



FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

Beoordeling van furazolidon in diervoer: overdracht naar het mestvarken

Risicobeoordeling aangevraagd door:	NVWA-BuRO
Risicobeoordeling opgesteld door:	RIVM en RIKILT
Datum aanvraag:	14-07-2014
Datum risicobeoordeling:	24-07-2014
Projectnummer:	V/090130

Onderwerp

Overdracht van furazolidon in diervoer naar het mestvarken.

Vraagstelling

1. Wat is de overdracht van furazolidon (20 en 500 µg/kg voer, d.w.z. 20 en 500 ppb) in diervoer naar de metaboliet 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ) in de weefsels (lever, spier, nier) van het mestvarken (20 - 110 kg) voor een blootstellingsperiode van maximaal 12 weken?
2. Volstaat onder deze omstandigheden een uitwasperiode van 6 weken om AOZ gehalten onder de minimale AOZ kwantificeringlimiet van 1 µg/kg weefsel te laten dalen?
3. Vormen de voorspelde AOZ gehalten in weefsels een gezondheidsrisico?

Conclusies

- 1) Bij een blootstelling aan 20 µg/kg voer gedurende 12 weken blijft de AOZ concentratie in spier onder de 1 µg/kg weefsel. In lever en nier kan dit gehalte tot 3,8 resp. 17,8 µg/kg weefsel oplopen. In het geval van de lever, maar niet in de nier, volstaat een uitwasperiode van 6 weken om het gehalte weer onder de 1 µg/kg weefsel te laten dalen.
- 2) Bij blootstelling aan 500 µg/kg voer gedurende 12 weken kan het AOZ gehalte in spier, lever en nier oplopen tot 3,1, 98 resp. 447 µg/kg weefsel. In het geval van lever en nier zullen deze gehalten na een uitwasperiode van 6 weken nog ruim boven de 1 µg/kg weefsel liggen.
- 3) De AOZ concentraties in lever, nier en spier, zoals voorspeld na maximale overdracht vanuit voer dat 500 µg furazolidon/kg voer bevat, vormen bij een normale consumptie een verwaarloosbaar risico op kanker, ook al liggen de voorspelde gehalten ruim boven de minimale AOZ kwantificeringlimiet van 1 µg/kg weefsel.

Inleiding

Furazolidon is een stof waarvan het gebruik in voedselproducerende dieren verboden is. Ondanks dit verbod is deze stof in diervoer aangetroffen. Voorliggende casus betreft het voorkomen van furazolidon (20 of (maximaal) 500 µg/kg voer) in varkensvoer en de hiermee corresponderende overdracht van furazolidon naar zijn metaboliet 3-amino-2-oxazolidinon (AOZ) in spier, lever en nier van mestvarkens.

De hierboven vermelde furazolidon concentraties in voer zijn representatief voor recent door de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA) aangetroffen gehalten in varkensvoer. In de praktijk heeft de aanwezigheid van furazolidon in het voer tot een blootstellingsduur van de dieren van (maximaal) drie maanden geleid, gevolgd door (tot nu toe) een uitwasperiode van 1,5 week. Omdat de betreffende dieren op dit moment niet ter slacht aangeboden kunnen worden zal deze periode nog toenemen. In deze beoordeling is ervan uitgegaan dat deze periode in totaal niet meer dan 6 weken zal bedragen.

Lotgevallen van furazolidon in het varken

In varkens wordt furazolidon na opname snel uit het lichaam verwijderd. Een éénmalige hoeveelheid van 600 mg furazolidon (equivalent aan inname uit voer met een gehalte van 400 mg furazolidon per kg voer) bleek 12 uur na de blootstelling niet meer aantoonbaar in lever, nier en spier (McCracken et al., 1995). Blootstelling van varkens aan furazolidon leidt tot vorming van eiwitgebonden metabolieten, in het bijzonder furazolidon metabolieten die de 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ) zijketen bevatten. Dergelijke metabolieten zijn om de volgende redenen van toxicologisch belang (Hoogenboom *et al.*, 1992):

- onder mild zure omstandigheden (maag) kan de AOZ-zijketen van de eiwitgebonden metabolieten vrijkomen. Via dit mechanisme kan de consumptie van producten die afkomstig zijn van aan furazolidon blootgestelde dieren (en dus vrij en aan eiwitgebonden AOZ bevatten) tot AOZ blootstelling leiden bij de mens.
- AOZ kan door metabolisme in β-hydroxy-ethylhydrazine omgezet worden. De laatste verbinding is mutageen en carcinogeen.
- AOZ geeft een positieve response in de beenmerg micronucleus test (Hoogenboom *et al.*, 2002).
- de halfwaardetijd van aan eiwitgebonden metabolieten is veel langer dan dat van de moederverbinding furazolidon. Zo blijft AOZ nog wekenlang in het lichaam aantoonbaar (Hoogenboom et al., 1992, McCracken et al., 1997; Cooper et al., 2005; Liu et al., 2010). Dit effect wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de eiwitturnover in de weefsels.

