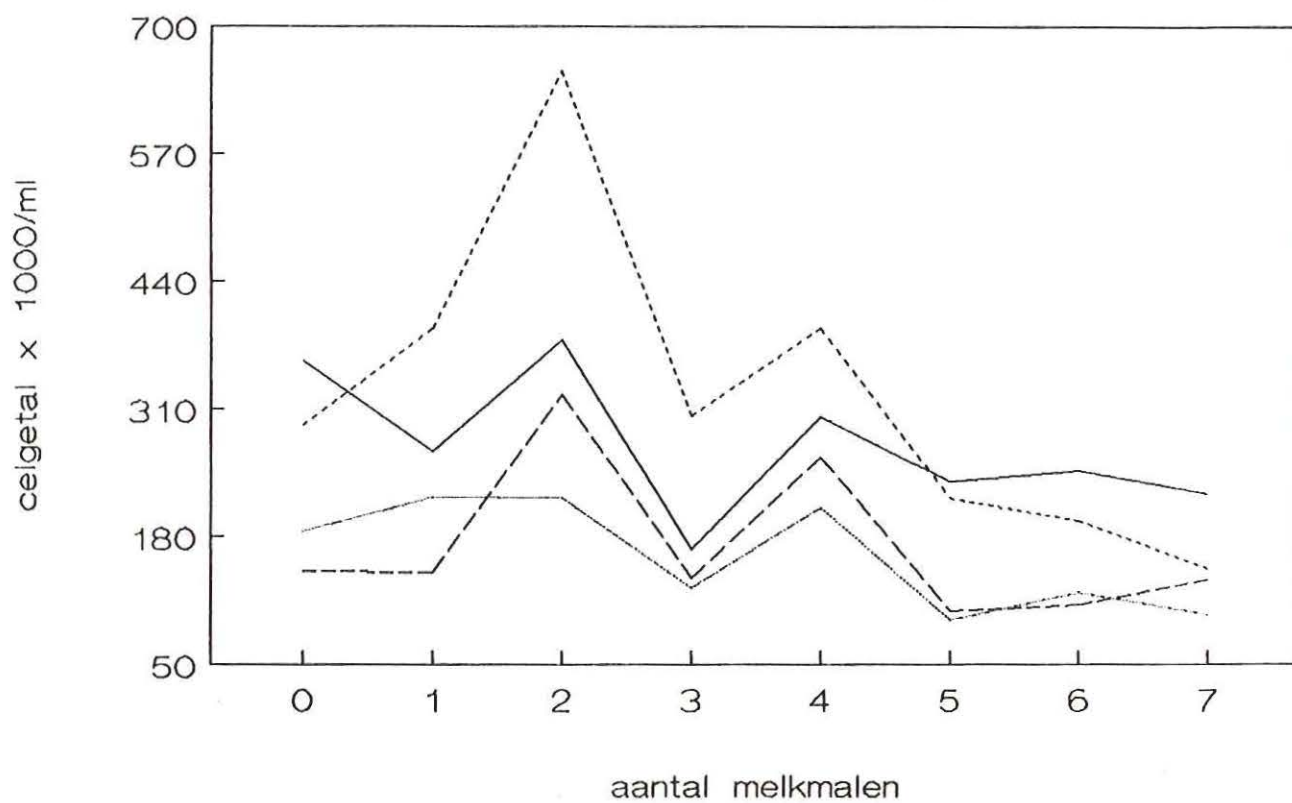
celgetal koe 354
uitscheidingsproef

— RV LV --- RA — LA
LV en RA behandeld met Erykana



celgetal koe 330
uitscheidingsproef

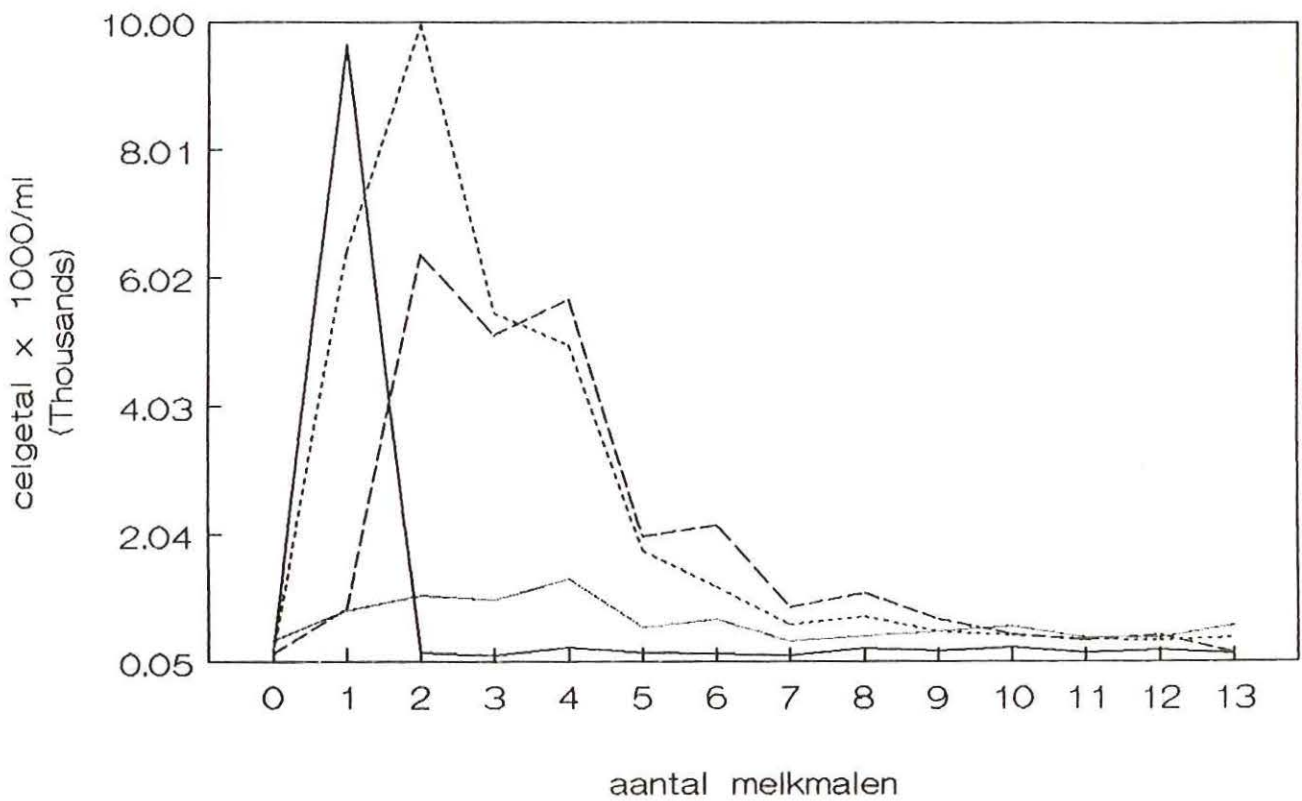
— RV LV ---- RA — LA
LV en RA behandeld met Erykana



celgetal koe 205 uitscheidingsproef

— RV LV ---- RA — LA

LV en RA behandeld met Mammivert



celgetal koe 364
uitscheidingsproef

— RV LV ---- RA — LA

LV en RA behandeld met Mammivert

