

Afdeling SERH Datum: 1984-01-17

RAPPORT 84.6 Pr.nr. 505.0621

Onderwerp: Uitscheiding van dienestrol
en hexestrol in urine van met
deze middelen behandelde
vleesstieren. Interim rapport.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, direktie RIVM (4x), direktie
IVVO, sektorhoofd, afdeling SERH (10x), afdeling Norma-
lisatie (Humme), Projektbeheer, projektleder.

Projekt: Ontwikkeling residubepalingen voor dienestrol en hexestrol
m.b.v. behandeling van een aantal vleesstieren.

Onderwerp: Uitscheiding van dienestrol en hexestrol in urine van met
deze middelen behandelde vleesstieren. Interim rapport.

Doel:

Onderzoek op de aanwezigheid van dienestrol en hexestrol in urinemonsters van proefstieren.

Samenvatting:

In dit interim rapport zijn de voorlopige resultaten van de bepaling van dienestrol en hexestrol in urine van met deze stoffen behandelde vleesstieren vermeld.

Verder zijn de uitscheidingscurven van dienestrol en hexestrol weergegeven.

Conclusie:

Een dag na injectie bereikt dienestrol zijn maximum.


Twee dagen na injectie bereikt hexestrol zijn maximum.

Na ongeveer 3 weken is de uitscheiding van dienestrol en hexestrol afgenomen tot ± 1 ng/ml stilbeen uitgedrukt als DES.

Voor een benadering van de gehalten aan dienestrol of hexestrol dienen de resultaten vermenigvuldigd te worden met resp. 25 of 7.

Deze conclusies zijn van belang voor het bepalen van de slachtdatum van dieren in het vervolg van deze proef.

Verantwoordelijk: dr W.G. de Ruig

Medewerkers/Samenstellers: M.C.J. Berghmans, G.D. van Bruchem, 

Th.H.G. Polman 

Projektleider: dr W.G. de Ruig

1. Inleiding

In het kader van dit gezamenlijke IVVO/RIKILT/RIVM onderzoek zijn 6 vleesstieren op het IVVO als volgt behandeld:

- 2 niet (blanco)
- 2 met 100 mg dienestrolacetaat
- 2 met 100 mg hexestrolacetaat

De proef dient voor verschillende doelen:

1. Inzicht krijgen in de uitscheiding van dienestrol en hexestrol bij met deze stoffen behandelde runderen.
2. Het in handen krijgen van materialen van met dienestrol of hexestrol behandelde runderen.
3. Het ontwikkelen, testen en valideren van analysemethoden voor het aantonen en bepalen van dienestrol en hexestrol in deze materialen.

Volgens afspraken gemaakt bij de proefopzet zullen 70 dagen na toediening één van de dieren uit elke groep worden geslacht. Het tweede dier zal dan opnieuw behandeld worden, en geslacht worden op een zodanige tijd, dat de gehalten in het vlees en organen maximaal zijn. Een schatting van deze tijd zal gemaakt worden aan de hand van de uitscheidingskarakteristieken, die in het eerste gedeelte van de proef gevonden zijn.

In dit interim rapport worden daartoe de voorlopige resultaten weergegeven over de eerste 25 dagen van de proef.

2. Werkwijze

De urinemonsters zijn bepaald volgens RIKILT intern analysevoorschrift G 214: Radio-immunochemische bepaling van DES in runderurine na chromatografische voorzuivering m.b.v. een chromatolithe A kolom.

Bij alle bepalingen is gebruik gemaakt van een diethylstilbestrol standaardreeks van 20-50-100-250-500 en 1000 pg DES/100 µl ethanol, en het routine stilbeen antilichaam van het RIV (code 0646/0647).

2.1 Schema 1: RIA met chromatolithe A voorzuivering.

Zie bijlage.

