



> Retouradres Postbus 43006 3540 AA Utrecht

Aan de Inspecteur-Generaal van de NVWA

Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Dimetridazol in producten van dierlijke oorsprong

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Catharijnesingel 59
3511 GG Utrecht
Postbus 43006
3540 AA Utrecht
www.nvwa.nl

Contactpersoon

T 088 223 33 33
risicobeoordeling@vwa.nl

Onze referentie

trcwa/2018/6117

Datum

20 augustus 2018

Aanleiding

In februari 2018 heeft de NVWA via het Centraal Orgaan voor Kwaliteitsaangelegenheden in de Zuivel (COKZ) een melding ontvangen dat in Canada dimetridazol aangetroffen is in kaas afkomstig uit Nederland. Het COKZ heeft onderzoek gedaan naar de mogelijke bron (besmette melk), maar niet kunnen traceren waar het dimetridazol in de melk of kaas is gekomen.

Verordening (EU) Nr. 37/2010¹ classificeert dimetridazol als een verboden stof (Tabel 2 in de bijlage van de Verordening). Het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) kan geen maximum residu limiet (MRL) vaststellen voor dimetridazol.

Het Nationaal Plan Residuen (NPR) is een door de Europese Unie (EU) voorgeschreven monitoringsprogramma voor dieren en dierlijke producten. Dit monitoringsprogramma heeft als doel de opsporing van residuen van niet toegestane stoffen, stoffen met een anabole werking, diergeneesmiddelen en contaminanten bij levende dieren en in producten daarvan. In het kader van het NPR wordt de aanwezigheid van dimetridazol wel onderzocht in paard (urine), pluimvee (vleeskuikenvlees) en varken (varkensvlees). Op dit moment wordt in het NPR voor melk en eventuele andere matrices van een rond de mogelijke aanwezigheid van dimetridazol niet onderzocht.

Het bovenstaande is voor de directeur Handhaving van de NVWA aanleiding om bureau Risicobeoordeling & onderzoek (BuRO) advies te vragen over de risico's voor de volksgezondheid na consumptie van met dimetridazol besmette producten van dierlijke oorsprong. Ook vraagt de directeur Handhaving advies over het eventueel opnemen van dimetridazol in het NPR.

Aanpak

BuRO heeft het RIVM RIKILT Front Office Voedsel- en Productveiligheid (Front Office) gevraagd een advies op te stellen met betrekking tot de volgende vragen:

¹ VERORDENING (EU) Nr. 37/2010 betreffende farmacologisch werkzame stoffen en de indeling daarvan op basis van maximumwaarden voor residuen in levensmiddelen van dierlijke oorsprong.

- 1 *Wat is het maximale gehalte dimetridazol dat producten van dierlijke oorsprong mogen bevatten voordat consumptie van deze producten leidt tot mogelijke effecten op de volksgezondheid?*
- 2 *Welke matrix van een rund heeft de voorkeur om bemonsterd te worden (bijv. vlees, melk, urine)?*

Daarnaast heeft BuRO met behulp van informatie van het RIKILT (Wageningen University & Research) en de Inlichtingen en Opsporingsdienst (IOD) van de NVWA geprobeerd een inschatting te maken van het mogelijke gebruik van dimetridazol in Nederland.

Bevindingen

- Dimetridazol (DMZ; 1,2-dimethyl-5-nitroimidazol) is een antibioticum behorend bij de groep nitroimidazolen die gebruikt worden bij de behandeling van infecties bij dieren en mensen veroorzaakt door anaerobe bacteriën en protozoa.
- In de Europese Unie, de Verenigde Staten, China, Canada, Japan, Brazilië en Australië is het gebruik van nitroimidazolen, waaronder dimetridazol, verboden bij voedselproducerende dieren. Er zijn inmiddels voldoende (moderne) geregistreerde alternatieven op de markt.
- In totaal zijn in de periode 2008 - 2015 naar aanleiding van de nationale monitoringsprogramma's van EU-lidstaten zeven positieve resultaten gemeld voor dimetridazol (rund, varken, schaap/geit, pluimvee uit Slowakije; varken uit Tsjechië; konijn uit Italië).
- Gezien de beperkingen van de toxicologische database bestaat onzekerheid over de mogelijke genotoxiciteit en carcinogeniteit van dimetridazol. Op basis van analogie met andere 5-nitroimidazolen wordt dimetridazol uit voorzorg als genotoxisch en carcinogeen beschouwd.
- Voor genotoxisch carcinogenen of stoffen met een "structural alert" voor genotoxiciteit wordt een zgn. Threshold of Toxicological Concern (TTC) van 0,15 µg per dag voor een volwassene van 60 kg gehanteerd.
- De maximale toelaatbare concentratie van de som van dimetridazol en HMMNI (metaboliet) in producten van dierlijke oorsprong voordat effecten op de gezondheid optreden is door het Front Office berekend als 0,2 µg/kg (vlees), 0,04 µg/kg (melk) en 0,6 µg/kg (eieren). Deze concentraties zijn berekend aan de hand van TTC consumptiegegevens van de EMA 'food basket' en de TTC.
- Op basis van de beschikbare informatie van Europese referentielaboratoria wordt aanbevolen spier, plasma/serum of melk te bemonsteren. Waarbij naast de metaboliet HMMNI ook de moederstof (dimetridazol) meegenomen moet worden in de bepaling, omdat alleen HMMNI niet specifiek genoeg is.

