

DECISION

**du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
concernant les méthodes d'analyse relatives à l'identification d'antibiotiques
chez les animaux d'abattage**

M (74) 10

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu l'article 1^{er} du Protocole du 29 avril 1969 relatif à la suppression des contrôles et formalités aux frontières intérieures du Benelux et à la suppression des entraves à la libre circulation,

Considérant qu'en vue de sauvegarder la santé publique, il est nécessaire de refuser les animaux de boucherie lorsque le test antibiotique se révèle positif,

Considérant la nécessité d'établir à cette fin une méthode d'analyse commune,

A pris la décision suivante :

Article unique

1. Les Gouvernements des trois pays du Benelux prendront les mesures nécessaires pour que les dispositions reprises dans le Règlement annexé à la présente Décision, entrent en vigueur le 1^{er} octobre 1974.
2. Dans les 6 mois qui suivent l'expiration du délai prévu au § 1, chacun des trois Gouvernements fera rapport au Comité de Ministres sur les mesures qui ont été prises pour l'exécution de cette Décision.

Le texte des mesures d'exécution nationales sera joint à ce rapport.

FAIT à Bruxelles, le 13 mai 1974.

Le Président du Comité de Ministres,

R. VAN ELSLANDE

REGLEMENT**concernant l'identification d'antibiotiques chez les animaux d'abattage****M (74) 10, Annexe***Article 1^{er}*

1. L'examen en vue de l'identification de résidus d'antibiotiques est effectué lorsqu'en raison des indications obtenues lors de l'expertise avant ou après l'abattage, un examen bactériologique est effectué et en outre, lorsqu'il y a lieu d'admettre que des antibiotiques ont été administrés peu avant l'abattage.
2. L'examen visé à l'alinéa premier est effectué selon la méthode indiquée dans l'article 3 du présent Règlement.

Article 2

L'animal de boucherie est refusé, lorsque l'examen sur les antibiotiques est positif, ce qui est le cas lorsque cet examen a révélé que les deux zones d'inhibition ont un diamètre de 15 mm ou plus.

*Article 3***Méthodes d'analyse pour le test antibiotique****1. Exécution**

Organisme du test : *Sarcina lutea* ATCC 9341.

2. Analyse

Bouillon de culture : Antibioticum medium n° 1 (Difco 0263, Oxoid CM 327) + 0,2 % KH_2PO_4 .

Contrôler le pH après adjonction de sel (doit être 6.0). Le cas échéant rajuster.

Boîtes de Pétri : Boîte en verre \varnothing 14 cm, si possible à fond entièrement plat.

Papier-filtre : Schleicher und Schüll 601 (\varnothing 1,2 cm).

2.1. Préparation de la plaque

Mettre la boîte Pétri de niveau et y verser ensuite prudemment 40 ml d'antibioticum medium n° 1 agar + 0,2 % KH_2PO_4 fondu.

Utiliser pour l'inoculation une culture dans Brain Heart Infusion Broth de *Sarcina lutea* ATCC 9341 faite 18 h avant et diluée au moyen d'une saumure physiologique de manière à obtenir, après échauffement sur plaque d'agar, une croissance exactement confluite (généralement une

dilution de 1/100 donne le résultat escompté). Avant l'inoculation de l'antibioticum medium coagulé, rincer l'agar avec 10-20 ml de la suspension précitée.

Pipeter le surplus de suspension après 5 à 10 minutes. Sécher l'agar inoculé pendant 30 minutes à 37° C. Ces plaques se gardent pendant une semaine au frigo. Pour contrôler l'efficacité des plaques inoculées, utiliser régulièrement du papier-filtre de référence imprégné de pénicilline, placé au milieu de la plaque et pressé contre l'agar.

2.2. Préparation de l'échantillon

Faire une incision fraîche dans le rein de l'animal d'abattage sans inciser le bassin rénal. Introduire deux papiers-filtres dans l'incision en s'efforçant d'obtenir une absorption optimale de l'humeur par le papier (Schleicher und Schüll 601 Ø 1,2 cm). Pour cela, le papier doit rester en contact avec le rein pendant 10 à 60 minutes, selon le degré d'humidité du rein, et il conviendra d'exercer une certaine pression. Enlever le papier avec une pince.

2.3. Mode opératoire et interprétation du résultat

Placer les deux papiers en diagonale sur la plaque et les presser contre l'agar (6 papiers au maximum peuvent être utilisés par plaque). Placer immédiatement la plaque dans l'étuve. Après 18 à 20 h à 37° C, mesurer les diamètres des zones d'inhibition y compris le papier. Le test est censé positif si les deux zones ont un diamètre de 15 mm ou plus.

N.B. Une partie du rein utilisé doit être frigorifiée en attendant le résultat, en vue d'une nouvelle expertise.