3. Resultaten

3.1 Controle dieren (nr. 75 en 91).

| Datum monstername | Dag na behandeling | RIKILT nummer | | Concentratie stilbeen uitgedrukt als DES | |
|----------------------|-----------------------|---------------|--------------|---|-------------|
| | | dier nr. 75 | dier nr. 91 | dier nr. 75 | dier nr. 91 |
| | | | | ng/ml | ng/ml |
| 1983-12-06 | -6 | 83/5001 | 83/5011 | <0,2 | 0,37 |
| 1983-12-12 | 0 | 83/5013 | 83/5023 | <0,2 | 0,30 |
| 1983-12-13 | 1 | 83/5025 | 83/5035 | <0,2 | 0,60 |
| 1983-12-14 | 2 | 83/5037 | 83/5047 | 0,38 | 0,40 |
| 1983-12-15 | 3 | 83/5049 | 83/5059 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-16 | 4 | 83/5061 | 83/5071 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-19 | 7 | 83/5073 | 83/5083 | <0,2 | <0,2 |
| 1982-12-22 | 10 | 83/5085 | 83/5095 | <0,2 | 0,29 |
| 1983-12-27 | 15 | 83/5097 | 83/5107 | 0,30 | 0,47 |
| 1983-12-30 | 18 | 83/5109 | 83/5119 | <0,2 | <0,2 |
| 1984-01-03 | 22 | 84/5/0621/1 | 84/5/0621/11 | <0,2 | 0,37 |
| 1984-01-06 | 25 | 84/5/0621/13 | 84/5/0621/23 | <0,2 | 0,47 |

3.2 Dieren behandeld met dienestrol (nr. 78 en 85)

| Datum monstername | Dag na behandeling | RIKILT nummer | | Concentratie stilbeen uitgedrukt als DES | |
|----------------------|-----------------------|---------------|--------------|---|-------------|
| | | dier nr. 78 | dier nr. 85 | dier nr. 78 | dier nr. 85 |
| | | | | ng/ml | ng/ml |
| 1983-12-06 | -6 | 83/5003 | 83/5007 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-12 | 0 | 83/5015 | 83/5019 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-13 | 1 | 83/5027 | 83/5031 | 55 | 58 |
| 1983-12-14 | 2 | 83/5039 | 83/5043 | 27 | 40 |
| 1983-12-15 | 3 | 83/5051 | 83/5055 | 15 | 16 |
| 1983-12-16 | 4 | 83/5063 | 83/5067 | 23 | 35 |
| 1983-12-19 | 7 | 83/5075 | 83/5079 | 5,3 | 44 |
| 1982-12-22 | 10 | 83/5087 | 83/5091 | 19 | 7,8 |
| 1983-12-27 | 15 | 83/5099 | 83/5103 | 1,1 | 1,9 |
| 1983-12-30 | 18 | 83/5111 | 83/5115 | 1,3 | 1,2 |
| 1984-01-03 | 22 | 84/5/0621/3 | 84/5/0621/7 | 0,92 | 0,91 |
| 1984-01-06 | 25 | 84/5/0621/15 | 84/5/0621/19 | 0,61 | 0,75 |

3.3 Dieren behandeld met hexestrolacetaat (nr. 79 en 89).

| Datum monstername | Dag na behandeling | RIKILT nummer | | Concentratie stilbeen uitgedrukt als DES | |
|----------------------|-----------------------|---------------|--------------|---|-------------|
| | | dier nr. 79 | dier nr. 89 | dier nr. 79 | dier nr. 89 |
| | | | | ng/ml | ng/ml |
| 1983-12-06 | -6 | 83/5005 | 83/5009 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-12 | 0 | 83/5017 | 83/5021 | <0,2 | <0,2 |
| 1983-12-13 | 1 | 83/5029 | 83/5033 | 12 | 58 |
| 1983-12-14 | 2 | 83/5041 | 83/5045 | 68 | 61 |
| 1983-12-15 | 3 | 83/5053 | 83/5057 | 22 | 16 |
| 1983-12-16 | 4 | 83/5065 | 83/5069 | 35 | 38 |
| 1983-12-19 | 7 | 83/5077 | 83/5081 | 16 | 16,5 |
| 1982-12-22 | 10 | 83/5089 | 83/5093 | 40 | 8,5 |
| 1983-12-27 | 15 | 83/5101 | 83/5107 | 6,5 | <0,2 |
| 1983-12-30 | 18 | 83/5113 | 83/5119 | 1,2 | <0,2 |
| 1984-01-03 | 22 | 84/5/0621/5 | 84/5/0621/9 | 0,43 | 0,74 |
| 1984-01-06 | 25 | 84/5/0621/17 | 84/5/0621/21 | 0,30 | <0,2 |

