

Project RIKILT-DLO 5110.013; ID-DLO 5021.01

Overdracht van verslepingsdoseringen van toevoegings- en diergeneesmiddelen uit pluimveevoer naar pluimveevlees, pluimveelever en eieren

Projectleider: H.J. Keukens, C.A. Kan

Rapport 95.09

mei 1995

NICARBAZINE RESIDUEN IN VLEESKUIKENS; RECIRCULATIE EN/OF VERSLEPING?

H.J. Keukens, C.A. Kan

afdeling: Instrumentele Analyse

Medewerkers: E. Boers, R.G. Woudstra

Dit onderzoek is gedeeltelijk gefinancierd door het Produktschap voor Veevoeder, het Produktschap voor Vee, Vlees en Eieren en het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-75400

Telefax 08370-17717

Copyright 1995, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT-DLO)
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN RIKILT-DLO:

directeur

auteur(s)

programmaleiders (2x)

public relations en secretariaat (2x)

bibliotheek (3x)

INTERN ID-DLO

directie

programmaleider

afdelingshoofd

auteur (3x)

bibliotheek

EXTERN:

Produktschap voor Veevoeder ('s-Gravenhage)

Produktschap voor Vee, Vlees en Eieren (Rijswijk)

Directie Landbouw, Ministerie LNV

Directie Milieu, Kwaliteit en Gezondheid, Ministerie LNV

INHOUD	<u>blz</u>
SAMENVATTING	3
1 INLEIDING	5
2 METHODE EN MATERIAAL	7
2.1 Proefvoerders	7
2.2 Dierexperiment	7
2.2.1 Model recirculatieproef	7
2.2.2 Model verslepingsproef	8
2.3 Analysemethoden	8
2.3.1 Premix, diermeel, voeders, strooisel	8
2.3.2 Borstvlees, lever	8
3 RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
3.1 Dierproef	9
3.2 Voer	9
3.3 Mest/strooisel	10
3.4 Vlees/lever analyses	11
4 CONCLUSIES	12
LITERATUUR	12
3 BIJLAGEN	

()

()

SAMENVATTING

Er is voor nicarbazine een modelproef uitgevoerd met vleeskuikens, waarin de effecten van recirculatie van nicarbazine via strooisel en de effecten van het verstrekken in de laatste dagen voor de slacht van voer met lage gehalten nicarbazine op het residugehalte in vlees en lever werden onderzocht. Residugehaltes van nicarbazine zijn bepaald in borstvlees en in lever op basis van het gehalte aan 4,4'-dinitrocarbanilide (DNC).

Uit de resultaten blijkt dat het aangemaakte blanco voer geen nicarbazine bevatte (gehalte < 0,02 mg/kg) en dat er onder de beschreven proefomstandigheden geen kruiscontaminatie heeft plaatsgehad tussen de proefgroepen onderling.

Na toediening van nicarbazine houdend voer (141 mg/kg) gedurende de eerste 18 dagen van de mestperiode, was het gehalte aan nicarbazine in het mest/strooisel mengsel aanvankelijk 38 mg/kg. Wordt in de aansluitende periode nicarbazine vrij voer verstrekt, dan neemt het gehalte aan nicarbazine vrijwel lineair af tot een niveau van 6 mg/kg op dag 40.

Nicarbazine wordt in borstvlees en in lever zowel aangetoond na het verstrekken van voer met lage nicarbazine gehalten (vanaf 0,2 mg/kg), als door recirculatie via strooisel. De gehalten in lever liggen een factor 10 hoger dan die in borstvlees. De "produktnorm" van 0,2 mg/kg voor dierlijke matrices wordt niet overschreden bij verstrekking van voer met een nicarbazine gehalte overeenkomend met de voorgestelde norm van 0,5 mg/kg, ook niet in combinatie met recirculatie via het strooisel.

()

()

1 INLEIDING

Nicarbazine, een nog steeds veel gebruikt en effectief coccidiostaticum, is een equimolair complex van 4,4'-dinitrocarbanilide (DNC) en 2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidine (HDP). Porter & Gilfillan (1955) toonden reeds aan, dat het HDP deel van het nicarbazine complex sneller opgenomen en uitgescheiden wordt dan het DNC deel. Met de toen beschikbare spectrofotometrische techniek konden tot 48 uur na de blootstelling DNC residuen worden aangetoond in lever en bloedplasma. Clark et al. (1956) toonden met behulp van radioactief gelabeld DNC aan, dat deze component door kuikens niet of nauwelijks wordt gemetaboliseerd. Het is dan ook niet verwonderlijk, dat vrijwel alle residuonderzoek betreffende nicarbazine alleen de DNC component betreft, hoewel dat vaak niet eens expliciet gemeld wordt.