Overdrachtmodel: Basisdefinitie

Het feit dat furazolidon veel sneller dan zijn metaboliet AOZ uit het lichaam verdwijnt, maakt het mogelijk om de AOZ concentraties in de organen direct aan de voerinname van furazolidon te relateren (voordetails, zie Annex 1). Het hierbij horende overdrachtsmodel stelt dat de snelheid waarmee de hoeveelheid AOZ in de weefsels verandert ($\frac{dA_{AOZ,tissue}}{dt}$) de resultante is van de toename snelheid die gelijk is aan een fractie (α_{tissue}) van de dagelijkse furazolidoninname (D) en de afnamesnelheid die evenredig is aan de hoeveelheid AOZ in een weefsel ($A_{AOZ,tissue}$) en een eliminatieconstante (k_A). In wiskundige termen vertaalt dit zich in de volgende differentiaalvergelijking:

$$\frac{dA_{AOZ,tissue}}{dt} = \alpha_{tissue} \cdot D - k_A \cdot A_{AOZ,tissue}$$

Hierin is:

$\frac{dA_{AOZ,tissue}}{dt}$	de snelheid waarmee de hoeveelheid AOZ in de weefsels van aan furazolidon blootgestelde dieren verandert (mg/dag)
α_{tissue}	constante voor de overdracht furazolidon vanuit voer naar AOZ in een bepaald weefsel (dimensieloos)
D	furazolidon inname (mg/dag)
k_A	AOZ eliminatiesnelheidsconstante (dag ⁻¹)
A_{AOZ}	hoeveelheid AOZ in een weefsel (mg)

Het model bevat twee parameter waarden, α_{tissue} en k_A , die uit experimentele waarnemingen geschat kunnen worden. Voor omrekening van AOZ hoeveelheden naar AOZ concentraties zijn verder weefselgewichten nodig (zie Annex 2).

Overdrachtmodel: Kalibratie

In McCracken et al. (1997) werden varkens (lichaamsgewicht: 20 kg) gedurende 5 dagen aan voer met een furazolidon gehalte van 400 mg/kg voer blootgesteld (voerconsumptie: 1 kg/dag). Hierna volgde een periode van 42 dagen waarin de dieren furazolidonvrij voer kregen. Tijdens deze uitwasperiode is de halfwaardetijd van AOZ in de nier (5,9 dagen), spier (9,1 dagen) en lever (5,8 dagen) geschat (merk op dat de halfwaardetijd m.b.v. 1-compartment kinetiek in de benodigde parameter k_A omgerekend kan worden).

In een tweede experiment van McCracken et al. (1997) werden varkens (lichaamsgewicht: 20 kg) gedurende 5 dagen blootgesteld aan voer met een furazolidon gehalte van 0, 0,5; 2,3; 7,9 of 18,4 mg/kg voer (voerconsumptie: 1 kg/dag). Aan het einde van de blootstellingsperiode werd in de nier, spier en lever de AOZ concentratie geschat¹ (zie Annex 3). Gegeven de hierboven vermelde eliminatiesnelheidsconstanten is voor ieder van de onderzochte doseringen in dit experiment de overdrachtsconstante α_{tissue} van voer

¹ vanuit de publicatie gedigitaliseerd m.b.v. DigitizeIt software

naar een weefsel bepaald (zie Tabel 1). Uit Tabel 1 blijkt dat deze constante in deze studie niet van de voerconcentratie, noch van het type weefsel afhangt.

Tabel 1 Overdrachtsconstante voor furazolidon van voer naar AOZ in lever, spier of nier van het varken (McCracken et al., 1997).

Voerconcentratie (mg/kg voer)	Overdrachtsconstante (α_{tissue})		
	Lever	Spier	Nier
0,5	0,0026	NA	0,0033
2,3	0,0027	0,0026	0,0020
7,9	0,0020	0,0020	0,0018
18,4	0,0038	0,0034	0,0029

NA: geen beschikbare data

In Liu et al. (2010) werden varkens (lichaamsgewicht: 15 – 18 kg) gedurende 7 dagen aan voer met een furazolidon gehalte van 400 mg/kg voer blootgesteld (voerconsumptie: 0,8 kg/dag). Hierna volgde een periode van 63 dagen waarin de dieren furazolidon vrij voer kregen. Aan het einde van de blootstellingsperiode werden in plasma, spier, lever en nier de AOZ concentratie gemeten (plasma: 1969 $\mu\text{g/l}$; spier: 691 $\mu\text{g/kg}$; lever: 2170 $\mu\text{g/kg}$; nieren: 1012 $\mu\text{g/kg}$), terwijl de uitwasperiode gebruikt werd om de halfwaardetijd van AOZ in de verschillende weefsels te bepalen (plasma: 13,7 dagen; lever: 13,6 dagen; nier: 13,6 dagen; spier: 15,0 dagen). Hieruit blijkt dat in deze studie de halfwaardetijd niet van het weefsel afhangt. Ter vergelijking, Cooper et al. (2005) rapporteerden voor AOZ een halfwaardetijd van 11,5 dagen voor spier, 7,3 dagen voor de lever en 6,9 dagen voor de nier. Tabel 2 vermeldt de op basis van de Liu studie bepaalde overdrachtsconstante α_{tissue} .

Tabel 2 Overdrachtsconstante voor furazolidon van voer naar AOZ in lever, spier of nier van het varken (Liu et al., 2010).

Voerconcentratie (mg/kg voer)	Overdrachtsconstante (α_{tissue})		
	Lever	Spier	Nier
400	0,00071	0,0030	0,000055

In Hoogenboom et al. (1992) werden varkens (leeftijd 12 weken, lichaamsgewicht: 30 – 40 kg) gedurende 7 dagen aan voer met een furazolidon gehalte van 300 mg/kg voer blootgesteld (voeriname: 1,2 kg/dag). Hierna volgde een periode van 28 dagen waarin de dieren furazolidon vrij voer kregen. Aan het einde van de blootstellingsperiode werden in spier, lever en nier de AOZ concentratie gemeten (spier: 144 $\mu\text{g/kg}$; lever: 1070 $\mu\text{g/kg}$; nier: 765 $\mu\text{g/kg}$). Hoogenboom et al. (1992) vermeldt geen orgaan specifieke halfwaardetijd. Voor het berekenen van de overdrachtsconstante α_{tissue} voor deze studie (zie Tabel 3) is daarom voor ieder orgaan gebruik gemaakt van de kortst bekende halfwaardetijd, d.w.z. de halfwaardetijd uit de McCracken studie. Deze benadering is "worst case" m.b.t. tot het schatten van de overdrachtsconstante.

