

Project 404 0603

Tranquillizer surveillance in varkensnieren t.b.v. het VKA keurings-  
project. Projectleider drs M.M.L. Aerts.

Rapport 88.50 mei 1988

OVERZICHT VAN DE ANALYSERESULTA-  
TEN VAN HET VKA SURVEILLANCE PRO-  
GRAMMA TRANQUILLIZERS EN bèta-  
-BLOCKERS IN VARKENSNIEREN.

PERIODE JUNI t/m SEPTEMBER 1987

drs M.M.L. Aerts; H.J. Keukens

Afdeling : Diergeneesmiddelen

Goedgekeurd door: dr F.A. Huf

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

INTERN : directeur

Hoofdafdelingshoofden

Afd. Dgm (4\*)

Afd. Tox.

Afd. BFA

Afd. Microb.

Afd. OCON

Projectleider (Aerts)

Produktcoördinator Dierlijke Produkten (Den Hartog)

EXTERN : Dir. VKA

Dir. VD

Dir. VZ

Dir. RVV

CL-RVV

RVV-kringlaboratoria

Dir. DLO

RIVM

Dir. VHI

P.V.V.

RVV kring 6 - dr J. Nouws

VVDO

TFTO

## INHOUD

### SAMENVATTING

1. INLEIDING
2. OPZET VAN HET ONDERZOEK
3. RESULTATEN EN DISCUSSIE
4. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

### LITERATUUR

#### SAMENVATTING

In totaal zijn circa 1000 varkensnier monsters onderzocht op de aanwezigheid van de tranquillizers: xylazine, azaperon, acepromazine, haloperidol, propionylpromazine, chloorpromazine en de bèta-blocker carazolol. De monsters werden verzameld in de zomerperiode juni tot september 1987 en waren afkomstig van alle RVV kringlaboratoria, verspreid door het hele land.

In totaal werden 26 monsters positief bevonden op één of meer van de genoemde stoffen. Dit is 2,6% van het totaal. Hiervan bevatte het meereindeel acepromazine (22) en werden daarnaast carazolol (4) en azaperon (2) aangetroffen. In twee monsters werden acepromazine en carazolol in combinatie aangetroffen. Naast genoemde verbindingen werd in een aantal monsters een nog niet nader identificeerbare component aangetroffen.

Op één uitzondering na (120 µg/kg acepromazine), waren alle gemeten gehalten lager dan 100 µg/kg nier.

Er kon geen samenhang gevonden worden tussen de residu-incidentie en de ten tijde van de monsternamen heersende luchtvochtigheid en temperatuur.

## INLEIDING

Het gebruik van tranquillizers en  $\beta$ -receptor blockers bij het transport van slachtvarkens en stieren staat al geruime tijd ter discussie. Enerzijds is door veredeling de stress-bestendigheid van het Nederlandse varken verbeterd waardoor de noodzaak tot gebruik afgenomen is, anderszijds kunnen de toegepaste middelen aanleiding geven tot ongewenste residuen in eetbare produkten.

Derhalve wordt het gebruik van deze middelen door het Ministerie van Landbouw en Visserij ontmoedigd.

Er ontbrak recente informatie over de werkelijke omvang en aard van de toepassing, onder meer door het ontbreken van goede analysemethoden waarmee op zeer laag niveau residuen aangetoond konden worden. Rauws et al (2,3) onderzochten in 1975 random bemonsterde varkensnieren uit het slachthuis van Oss op de aanwezigheid van azaperon (27 monsters) en propionylpromazine (14 monsters). Azaperon werd in 74% en propionylpromazine in 100% van de onderzochte monsters aangetoond. Daarnaast leverden berichten uit de Bondsrepubliek Duitsland, waar bij screening van een (te) klein aantal monsters, in 22% van de varkensnieren en/of levers carazolol aangetoond werd (1), een extra stimulans de Nederlandse situatie in kaart te brengen.