Het beschikbaar komen van gevoeliger analysemethoden zoals vloeistofchromatografie (HPLC) met Ultraviolet (UV) detectie heeft meer mogelijkheden geboden om zowel produkten uit de markt te onderzoeken als gedetailleerder farmacokinetisch onderzoek uit te voeren.

De aanwezigheid van residuen van nicarbazine (DNC) in vlees en lever van pluimvee zijn vanuit een groot aantal verschillende landen gerapporteerd. Hoshino et al. (1982) vonden in 4 van de 50 monsters Japans pluimveevlees tussen 0,05 en 0,52 mg/kg nicarbazine. Manda et al. (1985) rapporteerden in 17 van de 131 monsters pluimveevlees gehalten van 0,03 tot 0,30 mg/kg, waarbij de gehalten in vetrijke monsters het hoogste waren. Horii et al. (1991) vonden in 1988/89 van de 69 kuikenvlees monsters er slechts één positief op nicarbazine (0,56 mg/kg) en van de 29 lever monsters geen enkele positief. Cortesi et al. (1988) onderzochten 89 monsters pluimveelever uit vijf verschillende regio's in Italië. Zij rapporteren 78 positieve monsters met gehalten tot bijna 9 mg/kg. Vier monsters pluimveevlees uit de omgeving van Napels bevatten allen minder dan 0,05 mg/kg. Petz (1993) geeft een overzicht van residu onderzoek omtrent nicarbazine in pluimveevlees uit de regio Baden-Württemberg. Het gemiddelde gehalte in de jaren 1985-1990 van zo'n 60-80 monsters bedroeg tamelijk constant 0,020-0,030 mg/kg, maar gehalten tot 0,2 mg/kg kwamen voor. In Zwitserland werd ook nicarbazine aangetoond in kuikenlevers (tot 0,15 mg/kg) welke waren geïmporteerd uit de USA, maar Zwitserse kuikenlevers bevatten minder dan 0,01 mg/kg (Anonymus, 1993).

In recent onderzoek van het RIKILT-DLO zijn in de laatste jaren in pluimveevlees en lever ook met een zekere regelmaat nicarbazine gehalten van 0,01 tot 0,05 mg/kg gevonden (Keukens et al., niet gepubliceerde resultaten).

Op dit moment is geen éénduidige verklaring te geven voor deze waarnemingen. Er zijn drie oorzaken mogelijk:

1. De tijdsduur tussen de laatste toediening en slacht (wachttermijn) is te kort geweest. Voor nicarbazine geldt een wachttermijn van tenminste 9 dagen (Verordening diervoeder 1986).

Zowel Nose et al. (1982) als Grassitelli et al. (1990) konden 9 dagen na de laatste toediening nog 0,01-0,03 mg/kg nicarbazine in kuikenlever aantonen. Nose et al. (1982) vonden deze gehalten 7 dagen na toediening in zowel borst- als pootvlees.

Een te korte periode tussen verstrekking en slachten wordt echter onaannemelijk geacht, aangezien in Nederland in de praktijk de verstrekking van nicarbazine aan vleeskuikens nimmer langer doorgaat dan tot een leeftijd van 18 tot 19 dagen (Bartels en Vooren, persoonlijke mededelingen), terwijl dieren nimmer vóór een leeftijd van 32 dagen worden geslacht.

2. Nicarbazine toegediend in de eerste 18 tot 19 dagen van de mestperiode recirculeert via mest c.q. strooisel tot het slachttijdstip. Castelli et al. (1989) hielden kuikens op strooisel en verstrekten tot 4 weken leeftijd 125 mg/kg nicarbazine in het voeder. Volgens hun waarnemingen nam het gehalte aan DNC **noch** in strooisel **noch** in lever af in de volgende vier weken, waarin de kuikens blanco voer verstrekt kregen.

Recirculatie van nicarbazine via mest/strooisel wordt wel aannemelijk geacht, maar de gegevens van Castelli et al. (1989) roepen wel vragen op aangezien deze auteurs **geen** afname van het gehalte in mest rapporteerden. Alleen al vanwege de uitscheiding van (veel) niet of weinig gecontamineerde mest, zou het gehalte in het mest-strooisel mengsel over een periode van vier weken aanzienlijk moeten dalen.

