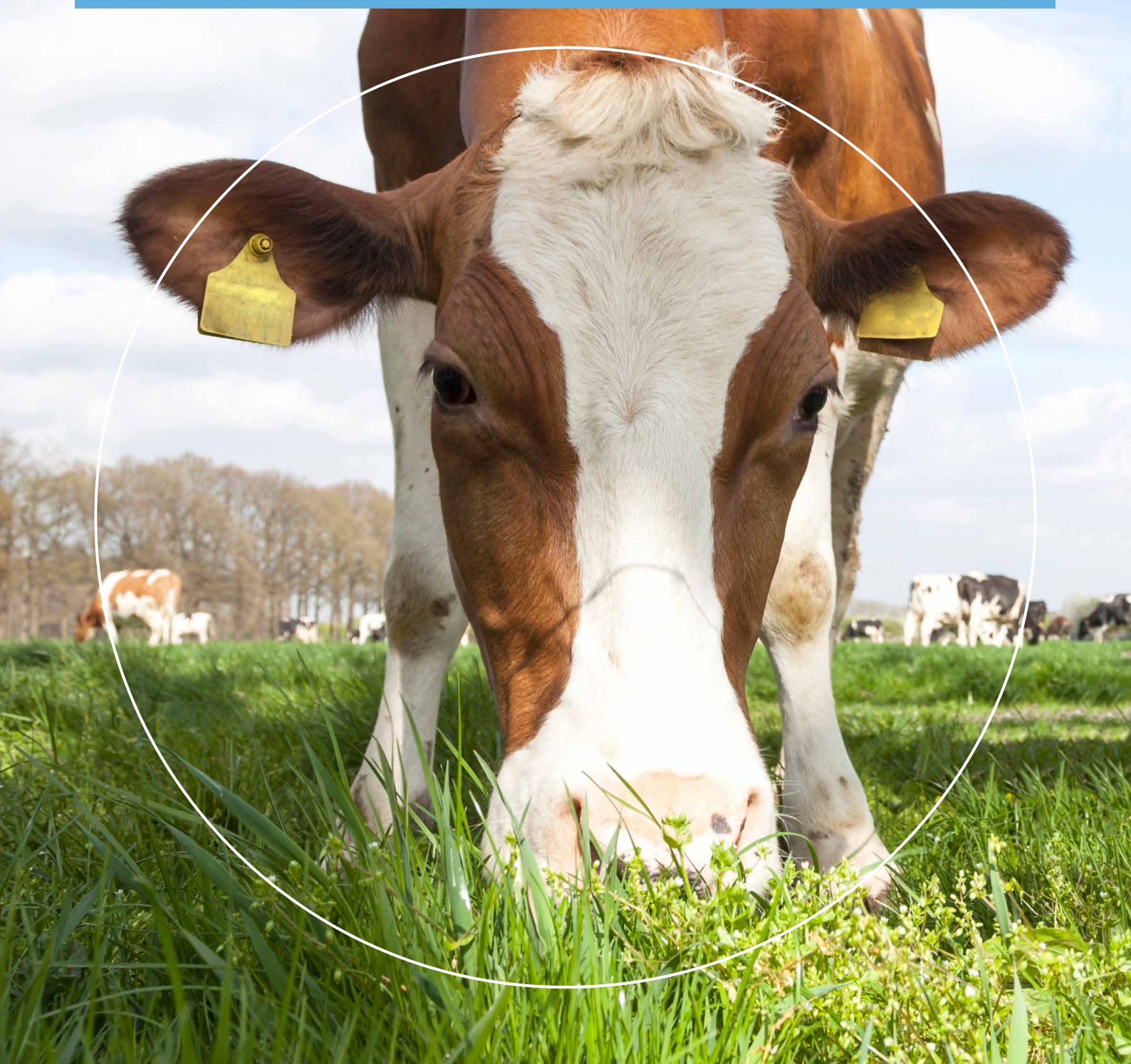


Overdrachtsmodellering van dierbehandelingsmiddelen in runderen

L.S. Lautz en A. Punt



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



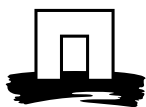
Overdrachtsmodellering van dierbehandelingsmiddelen in runderen

L.S. Lautz en A. Punt

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Food Safety Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research en gesubsidieerd door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoekthema 'Ondersteuningsfunctie NVWA-BuRO' (projectnummer WOT-02-006-016)

Wageningen, februari 2022

WFSR-rapport 2022.004



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Lautz, L.S., Punt, A., 2022. *Overdrachtsmodellering van dierbehandelingsmiddelen in runderen*. Wageningen, Wageningen Food Safety Research, WFSR-rapport 2022.004. 28 blz.; 10 fig.; 7 tab.; 27 ref.

Projectnummer: 1217401301
BAS-code: WOT-02-006-016-WFSR-8
Projecttitel: Paracetamol in runderen
Projectleider: A. Punt

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/564349> of op <http://www.wur.nl/food-safety-research> (onder WFSR publicaties).

© 2022 Wageningen Food Safety Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research. Hierna te noemen WFSR.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het WFSR is het niet toegestaan:

- a. *dit door WFSR uitgebrachte rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b. *dit door WFSR uitgebrachte rapport, c.q. de naam van het rapport of WFSR, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c. *de naam van WFSR te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

Postbus 230, 6700 AE Wageningen, T 0317 48 02 56, E info.wfsr@wur.nl, www.wur.nl/food-safety-research.
WFSR is onderdeel van Wageningen University & Research.

WFSR aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

WFSR-rapport 2022.004

Verzendlijst:

- Lysan Lancel (NVWA HH)
- Sophie van der Ploeg (NVWA HH)
- Jacqueline Steenbergen – Biesterbos (NVWA BuRO)

Inhoud

Samenvatting	5	
1	Introductie	7
2	Materiaal en Methoden	8
	2.1 Werkwijze voor casussen	8
	2.2 PBK-model voor de melkkoe	8
	2.3 PBK-model voor het kalf	10
3	Casus paracetamol	11
	3.1 Achtergrond en vraagstelling	11
	3.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens	11
	3.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiekdata van paracetamol in runderen	11
	3.2 Resultaten PBK-simulaties paracetamol in de melkkoe	12
	3.3 Vertaling urinegehalte naar vleesgehalte	14
	3.4 Conclusies	15
4	Casus meloxicam	16
	4.1 Achtergrond en vraagstelling	16
	4.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens	16
	4.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiek van meloxicam in runderen	16
	4.2 Resultaten PBK-simulaties meloxicam in melkkoe	17
	4.3 Gemeten urineconcentraties vertalen naar vleesconcentraties	19
	4.4 Conclusies	19
5	Casus dapson	20
	5.1 Achtergrond en vraagstelling	20
	5.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens	20
	5.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiek van dapson in runderen	20
	5.2 Resultaten PBK-simulaties dapson in melkkoeien	22
	5.3 Resultaten PBK-simulaties dapson in kalveren	22
	5.4 Conclusies	23
6	Discussie en conclusie	24
Literatuur		26



Samenvatting

Bij de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit komen regelmatig signalen binnen dat pijnstillers als paracetamol en niet-steroïde anti-inflammatoire geneesmiddelen toegediend worden aan runderen die mogelijk niet geschikt zouden zijn om getransporteerd te worden, om zo deze ongeschiktheid voor transport te maskeren en de dieren toch voor consumptie te kunnen slachten. Daarnaast zijn er ook casussen van positieve residu controles met niet-gereguleerde dierbehandelingsmiddelen. Bij dergelijke casussen spelen vragen of het gebruik van deze dierbehandelingsmiddelen risico's voor de volksgezondheid opleveren na consumptie van het vlees van dergelijke dieren. Naast deze vragen kan het van belang zijn om de gebruikte startdosering te achterhalen. Bij dergelijke vraagstellingen is het belangrijk om de urineconcentraties die gemeten worden bij residu controles te vertalen naar concentraties in organen, vlees of melk voor humane consumptie en naar een mogelijke toegediende dosis. Generieke fysiologisch gebaseerde kinetische (PBK) modellen kunnen mogelijk deze vertaalslag maken. Om generieke PBK-modellen goed en snel toe te kunnen passen tijdens een incident is het noodzakelijk om bepaalde gegevens beschikbaar te hebben. Hierbij horen onder ander achtergrondinformatie over de casus/het incident, eventuele productnormen (maximum residu limieten) maar ook kinetische data beschikbaar in de literatuur. Het doel van dit project was om een werkwijze op te stellen om generieke PBK-modellen toe te kunnen passen wanneer dierbehandelingsmiddelen in runderurine worden aangetroffen. Vervolgens is de werkwijze getest in drie verschillende casussen, namelijk paracetamol, meloxicam en dapson, die reeds eerder zijn afgerond en waarbij de toepassing van de PBK-modellen geen onderdeel is geweest in de opvolgacties. De PBK-modellen blijken zeer geschikt te zijn om orale toediening van paracetamol te modelleren. Voor meloxicam is het PBK-model voor het eerst getest op subcutane toediening, en deze toedieningsroute zou onderzocht moeten worden voor data van andere chemische stoffen om het PBK-model verder te evalueren en eventueel aan te passen. Het PBK-model voor kalveren is voor de casus dapson ontwikkeld op basis van de gemeten data in melkkoeien en de extrapolatie naar kalveren. In de toekomst zouden *in vitro* metabolisedata van dapson kunnen dienen voor de validatie van de geëxtrapoleerde klaring. Voor toekomstig onderzoek is het doel om meer vertrouwen te krijgen in de PBK-modellen en voor welke chemische stoffen ze gebruikt kunnen worden in een handhavingscontext. Ook kan het relevant zijn om vaker *in vitro* metabolismestudies mee te nemen in de ontwikkeling van generieke PBK-modellen. Dit is vooral belangrijk in gevallen waar geen of weinig data voorhanden zijn.