Tabel 3 Overdrachtsconstante voor furazolidon van voer naar AOZ in lever, spier of nier van het varken (Hoogenboom et al., 1992).

Voerconcentratie (mg/kg voer)	Overdrachtsconstante (α_{tissue})		
	Lever	Spier	Nier
300	0,00075	0,0017	0,000090

Overdrachtmodel: Simulaties

De modelkalibratie van de genoemde studies vertoont onderlinge verschillen in overdrachtsconstanten en de AOZ halfwaardetijd in de weefsels. Zo geeft de studie met een relatief lage furazolidon blootstelling (McCracken studie) een relatief hoge overdrachtsconstante voor lever en nier, in vergelijking met de twee studies met een relatief hoge furazolidon blootstelling (Liu en Hoogenboom studie). Aan de andere kant geven alle drie de studies een vergelijkbare overdrachtsconstante voor spier.

Qua AOZ halfwaardetijd vermeldt Liu et al. (2010) circa twee weken, dit in vergelijking tot McCracken et al. (1997) waarin de halfwaardetijd uiteenloopt van 4,4 tot 9,1 dagen. Daarnaast vermeldt Cooper et al. (2005) een AOZ halfwaardetijd van 11,5 dagen voor spier, 7,3 dagen voor de lever en 6,9 dagen voor de nier (8 weken oude varkens die gedurende 10 dagen aan 400 mg furazolidon/kg voer blootgesteld zijn, gevolgd door een uitwasperiode van 6 weken). Verder beperken de studies van McCracken, Hoogenboom en Liu zich tot dieren met een min of meer constant lichaamsgewicht, variërend van 15 tot 40 kg. In de praktijk vindt blootstelling aan furazolidon echter in groeiende dieren plaats.

Om de modelkalibratieresultaten zo goed mogelijk op praktijksimulaties aan te laten sluiten is het gekalibreerde overdrachtmodel uitgebreid met de groei van het Nederlandse mestvarken anno 2014 en daarbij horende voerinname (voor details, zie Annex 2). Bij het uitvoeren van praktijksimulaties is bovendien onderscheid gemaakt tussen een "maximum case" scenario (hoogste overdrachtsconstante en langste AOZ halfwaardetijd) en een "minimum case" scenario (laagste overdrachtsconstante en kortste halfwaardetijd). Op deze manier wordt rekening gehouden met de onzekerheid in de experimenteel bepaalde parameters voor de overdracht van furazolidone naar AOZ en de AOZ halfwaardetijd.

De simulaties zijn uitgevoerd op een niveau van 20 en 500 µg/kg furazolidon in het voer. Deze niveaus zijn representatief voor het door de NVWA aangetroffen verontreinigd varkensvoer. Verder is uitgegaan van een continue blootstelling van 12 weken. Deze periode komt overeen met de maximale blootstellingsperiode zoals die bij varkensbedrijven op heeft kunnen treden. Tot slot beginnen de simulaties met de blootstelling aan verontreinigd voer op de leeftijd van 8 weken (lichaamsgewicht: 20 kg). De reden hiervoor ligt in het feit dat de modelcalibratie uitgevoerd is met varkens vanaf dit lichaamsgewicht. In de simulaties wordt er dus vanuit gegaan dat de dieren tot een leeftijd van 8 weken niet aan furazolidon zijn blootgesteld. Mocht dit in de praktijk wel het geval geweest zijn dan onderschatten de getoonde simulaties uiteraard de accumulatie van AOZ in de organen. Een overzicht van de simulatie specificaties staat in Box 1.

Uit de simulaties blijkt dat bij een voerconcentratie van 20 µg/kg in het geval van het "minimum case" scenario na een blootstelling van 12 weken de AOZ concentratie in alle drie weefsels ver onder het minimale AOZ kwantificeringsniveau van 1 µg/kg blijft (Fi-

guur 1). In het geval van het "maximum case" scenario overschrijdt de AOZ concentratie de grens van 1 µg/kg in lever en nier, maar niet in spier (Figuur 2). Voor lever volstaat een uitwasperiode van 6 weken om het niveau weer tot onder de 1 µg/kg te laten dalen. Voor de nier voldoet een uitwasperiode van 6 weken niet. Uit deze simulaties kan geconcludeerd worden dat een blootstellingsperiode van 12 weken aan 20 µg/kg furazolidon in het voer tot overschrijding van het minimale AOZ kwantificeringsniveau in lever en nier van het varken kan leiden. Hierbij is een uitwasperiode van 6 weken niet lang genoeg om het gehalte in de nier weer op dit niveau terug te laten komen.

Bij een voerconcentratie van 500 µg/kg overschrijdt de AOZ concentratie zelfs onder het "minimum case" scenario (Figuur 1) in alle drie weefsels het minimale kwantificeringsniveau van 1 µg/kg. Hierbij volstaat in alle drie weefsels een uitwasperiode van 6 weken om het niveau weer tot onder de 1 ppb te laten dalen. In het geval van het "maximum case" scenario (Figuur 2) zal de AOZ concentratie in alle drie de weefsels de grens van 1 µg/kg fors overschrijden. Voor de spier volstaat een uitwasperiode van 6 weken om het niveau dat aan het einde van de blootstellingsperiode bereikt is weer tot onder de 1 µg/kg te laten dalen. Voor de lever en de nier voldoet een uitwasperiode van 6 weken niet. Uit deze simulaties kan geconcludeerd worden dat een blootstellingsperiode van 12 weken aan 500 µg/kg furazolidon in het voer tot overschrijding van het minimale AOZ kwantificeringsniveau in lever, nier en spier van het varken zal leiden. In dit geval is een uitwasperiode van 6 weken niet lang genoeg om het gehalte in lever en nier weer op dit niveau terug te laten komen.