In samenwerking met de vakgroep voor Voedingsmiddelen van Dierlijke Oorsprong (R.U.Utrecht) en het RIVM, werd binnen het RIKILT een methode ontwikkeld waarmee residuen van carazolol, acepromazine, propionylpromazine, azaperon, chloorpromazine, azaperol, haloperidol en xylazine simultaan in varkensnieren bepaald konden worden vanaf concentraties variërend van 0,3 tot 6  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (4).

De methode werd op bruikbaarheid getest via de analyse van monsters afkomstig van een aantal praktijk experimenten opgezet in samenwerking met dr J.Nouws (RVV-6). Met uitzondering van haloperidol en chloorpromazine, welke niet getest werden, waren 5 uur na toediening van de voorgeschreven, normale dosis, met deze analysemethode nog residuen van de moederverbinding en/of metabolieten (azaperol), aantoonbaar in de nier (4).

De beschikbaarheid van deze methode maakte het mogelijk een tweetal projecten op te zetten voor de inventarisatie van het gebruik en het voorkomen van residuen van bovengenoemde middelen.



Allereerst werden in het kader van het IKB-slachtvarkens project 500 varkensnieren, afkomstig van goed gekarakteriseerde mestbedrijven, onderzocht op de aanwezigheid van de tranquillizers. Slechts in 2 monsters werd een van de middelen (acepromazine, resp. 50 en 100 µg/kg) aangetroffen.

Het tweede project, gefinancierd door de directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden, was bedoeld om een globaal beeld van de residu incidentie in Nederland te verkrijgen. De monsters zijn genomen in de periode juni t/m september 1987. Om een mogelijk verband te kunnen leggen tussen de residu incidentie en de stressgevoelige factoren temperatuur c.q. relatieve vochtigheid zijn er tevens weersgegevens verzameld.

De resultaten van het onderzoek staan in deze rapportage beschreven.

## 2 OPZET ONDERZOEK

### 2.1 Monstername

De 1003 te onderzoeken monsters werden verkregen van de verschillende RVV kringlaboratoria, verspreid door het hele land. Elk kringlaboratorium stuurde gedurende 17 weken elke week diepgevroren varkensniermonsters naar het RIKILT. Het aantal monsters dat per kringlaboratorium per week werd ingezonden was evenredig met het aantal controles dat per jaar in het betreffende kringlaboratorium in het kader van het 0,5% antibiotica onderzoek uitgevoerd werd in vergelijking tot het totaal. In Tabel I is dit verdelingsschema aangegeven. De identiteit van het mestbedrijf waarvan de monsters afkomstig waren, was veelal onbekend. Evenmin was altijd duidelijk of de per week door het kringlaboratorium ingestuurde monsters in alle gevallen van verschillende koppels afkomstig waren.

Van het KNMI werden de gegevens verkregen over de wekelijkse gemiddelde temperatuur en de gemiddelde relatieve vochtigheid in de bemonsteringsperiode.

### 2.2 Analyse

De diepgevroren niermonsters werden onderzocht met behulp van de recent binnen het RIKILT ontwikkelde multimethode (4). Bij elke serie

van 21 monsters werden een blanco niermonster, een met de zes tranquillizers verrijkt monster en een positief niermonster, afkomstig van een met carazolol behandeld varken, mede geanalyseerd als kwaliteitsborging. Indien een monster positief bevonden werd bij de eerste analyse, is altijd een heranalyse uitgevoerd op het restant van de nier. Alleen die monsters waarvan beide, onafhankelijke analyseresultaten overeenkwamen in identiteit en gehalte van de tranquillizer, zijn als positief eindresultaat opgenomen.

De aanwezigheid van azaperon wordt in het HPLC chromatogram als het ware intern bevestigd door de gelijktijdige aanwezigheid van een hoger gehalte aan de metabooliet azaperol. Carazolol vertoont een zeer selectief en gevoelig fluorescentie signaal waardoor zeer lage concentraties betrouwbaar bepaald kunnen worden.