3. De aanwezigheid van lage doseringen nicarbazine in eindvoerders veroorzaakt door versleping gedurende mengvoederbereiding of transport.

Dorn et al. (1988) onderzochten versleping van een tweetal nicarbazine preparaten in telkens 8 mengseries in verschillende mengvoeder installaties. In één installatie kon in de vierde volgcarge nog steeds nicarbazine worden aangetoond.

Residuvorming door voeding van lage gehalten in de laatste dagen voor de slacht is een reële mogelijkheid, maar concrete gegevens hieromtrent zijn niet voorhanden.

De CKD Werkgroep Kritische Toevoegings- en Diergeneesmiddelen heeft nicarbazine voor zowel de ei- als vleesproductie aangewezen als een stof waarvoor normen in voer en eindproduct moeten worden vastgelegd. De normen met betrekking tot eieren en legvoerders konden uit literatuur- en marktgegevens worden afgeleid. Voor de produktie van pluimveevlees was het niet duidelijk welke van de drie eerder genoemde oorzaken verantwoordelijk zouden kunnen zijn voor de geconstateerde gehalten in vlees en lever in praktijkmonsters.

Daarom is voor nicarbazine een modelproef uitgevoerd met vleeskuikens waarin de effecten van recirculatie van nicarbazine, de effecten van het verstrekken van voer met lage gehalten en een combinatie van beide effecten werd onderzocht.

De recirculatie en overdracht werden koppelsgewijs bestudeerd, aangezien het binnen IKB systemen niet gaat om produktgaranties, maar om de kwaliteit van het productieproces.

Na de slacht van de dieren uit de verschillende proefgroepen werden per proefgroep twee mengmonsters vlees en lever verzameld waarin gehalten van DNC bepaald werden op basis waarvan het nicarbazine gehalte werd berekend.

In dit rapport worden de resultaten van het onderzoek beschreven, alsmede de proefopzet en de toegepaste methoden van onderzoek.

2 MATERIALEN EN METHODEN

2.1 Proefvoerders

De benodigde hoeveelheid voer voor de diverse proefgroepen werd bereid door eerst ca. 1 kg voer handmatig intensief te mengen met benodigde hoeveelheid voormengsel van handels-kwaliteit (Nicrasin®, batch no 852080 V, H 52787(ED), 26,2 % actieve stof, MSD Haarlem). De totale hoeveelheid voer per proefgroep werd vervolgens in een kleine "Stephan" menger mechanisch gemengd gedurende tenminste 5 minuten.

Vóór de bereiding van de proefvoerders werden de vitamine premix en , als het verwerkt werd, het diermeel gecontroleerd op afwezigheid van nicarbazine. De gehalten in de proefvoerders werden voor aanvang van de dierproef gecontroleerd.

2.2 Dierexperiment

2.2.1 Model recirculatieproef

Dertig Hybro ééndagskuikens (2/3 hanen en 1/3 hennen) werden geplaatst in een dubbele grondkooi op houtkrullen (strooisel) en werden gedurende 18 dagen gevoerd met startvoer bevattende 141 mg/kg nicarbazine. Van een leeftijd van 18 tot 35 dagen ontvingen ze vervolgens voer zonder nicarbazine. Daarna werd een tussenwand met dichte onderzijde geplaatst en ontving de helft van de dieren vijf dagen voer met 0,6 mg/kg nicarbazine en de andere helft voer zonder nicarbazine. Zonder voorafgaande voeronthouding werden de dieren geslacht, waarna per behandelingsgroep twee mengmonsters borstvlees (ca. 100 gram grote borstspier/dier) en lever (linker leverlob) werden samengesteld voor analyse. Op 18, 25, 35 en 40 dagen na aanvang van de proef werden monsters genomen van het mest/strooisel mengsel (circa 500 gram) uit het gedeelte van de grondkooi, waarin de dieren gehuisvest waren welke na een leeftijd van 18 dagen geen nicarbazine meer verstrekt kregen.

2.2.2 Model verslepingsproef

Achtenveertig Hybro ééndagskuikens (2/3 hanen en 1/3 hennen) werden geplaatst in een blok grondkooien. De dieren kregen tot een leeftijd van 35 dagen voer met Lerbek (meticlorpindol 110 mg/kg) als coccidiostaticum. Na deze periode werden ze overgeplaatst naar grondkooien met schoon strooisel met tussenwanden met een dichte onderzijde. De dieren werden verdeeld in vier groepen van 8-10 dieren welke vervolgens gedurende vijf dagen voer met respectievelijk 0; 0,2; 0,6 en 3,0 mg/kg nicarbazine verstrekt kregen. Zonder voorafgaande voeronthouding werden de dieren geslacht, waarna per behandelingsgroep telkens twee mengmonsters borstvlies (ca. 100 gram grote borstspier/dier) en lever (linker leverlob) werden samengesteld voor analyse. Bijzonderheden met betrekking tot de dierproef zijn gegeven in bijlage 1.