Overdrachtmodel: gezondheidsrisico van gesimuleerde weefselconcentraties

Zoals vermeld heeft de aanwezigheid van furazolidon in het voer in de praktijk tot een blootstellingsduur van de dieren van (maximaal) drie maanden geleid, gevolgd door (tot nu toe) een uitwasperiode van 1,5 week. Een uitwasperiode van 1,5 week weerspiegelt dus de hoogst voorspelde AOZ weefselconcentratie zoals die op dit moment in een dier aangetroffen zou kunnen worden. Uitgaande van 500 µg furazolidon/kg voer ("maximum case") bedraagt de gesimuleerde AOZ concentratie in de nier 300 µg/kg. In lever is dit ongeveer 60 µg/kg, en in spier ca. 2 µg/kg. Om gevoel te krijgen van de mogelijke risico's van dergelijke gehalten voor de consument kan een MOE (Margin Of Exposure) berekend worden op basis van de voorspelde dagelijkse inname waarvan verwacht mag worden dat er kanker veroorzaakt wordt. Voor deze inname is de z.g.n BenchMarkDose10 (BMD10) genomen, ofwel de dagelijkse levenslange inname waarbij de kans op het krijgen van kanker 0,10 is. Voor AOZ kan berekend worden dat de range voor de BMD10 van 11 tot 2000 mg/kg lg/dag loopt (Front Office Voedsel- en Productveiligheid, 2014). In Tabel 4 worden voor bepaalde consumptie aannames van de drie weefsels de MOEs samengevat middels een onder- en bovengrens (Lower Bound (LB)/Upper Bound (UB)). Deze weerspiegelen de onzekerheid in de voorspelde BMD10 voor AOZ carcinogeniteit.

Tabel 4 Margin of Exposure (MOE) behorende bij een bepaalde consumptie van nier, lever en spier en "maximum case" AOZ concentratie per weefsel, uitgaande van een BMD10 van 11 (LB) en 2000 (UB) mg/kg lg/dag.

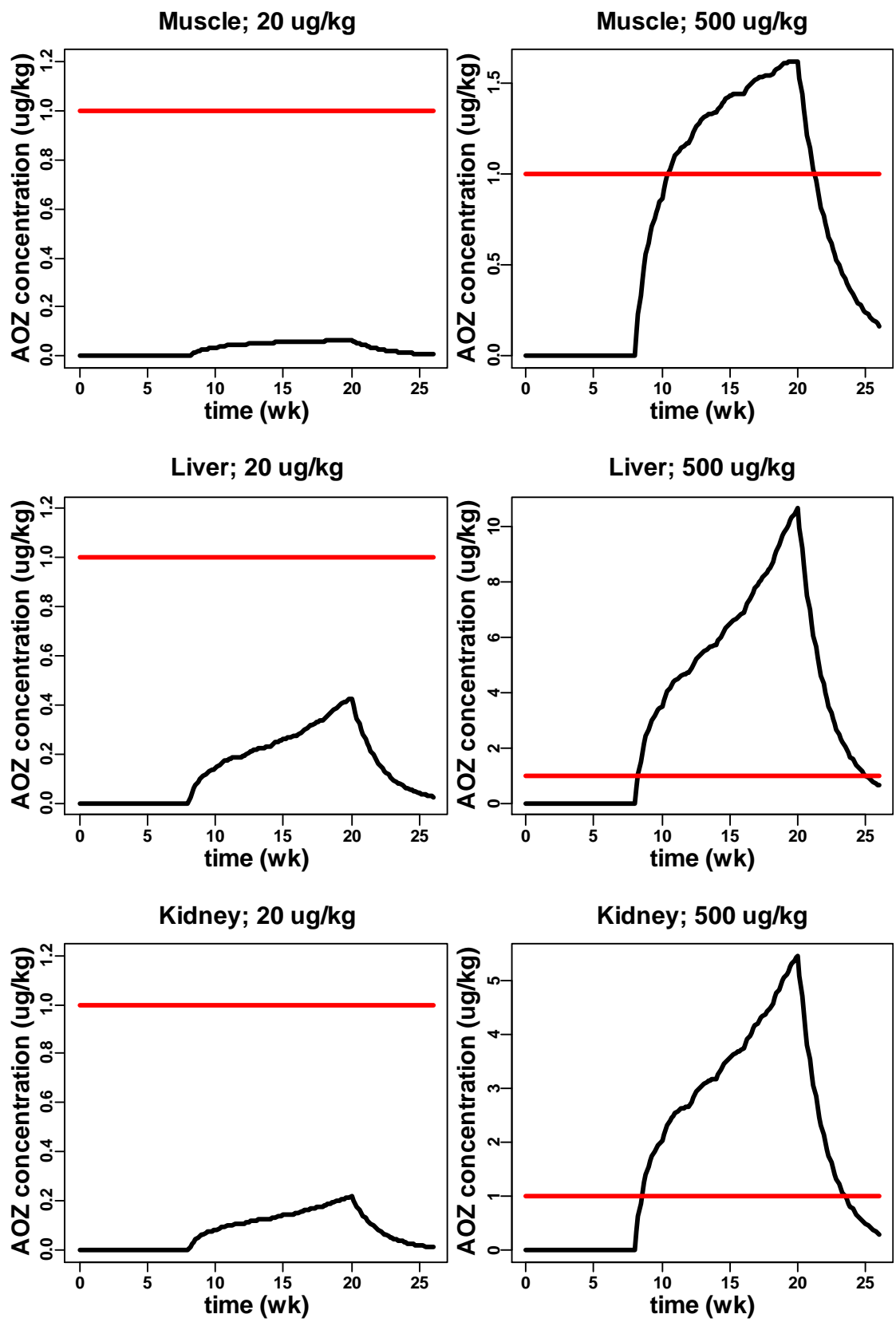
Weefsel	"Maximum case" concentratie (ug/kg)	Consumptie (g)	Inname (ug) ²	Inname (ug/kg lg) ³	MOE (LB)	MOE (UB)
Nier	300 ¹	165	50	1	1,1 x 10 ⁴	2 x 10 ⁶
Level	60	330	20	0,4	2,8 x 10 ⁴	5 x 10 ⁶
Spier	2	500	1	0,02	5,5 x 10 ⁵	100 x 10 ⁶