Bij de interpretatie van de resultaten werden de volgende bepaalbaarheidsgrenzen aangehouden:

CARAZOLOL	: 0,3 µg/kg
XYLAZINE	: 4 µg/kg
AZAPERON	: 1 µg/kg
AZAPEROL	: 2 µg/kg
HALOPERIDOL	: 2 µg/kg
ACEPROMAZINE	: 2 µg/kg
PROPIONYLPROMAZINE	: 4 µg/kg
CHLOORPROMAZINE	: 6 µg/kg

### 3 RESULTATEN

De resultaten van de 26 positieve monsters zijn weergegeven in de tabellen II, III en IV.

Per verbinding wordt aangegeven welk gehalte gemeten werd, in welke week het monster door welk kringlab genomen werd en wat de gemiddelde dagtemperatuur en relatieve vochtigheid was in de week waarin het monster genomen werd.

De resultaten in de tabellen geven aan dat acepromazine het meest wordt toegepast in de Nederlandse praktijk. Ruim twee procent van de onderzochte nieren bevatte residuen van deze stof in concentraties variërend van 8 - 120 µg/kg. In nieren van varkens welke in een eerder uitgevoerde modelproef met een normale dosis acepromazine werden

behandeld werd 2 en 5 uur na de slacht resp. ca. 260 en 35 µg/kg acepromazine aangetroffen. De gemeten gehalten in de praktijkmonsters liggen dus in dezelfde grootte orde. Opvallend is dat in twee monsters de combinatie van acepromazine en carazolol aangetoond werd. In nog twee andere monsters werden zeer lage carazolol concentraties aangetroffen waardoor in totaal 0,4% van de onderzochte nieren positief waren voor carazolol. Bij een normale dosering kunnen 2-5 uur na toediening gehalten in de range van 0,5 - 5 µg/kg verwacht worden (4), hetgeen overeenkomt met de in het huidige onderzoek gevonden waarden. De in de Bondsrepubliek Duitsland geconstateerde hoge residu incidentie voor carazolol wijkt duidelijk af van de hier gevonden resultaten.

In de twee azaperon bevattende monsters (0,2%) werd, zoals op grond van de farmacokinetiek ook verwacht kon worden, ook een vier- tot vijfvoudige concentratie van de metabool azaperol gemeten. De aanwezigheid van deze verbinding lijkt dan ook een goede indicator voor het gebruik van azaperon.

De gevonden residu incidentie voor azaperon is veel lager dan welke in 1975 door Rauws et al (2,3) werd gevonden. De door Rauws et al gerapporteerde residu incidentie voor propionylpromazine werd ook niet bevestigd. In geen enkel monster werd propionylpromazine aangetoond. Uit de door het KNMI geleverde informatie over de weersgesteldheid, blijkt de zomer van 1987 koud en nat geweest te zijn. Er lijkt geen verband te bestaan tussen de temperatuur in een bepaalde week en de in die week aangetroffen residu incidentie. Wel is het zo dat verwacht mag worden dat in een warme zomer veelvuldiger gebruik gemaakt zal worden van kalmerende middelen dan in een koude zomer. Een herhaling van het onderzoek kan hierover meer duidelijkheid geven.

De interpretatie van de resultaten wordt wat gecompliceerd door de constatering dat in sommige gevallen, b.v. kringlab 3 in week 26 en 32 (Tabel II), de ingezonden monsters afkomstig lijken te zijn van eenzelfde koppel varkens.

Opvallend is verder dat de laboratoria welke de meeste monsters hebben ingezonden - 5, 7 en 13 - samen maar één positief monster opleverden. Een mogelijke verklaring is dat in deze kringen een groot aantal varkens geslacht wordt dat afkomstig is van twee grote cooperaties. Deze hebben de leveranciers en de transporteurs van mestvarkens verboden om van tranquillizers gebruik te maken.



Aangezien de betrouwbaarheid en de representativiteit van het onderzoek in sterke mate bepaald worden door het aantal onderzochte koppels, zal in een eventueel vervolgonderzoek nog dringender dan nu het geval is geweest gesteld moeten worden dat elk ingezonden monster afkomstig is van een ander koppel varkens.