1 Introductie

Bij de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) komen soms signalen binnen dat pijnstillers als paracetamol en niet-steroïde anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAID's) toegediend worden aan runderen die mogelijk niet geschikt zouden zijn om getransporteerd te worden, om zo deze ongeschiktheid te maskeren. Zowel paracetamol als ook andere NSAID's zijn gedetecteerd in urines bij bemonstering van verdachte runderen. Officieel is het gebruik van paracetamol en veel NSAID's zoals meloxicam bij runderen niet toegestaan. Naast deze stoffen worden incidenteel ook verboden antibiotica aangetroffen. Een belangrijke vraag is of het gebruik van deze dierbehandelingsmiddelen bij runderen een risico voor de volksgezondheid oplevert na consumptie van het vlees van dergelijke dieren.

Om deze vraagstelling verder te onderbouwen is het van belang om de urineconcentraties gemeten in de residu controle ihkv het Nationaal Plan Residuen te vertalen naar concentraties in organen of vlees voor humane consumptie. Generieke op fysiologie gebaseerde kinetische (PBK) modellen kunnen deze vertaalslag mogelijk maken. Met PBK-modellen wordt de opname, distributie, metabolisme en uitscheiding van stoffen in de tijd gesimuleerd en kunnen voorspellingen gedaan worden over de verwachte concentraties in verschillende organen en uitscheiding in de urine. Zo kan een schatting gemaakt worden van de concentraties in organen en vlees op basis van gemeten concentraties van de moederstof en/of een metaboliet in urine. Kinetische modellen hebben een belangrijke functie in de interpretatie van gemeten niveaus van contaminanten/dierbehandelingsmiddelen in landbouwhuisdieren (bv. in urine of plasma). Met de toenemende beschikbaarheid van zogenaamde generieke PBK-modellen voor landbouwhuisdieren is het mogelijk om in een relatief korte tijd een dergelijk generiek model te kalibreren op een specifieke stof en in te zetten bij incidenten met als doel de concentratie van de chemische stof in de consumeren matrices te berekenen. Bij generieke PBK-modellen staat de modelstructuur vast. Deze weerspiegelt de fysiologie van het dier (bv. koe, kip, varken, schaap) en kan zo nodig aangepast worden aan verschillende leeftijden en rassen.

Om generieke PBK-modellen goed en snel toe te kunnen passen tijdens een incident is het noodzakelijk om bepaalde informatie beschikbaar te hebben. Hierbij horen o.a. achtergrondinformatie over de casus/incident, de vraagstelling, eventuele productnormen (maximum residu limieten) maar ook kinetische data beschikbaar in de literatuur. Het doel van dit project is om een werkwijze op te stellen om generieke PBK-modellen snel geschikt te maken en toe te kunnen passen wanneer dierbehandelingsmiddelen in runderurine worden aangetroffen. Daarvoor is de werkwijze getest in drie verschillende reeds afgeronde casussen, namelijk paracetamol, meloxicam en dapson. De PBK-modellen zijn daarmee geen onderdeel geweest in de opvolgacties.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Werkwijze voor casussen

De werkwijze voor iedere casus is ingedeeld in vier hoofdonderdelen, namelijk achtergrondinformatie en vraagstelling, resultaten PBK-modelsimulaties voor de chemische stof, vertaling van PBK-simulaties, en conclusies.

De bedoeling is dat achtergrondinformatie over een casus gegeven wordt door de opdrachtgever, zoals NVWA. Deze kan worden aangevuld door gesprekken met verschillende experts, zoals dierenartsen of analisten binnen WFSR die de monsters hebben geanalyseerd. De achtergrondinformatie houdt in dat beschreven wordt om welke chemische stof het gaat en wat de aanleiding is geweest om deze uit te werken als casus. Verder wordt aangegeven of er wettelijke limieten (maximum residu level (MRL) of reference point of action (RPA)) zijn. Deze sectie wordt als belangrijk geacht om door alle betrokken partijen zo goed mogelijk in te vullen, omdat de werkwijze hiervan afhankelijk is.

De vraagstelling wordt dan door de opdrachtgever geformuleerd, waarbij drie vragen het meest urgent zijn om te beantwoorden of regelmatig terugkomen. De uiteindelijke vraagstellingen worden per casus door de opdrachtgever geformuleerd.

- A. Wat is de concentratie van stof X in dierlijke producten op het moment van bemonstering?
- B. Wat is de maximale concentratie in runderurine van stof X voordat een overschrijding van de MRL of RPA in dierlijke producten plaatsvindt uitgaande van een maximale dosering?
- C. Hoelang geleden is de chemische stof X toegediend aan het dier?
- D. Wat is de toegediende dosering van een stof X geweest op basis van gemeten data?

Op basis van de achtergrondinformatie en de vraagstelling wordt bepaald welke aannames gemaakt moeten worden over het mogelijke blootstellingsscenario voor de PBK-model simulatie. Hiermee wordt bedoeld of de toedieningsroute van de chemische stof bekend is (oraal, intramusculair, intraveneus, of subcutaan), en informatie over het dier zelf. Aannames over de input parameters voor het PBK-model zelf worden in de volgende stap gedaan.

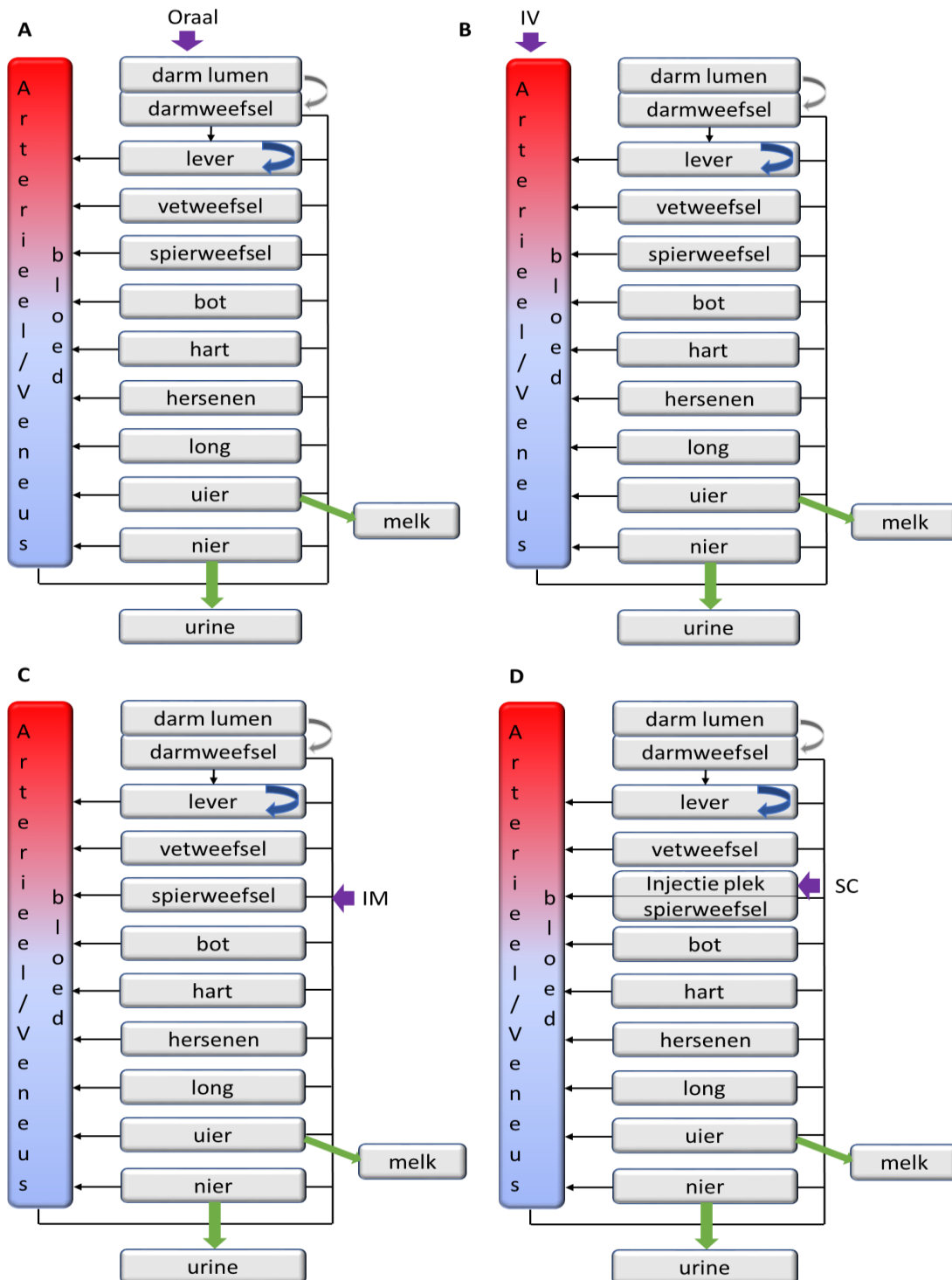
Als het mogelijke blootstellingsscenario gedefinieerd is, wordt in het vervolg gekeken of er voor de chemische stof kinetische *in vivo* of *in vitro* data aanwezig zijn in de literatuur. Verder wordt beschreven hoe het PBK-model kan worden toegepast met de verkregen informatie of wat anders aannames zijn voor de modellering. Deze modelbeschrijving wordt ingedeeld in vier stappen: toedieningsroute, metabole klaring of nierklaring, partiticoëfficiënten naar weefsel en organen en eventuele overdracht naar melk.