¹ Som van vrij en aan eiwitgebonden AOZ

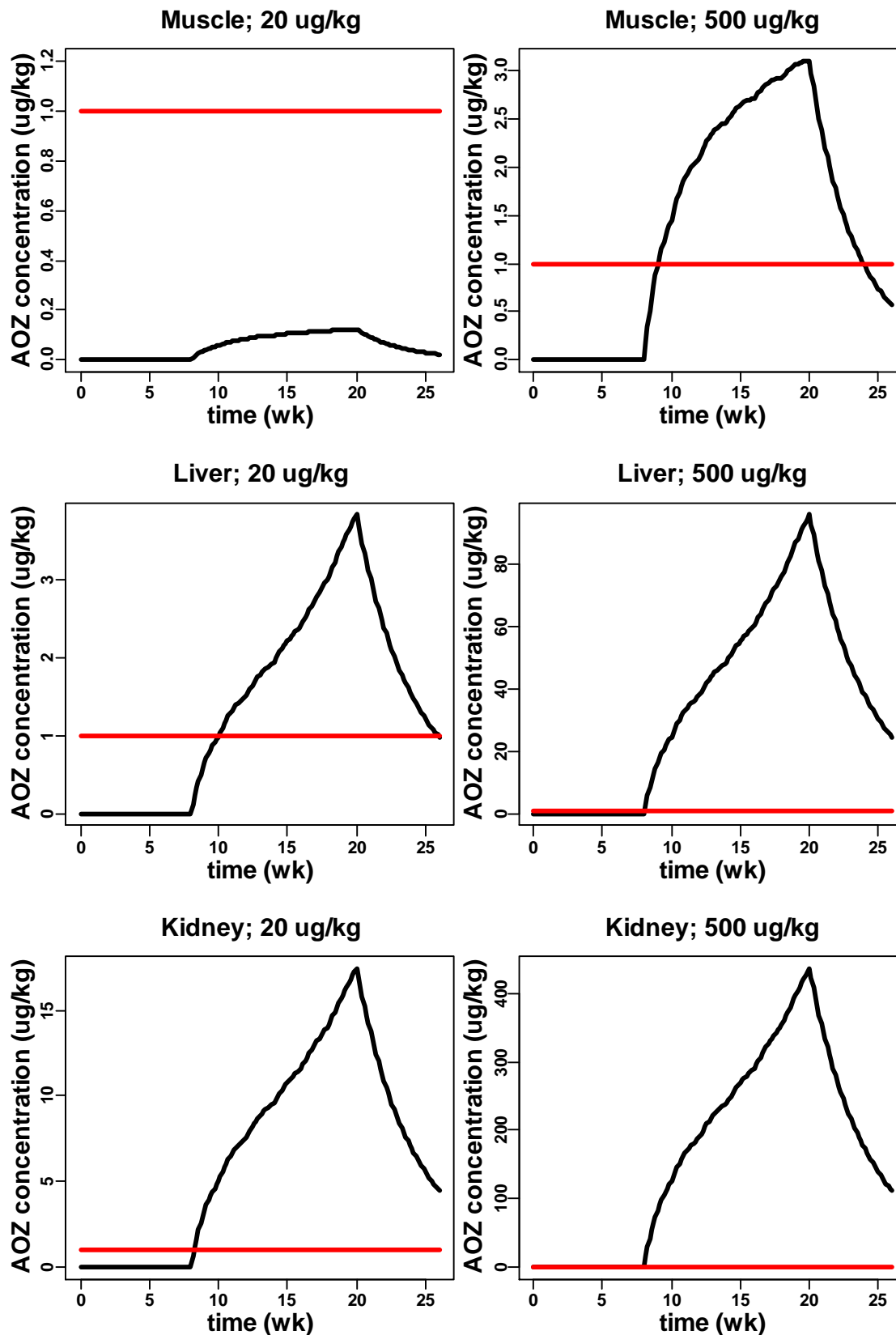
² Uitgaande van 100% absorptie van in weefsel aangetoond AOZ. Voor in weefsel aantoonbaar AOZ vermelden Gottschall en Wang (1995) in de rat een biobeschikbaarheid van maximaal 40%.

³ Illustratief lichaamsgewicht van 50 kg.