2.3 Analysemethoden

2.3.1 Premix, diermeel, voeders en strooisel/mest.

Nicarbazine wordt uit het monster geëxtraheerd met een acetonitril/methanol mengsel. Het extract wordt gezuiverd over een aluminiumoxide kolom en indien nodig verdund. Van monsters met een nicarbazine gehalte tot en met 5 mg/kg wordt een deel van het gezuiverde extract drooggedampt en opgenomen in een klein volume eluens. DNC wordt in dit extract geanalyseerd met "reversed phase" vloeistofchromatografie met UV detectie bij 344 nm. Ter verbetering van de selectiviteit is voor het diermeel monster en de strooisel monsters een additionele "post-column" derivatisering met natronloog toegepast. Detectie vindt in dat geval plaats bij 430 nm.

Voor de premix is uitgegaan van een bepaalbaarheidsgrens van 2 mg/kg, voor het diermeel van 0,2 mg/kg en voor de voeders van 0,02 mg/kg.

2.3.2 Borstvlies en lever

DNC wordt uit het monsterhomogenaat geëxtraheerd met acetonitril. Na centrifugeren ondergaat het leverextract een eerste zuiveringsstap over aluminiumoxide. Een deel van het vleesextract of een deel van het voorgezuiverde leverextract wordt gemengd met een natriumchloride oplossing. Het mengsel wordt gezuiverd over een Sep-Pak® C-18 cartridge. Het op de kolom geconcentreerde DNC wordt, na drogen van de cartridge, geëluëerd met een buffer-acetonitril mengsel. Na zuivering met hexaan wordt een deel van de onderstaande fase onderworpen aan "reversed phase" vloeistofchromatografie, waarbij DNC wordt aangetoond met VIS detectie bij 430 nm na een "post-column" reactie met natronloog. Kwantificering vindt plaats door vergelijking van de piekhoogtes verkregen voor een nicarbazine calibratiecurve.

Karakteristieken van de methode zijn:

- aantoonbaarheidsgrens voor vlees en lever $2 \mu\text{g/kg}$

- bepaalbaarheidsgrens voor vlees en lever $4 \mu\text{g/kg}$

Het gemiddeld gevonden terugvindingspercentage en de bijbehorende variatiecoëfficiënt zijn gegeven in tabel 1.

Tabel 1: Gemiddeld gevonden terugvindingspercentage en bijbehorende variatiecoëfficiënt voor nicarbazine in kuikenvlees en lever met RIKILT-DLO methode A-0640.

Matrix	Additie	Recovery %	s_r	VC %	n
vlees	20	80,0	5,2	6,5	6
	200	82,8	3,1	3,7	6
	500	82,3	5,5	6,7	6
lever	20	89,0	6,6	7,5	7
	200	92,2	3,1	3,4	6
	500	91,0	3,5	3,9	6

Enkele voorbeelden van chromatogrammen zijn gegeven in bijlage 2 van dit rapport.

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Dierproef

Slechts drie dieren stierven gedurende de proef. Het slechts verstrekken van nicarbazine tot 18 dagen leeftijd en daarna geen ander coccidiostaticum gaf geen aanleiding tot het optreden van coccidiose.

3.2 Voer

Analyse heeft aangetoond, dat de toegepaste minerale premix en het diermeel geen nicarbazine bevatte wat betekende dat de gehalten lager waren dan 2 resp. 0,2 mg/kg.

De resultaten van de controle van proefvoerders zijn weergegeven in Tabel 2. De resultaten voor de proefvoerders lagen wat hoger dan verwacht werd.

Tabel 2: Analyseresultaten voor de bepaling van nicarbazine in voeders. De gehalten zijn weergegeven in mg/kg en zijn berekend op basis van DNC.

RIKILT nummer	Verwacht mg/kg	Analyse 1	Analyse 2	Gemiddelde
22988	132	141	141	141
22989	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
22990	0,21	0,23	0,19	0,21
22991	0,53	0,68	0,53	0,60
22992	2,1	2,8	3,3	3,0

3.3 Mest/strooisel

De analyseresultaten voor de mest/strooisel monsters zijn weergegeven in Tabel 3. De grafische representatie in Figuur 1 (bijlage 3) laat voor de eerste drie meetpunten een lineaire afname in de tijd zien. Tussen 35 en 40 dagen leeftijd daalde het gehalte echter sterker dan daarvoor.