In de resultatensectie van de werkwijze (Annex I) wordt de uitkomst van de PBK-simulatie beschreven en vergeleken met gemeten data. Vervolgens wordt geconcludeerd of de gemodelleerde concentraties vertaald kunnen worden, bijvoorbeeld urineconcentraties naar vleesconcentraties. De conclusie bevat de antwoorden op de door de opdrachtgever gestelde vragen.

2.2 PBK-model voor de melkkoe

Het PBK-model van de koe bevat 11 compartimenten: arterieel/veneus bloed, darmstelsel, lever, vetweefsel, spierweefsel, hart, nier, long, bot, hersenen en uier (Figuur 2.1). Alle fysiologische parameters zijn afkomstig uit de literatuur (Lautz et al., 2020a). Metabolisme vindt plaats in de lever en wordt enkel in de lever gesimuleerd. De uitscheiding vindt plaats via urine en/of melk. Het model bevat 4 mogelijke toedieningsroutes, namelijk oraal, intraveneus, intramusculair en subcutaan, waarvan oraal en intraveneus al voor verschillende farmaceutische stoffen zijn toegepast (Lautz et al., 2020b). Het darmstelsel bestaat uit twee compartimenten, darmlumen en darmweefsel, wat de mogelijkheid geeft om ook uitscheiding via gal mee te nemen in het model indien nodig. De absorptie vanuit het darmlumen in het darmweefsel wordt gemodelleerd als een proces van de

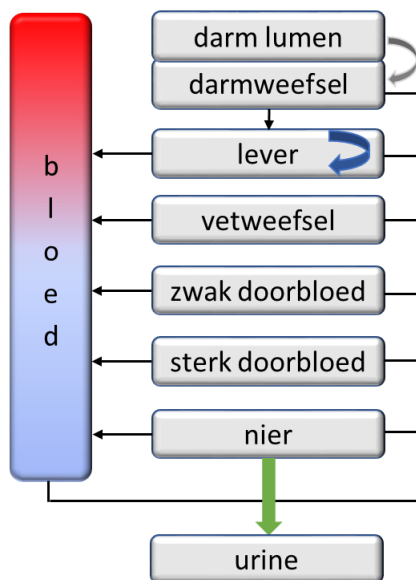
eerste orde en de distributie door het lichaam wordt gemodelleerd via de systemische circulatie. Om het model per stof X toe te passen is in ieder geval de klaring van stof X als inputparameter nodig. Voor de biobeschikbaarheid en de opnamesnelheid kunnen default parameterwaarden van 100% en respectievelijk 0,5 per uur worden aangenomen als er geen specifieke waarden voor de chemische stof bekend zijn. Partiticoëfficiënten worden geschat met behulp van een quantitative structure-activity relationship (QSAR) (Hendriks et al., 2005).



Figuur 2.1 Structuur van het PBK-model in melkkoeien met 4 verschillende toedieningsroutes. De chemische stof kan op vier manieren worden toegediend: A) oraal; B) intraveneus; C) intramusculair; D) subcutaan. Alle modellen hebben dezelfde fysiologische indeling, enkel bij de subcutane toediening is een aparte injectieplek toegevoegd. In de lever wordt de stof gemetaboliseerd (blauwe pijl). Uitscheiding vindt plaats via urine en/of melk.

2.3 PBK-model voor het kalf

Er zijn in de literatuur geen PBK-modellen voor kalveren beschikbaar. Het PBK-model voor kalveren is ontwikkeld aan de hand van de casus dapson. Het doel was om op basis van urineconcentraties de toegediende dosering te berekenen, vandaar dat er gekozen is voor een gecomprimeerde PBK-modelstructuur. Het uiteindelijke PBK-model bevat 8 compartimenten, waaronder bloed, darmweefsel, lever, vetweefsel, en nier. De fysiologische parameters zijn afkomstig uit de literatuur (Lin et al., 2020). Andere organen zoals bijvoorbeeld spierweefsel, hersenen, botten, hart en long zijn samengevat en ingedeeld in sterk doorbloed weefsel en zwak doorbloed weefsel (Figuur 2.2). Metabolisme vindt plaats in de lever. De uitscheiding vindt plaats via urine.



Figuur 2.2 PBK-modelstructuur voor kalveren. Metabolisme vindt plaats in de lever en uitscheiding via urine.

3 Casus paracetamol

3.1 Achtergrond en vraagstelling

3.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens

Bij de directie Handhaving van de NVWA komen soms signalen binnen dat op de exportverzamelplaats pijnstillers als paracetamol en NSAID's toegediend worden aan runderen die mogelijk niet geschikt zouden zijn om getransporteerd te worden, om zo deze ongeschiktheid voor transport te maskeren. Zowel paracetamol als NSAID's zijn inmiddels gedetecteerd in urines bij bemonstering van verdachte dieren. Een belangrijke vraag is of dit risico's voor de volksgezondheid oplevert na consumptie van het vlees van dergelijke dieren. Voordat deze risico's ingeschat kunnen worden moet eerst bepaald worden welke hoeveelheid van een stof aanwezig kan zijn in het vlees dat geconsumeerd wordt. Hiervoor zou dat vlees zelf geanalyseerd kunnen worden. Echter, bemonstering van vlees in levende dieren is niet mogelijk. Daarom is een niet-invasieve wijze het berekenen van de concentratie in het vlees vanuit de gemeten concentratie in de urine. Voor paracetamol zijn geen wettelijke grenswaarden in vlees of andere organen bekend (Tabel 3.1). Paracetamol is niet geregistreerd voor gebruik in kalveren.

Tabel 3.1 Beschikbare achtergrondinformatie

Beschikbare data	Waarden
Detectielimiet	10 µg/kg vlees voor paracetamol (moederstof)
Wettelijke grenswaarden	Geen MRL beschikbaar
Achtergrondliteratuur	Beschikbaar bij WFSR

3.1.1.1 Vraagstelling

- Wat is de maximale paracetamolconcentratie in urine waarbij de gehalten in vlees leiden tot een overschrijding van de acceptable daily intake?
- Wat is de paracetamolconcentratie in vlees op moment X uitgaande van een urineconcentratie op moment Y?
- Kunnen er uitspraken worden gedaan wanneer paracetamol is toegediend?

3.1.1.2 Aannames scenario

Diergeneesmiddelen die paracetamol bevatten mogen door EU-lidstaten worden toegepast voor orale toediening in varkens. Er wordt aangenomen dat paracetamol, toegelaten voor varkens, ook gebruikt wordt voor runderen. Dit zou betekenen dat paracetamol eenmalig oraal wordt toegediend aan koeien vlak voor vertrek naar het slachthuis.

3.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiekdata van paracetamol in runderen

3.1.2.1 Beschikbare *in vivo* data

Een literatuurstudie in Google scholar is gedaan met de zoektermen: cattle, paracetamol, pharmacokinetic, oral. Verder is gebruikt gemaakt van de veterinaire database FARAD waar een overzicht is beschreven van alle literatuur wat betreft paracetamol in runderen (<https://cafarad.ucdavis.edu/citationsearch/>). Er zijn twee studies gevonden die de orale opname van paracetamol in runderen/kalveren beschrijven en deze zijn opgenomen in Tabel 3.2 (Janus et al., 2003; Sawaguchi et al., 2016).

Tabel 3.2 Beschikbare *in vivo* data paracetamol

Parameters	Eenheid	Sawaguchi et al. (2016)	Sawaguchi et al. (2016)	Janus et al. (2003)
Leeftijd	-	1,5-2 jaar	1,5-2 jaar	24-25 dagen
Geslacht	-	Castrated male	Castrated male	Niet bekend (preruminant)
Ras	-	Holstein	Holstein	Holstein-Friesian
Gewicht	kg	600-810	600-810	49
Toediening	-	Oraal	Intraveneus	Intraveneus
Dosering	mg/kg	10	10	5
Cmax	µg/ml	3,45	-	-
Tmax	uur	1,4	-	-
Klaring	l/uur/kg	0,31	0,31	0,0082
Opname snelheid	per uur	0,472	-	-
AUC	µg*uur/ml	21,5	31,7	321,3
Biobeschikbaarheid	%	70	nvt	nvt
Weefsel data	-	Bloedconcentratie	Bloedconcentratie	Bloedconcentratie

3.1.2.2 Beschikbare *in vitro* data

Er zijn geen *in vitro* data beschikbaar in de literatuur met betrekking tot de kinetiek van paracetamol in de (melk)koe.