EFSA hanteert voor carcinogene stoffen de waarde van 10.000 als een MOE waarbij er geen reden tot zorg is. Zoals de tabel laat zien, liggen alle berekende MOEs daarboven. Hierbij geldt bovendien dat de MOE van 10.000 geacht wordt te gelden voor een levenslange dagelijkse blootstelling. In dit geval gaat het echter (naar alle waarschijnlijkheid) om niet meer dan een eenmalige blootstelling bij een individuele consument. Daarom kan gesteld worden dat de voorspelde AOZ gehalten in varkens op basis van het maximaal in varkensvoer aangetroffen furazolidon gehalte van 500 µg/kg voer een verwaarloosbaar risico op kanker met zich meebrengen, ook al zijn de gehalten ruim boven de minimale AOZ kwantificeringlimiet van 1 µg/kg weefsel.



Figuur 1 "Minimum case" simulaties van de accumulatie van AOZ in de lever, spier en nier van mestvarkens die blootgesteld zijn aan 20 of 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ furazolidon in het voer. Blootstelling loopt van week 8 tot 20.



Figuur 2 'Maximum case' scenario simulaties van de accumulatie van AOZ in de lever, spier en nier van mestvarkens die blootgesteld zijn aan 20 of 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ furazolidon in het voer. Blootstelling loopt van week 8 tot 20.

BOX 1: Overzicht van simulatie specificaties

Voedingsregime:

Week 0 tot 8: schoon voer
Week 8 tot 20: gecontamineerd voer
(20 of 500 µg/kg, overeenkomend met de maximale blootstellingsperiode zoals die bij varkenshouders voorkomen kan zijn)
Week 20 tot 26: uitwasperiode op schoon voer (uitwasperiode in de praktijk op dit moment 1,5 week)

In de simulatie bereiken de dieren na 22 weken hun slachtgewicht van 110 kg. Hierna groeien zij nog 4 weken door tot een eindgewicht van 150 kg dat op een leeftijd van 26 weken bereikt wordt. Zoals vermeldt moet de periode tussen 22 en 26 weken als extrapolatie beschouwd worden (Figuren 1 en 2). De rode lijn in de eerste twee figuren geeft het analytisch minimale kwantificeringsniveau in de weefsels weer van AOZ (1 µg/kg).

A. "Minimum case" simulatie

Parameter specificaties:

Spier	overdrachtsconstante = 0,0023
	AOZ halfwaardetijd = 10,3 dagen
Lever	overdrachtsconstante = 0,00073
	AOZ halfwaardetijd = 6,6 dagen
Nieren	overdrachtsconstante = 0,000073
	AOZ halfwaardetijd = 6,4 dagen

B. "Maximum case" simulatie.

Parameter specificaties:

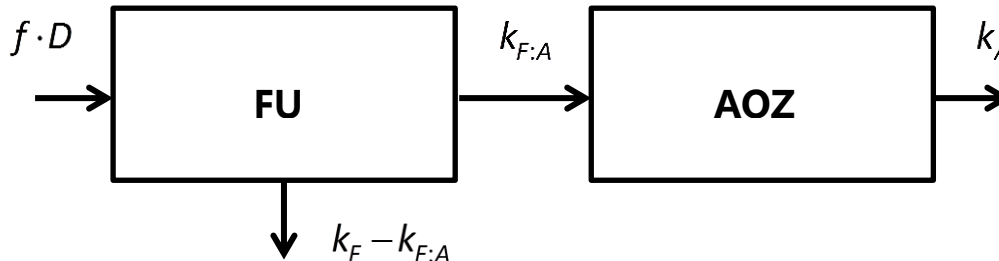
Spier	overdrachtsconstante = 0,0034
	AOZ halfwaardetijd = 15 dagen
Lever	overdrachtsconstante = 0,0038
	AOZ halfwaardetijd = 13,6 dagen
Nieren	overdrachtsconstante = 0,0033
	AOZ halfwaardetijd = 13,6 dagen

Referenties

- Cooper, K.M., Mulder, P.P.J., Rhijn, J.A. van, Kovacsics, L., McCracken, R.J., Young, P.B. and D.G. Kennedy (2005). Depletion of four nitrofurantoin antibiotics and their tissue-bound metabolites in porcine tissues and determination using LC-MS/MS and HPLC-UV. *Food Additives and Contaminants* 22: 406–414.
- Front Office Voedsel- en Productveiligheid (2014). Beoordeling toxicologie furazolidon and 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ). G. Wolterink, S. ten Voorde and W. Slob. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven.
- Gottschall, D.W. and R. Wang (1995). Depletion and bioavailability of [¹⁴C] furazolidone residues in swine tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2520–2525.
- Hoogenboom, L.A.P., Berchmans, M.C.J., Polman, T.H.G., Parker, R. and I.A. Shaw (1992). Depletion of protein bound furazolidone metabolites containing the 3-amino-2-oxazolidone side-chain from liver, kidney and muscle tissues from pigs. *Food Additives and Contaminants* 9: 623–630.
- Hoogenboom, L.A.P., van Blichem, G.D., Sonne, K., Enninga, I.C., van Rhijn, J.A., Heskamp, H., Huveneers-Oorsprong, M.B.M., van der Hoeven, J.C.M. and H.A. Kuiper (2002). Absorption of a mutagenic metabolite released from protein-bound residues of furazolidone. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 11: 273 – 287.
- Liu, Y., Huang, L., Wang, Y., Yang, B., Ishan, A., Fang, K., Peng, D., Liu, Z., Dai, M. and Z. Yuan (2010). Tissue depletion and concentration correlations between edible tissues and biological fluids of 3-amino-2-oxazolidinone in pigs fed with a furazolidone-mediated feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 6774–6779.
- McCracken, R.J., Blanchflower, J., Rowan, C., McCoy, M.A. and D.G. Kennedy (1995). Determination of furazolidone in porcine tissue using thermospray liquid chromatography-mass spectroscopy and a study of the pharmacokinetics and stability of its residues. *Analyst* 120: 2347–2351.
- McCracken, R.J., McCoy, M.A. and D.G. Kennedy (1997) The prevalence and possible causes of bound and extractable residues of their furazolidone metabolite 3-amino-2-oxazolidone in porcine tissues, *Food Additives and Contaminants* 14: 287-294.
- Raamsdonk, L.W.D. van, Kan, C.A., Meijer, G.A.L. en P.A. Kemme (2007). Kengetallen van enkele landbouwhuisdieren en hun consumptiepatronen. RIKIL rapport 2007.010. RIKILT- Instituut voor Voedselveiligheid, Wageningen UR, Wageningen. Beschikbaar online: www.rikilt.wur.nl.