3.4 Figuur 1. Hexestrol uitscheidingscurve.

3.5 Figuur 2. Dienestrol uitscheidingscurve.

4. Conclusie

Dienestrol bereikt één dag na injectie zijn maximum.

Na ongeveer 3 weken in de dienestrol uitscheiding afgenomen tot + 1 ng/ml stilbeen uitgedrukt als DES.

Hexestrol bereikt twee dagen na injectie zijn maximum.

Na ongeveer 3 weken is de hexestrol uitscheiding afgenomen tot + 1 ng/ml stilbeen uitgedrukt als DES.

De kruisreactie van het RIV antiserum 0646/0647 met dienestrol en hexestrol bedraagt 3,9 resp 13,5 (2).

Voor een schatting van de werkelijke gehalten aan dienestrol en hexestrol dienen de gevonden gehalten uitgedrukt als DES derhalve vermenigvuldigd te worden met $\frac{100}{3,9} \approx 25$ resp $\frac{100}{13,5} \approx 7$.

Literatuur

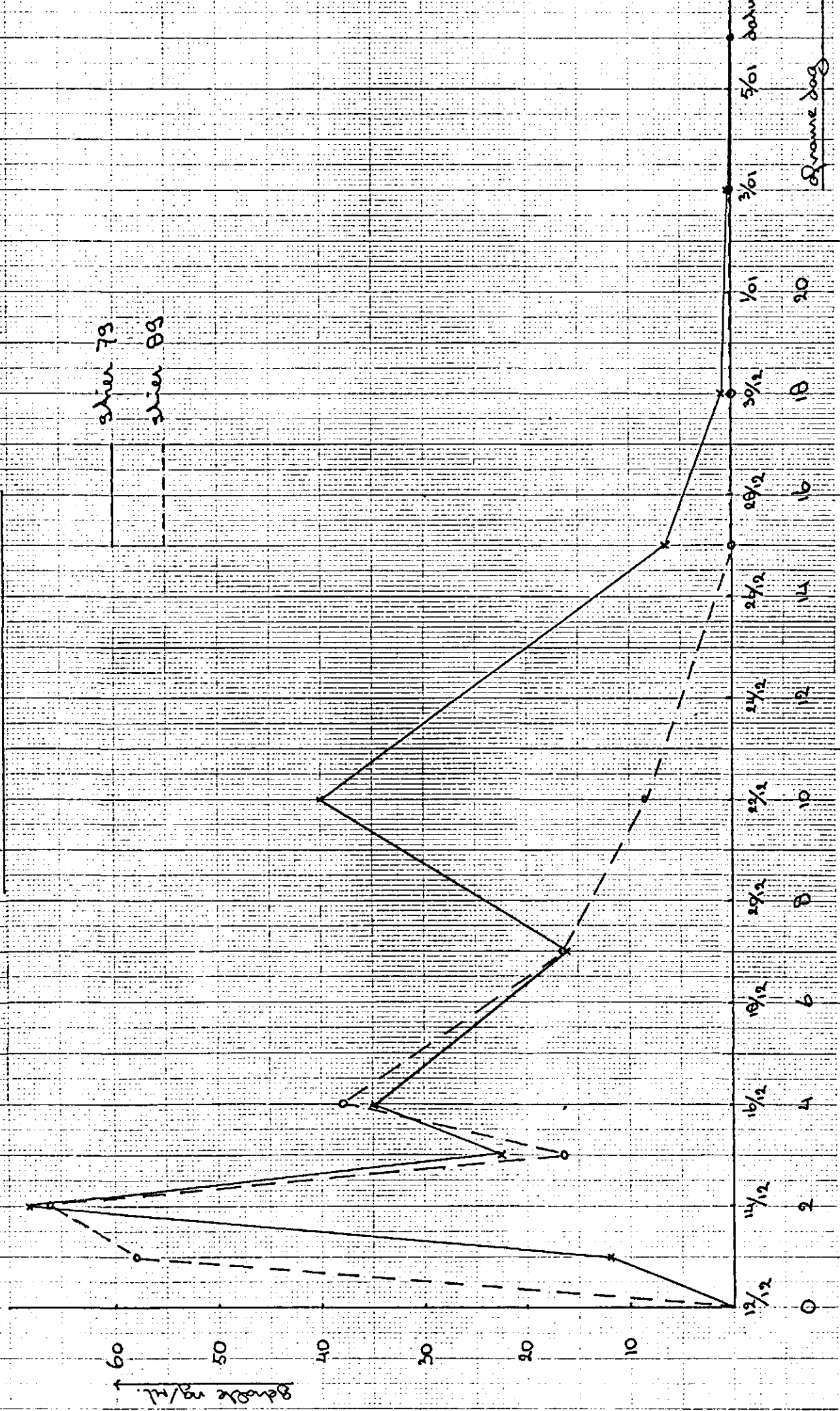
1. W.G. de Ruig, M.C.J. Berghmans, Th.H.G. Polman.
RIKILT Intern Analysevoorschrift G 214 - Radio-immunochemische bepaling van diethylstilbestrol in runderurine na chromatografische voorzuivering m.b.v. een chromatolithe A kolom.
2. W.G. de Ruig, M.C.J. Berghmans, Th.H.G. Polman.
RIKILT verslag 82.78 - Bepalen van de titer, werkverduunning en de specificiteit van het diethylstilbestrol antiserum RIV 0646/0647.
3. W.G. de Ruig, T.D.B. van der Struijs, J.M. Weseman.
RIKILT rapport 83.88 - Hexestrol en dienestrol. Een literatuuroverzicht.