Beantwoording van de vragen

- 1 *Wat is het maximale gehalte dimetridazol dat producten van dierlijke oorsprong mogen bevatten voordat consumptie van deze producten leidt tot mogelijke effecten op de volksgezondheid?*
Volgens de berekeningen van het Front Office mag de maximale toelaatbare concentratie dimetridazol en HMMNI (metaboliet) in producten van dierlijke oorsprong voordat effecten op de gezondheid optreden 0,2 µg/kg (vlees), 0,04 µg/kg (melk) en 0,6 µg/kg (eieren) zijn.
- 2 *Welke matrix van een rund heeft de voorkeur om bemonsterd te worden (bijv. vlees, melk, urine)?*
Op basis van de beschikbare informatie van Europese referentielaboratoria wordt aanbevolen spier, plasma/serum of melk te bemonsteren.

3 *Moet dimetridazol, bemonsterd bij lacterende runderen, opgenomen worden in het NPR?*

Het opnemen van dimetridazol in het NPR bij lacterende runderen, lijkt vooralsnog een te groots opgezette aanpak. Op basis van informatie van RIKILT en de IOD lijkt deze casus als incident beschouwd te moeten worden. Het risico voor de volksgezondheid lijkt daardoor verwaarloosbaar. De informatie van RIKILT en IOD is echter gebaseerd op een deskundigenoordeel en niet adequaat onderbouwd met gegevens. Daardoor is de relevantie voor de Nederlandse situatie onduidelijk. Om inzicht te krijgen in actuele situatie is het van belang om dimetridazol op te nemen in het bewakingsprogramma van het RIKILT.

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Datum

20 augustus 2018

Onze referentie

trcvwa/2018/6117

Advies NVWA-BuRO

Aan de Inspecteur-Generaal van de NVWA:

- Voeg dimetridazol en de metaboliet HMMNI (tijdelijk) toe aan de lijst van stoffen die onderzocht worden in melk in het kader van bewakingsonderzoek bij het RIKILT zodat inzicht verkregen wordt in het mogelijk gebruik van dimetridazol in de zuivelsector (n.a.v. het aantreffen van dimetridazol in kaas).

Hoogachtend,

*Prof. dr. Antoon Opperhuizen
Directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoek*

ONDERBOUWING

Wat is dimetridazol?

Dimetridazol (DMZ; 1,2-dimethyl-5-nitroimidazol) is een antibioticum behorend bij de groep nitroimidazolen die gebruikt worden bij de behandeling van infecties veroorzaakt door anaerobe bacteriën en protozoa (bijv. *Trichomonas vaginalis* of *Giardia lamblia*) in mensen en dieren (Zaghdoudi *et al.*, 2017).

Overzichtsrapportages van het Europees Geneesmiddelenbureau uit de jaren 90 beschrijven de toepassing van dimetridazol als diergeneesmiddel via voer ter preventie en behandeling van histomoniasis in kalkoenen, genitale trichomoniasis in runderen en hemorragische enteritis in varkens (EMA, 1996a; EMA, 1996b; EMA, 1996c).

In 1995 is in de Europese Unie (EU) de autorisatie van dimetridazol als diergeneesmiddel ingetrokken vanwege zorgen rondom mogelijke carcinogeniteit en de onvolledigheid van het dossier (EMA, 1996a; EMA, 1996b; EMA, 1996c). Het gebruik van dimetridazol is verboden in voedselproducerende dieren (Verordening (EU) Nr. 37/2010²). Het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) kan geen maximum residu limiet (MRL) afleiden omdat de beschikbare wetenschappelijke gegevens onvoldoende zijn. Er zijn inmiddels voldoende (moderne) geregistreerde alternatieven op de markt.

In de EU was dimetridazol toegelaten als voederadditief. De exacte datum van toelating is onbekend. In 2001 heeft de EU de autorisatie ingetrokken wegens de beschikbaarheid van onvoldoende data voor een herbeoordeling³. In 1997 en 1999 hebben Duitsland en Zweden verzocht de toelating in te trekken omdat er zorgen waren met betrekking tot mogelijke genotoxiciteit en aanwezigheid van residuen na de wachtermijn.

Het gebruik van nitroimidazolen, waaronder dimetridazol, in voedselproducerende dieren is ook verboden in de Verenigde Staten, China, Canada, Japan, Brazilië en Australië (Arias *et al.*, 2016; Granja *et al.*, 2013; Zaghdoudi *et al.*, 2017).