Annex 1 Kinetic model for furazolidone and its metabolite AOZ

It is assumed that both furazolidone (FU) and its metabolite AOZ (AOZ) can *both* be described by 1-compartment kinetics (see Figure below).



A fraction f of FU-dose D enters the systemic circulation. The dose applied is eliminated from the system with elimination rate k_F , part of which is metabolized to AOZ with rate $k_{F:A}$. AOZ itself is eliminated with rate k_A . The resulting concentration-time curve for AOZ can be described by:

$$A_{AOZ}(t) = \frac{k_{F:A}}{k_F} \cdot \frac{fD}{k_A} \cdot \left(1 - \frac{k_A e^{-k_F t} - k_F e^{-k_A t}}{k_A - k_F} \right)$$

This model can be further simplified by taking into account that the FU-elimination kinetics is much faster than AOZ-elimination kinetics, most probably because the latter is determined by binding to plasma proteins.

Then, the term $k_A e^{-k_A t}$ is negligible soon after contamination onset relative to the term $k_F e^{-k_F t}$ and the expression for the amount of AOZ can be well approximated by:

$$A_{AOZ}(t) = \frac{k_{F:A}}{k_F} \cdot \frac{fD}{k_A} \cdot (1 - e^{-k_A t})$$

It is more convenient to express this in the format of a differential equation:

$$\frac{dA_{AOZ}}{dt} = \frac{k_{F:A}}{k_F} \cdot f \cdot D - k_A \cdot A_{AOZ}$$

Nevertheless, the distribution of FU and AOZ to the different body tissues may be different and in this simple modelling approach, due to lack of sufficient data, a specific tissue approach is required, that relates the applied dose to the observed tissue concentrations:

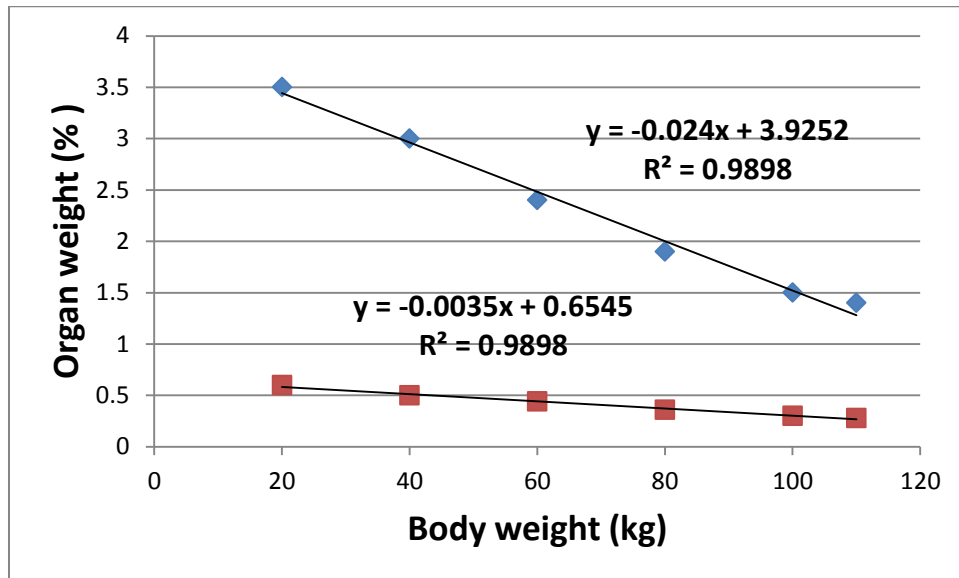
$$\frac{dA_{AOZ,tissue}}{dt} = \alpha_{tissue} \cdot D - k_A \cdot A_{AOZ,tissue}$$

where the factor α contains general kinetic ($k_{F:A}/k_F$) and absorption (f) information together with tissue-specific partition information.

Growing pigs are modelled (see Annex 2). Accordingly, the elimination rate parameter k_A is scaled allometrically. Note that α_{tissue} contains the ratio of rate parameters and thus should be independent of body weight.