1984-01-11

Hexachlor unterschiedscurve (bestehend aus 2 Hühner DES)

Hühner 79
Hühner 88

3.4. Figuren 1.



Gruppe tag

slice 70
slice 85

Genrate mg/m³

60

50

40

30

20

10

12/12

0

14/12

2

16/12

4

18/12

6

20/12

8

22/12

10

24/12

12

26/12

14

28/12

16

30/12

18

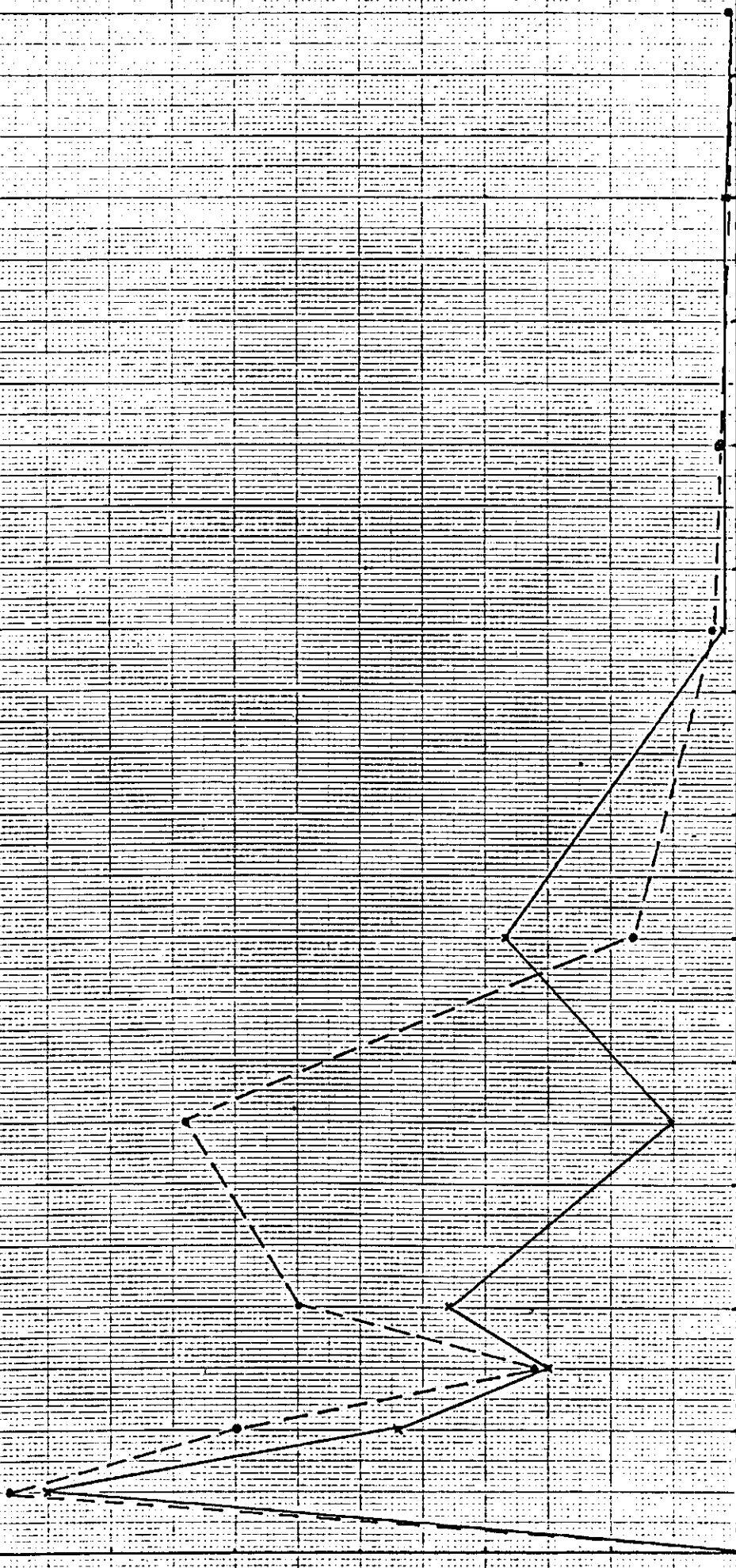
1/01

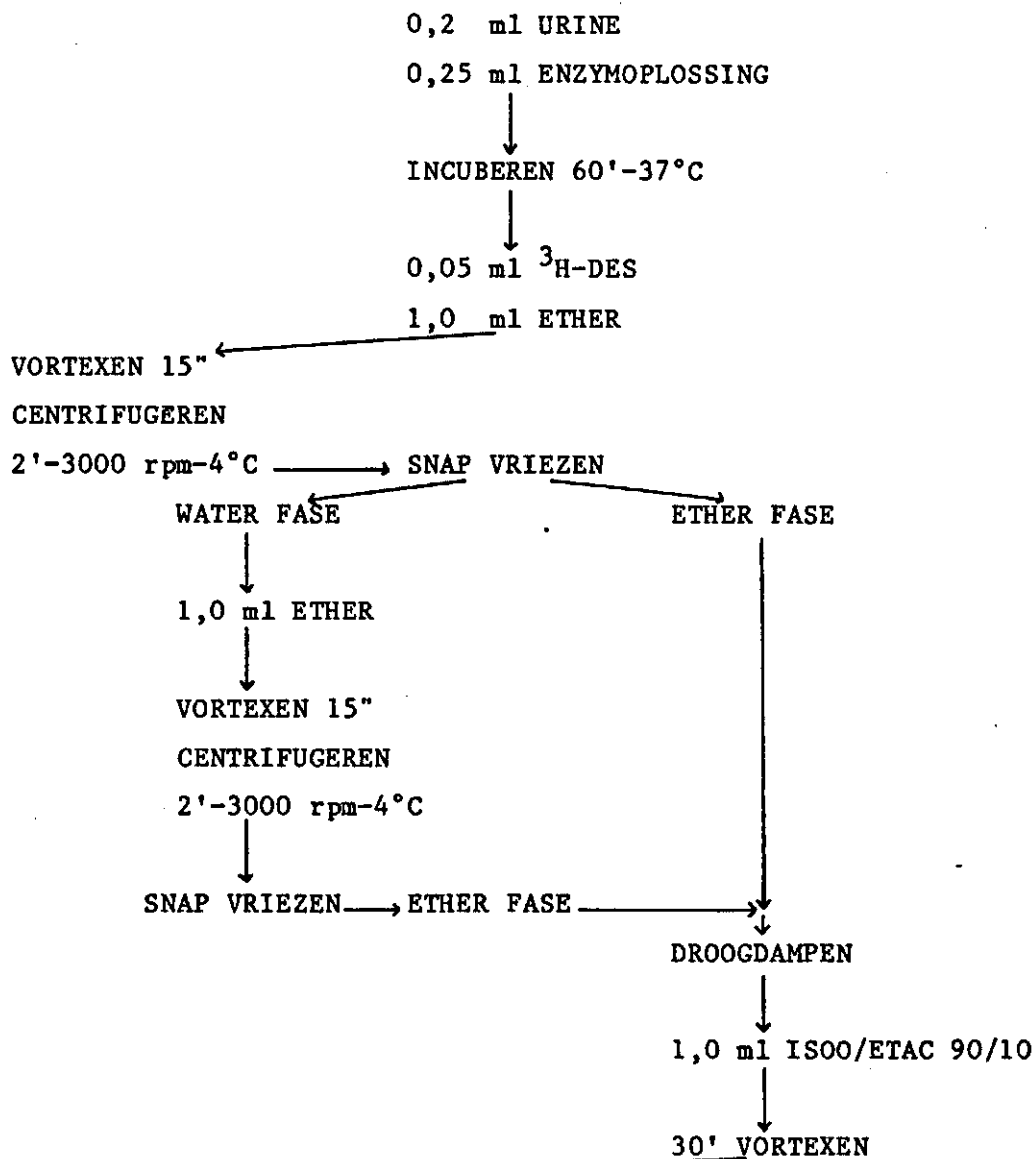
20

3/01

5/01

Quamedog



Schema Intern Voorschrift G 214HYDROLYSE/EXTRACTIEKOLOMZUIVERING