Toxicologie

Het Front Office heeft de toxicologie van dimetridazol samengevat en zich voornamelijk gericht op het meest kritische effecten van dimetridazol, namelijk de mutageniteit en carcinogeniteit (JECFA, 1989; JECFA, 1990; APVMA, 2007; SCAN, 2000; EMA, 1996a; EMA, 1996b; EMA, 1996c).

De 5-nitroimidazolen worden in dieren zeer uitgebreid gemetaboliseerd, waarbij over het algemeen oxidatie en reductie optreedt. Belangrijke metabolieten van dimetridazol zijn 2-hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazol (HMMNI) en 1-methyl-5-nitroimidazol-2-carboxylic acid (MNICA), waarbij MNICA gevormd wordt uit HMMNI.

Mutageniteit

Dimetridazol is positief bevonden in *in vitro* bacteriële mutageniteitstesten met *S. typhimurium* met nitroreductase activiteit. Negatieve resultaten werden gevonden in bacteriële mutageniteitstesten met nitroreductase-deficiënte stammen. Tevens werden negatieve resultaten verkregen in diverse *in vitro* en *in vivo* (zoogdier-

² VERORDENING (EU) Nr. 37/2010 betreffende farmacologisch werkzame stoffen en de indeling daarvan op basis van maximumwaarden voor residuen in levensmiddelen van dierlijke oorsprong.

³ Verordening (EG) nr. 2205/2001 tot wijziging van Richtlijn 70/524/EEG van de Raad betreffende toevoegingsmiddelen in de diervoeding, wat betreft de intrekking van de vergunning voor sommige toevoegingsmiddelen.

)testsystemen waaronder de 'dominant lethal assay', micronucleus test, genmutatie test in CHO cellen en UDS (unscheduled DNA synthesis) test. Eén positief resultaat werd gevonden in een *in vitro* Comet assay met humane lymfocyten.

Carcinogeniteit

Met betrekking tot de carcinogeniteit van dimetridazol zijn drie studies uitgevoerd bij ratten.

In de eerste studie (Bryan, 1970) werden ratten (Sprague-Dawley; vrouwtjes; 35/groep) blootgesteld aan dimetridazol via het voer gedurende 46 weken in een dosering van 200 mg/kg lichaamsgewicht per dag, waarna ze nog tot week 66 gevolgd werden. Blootstelling aan dimetridazol resulteerde in een significant verhoogde incidentie van goedaardige borsttumoren (fibroadenomen; 25/35 in de behandelde groep vs. 4/35 in de controle groep). Tevens was er in de behandelde groep een toename van het aantal dieren met meerdere borsttumoren.

In de tweede studie (Lowe *et al.*, 1976) werden CFY-ratten (50 mannetjes + 50 vrouwtjes/groep) via het voer blootgesteld aan dimetridazol gedurende 122 weken in voergehaltes van 0, 100, 400 of 2000 mg/kg voer, overeenkomend met doseringen van 0, 3,8, 15,1 en 77,7 mg/kg lichaamsgewicht per dag voor de vrouwtjesdieren en 0, 4,6, 18,3 en 94,1 mg/kg lichaamsgewicht per dag voor de mannetjesdieren. Een dosis-afhankelijke toename in de incidentie van goedaardige borsttumoren (adenomen, fibroadenomen, fibromen) was te zien vanaf een dosering van 400 mg/kg bij vrouwtjes. Bij de mannetjes is alleen een verhoogde incidentie waarneembaar bij de hoogste dosering (2000 mg/kg). Er was geen toename in de incidentie van kwaadaardige borsttumoren. In deze studie werd een hoog percentage voortijdige sterfte in alle doseringsgroepen en een hoge spontane tumorincidentie in de controle dieren gezien en is, als gevolg van de hoge mortaliteit, slechts een beperkt aantal dieren gebruikt voor histopathologische analyse.

In een derde studie (Lowe *et al.*, 1977) werden ratten (CFY; 50 mannetjes + 50 vrouwtjes/groep) blootgesteld aan dimetridazol in doseringen van 0 en 10 mg/kg voer gedurende 128 weken. Een kleine toename in borsttumoren werd gevonden, echter deze toename was niet statistisch significant.

Genotoxiciteit

Van gerelateerde 5-nitroimidazolen is bekend dat ze genotoxisch (metronidazol, ronidazol) en/of carcinogeen (metronidazol, ronidazol: borsttumoren in rat en longtumoren in muis) zijn (EMA, 1996d; EMA, 1996e; EMA, 1997). De genotoxiciteitsstudies met dimetridazol geven aanwijzingen dat deze stof genotoxisch is. Hoewel er geen sluitend bewijs (zowel positieve als negatieve resultaten in verschillende tests) is voor genotoxiciteit van dimetridazol, kan genotoxiciteit niet worden uitgesloten. Op basis van analogie met andere 5-nitroimidazolen wordt het waarschijnlijk geacht dat dimetridazol een genotoxische stof is. Het is niet uit te sluiten dat ook de metabolieten (o.a. HMMNI) genotoxisch zijn (APVMA, 2007).