3.1.2.3 Toepassing PBK-model

Voor het toepassen van een PBK-model voor paracetamol in de melkkoe zijn de volgende inputgetallen nodig: 1) opnamesnelheid van de stof en de fractie opgenomen stof, 2) de metabole klaring van de stof in de lever, 3) distributie (partiticoëfficiënten) en 4) uitscheidingsgegevens naar de melk. Op basis van gegevens voor de mens en rat is bekend dat er geen actieve transportprocessen plaatsvinden. De aanname is dat ook in de melkkoe geen actieve transportprocessen, bijvoorbeeld actieve darmexcretie of nierresorptie plaatsvinden en beschreven hoeven te worden in het model.

Opname (toedieningsroute)

Na orale toediening van een dosering van 10 mg/kg lichaamsgewicht werd paracetamol snel opgenomen in gecastreerde stieren. De halfwaardetijd in het maag/darmkanaal was 1,6 uur. In het model wordt de opnamesnelheid van paracetamol gebruikt als PBK inputparameter, namelijk 0,472 per uur (Sawaguchi et al., 2016). Verder wordt aangenomen dat paracetamol voor 100% wordt opgenomen en dat de pens niet bijdraagt aan metabolisme.

Metabole klaring

In de literatuur zijn gegevens bekend over de kinetiek van paracetamol in stieren. Maar de PBK-simulaties zijn uiteindelijk nodig voor de melkkoe. Omdat er geen kinetische studies met melkkoeien beschikbaar zijn, zijn de data voor stieren genomen als basis om de leverklaring te beschrijven, namelijk 0,31 l/uur/kg (Sawaguchi et al., 2016). De aanname is dat er voor paracetamol dus geen verschillen zijn tussen stieren en melkkoeien als het gaat om leverklaring.

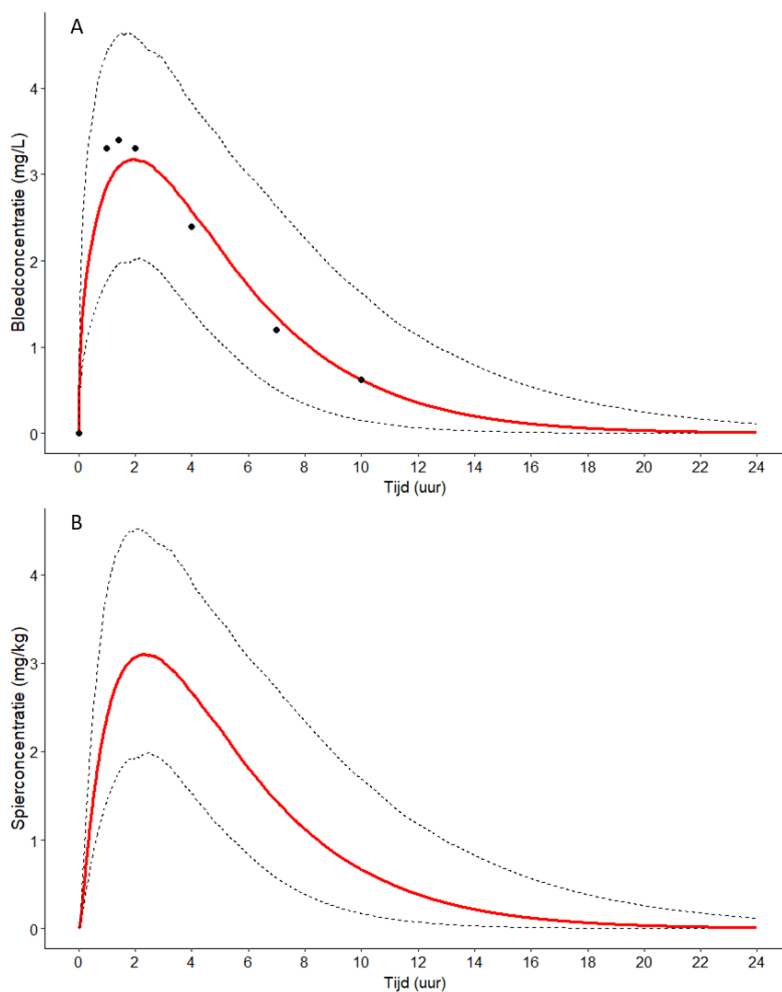
Partiticoëfficiënten

Partiticoëfficiënten voor paracetamol voor de verschillende organen/weefsels zijn berekend op basis van een quantitative structure-activity relationship (QSAR) (Hendriks et al., 2005). De berekende partiticoëfficiënten komen overeen met wat bekend is in de mens (Geenen et al., 2013).

3.2 Resultaten PBK-simulaties paracetamol in de melkkoe

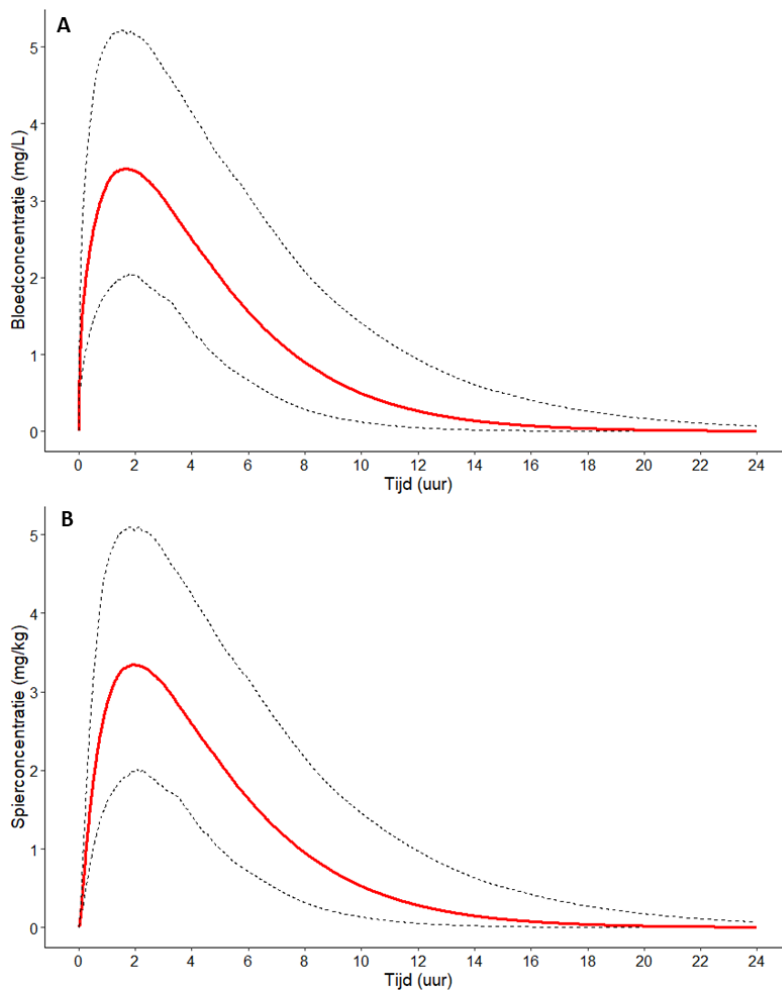
Het doel was om de kinetiek van paracetamol in melkkoeien te simuleren. Echter, omdat er geen dierstudies met paracetamol in melkkoeien beschikbaar zijn, is eerst een modelkalibratie gedaan op de beschikbare data voor stieren. Hiervoor is het PBK-model voor stieren gebruikt uit Lautz et al. (2020b). De uitkomst in Figuur 3.1 laat zien dat de voorspelde gemiddelde bloedconcentratie van paracetamol in stieren (rode lijn) overeenkomt

met de *in vivo* gemeten bloedconcentraties bij orale blootstelling in stieren. De stippellijnen geven het betrouwbaarheidsinterval weer, de zwarte punten de data uit de literatuur (Sawaguchi et al., 2016).



Figuur 3.1 Paracetamolconcentraties in A) bloed en B) spierweefsel van stieren na orale blootstelling (10 mg/kg). De rode lijn geeft de modelvoorspelling weer met een bijhorend betrouwbaarheidsinterval (grijze lijnen). De zwarte punten geven de gemeten bloedconcentraties weer uit de studie van Sawaguchi et al., 2016.