Tabel 3: Analyseresultaten strooisel/mest monsters van proefgroep 1. De nicarbazine gehalten zijn berekend op basis van DNC.

Verstrekking nicarbazine	Datum monster	Dagen vanaf t_0	RIKILT nr.	NIC mg/kg
- 18 dagen 141 mg/kg	24-10-94	18	25535	38
- 22 dagen blanco voer	31-10-94	25	25536	29
	10-11-94	35	25537	17
	15-11-94	40	25538	6

Mogelijk kan de inhomogeniteit van deze matrix een rol gespeeld hebben bij het niet geheel lineaire gedrag. De gehalten in mest/strooisel waren duidelijk lager dan de gehalten gerapporteerd door Castelli et al. (1989). Gezien het feit, dat deze auteurs **geen** afname vonden in de gehalten in mest gedurende vier weken waarin geen nicarbazine werd verstrekt, wordt aan de betrouwbaarheid van deze gegevens getwijfeld.

3.4 Vlees/lever analyses

De gegevens van de vlees/lever analyses zijn weergegeven in Tabel 4. Vlees en lever van de controle groep bevatten geen aantoonbare hoeveelheden nicarbazine.

De resultaten van de behandelingsgroepen (zie ook Figuur 2, bijlage 3) laten een goede dosis-respons relatie zien, waarbij volgens verwachting de gehalten in lever tenminste een factor 10 hoger waren dan die in vlees.

Tabel 4: Analyseresultaten voor lever- en vleeshomogenaten van de verschillende proefgroepen. De nicarbazine gehalten zijn uitgedrukt in mg/kg en berekend op basis van het DNC gehalte.

Groep	Verstrekking nicarbazine	RIKILT nr.	Matrix	Concentratie NIC
1	- 18 dagen 141 mg/kg	25539	vlees	0,004
		25540	vlees	0,004
	- 22 dagen blanco	25541	lever	0,057
		25542	lever	0,051
2	- 18 dagen 141 mg/kg	25543	vlees	0,007
	- 17 dagen blanco	25544	vlees	0,007
	- 5 dagen 0,6 mg/kg	25545	lever	0,123
		25546	lever	0,096
3	- 40 dagen blanco	25547	vlees	<0,004
		25548	vlees	<0,004
		25549	lever	<0,004
		25550	lever	<0,004
4	- 35 dagen blanco	25551	vlees	<0,004
	- 5 dagen 0,2 mg/kg	25552	vlees	<0,004
		25553	lever	0,033
		25554	lever	0,029
5	- 35 dagen blanco	25555	vlees	0,005
	- 5 dagen 0,6 mg/kg	25556	vlees	0,004
		25557	lever	0,084
		25558	lever	0,067
6	- 35 dagen blanco	25559	vlees	0,034
	- 5 dagen 3,0 mg/kg	25560	vlees	0,028
		25561	lever	0,418
		25562	lever	0,467

Recirculatie van nicarbazine via strooisel/mest blijkt een reële mogelijkheid voor residuvorming te zijn. Het effect van recirculatie en lage dosering via het voer is ongeveer additief. Het recirculatie effect is mogelijk in de praktijk nog groter aangezien de dieren in de proef tot het einde toe voer ter beschikking gehad hebben en **niet** gedurende de normaal toegepaste voeronthouding mogelijk extra strooisel/mest met nicarbazine zijn gaan opnemen.

De door de CKD werkgroep Kritische Toevoegings- en Diergeneesmiddelen voorgestelde norm van 0,5 mg/kg nicarbazine in eindvoerders voor vleeskuikens blijkt (ook in combinatie met recirculatie van nicarbazine) niet te leiden tot overschrijding van de "norm" van 0,1 mg/kg voor vlees en van 0,2 mg/kg voor lever.

4 CONCLUSIES

Uit de resultaten blijkt dat het aangemaakte blanco voer geen nicarbazine bevatte (gehalte < 0,02 mg/kg) en dat er onder de beschreven proefomstandigheden geen kruiscontaminatie heeft plaatsgehad tussen de proefgroepen onderling.