Gezien de beperkingen van de toxicologische database bestaat onzekerheid over de mogelijke genotoxiciteit en carcinogeniteit van dimetridazol. Op basis van analogie met andere 5-nitroimidazolen wordt dimetridazol uit voorzorg door regulatoire instanties als genotoxisch en carcinogeen beschouwd.

Gezondheidskundige grenswaarden

Het Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) heeft in 1990 geconcludeerd dat vanwege een onvolledig dossier en vanwege de afwezigheid

van een carcinogeniteitsstudie in een tweede species geen acceptable daily intake (ADI) afgeleid kon worden (JECFA, 1990).

In 2000 concludeerde de EU Scientific Committee on Animal Nutrition (SCAN) dat dimetridazol als een niet-genotoxisch carcinogeen in zoogdieren beschouwd kan worden. Daarom heeft de SCAN een ADI afgeleid van 0,0046 mg/kg lichaamsgewicht per dag. De ADI is gebaseerd op een "No Observed Effect Level" (NOEL) van 4,6 mg/kg lichaamsgewicht per dag afgeleid uit een 122 weken durende carcinogeniteitsstudie met CFY ratten (Lowe *et al.*, 1976). Een veiligheidsfactor van 1000 is toegepast omdat de studie niet uitgevoerd is volgens de huidige GLP (Good Laboratory Practices) standaarden en omdat de hormonale gegevens voor de mannelijke ratten niet overeen kwam met het voorgestelde tumor generende mechanisme (SCAN, 2000).

In 2007 is dimetridazol door de Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority (APVMA) opnieuw beoordeeld, waarbij zowel toxiciteits- als residudata meegenomen zijn (APVMA, 2007). Een onvolledig dossier en mogelijke carcinogeniteit en/of mutageniteit van dimetridazol zijn de belangrijkste redenen om de ADI (3,8 mg/kg lichaamsgewicht per dag) afgeleid in 1986 in te trekken. Daarnaast concludeerde de APVMA dat de marker residu voor de analyse van dierlijke producten niet beperkt moest zijn tot dimetridazol, maar aangepast moest worden naar de *som* van dimetridazol en de hydroxy-metabooliet, HMMNI. Dit is gebaseerd op de residudata die laten zien dat HMMNI het belangrijkste residu in eetbare weefsels van behandelde dieren is.

Hierboven (onder het kopje carcinogeniteit) zijn drie carcinogeniteitsstudies beschreven (Bryan, 1970; Lowe *et al.*, 1976; Lowe *et al.*, 1977). Het Front Office concludeert dat de tweede studie (Lowe *et al.*, 1976) voldoende data biedt om een "point of departure" af te leiden voor een kwantitatieve kankerrisicoschatting. Echter, het Front Office concludeert ook dat de data uit deze studie onvoldoende betrouwbaar zijn omdat er een hoge sterfte was in zowel de onderzoeks- als controlegroep, een hoge spontane tumorincidentie was en er weinig weefsels beschikbaar waren voor histopathologisch onderzoek. Daarom heeft het Front Office geen "point of departure" afgeleid.

SCAN, als enige wetenschappelijke commissie, beschouwt dimetridazol als een niet-genotoxisch carcinogeen met een drempelwaarde. Ondanks deze conclusie hebben sommige commissieleden toch zorgen over mogelijke genotoxiciteit zoals blijkt uit voetnoten in het document. De opinie van SCAN is door de EU gepasseerd met het verbod op dimetridazol als voederadditief in 2001. In lijn met o.a. EMA en JECFA beschouwt het Front Office dimetridazol uit voorzorg als een genotoxische stof zonder drempelwaarde en is de ADI afgeleid door SCAN niet gebruikt in deze beoordeling.

Gezien het bovenstaande en ondanks het feit dat niet aan de voorwaarden⁴ wordt voldaan heeft het Front Office uit pragmatisch oogpunt gekozen om gebruik te maken van de Threshold of Toxicological Concern (TTC) benadering. Voor genotoxisch carcinogenen of stoffen met een "structural alert" voor genotoxiciteit wordt een TTC van 0,15 µg per dag voor een volwassene van 60 kg gehanteerd. Dit komt overeen met 0,0025 µg/kg lichaamsgewicht per dag (EFSA-WHO 2016).

⁴ De TTC benadering is niet toepasbaar wanneer stof specifieke toxiciteitsdata beschikbaar zijn (EFSA-WHO 2016).