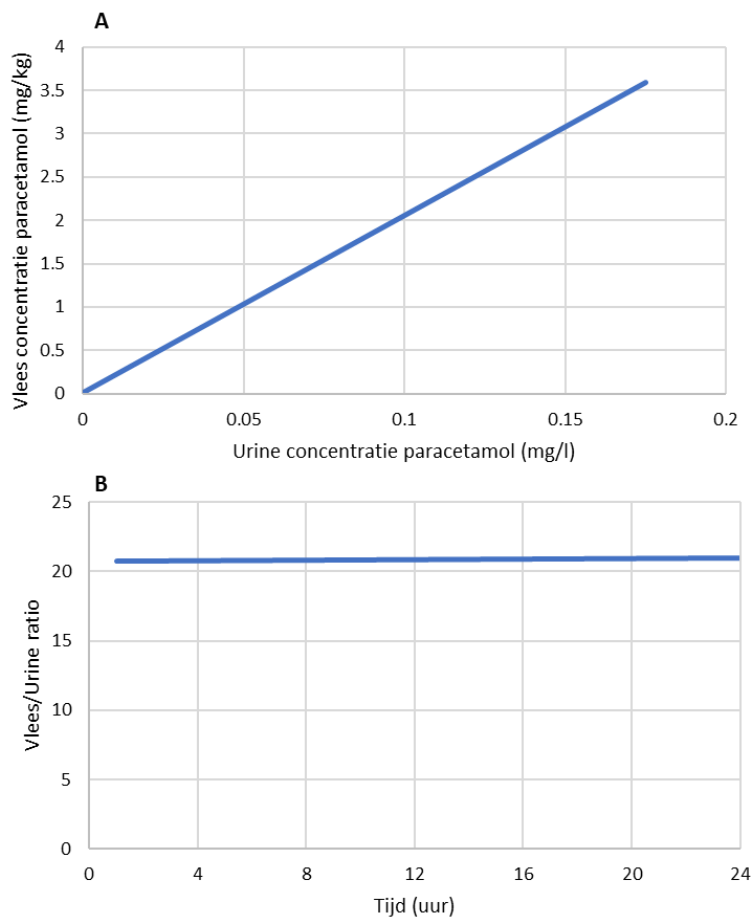
Vervolgens werden de parameter inputwaardes gebruikt voor het melkkoe PBK-model. Melkkoe en stier PBK-modellen verschillen qua fysiologie en het uiercompartiment en de melkgift (Lautz et al., 2020b). Figuur 3.2 laat de bloedconcentratie van paracetamol zien na orale blootstelling van melkkoeien. Vergeleken met de simulatie van paracetamol in stieren zijn de bloed- en spierconcentraties vergelijkbaar (gemiddeld 3,5 versus 3,0 mg/l).



Figuur 3.2 Paracetamolconcentraties in A) bloed en B) spierweefsel in melkkoeien na orale blootstelling (10 mg/kg). De rode lijn geeft de modelvoorspelling weer met een bijhorend betrouwbaarheidsinterval (grijze lijnen).

3.3 Vertaling urinegehalte naar vleesgehalte

De moederstof paracetamol wordt nauwelijks uitgescheiden via urine, maar voor bijna 100% gemetaboliseerd in paracetamol-glucuronide en paracetamol-sulfaat (EMA, 1999). Gemodelleerde urine concentraties van de moederstof paracetamol zijn tegen gemodelleerde vleesconcentraties uitgezet om de ratio te bepalen. Als paracetamol gemeten wordt in urine, dan moet deze concentratie vermenigvuldigd worden met een factor 20,5 om de vleesconcentratie te berekenen. Deze waarde is onafhankelijk van de tijd omdat in het model altijd dezelfde verhouding bestaat tussen vlees en urine (Figuur 3.3).



Figuur 3.3 A) Ratio vleesconcentratie paracetamol (mg/kg)/urine concentratie paracetamol (mg/l) in melkkoeien. B) De ratio is gelijk op ieder gemeten tijdstip na toediening.

3.4 Conclusies

De resultaten verkregen met het modelleren van paracetamol in melkkoeien leveren de volgende antwoorden voor de verschillende vraagstellingen:

A. Wat is de maximale paracetamolconcentratie in urine waarbij de gehalten in vlees leiden tot een overschrijding van de acceptable daily intake?

Op basis van het BuRO-advies (2018) mag (spier)vlees van runderen maximaal 400 µg/kg paracetamol bevatten voordat de acceptable daily intake (ADI; 0,05 mg/kg lichaamsgewicht per dag) overschreden wordt. Uitgaande van een vlees/urine ratio van 20,5 voor paracetamol betekent dit dat runderurine 19,5 µg paracetamol/l mag bevatten voordat de ADI overschreden wordt door consumptie van vlees.

Wat is de paracetamolconcentratie in vlees op moment X uitgaande van een urineconcentratie op moment Y? De verhouding tussen vlees en urine is op ongeveer 20 (mg paracetamol/kg vlees) ten opzichte van 1 (mg paracetamol/l urine) geschat. Deze verhouding blijft in de tijd gelijk. Op basis van de urineconcentratie kan met deze verhouding een vleesconcentratie geschat worden. Ligt deze vleesconcentratie op dat moment boven de 400 µg/kg dan zou dat een reden kunnen zijn om het dier aan te houden en te slachten voor bemonstering van het vlees. Het moet worden opgemerkt worden dat de berekende verhouding tussen urine en vlees, de verhouding in een levend dier weergeeft. Omdat er tijd zal zitten tussen de urinemonsternamen en de slachting van het dier zal de vleesconcentratie verder afnemen. De PBK-modeluitkomst is daarom een worst-case voorspelling.

Kunnen er uitspraken worden gedaan wanneer paracetamol is toegediend?

Uitgaande van een bepaalde dosering is dat in principe mogelijk. Echter, voor deze casus zijn geen urineconcentraties aangeleverd en kan niet worden berekend wanneer paracetamol is toegediend.

4 Casus meloxicam

4.1 Achtergrond en vraagstelling

4.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens

Bij directie Handhaven van de NVWA zijn signalen binnengekomen dat op exportverzamelplaatsen pijnstillers (NSAID's) en paracetamol worden toegediend aan runderen die mogelijk niet geschikt zijn om getransporteerd te worden. De toegediende middelen zouden deze ongeschiktheid voor transport maskeren. Eén van de veel voorkomende NSAID's is meloxicam, waarbij het om de middelen NOVEM en MELOVEM gaat. Een belangrijke vraag is of dit risico's voor de volksgezondheid oplevert na consumptie van het vlees van dergelijke dieren. Voordat deze risico's ingeschat kunnen worden moet eerst bepaald worden welke hoeveelheid van een stof aanwezig is in het vlees dat geconsumeerd wordt. Hiervoor zou dat vlees zelf geanalyseerd kunnen worden. Echter, het bemonsteren van vlees van levende dieren is niet mogelijk. Daarom is een niet-invasieve wijze het berekenen van de concentratie in het vlees uit de gemeten concentratie in de urine. Voor meloxicam zijn wettelijke grenswaarden in vlees, melk en andere organen bekend in runderen (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Beschikbare achtergrondinformatie

Beschikbare data	Waarden
Wettelijke grenswaarden	MRL rund: 20 µg/kg Spierweefsel 65 µg/kg Lever 65 µg/kg Nier 15 µg/kg Melk
	ADI: 1,25 µg/kg lichaamsgewicht/dag (dus 75 µg voor een volwassen persoon van 60 kg)
Achtergrondliteratuur	Beschikbaar bij WFSR

4.1.1.1 Vraagstelling

- Wat is de maximale meloxicam concentratie in urine waarbij de gehalten in vlees leiden tot een overschrijding van de MRL?
- Wat is de meloxicam concentratie in vlees op moment X uitgaande van een urineconcentratie op moment Y?
- Kunnen er uitspraken worden gedaan wanneer meloxicam is toegediend?

4.1.1.2 Aannames scenario

NOVEM en MELOVEM zijn in de EU geregistreerd voor subcutane toediening in runderen (0,5 mg meloxicam/kg lichaamsgewicht (EMA, 2014; EMA, 2020). Officieel is er een wachttijd van 15 dagen voor vlees en organen/weefsel van runderen na toediening van de medicaties (EMA, 2014; EMA, 2020).

4.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiek van meloxicam in runderen

4.1.2.1 Beschikbare *in vivo* data

Een literatuurstudie is gedaan met de zoektermen: cattle, meloxicam, pharmacokinetic, subcutaneous. Verder is gebruikt gemaakt van de veterinaire database FARAD waar een overzicht is beschreven van alle literatuur wat betreft meloxicam in runderen (<https://cafarad.ucdavis.edu/citationsearch/>). Op basis van de beschikbare literatuur zijn twee studies gevonden waarbij meloxicam subcutaan is toegediend (Tabel 4.2) (Meléndez et al., 2019; Shock et al., 2019). In de literatuur zijn ook studies beschikbaar met betrekking tot orale of intraveneuze toediening van meloxicam aan runderen, maar de focus ligt op subcutane toediening in deze casus.

Tabel 4.2 Beschikbare *in vivo* data meloxicam

Parameters	Eenheid	Shock et al. (2019)	Meléndez et al. (2019)
Leeftijd	-	volwassen	7-8 maanden
Geslacht	-	melkkoe	Geslacht onbekend, vleeskalveren
Ras	-	-	Angus
Gewicht	kg	-	328
Toediening	-	subcutaan	subcutaan
Dosering	mg/kg	0,5	0,5
C _{max}	µg/ml	1,22	2,37
T _{max}	uur	5,33	3,7
Klaring	ml/uur/kg	19,5	7,98
Opname snelheid	Per uur	-	-
AUC	µg*uur/ml	25,53	64,45
Biobeschikbaarheid	%	-	-
Weefsel data	-	Bloedconcentratie	-

4.1.2.2 Beschikbare *in vitro* data

Er zijn geen *in vitro* data beschikbaar in de literatuur met betrekking tot de kinetiek van meloxicam in de (melk)koe.