Recirculatie van nicarbazine via mest/strooisel naar borstvlies en lever treedt op bij toepassing van nicarbazine bevattend voer gedurende de eerste 18 dagen, maar de gehalten in vlees en lever overschrijden de voorgestelde "norm" van resp 0,1 en 0,2 mg/kg in vlees en lever niet.

Lage gehalten nicarbazine in eindvoerders bestemd voor vleeskuikens leiden tot meetbare gehalten in vlees en lever. De voorgestelde norm van 0,5 mg/kg nicarbazine in eindvoerders leidt niet tot overschrijding van de "produktnorm" van resp. 0,1 en 0,2 mg/kg in vlees en lever, ook niet in combinatie met recirculatie via het strooisel veroorzaakt door toediening van standaard nicarbazine houdend voer (141 mg/kg) in de eerste 18 dagen.

LITERATUUR

Anonymus, Rapport Basel-Stadt, Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittelhygiene, **84**, 442 (1993)

S. Castelli, G.F. Brambilla, A. Riberzani en A. Macri, Nicarbazin: depletion of DNC component from liver and muscle of broilers, *Industria Alimentari*, **28**, 947-949 (1989)

I. Clark, R.F. Geoffroy, J.L. Gilfillan en C.C. Porter, Absorption and elimination of carbon¹⁴ labelled nicarbazin by chickens, *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, **91**, 4-6 (1956)

M.L. Cortesi, F. de Giovanni, G. Catellani en A. Lucisano, Nicarbazine residues in poultry and rabbit tissues of the market, *Industrie Alimentari*, **27**, 999-1001 (1988)

P. Dorn, J. Neudegger en H.O. Knöppler, Zur Problematik der Wirkstoff-Verschleppung bei der Mischfutterherstellung am Beispiel Nicarbazine, *Tierärztliche Umschau*, **43**, 524-528 (1988)

A. Grassitelli, E. Pierdominici, A. Macri en S. Castelli, Nicarbazine residue persistency in poultry liver, *Industria Alimentari*, **29**, 237-238 (1990)

S. Horii, H. Miyakawa, K. Igusa en T. Maruyama, Survey of antibiotic residues in livestock and fishery products. Annual Report Tokyo Metropolitan Research Laboratory P.H., **42**, 124-128 (1991)

Y. Hoshino, M. Horie en N. Nose, Determination of nicarbazine in chicken muscle and egg by High Performance Liquid Chromatography, *Journal of the Food Hygienic Society Japan*, **23**, 265-269 (1982)

Y. Manda, T. Matsushita, M. Yoshioka en K. Aoyama, Residues of the synthetic antibacterial agent nicarbazine in commercial poultry meat, *Japanese Journal of Hygiene*, **40**, 197 (1985)

N. Nose, Y. Hoshino, Y. Kikucji, H. Masaki, S. Horie en S. Kawauchi, Residues of synthetic antibacterial feed additives in tissues and eggs of chickens, *Journal of the Food Hygienic Society Japan*, **23**, 246-252 (1982)

M. Petz, Tierarzneimittel-Rückstände in Lebensmitteln - Ein Überblick, *Lebensmittelchemie*, **47**, 26-31 (1993)

C.C. Porter en J.L. Gilfillan, The absorption and excretion of orally administered nicarbazine by chickens, *Poultry Science*, **34**, 995-1001 (1955)

Verordening Diervoeder 1986, Diervoederwetgeving in Nederland deel 1, blz. 3-1.

GROEPSINDELING

Groep	Voederregime nicarbazine
1	18 dagen 141 mg/kg nicarbazine; 22 dagen blanco
2	18 dagen 141 mg/kg nicarbazine; 17 dagen blanco; 5 dagen 0.6 mg/kg nicarbazine
3	40 dagen blanco
4	35 dagen blanco; 5 dagen 0,2 mg/kg nicarbazine
5	35 dagen blanco; 5 dagen 0,6 mg/kg nicarbazine
6	35 dagen blanco; 5 dagen 3,0 mg/kg nicarbazine

LICHTSCHEMA

De eerste dag werd continue licht verstrekt. Daarna werd overgegaan op een schema van 1 uur licht en 3 uur donker.