Dimetridazol residuen

Het Front Office concludeert dat er geen studies beschikbaar zijn waarin de farmacokinetiek van dimetridazol in melkgevend runderen wordt bestudeerd. Wel zijn er studies beschikbaar in pluimvee en varkens. Bij de meeste studies is alleen het residu van dimetridazol bestudeerd en niet het residu van de meest relevante metaboliet HMMNI. Uitzondering hierop is de studie van Polzer en collega's waarbij kalkoenen behandeld zijn met dimetridazol via het drinkwater (Polzer *et al.*, 2004). Uit deze studie bleek dat HMMNI de meest relevante component is om als residu op te sporen in vlees, lever, plasma en retina. Verder bleek bij degradatiestudies in verschillende matrices dat residuen van HMMNI in vlees en lever snel afnemen bij kamertemperatuur en iets minder snel wanneer de monsters opgeslagen worden bij 4 °C. In plasma en retina (netvlies) is HMMNI stabiel bij zowel kamertemperatuur als 4 °C. In vergelijking met vlees of lever zijn de residuconcentraties in plasma en retina hoger (Polzer *et al.*, 2004).

In een residustudie werden varkens behandeld met een eenmalige dosering van 29,8 mg ¹⁴C-dimetridazol per kg lichaamsgewicht (APVMA, 2007). Tabel 2 geeft een overzicht van de residudata. Metaboliet HMMNI was de belangrijkste metaboliet in spier en nier.

Tabel 1. Identiteit en hoeveelheid van dimetridazol residuen in verschillende organen van varkens, 6 uur na een eenmalige dosering van 29,8 mg ¹⁴C-dimetridazol per kg lichaamsgewicht.

Residu	Dimetridazol residuen					
	spier		nier		lever	
	mg/kg	% van TRR	mg/kg	% van TRR	mg/kg	% van TRR
Dimetridazol	0,04	0,5	0,18	0,5	0,01	0,07
HMMNI	3,56	40,2	10,31	25,7	0,09	0,5
MNICA	1,33	13,8	1,55	3,6	NA	NA
Totaal	4,93	54,5	12,04	29,8	0,10	0,57

NA: niet aantoonbaar

TRR: totale radioactieve residuen, zoals aangetroffen in weefsel. Dit heeft geen betrekking op de totale radioactieve dosis

HMMNI: 2-hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazol

MNICA: 1-methyl-5-nitroimidazol-2-carboxylic acid

Het Front Office gaat, net zoals APVMA, er vanuit dat de marker residu voor de analyse van dierlijke producten niet beperkt moet zijn tot dimetridazol, maar aangepast moet worden naar de *som* van dimetridazol en de hydroxy-metaboliet, HMMNI. Uit tabel 1 blijkt dat de ratio van deze marker residu (dimetridazol + HMMNI) ten opzichte van de totale hoeveelheid residu ongeveer 40% is voor varkens (0,5% (dimetridazol) + 40,2% (HMMNI)).

Dimetridazol in dierlijke matrices

In totaal zijn in de periode 2008 - 2015 naar aanleiding van de nationale monitoringsprogramma's van EU-lidstaten zeven positieve resultaten gemeld voor dimetridazol (Tabel 2). Het exacte analyseresultaat wordt niet vermeld. Daarnaast geven de bijbehorende rapportages niet aan welke matrix bemonsterd is. Ook wordt niet aangegeven hoeveel monsters van bepaalde diersoorten per jaar in totaal door alle EU lidstaten samen op de aanwezigheid van dimetridazol zijn onderzocht. Alleen wanneer een resultaat afwijkend is wordt het aantal onderzochte monsters gespecificeerd.

Tabel 2. Overzicht van het aantal positieve monsters met dimetridazol geïdentificeerd naar aanleiding van nationale monitoringsprogramma's van EU-lidstaten*.

Jaar	Diersoort	Land	Aantal onderzochte monsters per land	Aantal monsters met dimetridazol
2009	Rund	Slowakije	19	1
2009	Varken	Slowakije	8	1
2012	Schaap / geit	Slowakije	2	1
2013	Varken	Tsjechië	6	1
2014	Pluimvee	Slowakije	24	1
2015	Pluimvee	Slowakije	35	1
2015	Konijn	Italië	14	1
Totaal			108	7

*Data ontleend aan https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/vet_med_residues_en.

In september 2017 heeft de Canadian Food Inspection Agency in kaas afkomstig uit Nederland dimetridazol aangetroffen (3 µg/kg). In Nederland zijn geen analyseresultaten beschikbaar van dimetridazol in melk of melkproducten, omdat er geen metingen naar dimetridazol zijn uitgevoerd.

Blootstelling aan dimetridazol

Voor de berekening van de maximaal toelaatbare concentratie dimetridazol in producten van dierlijke oorsprong voordat nadelige effecten op de gezondheid optreden maakt het Front Office gebruik van de 'food basket'. Deze wordt ook door het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) gebruikt om MRLs af te leiden (EMA, 2005). Bij het vaststellen van MRLs gaat EMA uit van een volwassene van 60 kg en een conservatieve inname via de food basket. Deze aanpak wordt ook conservatief genoeg geacht voor kinderen (EMA, 2002).

Tabel 3 presenteert de consumptiegetallen voor de hoofdcategorieën vlees, melk en eieren.

Tabel 3. Consumptiegetallen voor melk, vlees en eieren uit de EMA 'food basket'.