4.1.2.3 Toepassing PBK-model

Voor het toepassen van een PBK-model in de melkkoe zijn de volgende parameters nodig: 1) opname; 2) metabole klaring van de stof; 3) distributie; 4) uitscheidingsgegevens naar melk.

Opname (toedieningsroute)

Meloxicam wordt subcutaan toegediend bij melkkoeien (0,5 mg/kg lichaamsgewicht), dus de dosis meloxicam komt voor 100% vlak onder de huid terecht.

Metabole klaring

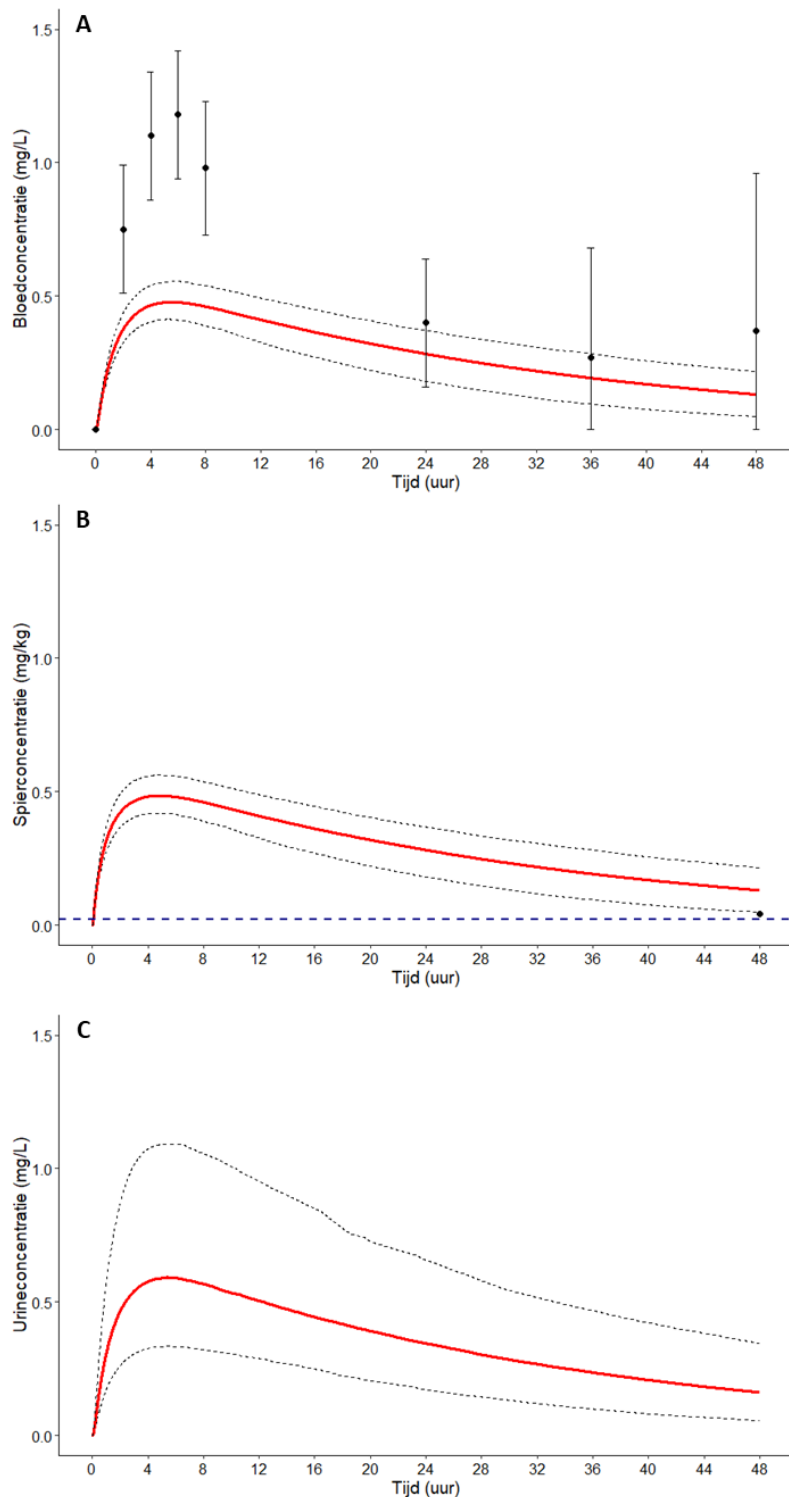
In de literatuur zijn gegevens bekend over de kinetiek van meloxicam in melkkoeien. Meloxicam wordt effectief (>90%) gemetaboliseerd in verschillende dieren (b.v. ratten, muizen, runderen, minivarkens, mensen). Het metabolietenprofiel in plasma en excreta is kwalitatief vergelijkbaar tussen deze dieren (inclusief eetbare weefsel). Minder dan 10% komt als moederstof meloxicam terecht in de urine (EMA, 2006). De leverklaring is 17,55 ml/uur/kg en de nierklaring is 1,95 ml/uur/kg (Shock et al., 2019).

Partiticoëfficiënten

De partiticoëfficiënten zijn berekend met behulp van een QSAR (Hendriks et al., 2005).

4.2 Resultaten PBK-simulaties meloxicam in melkkoe

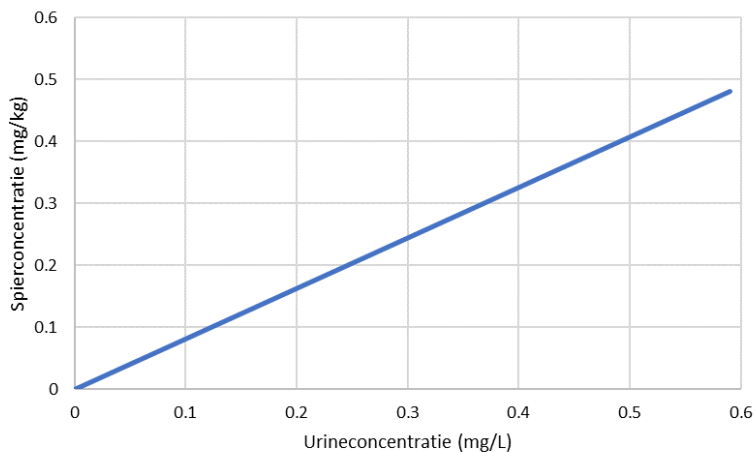
De uitkomst van de PBK-modelsimulatie in Figuur 4.1 laat zien dat de voorspelde gemiddelde bloedconcentratie van meloxicam (rode lijn) gedeeltelijk overeenkomt met de *in vivo* gemeten bloedconcentratie bij subcutane toediening. De gemeten bloedconcentratie uit de literatuur (Shock et al., 2019) is tijdens de absorptiefase twee keer hoger dan de voorspelde bloedconcentratie, terwijl die tijdens de eliminatiefase beter overeenkomen met de gemeten data. De initiële bloedconcentratie wordt dus onderschat. Om te bepalen wat de oorzaak voor deze onderschatting is, zouden andere chemische stoffen gemodelleerd moeten worden om een conclusie te trekken. Op basis van de onderschatting in de bloedconcentratie is er mogelijk ook een onderschatting van de vleesconcentratie.



Figuur 4.1 Concentraties van meloxicam in A) bloed, B) spierweefsel en C) urine in melkkoeien na eenmalige subcutane toediening (0,5 mg/kg). De rode lijn geeft de modelvoorspelling weer met een bijhorend betrouwbaarheidsinterval (grijze lijnen). De zwarte punten voor bloed geven de gemeten bloedconcentratie weer met bijhorende standaarddeviatie uit de studie van Shock et al., 2019. De zwarte punt voor spierweefsel op 48 uur geeft een gemeten waarde weer (EMA, 2006). De blauwe stippellijn bij vleesconcentratie geven de MRL weer.

4.3 Gemeten urineconcentraties vertalen naar vleesconcentraties

De modelvoorspellingen zijn met een generiek model onvoldoende betrouwbaar, omdat de bloedconcentraties uit de studie onderschat worden. Hierdoor zijn ook andere concentraties zoals in vlees en urine waarschijnlijk niet goed voorspeld. Op basis van de modelvoorspelling moet de urineconcentratie vermenigvuldigd worden met een factor 0,8 om de vleesconcentratie te berekenen (Figuur 4.2). Omdat de modelvoorspellingen onzeker zijn is de onzekerheid meegenomen en heeft de factor van 0,8 een range van 0,6 tot 1,1.



Figuur 4.2 Ratio vleesconcentratie meloxicam (mg/kg)/urine concentratie meloxicam (mg/l) in melkkoeien.

4.4 Conclusies

A. Wat is de maximale meloxicam concentratie in urine waarbij de gehalten in vlees leiden tot een overschrijding van de MRL?

De MRL van vlees is 20 µg/kg. Om deze MRL te overschrijden, moet er minimaal 25 µg/L (range 19 tot 35 µg/L) meloxicam in urine aanwezig zijn. Omdat de bloedconcentraties niet goed voorspeld werden, zijn deze uitspraken over de urine/vlees verhouding met betrekking tot de MRL heel onzeker.

Wat is de meloxicam concentratie in vlees op moment X uitgaande van een urineconcentratie op moment Y?