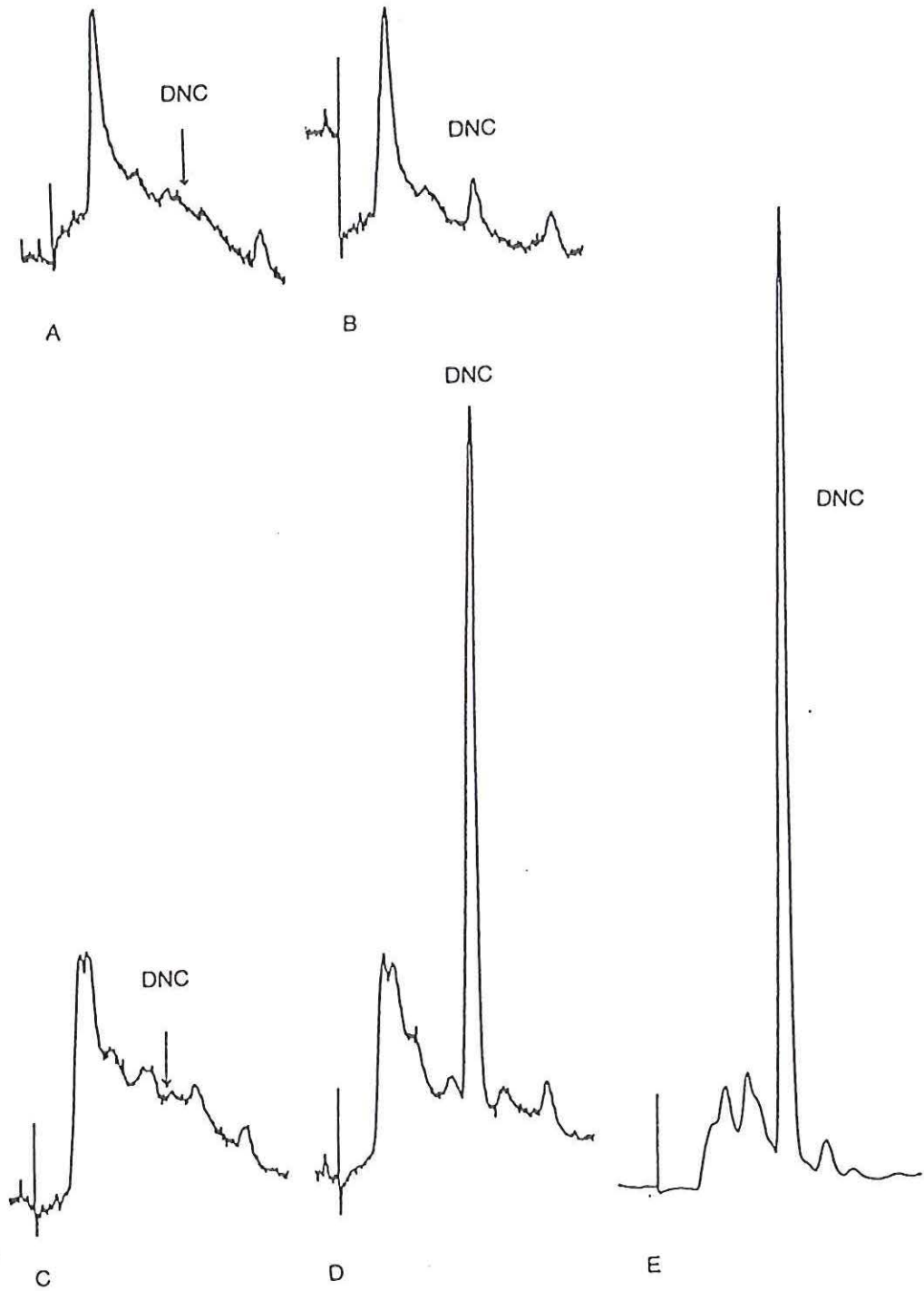
RUIMTETEMPERATUUR

De ruimtetemperatuur werd ingesteld op 33 °C gedurende eerste dag. De temperatuur daalde daarna met 3 °C per week totdat na 5,5 weken een temperatuur van 18 °C werd bereikt.