Product	Consumptie (g/dag)
Vlees	300
Melk	1500
Eieren	100

Conform de aanpak van EMA gaat het Front Office er vanuit dat alle metabolieten bijdragen aan de toxiciteit van dimetridazol. Daarom dient, bij de vaststelling van maximale toelaatbare gehalten, rekening gehouden te worden met de ratio markerresiduen (dimetridazol + HMMNI) ten opzichte van de totale hoeveelheid residu. Voor varkens wordt ongeveer 40% van de totale hoeveelheid residu bepaald door de markerresiduen (dimetridazol + HMMNI) (zie ook Tabel 1). Voor vlees van andere species (rund, kip, kalkoen, paard) zijn geen data beschikbaar om een species-specifieke ratio voor vlees af te leiden. Dit geldt ook voor koemelk en kippeneieren. In afwezigheid van species- en weefselspecifieke data, baseert het Front Office de ratio markerresidu (dimetridazol + HMMNI)/totaal residu op data van vlees van varkens. Dit is van toepassing op vlees van rund, kip, kalkoen en paard, koemelk en kippeneieren.

Bij de berekening van de maximaal toelaatbare concentratie dimetridazol wijkt het Front Office af van de reguliere aanpak van EMA door geen rekening te houden met een gelijktijdige dagelijkse consumptie van vlees, melk en eieren die mogelijk

besmet zijn met dimetridazol. Dit is te rechtvaardigen omdat dimetridazol een verboden stof is én in de nationale monitoringsprogramma's van de EU lidstaten nauwelijks wordt aangetroffen (Tabel 2). Het is daarom niet realistisch om te veronderstellen dat alle vlees, melk en eieren die dagelijks geconsumeerd worden besmet zouden zijn met dimetridazol.

Uitgaande van de TTC voor genotoxisch carcinogenen berekent het Front Office de maximale humane blootstelling totaal dimetridazol(metaboliet) op 0,15 µg/dag. Deze concentratie mag aanwezig zijn in 300 g vlees, of 1500 g melk of 100 g eieren. Dit resulteert in maximale gehalten totaal dimetridazol(metaboliet) van 0,5 µg/kg (=0,15 µg/300 g)*1000) vlees, 0,1 µg/kg melk en 1,5 µg/kg eieren. Het markerresidu (dimetridazol + HMMNI) maakt zoals aangenomen 40% uit van het totaal residu wat resulteert in maximaal toelaatbare gehalten markerresidu (dimetridazol + HMMNI) van 0,2 µg/kg (=0,5 µg/kg*0,4) voor vlees, 0,04 µg/kg voor melk en 0,6 µg/kg voor eieren (Tabel 4).

Tabel 4. Maximale concentratie van de som dimetridazol en HMMNI in producten van dierlijke oorsprong, berekend op basis van de EMA 'food basket'.

Dierlijk product	Maximaal toelaatbare concentratie van de som van dimetridazol en HMMNI (µg/kg)
Vlees	0,2
Melk	0,04
Eieren	0,6

Het Front Office merkt op dat de bovenstaande berekening van de maximale concentratie dimetridazol en HMMNI verschillende onzekerheden bevat, namelijk:

- *Markerresidudata*: de berekening is, conform de EMA-methode, gecorrigeerd voor de ratio dimetridazol + HMMNI/totaal residu. Op basis van de beschikbare residudata kon voor vlees van varkens een ratio dimetridazol + HMMNI/totaal residu afgeleid worden (0,4). Voor vlees van andere species (waaronder rund, paard, kalkoen en kip), koemelk en kippeneieren kon, omdat de benodigde data niet beschikbaar waren, geen ratio afgeleid worden. In afwezigheid van species- en weefselspecifieke data is aangenomen dat de factor van 0,4 ook van toepassing is op vlees en andere matrices van andere species. Dit brengt een onzekerheid met zich mee, waarvan onbekend is of dit tot een onder- dan wel overschatting leidt van het berekende maximale toelaatbare gehalte van de som van dimetridazol en HMMNI in dierlijke producten. Tevens, wordt er volgens deze aanpak ook van uitgegaan dat alle metabolieten genotoxisch zijn. Dit kan leiden tot een overschatting van het risico en daarmee tot een te lage schatting voor een maximaal toelaatbaar gehalte voor de som van dimetridazol en HMMNI.
- *Toxiciteitsdata*: de berekening is niet gebaseerd op stofs specifieke data, maar gebaseerd op een generieke Threshold of Toxicological Concern (TTC).

Risicobeoordeling

Uit de nationale monitoringsprogramma's van EU lidstaten blijkt dat in acht jaar tijd slechts 7 positieve resultaten gemeld zijn voor de aanwezigheid van dimetridazol in monsters van dierlijke oorsprong.