De verhouding tussen vlees en urine is geschat op ongeveer 0,8. Deze verhouding blijft in de tijd gelijk. Op basis van de urineconcentratie kan met deze verhouding een vleesconcentratie geschat worden. Ligt deze vleesconcentratie op dat moment boven de MRL dan zou dat een reden kunnen zijn om het dier aan te houden en te slachten voor bemonstering van het vlees. Het moet worden opgemerkt worden dat de berekende verhouding tussen vlees en urine de verhouding in een levend dier weergeeft. Omdat er tijd zal zitten tussen de urinemonsternamen en de slachting van het dier zal de vleesconcentratie verder afnemen. De PBK-modeluitkomst is daarom een worst-case voorspelling.

Kunnen er uitspraken worden gedaan wanneer meloxicam is toegediend?

Uitgaande van een bepaalde dosering kan dat maar er zijn voor de deze casus geen urineconcentraties aangeleverd. Daarom kan niet worden berekend wanneer meloxicam is toegediend.

5 Casus dapson

5.1 Achtergrond en vraagstelling

Bij de NVWA zijn signalen binnengekomen dat dapson illegaal werd toegediend aan kalveren van 1 maand oud. Naar aanleiding hiervan heeft de NVWA een urine bemonstering uitgevoerd waarbij 16 kalveren werden bemonsterd. Hiervan werden 12 urinemonsters positief bevonden op dapson (mediaan 1,0 µg/L; range 0,6 tot 11,4 µg/L) (Tabel 5.1). Naast de positieve urinemonsters werd dapson ook gedetecteerd in diergeneesmiddelen die aan kalveren werden toegediend (dapson stond niet als werkzaam bestanddeel op het label), mogelijkkerwijs als verontreiniging. Er werd geen dapson aangetroffen in het voer. Dapson is niet goedgekeurd als geneesmiddel voor kalveren, dus er is geen MRL beschikbaar. Een belangrijke vraag is daarom of dapson bewust werd toegediend of mogelijkkerwijs als verontreiniging in de gebruikte diergeneesmiddel aanwezig was en daarmee onbewust werd toegediend.

5.1.1 Beschrijving casus en beschikbare meetgegevens

Tabel 5.1 Beschikbare achtergrondinformatie

Beschikbare data	Waarden
Gemeten data in urine	Range 0,6 tot 11,4 µg/L
Detectielimiet	0,2 µg/L urine
Achtergrondliteratuur	Beschikbaar bij WFSR

5.1.1.1 Vraagstelling

- Is het mogelijk om met behulp van PBK-modellen te achterhalen wat de toegediende dosis van dapson is geweest?
- Zou de dapsonverontreiniging in het farmaceutische preparaat de gemeten urineconcentraties kunnen verklaren?

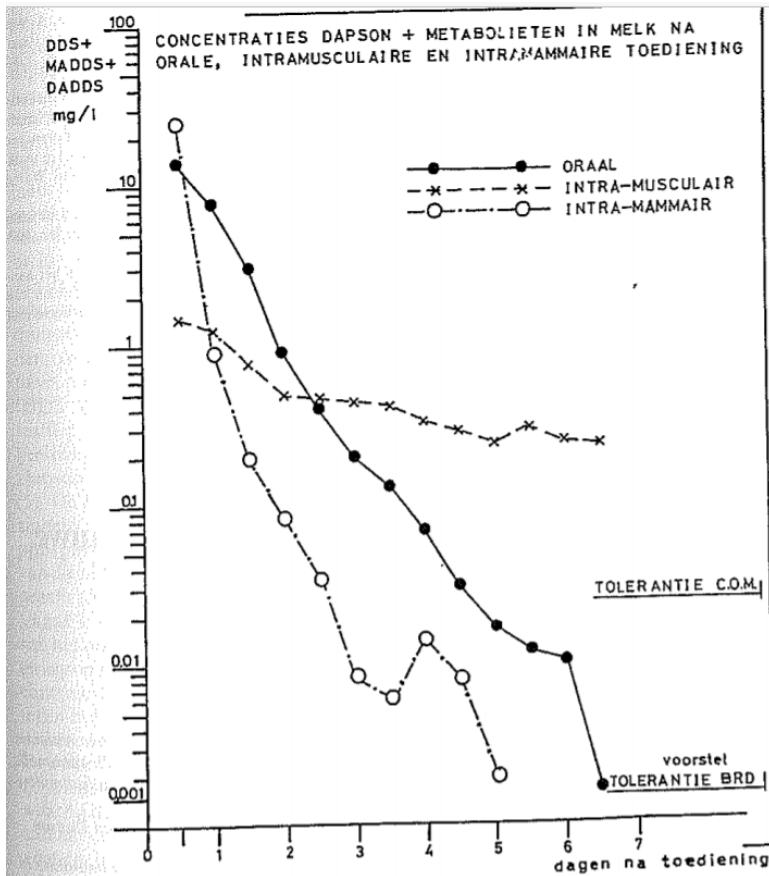
5.1.1.2 Aannames scenario

De aanname is dat dapson oraal is toegediend aan kalveren, omdat het verdachte besmette diergeneesmiddel oraal is toegediend gedurende 5 dagen. Na overleg met de opdrachtgever werd bevestigd dat andere toedieningsroutes kunnen worden uitgesloten. De maximale vervuiling van dapson die is toegestaan in het preparaat is 200 µg/kg product. Een kalf van 75 kg krijgt volgens de gebruikte dosering van dat middel (3,75 mg/dag) maximaal 0,75 µg dapson per dag binnen, ofwel 3,75 µg dapson gedurende de behandeling van 5 dagen.

5.1.2 Inventarisatie beschikbare kinetiek van dapson in runderen

5.1.2.1 Beschikbare *in vivo* data

Een literatuurstudie is gedaan met de zoektermen: cattle, calf, dapson, pharmacokinetic, oral. Er zijn geen studies gevonden. Kinetische data voor koeien of kalveren voor dapson ontbreken in de wetenschappelijke literatuur. Wel zijn er gemeten concentraties in melk van melkkoeien beschikbaar (van Gend et al., 1986) (Figuur 5.1).



Figuur 5.1 Concentratie dapson en metabolieten in melk na orale, intramusculaire en intramammaire toediening van 100 mg/kg lichaamsgewicht dapson (van Gend et al., 1986).

5.1.2.2 Beschikbare *in vitro* data

Er zijn geen *in vitro* data beschikbaar in de literatuur met betrekking tot de kinetiek van dapson in de kalveren.

5.1.2.3 Ontwikkeling kinetiekmodel

Voor het ontwikkelen van een PBK-model voor dapson in kalveren zijn de volgende inputgetallen nodig: 1) orale opnamesnelheid en de fractie opgenomen stof, 2) de metabole klaring van de stof in de lever, en de uitscheiding via de nier, 3) distributie (partiticoëfficiënten). Omdat er enkel gegevens in melkkoeien beschikbaar zijn wordt de concentratie in melk als uitgangspunt genomen. Dit betekent dat de parameters zoals klaring en absorptie gefit worden op basis van de gemeten concentratie in melk. Deze aanpak wordt ook omschreven als omgekeerde dosimetrie (reverse dosimetry). De verkregen kinetische parameters in de melkkoe worden dan allometrisch geschaald en als input gebruikt voor het PBK-model voor kalveren.

Opname (toedieningsroute)

Na orale toediening wordt dapson snel opgenomen. Er zijn verder geen parameters bekend in kalveren. Omdat er geen data beschikbaar zijn voor een chemische stof worden default parameterwaardes gebruikt. Er wordt vanuit gegaan dat de stof snel wordt opgenomen met een snelheid van 0,5 per uur en voor 100% beschikbaar is.

Metabole klaring

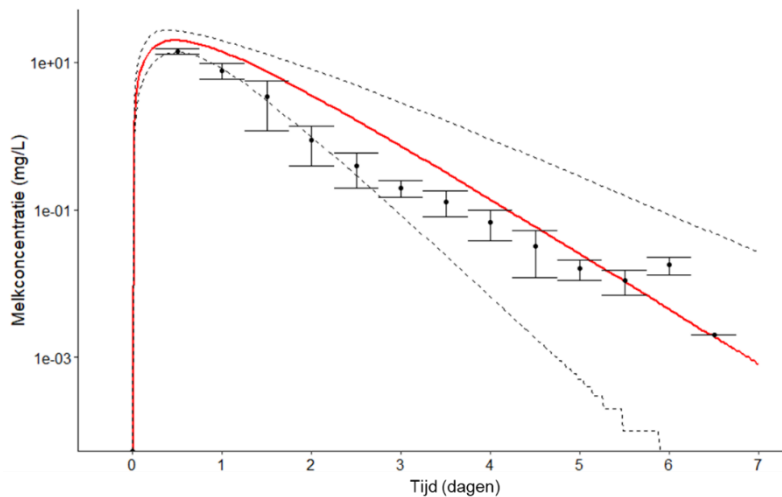
Dapsone wordt snel gemetaboliseerd in herkauwers (Ziv and Nouws, 1981). Rond 80% van het oorspronkelijk toegediend dapson is in de vorm van metabolieten terug te vinden in melk, urine en feces. Minder dan 20% van de oorspronkelijke stof kan gedetecteerd worden als de moederstof.