#### 4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Concluderend kan gesteld worden dat in de Nederlandse praktijk gebruik gemaakt wordt van kalmerende middelen tijdens het transport van slachtvarkens. Acepromazine werd in 22 van de 1003 onderzochte monsters (2,2%), aangetroffen in gehalten variërend van 8-120 µg/kg. Andere middelen waarvan residuen aantoonbaar waren zijn carazolol (0,6-4 µg/kg) in 0,4% van de monsters en azaperon/azaperol (8-115 µg/kg) in 0,2% van de monsters.

In relatie tot eerder (beperkt) onderzoek van Rauws et al (2,3) in 1975 is de residu incidentie voor azaperon en propionylpromazine nu zeer laag in vergelijking met 1975.

De gemeten concentraties in de praktijkmonsters komen overeen met in oriënterende uitscheidingsexperimenten vastgestelde residugehalten in nieren van varkens welke twee tot vijf uur na toediening van de door de fabrikant geadviseerde dosering zijn geslacht. Geen enkel monster bevatte een tranquillizer- gehalte boven 120 µg/kg.

Het verdient aanbeveling jaarlijks in de zomerperiode een surveillance analoog aan de nu uitgevoerde te verrichten, om de situatie van de residu incidentie en de aard van de gebruikte middelen in kaart te brengen.

#### REFERENTIES

1. M.Rudolph, H.Steinhardt . Deutsche Lebensmittel Rundschau, 83,273,(1987)
2. A. Rauws, M. Olling, J. Vet. Pharmacol. Therap. 1, 57-62 (1978)
3. A. van Miert et al, Trends in Veterinary Pharmacology and Toxicology, Amsterdam, Elsevier (1980) blz. 335-336.
4. RIKILT rapport 88.02, H.J.Keukens. De bepaling van tranquillizers en de bèta-blocker carazolol in varkensnier.

TABEL 1 SCHEMA MONSTERINZENDING VAN RVV KRINGLABORATORIA.

KRING	MONSTERS PER WEEK	TOTAAL AANTAL MONSTERS NA 17 WEKEN
1	1	17
2	4	68
3	3	51
4	3	51
5	6	102
6	5	85
7	9	153
8	4	68
9	1	17
11	5	85
12	3	51
13	7	119
14	4	68
15	4	<u>68</u>

Totaal : 1003

TABEL II. POSITIEVE RESULTATEN ACEPROMAZINE.

GEHALTE ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	WEEK (23-44)	KRING (1-15)	TEMPER. ( $^{\circ}\text{C}$ )	REL. VOCHT. (%)
51	23	11	13,5	83
63	25	2	11,8	82
36	25	2		
39	25	15		
24	26	3	15,2	86
29	26	3		
34	26	3		
96	26	4		
12	26	9		
45*	26	15		
121	27	2	18,8	71
86	30	14	15,3	84
17	30	11		
79*	30	14		
8	31	6	15,2	87
28	32	3	13,1	82
37	32	3		
47	32	3		
68	32	15		
32	33	11	16,7	78
20	37	9	15,7	84
81	38	14	15,7	84
19	40	13	9,8	77

\* : behalve acepromazine werd ook carazolol aangetroffen.

TABEL III : POSITIEVE RESULTATEN CARAZOLOL.

GEHALTE ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	WEEK (23-44)	KRING (1-15)	TEMPER. ( $^{\circ}\text{C}$ )	REL. VOCHT. (%)
1,3*	26	15	15,2	86
1,6*	30	14	15,3	84
0,6	33	11	16,7	78
4,0	35	4	16,1	86

\* : behalve carazolol werd ook acepromazine aangetroffen,



TABEL IV, POSITIEVE RESULTATEN AZAPERON/AZAPEROL

GEHALTE ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	WEEK (23-44)	KRING (1-15)	TEMPER. ( $^{\circ}\text{C}$ )	REL. VOCHT. (%)
8,5/46*	28	15	18,1	69
24/114*	41	15	12,1	83

\* : gehalte azaperol