Canada heeft in kaas afkomstig uit Nederland dimetridazol aangetroffen (3 µg/kg). In Nederland zijn geen analyseresultaten beschikbaar van dimetridazol in producten van dierlijke oorsprong. Daarom kan voor de Nederlandse consument nu niet beoordeeld worden of er mogelijk sprake is van een risico voor de volksgezondheid.

Daarentegen kan wel berekend worden wat de maximale toelaatbare concentratie dimetridazol en HMMNI (metaboliet) in producten van dierlijke oorsprong mag zijn voordat effecten op de gezondheid optreden. De maximaal toelaatbare

concentratie is berekend op 0,2 µg/kg voor vlees, 0,04 µg/kg voor melk en 0,6 µg/kg voor eieren.

Matrices voor bemonstering

De European Reference Laboratories (EURLs; voorheen Community Reference Laboratories (CRLs)) hebben een richtsnoer opgesteld om de criteria te harmoniseren waaraan een analytische methode moet voldoen wanneer deze methode wordt gebruikt voor de analyse van componenten waarvoor geen MRL is vastgesteld (CLR, 2007). Tabel 5 geeft een overzicht van het advies EU-Referentie Laboratorium (EURL) advies met betrekking tot nitroimidazolen, gericht op het aantonen van hydroxymetabolieten (waaronder HMMNI).

Tabel 5. Een overzicht van het EURL advies met betrekking tot nitroimidazolen, gericht op het aantonen van hydroxymetabolieten (waaronder HMMNI).

Substantie	Marker residumetaboliet	Matrix	Aanbevolen concentratie*
Nitroimidazolen: Ronidazool Dimetridazol Metronidazool	Hydroxymetabolieten	<u>Pluimvee:</u> Plasma Serum Retina** Eieren	3 ppb (ug/kg)
		<u>Varkens (en andere species):</u> Plasma Serum Spier Retina	
		<u>Aquacultuur producten:</u> Spier Melk (Honing) (Drinkwater)	

* De CCbeta (detectievermogen) voor screeningsmethoden of de CCalpha (beslissingsgrens) voor bevestigingsmethoden moeten lager zijn dan de aanbevolen concentratie⁵.

** Voor retina is het niet mogelijk een "aanbevolen concentratie" te geven omdat het momenteel nog niet gedefinieerd is op welk deel van het oog (of op het hele oog) deze concentratie betrekking zou moeten hebben).

Aannemende dat in de bovenstaande tabel onder "en andere species" ook runderen zijn inbegrepen wordt door het Front Office aanbevolen om bij runderen plasma/serum, spier of melk te bemonsteren waarbij residuen van nitroimidazolen bepaald worden. Het Front Office concludeert dat retina onvoldoende is gespecificeerd en dat de "aanbevolen concentratie" zoals afgeleid door EURL niet van toepassing is omdat nog niet gedefinieerd is op welk deel van het oog (of op het hele oog) deze concentratie betrekking zou moeten hebben.

⁵ Voor dierbehandelingsmiddelen in dierlijke weefsels (zie ook Commissie Beschikking 2002/657) geldt voor screeningsmethoden dat voor die componenten waarvoor een Reference Point of Action (RPA) is ingesteld de CCbeta kleiner moet zijn dan de RPA en voor bevestigingsmethoden dat de CCalpha kleiner moet zijn dan de RPA. Omdat er maar voor een beperkt aantal verboden stoffen een officiële RPA is vastgesteld (nitrofuranen en chlooramfenicol) beveelt de EURL voor de overige verboden stoffen (waaronder dimetridazol) "recommended concentrations" aan als surrogaat voor de RPA.

De CCalpha en CCbeta zijn handhavingcriteria die aangeven vanaf welke concentratie een positief monster (op RPA niveau) ook daadwerkelijk als positief zal worden aangemerkt; niet te verwarren met Limit of detection (LOD) en Limit of quantification (LOQ) die iets zeggen over de capaciteiten van de analysemethode. De termen kunnen niet door elkaar heen worden gebruikt.

HMMNI is ook een metaboliet van ronidazol (JECFA, 1989). Daarmee is bepaling van alleen HMMNI als residu niet voldoende specifiek. Het Front Office adviseert om daarnaast ook dimetridazol mee te nemen in de bepaling, hoewel de concentratie moederstof aanzienlijk lager zal zijn dan die van HMMNI.

Conclusies

Dimetridazol (DMZ; 1,2-dimethyl-5-nitroimidazol) is een antibioticum behorend bij de groep nitroimidazolen die gebruikt worden bij de behandeling van mens of dier die geïnfecteerd zijn door anaerobe bacteriën en protozoa. In de Europese Unie, de Verenigde Staten, China, Canada, Japan, Brazilië en Australië is het gebruik van nitroimidazolen, waaronder dimetridazol, verboden om te gebruiken bij voedselproducerende dieren.