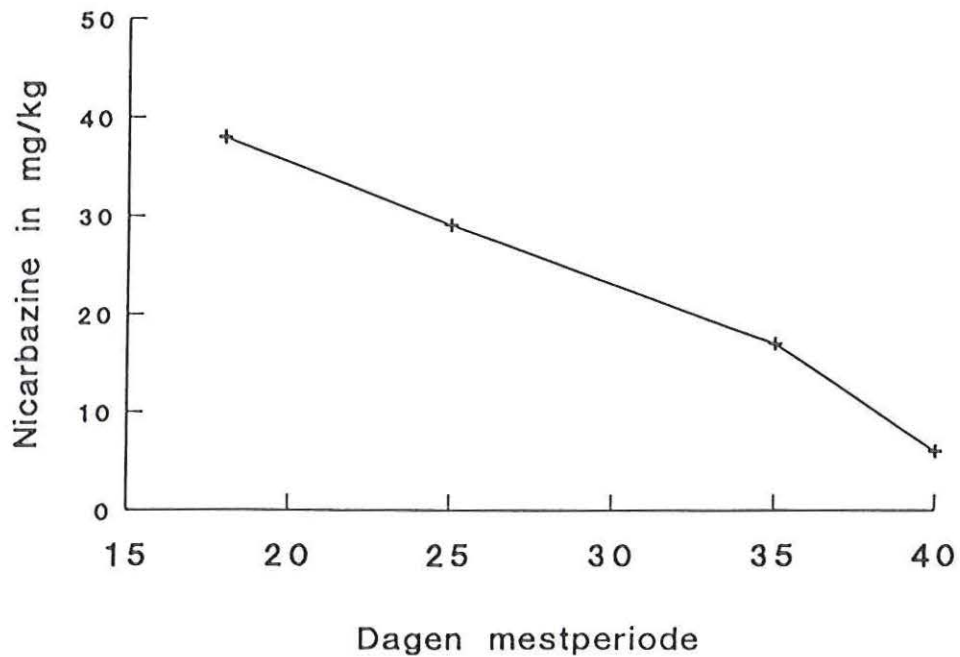
GEZONDHEIDSZORG

De dieren werden conform de landelijke voorschriften geënt tegen Infectieuze Bronchitis (IB) en Pseudo Vogelpest (NCD) op de eerste dag, op 14 dagen tegen de ziekte van Gumboro en op 21 dagen opnieuw tegen NCD.

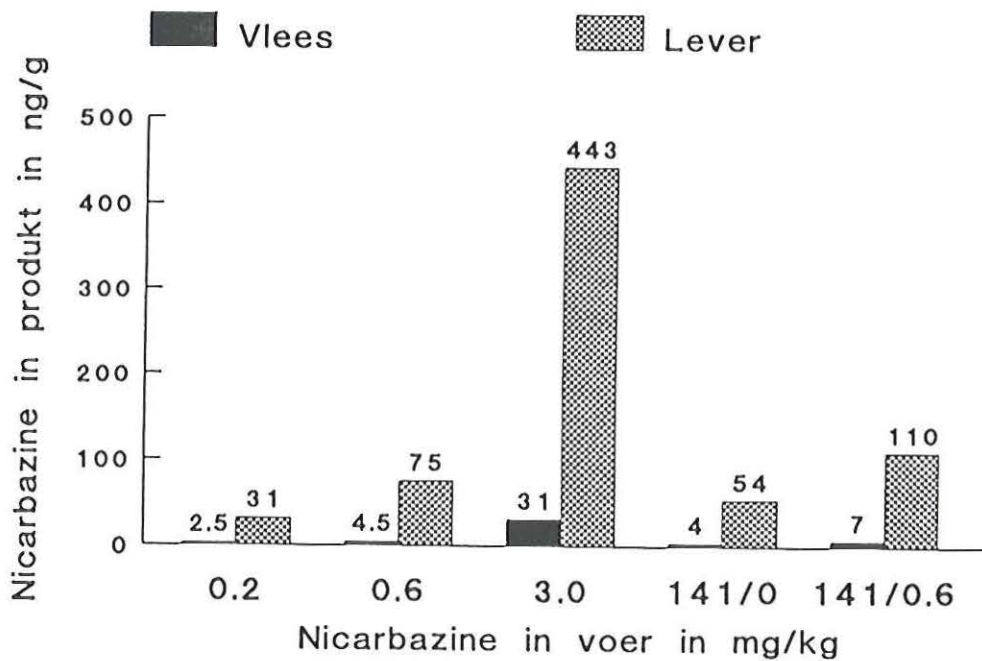
Op dode dieren werd sectie gepleegd om de reden van sterfte te achterhalen.



Voorbeeldchromatogrammen voor de bepaling van residuen DNC in A) vlees proefgroep 3; B) vlees proefgroep 4; C) lever proefgroep 3; D) lever proefgroep 4 en E) strooisel/mest monster 10-11-94.



Figuur 1: Grafische weergave van de relatie tussen het nicarbazine gehalte in mest/strooisel en het aantal dagen verstreken na de start van de proef.



Figuur 2: Nicarbazine gehalten in borstvlees en lever in relatie tot het niveau in het voer toegediend in de laatste vijf dagen voor de slacht en de aanwezigheid van nicarbazine in het strooisel.