KOLOM BEVOCHTIGEN 3 ml ISO-OCTAAN

↓
 MONSTER OPBRENGEN

NASPOELEN 1 ml ISOO/ETAC 90/10

↓
 ELUEREN: 4 ml ISOO/ETAC 80/20

4 ml ISOO/ETAC 60/40

STANDAARDEN

0,025 ml GLYCOLMENGSEL

0,01 ml STANDAARD

0,05 ml ³H-DES

↓
 DROOGDAMPEN

OPVANGEN 60/40 FRACTIE

SPLITSSEN IN 2 x 2 ml

INDAMPEN

RIA

STANDAARD/MONSTER

0,05 ml METHANOL, 10' VORTEXEN

0,375 ml RIA BUFFER, 5' VORTEXEN

↓
0,05 ml ANTISERUM

↓
INCUBEREN 30'-37°C

↓
30'-4°C

0,1 ml RECOVERYTELLING

↓
3 ml SCINTILLATIEVLOEISTOF

↓
VLOEISTOF SCINTILLATIE TELLER

↓
RECOVERY TELLING

ASB

0,05 ml METHANOL, 10' VORTEXEN

0,425 ml RIA BUFFER, 5' VORTEXEN

↓
INCUBEREN 30'-37°C

↓
30'-4°C

← 0,4 ml RESTANT

↓
0,2 ml DCC

↓
INCUBEREN 5'-4°C

↓
CENTRIFUGEREN

↓
10'-3000 rpm-4°C

↓
0,45 ml BOUNDTELLING

↓
3 ml SCINTILLATIEVLOEISTOF

↓
VLOEISTOF SCINTILLATIE TELLER

↓
BOUND TELLING