Gezien de beperkingen van de toxicologische database bestaat onzekerheid over de mogelijke genotoxiciteit en carcinogeniteit van dimetridazol. Op basis van analogie met andere 5-nitroimidazolen wordt dimetridazol uit voorzorg als genotoxisch en carcinogeen beschouwd. Voor genotoxisch carcinogenen of stoffen met een "structural alert" voor genotoxiciteit wordt een TTC van 0,15 µg per dag voor een volwassene van 60 kg gehanteerd.

In totaal zijn in de periode 2008 - 2015 naar aanleiding van de nationale monitoringsprogramma's van EU-lidstaten zeven positieve resultaten gemeld voor dimetridazol.

De maximale toelaatbare concentratie dimetridazol en HMMNI (metaboliet) in producten van dierlijke oorsprong voordat effecten op de gezondheid optreden is berekend als 0,2 µg/kg (vlees), 0,04 µg/kg (melk) en 0,6 µg/kg (eieren).

Op basis van de beschikbare informatie van Europese referentielaboratoria wordt aanbevolen spier, plasma/serum of melk te bemonsteren. Waarbij naast de moederstof (dimetridazol) ook de metaboliet HMMNI meegenomen moet worden in de bepaling omdat alleen HMMNI niet specifiek genoeg is. Het aanbevolen gehalte (3 µg/kg) dat een analytische methode moet aan tonen ligt hoger dan de maximaal toelaatbare concentraties in vlees, melk en eieren voordat effecten op de gezondheid optreden.

Literatuur

- APVMA., 2007. The reconsideration of registrations of products containing dimetridazole and their associated approved labels. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority.
- Arias, M., Chevallier, O.P., Graham, S.F., Gasull-Gimenez, A., Fodey, T., Cooper, K.M., *et al.*, 2016. Metabolomics reveals novel biomarkers of illegal 5-nitromimidazole treatment in pigs. Further evidence of drug toxicity uncovered. *Food Chem*, 199: 876-84.
- Bryan, G.T., 1970. Study on the chronic toxicity of dimetridazole. Unpublished report from Research Division, Dr Salsbury Laboratories, Charles City, Iowa, USA.
- CLR., 2007. CRL GUIDANCE PAPER (7 December 2007) CRLs VIEW ON STATE OF THE ART ANALYTICAL METHODS FOR NATIONAL RESIDUE CONTROL PLANS.
- EFSA-WHO., 2016. Review of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) approach and development of new TTC decision tree. *EFSA Supporting Publications*, 13(3): 1006E.
- EMA., 1996a. Dimetridazole (1) Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 1996b. Dimetridazole (2) Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 1996c. Dimetridazole (3) Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 1996d. Ronidazole (1) Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 1996e. Ronidazole (2) Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 1997. Metronidazole Summary Report. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 2002. Position Paper on the establishment of MRLs for milk considering the daily intake by children. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA., 2005. Volume 8. Notice to applicants and Guideline. Veterinary medicinal products. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. The European Medicines Agency.
- Granja, R.H., Nino, A.M., Reche, K.V., Giannotti, F.M., de Lima, A.C., Wanschel, A.C., *et al.*, 2013. Determination and confirmation of metronidazole, dimetridazole, ronidazole and their metabolites in bovine muscle by LC-MS/MS. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 30(6): 970-6.
- JECFA., 1989. FAO and Nutrition paper 41/2. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Prepared by the 34th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- JECFA., 1990. WHO Food Additives Series 25. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Prepared by the 34th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- Lowe, C.Y., Ingham, B. & Grimett, J.E., 1976. Dimetridazole (Emtryl): Tumourigenicity study in rats. Unpublished report RES/2508 from the Pharmaceutical Research Laboratories, May & Baker Ltd., Dagenham,

- Essex, England. Submitted to WHO by Rhône-Poulenc Santé, Direction Scientifique, Paris, France.
- Lowe, C.Y., Ingham, B. & Grimett, J.E., 1977. Dimetridazole (Emtryl): Tumourigenicity study in rats II. Unpublished report RES/2991 from the Pharmaceutical Research Laboratories, May & Baker Ltd., Dagenham, Essex, England. Submitted to WHO by Rhône-Poulenc Santé, Direction Scientifique, Paris, France.
- Polzer, J., Stachel, C. & Gowik, P., 2004. Treatment of turkeys with nitroimidazoles impact of the selection of target analytes and matrices on an effective residue control. *Analytica Chimica Acta*, 521(2): 189-200.
- SCAN., 2000. Opinion of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the use of Dimetridazole in animal feedingstuffs.
- Zaghdoudi, M., Fourcade, F., Soutrel, I., Floner, D., Amrane, A., Maghraoui-Meherzi, H., *et al.*, 2017. Direct and indirect electrochemical reduction prior to a biological treatment for dimetridazole removal. *J Hazard Mater*, 335: 10-17.

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Datum

20 augustus 2018

Onze referentie

trcvwa/2018/6117

Bijlage I

RIVM RIKILT Front Office Voedsel- en Productveiligheid. Beoordeling van dimetridazol in producten van dierlijke oorsprong.

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Datum

20 augustus 2018

Onze referentie

trcvwa/2018/6117