Annex 2 Lichaamsgewicht en weefselgewicht

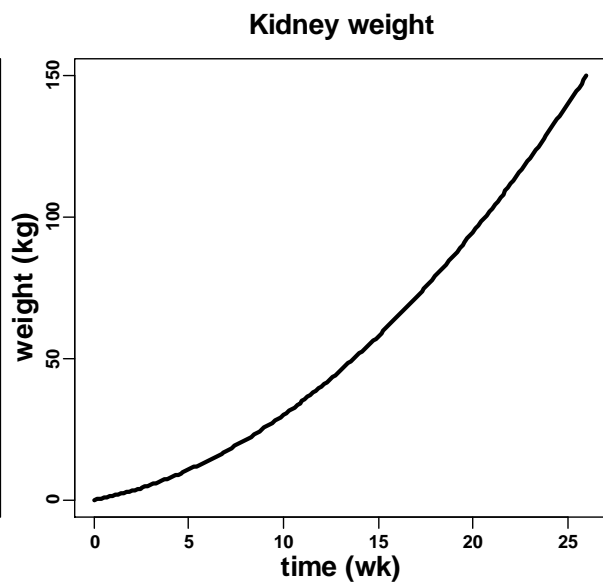
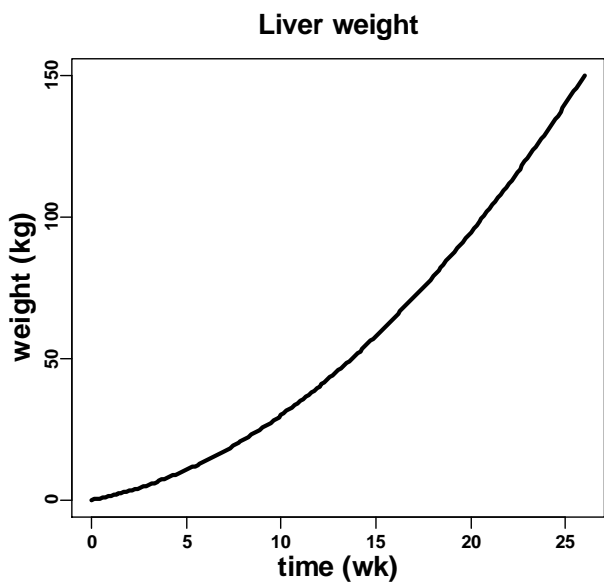
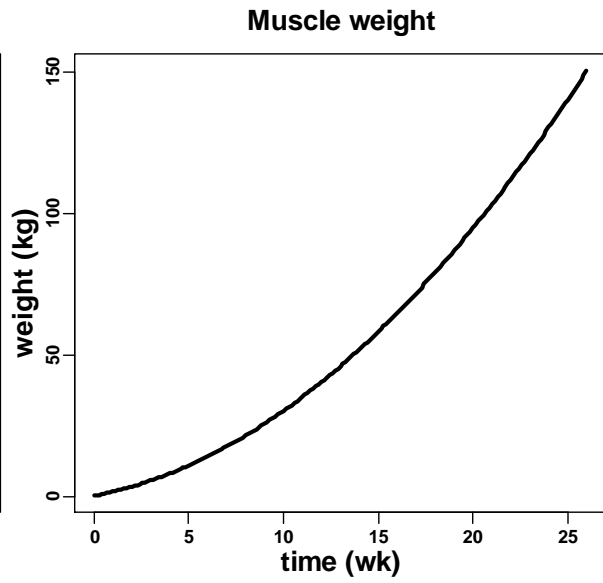
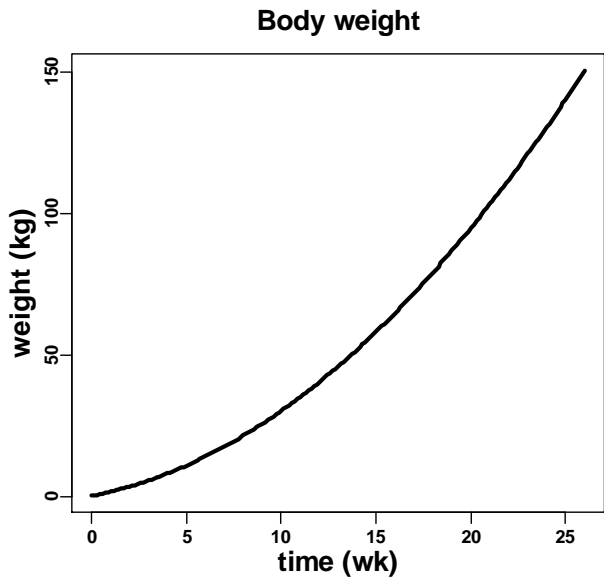
Relatieve gewichten voor de lever (blue diamonds) en nier (red squares) zoals verkregen uit van Raamsdonk et al. (2007)(zie Figuur beneden).



Tot een leeftijd van 22 weken zijn gegevens over lichaamsgewicht en voerconsumptie van het Nederlandse mestvarken anno 2014 door de NVWA ter beschikking gesteld. Zoals hieronder getoond kan de toename van het lichaamsgewicht in de tijd met een kwadratische functie beschreven worden.

Het deel van het getoonde verband tussen de leeftijd van 22 en 26 weken moet dus als een extrapolatie beschouwd worden. Hierbij is aangenomen dat de absolute gewichten van de lever en de nier na het bereiken van het slachtgewicht constant blijven (zie Figuren hieronder). Een toename van het lichaamsgewicht boven het slachtgewicht komt dus voor rekening van de spieren en weefsels anders dan lever en nier, zoals bv. lichaamsvet.

Voor het spiergewicht is een relatief lichaamsgewicht van 50% aangenomen (voor varkens anno 2007 vermeldt van Raamsdonk et al. (2007) hier 43 – 49%).



Annex 3 McCracken (1997, Figuur 3, ingescande data)

Administered furazolidone (mg/kg feed)	AOZ ¹ conc (ng/g tissue)			AOZ amount (mg)		
	liver	muscle	kidney	liver	muscle	kidney
0.5	7.09	NA	5.23	0.004963	NA	0.006276
2.3	33.83	2.51	14.64	0.023681	0.0251	0.017568
7.9	83.4	6.64	43.5	0.05838	0.0664	0.0522
18.4	381	26.06	168.4	0.2667	0.2606	0.20208

¹AOZ as the sum of bound and unbound