Partiticoëfficiënten

Partiticoëfficiënten voor dapson voor de verschillende organen/weefsels zijn berekend met behulp van een QSAR (Hendriks et al., 2005).

5.2 Resultaten PBK-simulaties dapson in melkkoeien

WFSR heeft geprobeerd om het in de literatuur beschreven fysieke experiment met dapson in melkkoeien (van Gend et al., 1986) met behulp van PBK-simulatie na te bootsen. Via omgekeerde dosimetrie is geprobeerd te achterhalen wat de waarde voor de klaring van dapson in melkkoeien zou kunnen zijn, omdat geen kinetische PBK-input parameterwaarden voor dapson beschikbaar zijn. De beste fit voor gemodelleerde en gemeten melkconcentraties is beschreven in Figuur 5.2 en wordt bereikt met de PBK-input getallen uit Tabel 5.2. De totale klaring van dapson wordt ingedeeld in 2/3 metabole klaring en 1/3 klaring via de nier van de oorspronkelijke stof op basis van gemeten klaring in de mens (May et al., 1990). Een variatie van 30% is meegenomen voor deze parameters om de onzekerheid in de modelberekening mee te nemen.



Figuur 5.2 Melkconcentratie van dapson equivalenten in melkkoeien na een eenmalige orale blootstelling van 100 mg/kg dapson. De rode lijn geeft de modelvoorspelling weer met een bijhorend betrouwbaarheidsinterval (grijze lijnen). De zwarte punten geven de gemeten melkconcentratie met de bijhorende standaard deviatie weer uit de studie van van Gend et al. (1986).

Tabel 5.2 Kinetische PBK-input parameter waarden voor dapson in melkkoeien.

Parameter	Waarde en eenheid	Opmerking
Absorptie	100%	default
Absorptieconstante	0,5 per uur	gefit, 30% variatie
Klaring (lever)	20 L/uur	gefit, 30% variatie, reabsorptie van metabolieten zijn hierin meegenomen
Klaring (nier)	10 L/uur	gefit, 30% variatie

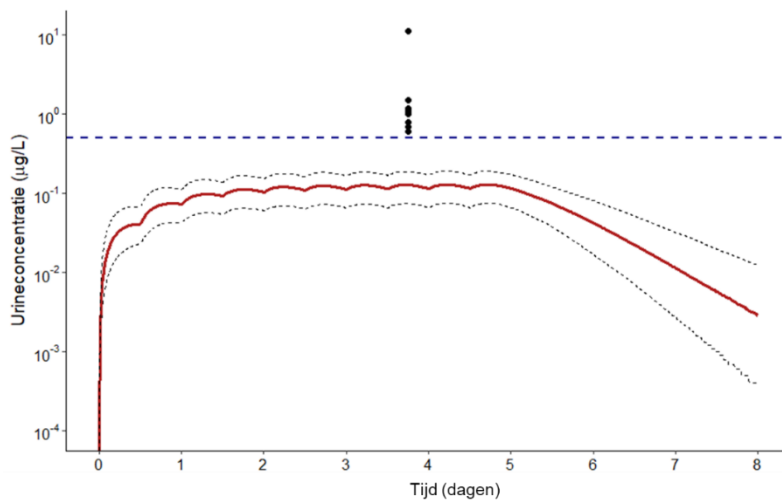
5.3 Resultaten PBK-simulaties dapson in kalveren

Op basis van de beschikbare achtergrondinformatie is de leeftijd van de kalveren geschat op 2 maanden, waardoor is aangenomen dat deze 75 kg zwaar zijn. Er is 10% variatie voor het lichaamsgewicht meegenomen in de modelberekeningen om onzekerheden betreffende het lichaamsgewicht mee te nemen. Het gewicht van de kalveren was belangrijk om de omrekening te kunnen doen voor klaring van melkkoe naar kalf via allometrische schaling. De kinetische PBK-input parameter waarden voor kalveren staan beschreven in Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Kinetische PBK-input parameter waarden voor dapson in kalveren.

Parameter	Waarde en eenheid	Opmerking
Absorptie	100%	default
Absorptieconstante	0,5 per uur	gefit, 30% variatie
Klaring (lever)	2,1 L/uur	allometrische schaling, 30% variatie, reabsorptie van metabolieten zijn hierin meegenomen
Klaring (nier)	1,7 L/uur	allometrische schaling, 30% variatie

Figuur 5.3 beschrijft een scenario waarbij met een maximale dapson verontreiniging een blootstelling van 0,75 µg per dag gedurende 5 dagen wordt verkregen. De concentratie in urine blijft dan ruim onder de gemeten gehalten en zelfs onder de detectielimiet van 0,2 µg/L. Om het mediane gehalte van 1,0 µg/L en de hoogst gemeten urineconcentratie van 11,4 µg/L te bereiken tijdens de blootstellingsfase moet een kalf blootgesteld zijn aan respectievelijk 2,6 en 50 µg dapson per dag gedurende 5 dagen.



Figuur 5.3 Urineconcentraties van dapson equivalenten in kalveren na orale blootstelling (0,75 µg/dag gedurende 5 dagen; 2 doseringen per dag). De rode lijn geeft de modelvoorspelling weer met een bijbehorend betrouwbaarheidsinterval (grijze lijnen). De zwarte punten geven de urineconcentraties weer uit de metingen afkomstig van NVWA. De blauwe lijn geeft de detectielimiet weer.

5.4 Conclusies

A. Is het mogelijk om met behulp van fysiologisch gebaseerde PBK-modellen te achterhalen wat de toegediende dosis van dapson is geweest?

Ja, de concentratie moet tussen 2,6 en 50 µg dapson per dag gedurende 5 dagen zijn geweest om de mediane en hoogste urineconcentraties van respectievelijk 0,6 en 11,4 µg/L te kunnen bereiken. Dit is 3,5 en 67 keer hoger dan de maximaal toegelaten verontreiniging in het farmaceutisch preparaat.

Zou de dapson verontreiniging in het farmaceutische preparaat de gemeten urineconcentraties kunnen verklaren?

De verontreiniging in het farmaceutische preparaat kan de gemeten urineconcentraties niet verklaren. Bij de maximaal toegestane dapson verontreiniging bij een verontreinigd farmaceutisch preparaat zou de urineconcentratie onder de detectielimiet blijven.

6 Discussie en conclusie

Het doel van dit project was om een werkwijze op te stellen om generieke PBK-modellen toe te kunnen passen wanneer dierbehandelingsmiddelen of andere ongewenste stoffen in runderurine worden aangetroffen. Vervolgens is de werkwijze getest in drie verschillende reeds eerder afgeronde casussen, m.b.t. paracetamol, meloxicam en dapson. De PBK-modellen zijn ontwikkeld en getoetst volgens de WHO-leidraad voor PBK-modelontwikkeling en de integratie van de eerder gedane aanbevelingen (Lautz et al., 2019; WHO, 2010).

De werkwijze was bedoeld om alle benodigde en relevante informatie op een gestructureerde manier te verzamelen en vervolgens toe te kunnen passen voor modelsimulaties. De bedoeling is dat achtergrondinformatie over een casus gegeven wordt door de opdrachtgever, zoals NVWA. Die achtergrondinformatie kan worden aangevuld door gesprekken met personen uit verschillende disciplines, zoals dierenartsen of medewerkers binnen WFSR, o.a. betrokken bij de analyse van de monsters. De vraagstelling wordt samen met de opdrachtgever geformuleerd. Op basis van de achtergrondinformatie en de vraagstelling was het in sommige gevallen mogelijk om aannames te doen over het mogelijke blootstellingsscenario voor de PBK-modelsimulatie. De opgestelde werkwijze zou ook gebruikt kunnen worden bij chemische incidenten, zoals blootstelling van landbouwhuisdieren aan een ongewenste chemische stof of bij niet-toegelaten dierbehandelingsmiddelen (b.v. fipronil) om het risico voor de volksgezondheid te bepalen bij consumptie van dierlijke producten.

Op basis van de opgestelde werkwijze konden de PBK-modellen goed worden toegepast. Er zijn drie verschillende stoffen getest, namelijk paracetamol, meloxicam, en dapson. De PBK-modellen zijn zeer geschikt om orale toediening van paracetamol te modelleren omdat orale blootstelling eerder is getoetst met de modellen (Lautz et al., 2020b). De gebruikte PBK-modellen zijn voor het eerst getest voor subcutane toediening van meloxicam. Hiervoor is een injectiecompartiment aan het PBK-model toegevoegd. De modelresultaten van meloxicam zijn echter een factor twee lager dan de gemeten bloedconcentraties beschreven in de literatuur. In het algemeen blijkt uit de modelresultaten dat de simulaties overeenkomen met de gemeten concentratie-tijdprofielen binnen een marge van een factor twee, wat voldoende wordt geacht voor het gebruik van PBK-modellen (IPCS, 2010). Het is wel een aanbeveling om subcutane toediening voor andere chemische stoffen te modelleren om het PBK-model voor deze toedieningsroute eventueel verder aan te passen. Een PBK-model voor kalveren werd ontwikkeld voor de dapson-casus. De modelresultaten kunnen niet worden vergeleken met experimentele data, omdat er geen gemeten *in vivo* data beschikbaar zijn voor dapson in kalveren. Op basis van de gemeten data in melkkoeien en de extrapolatie van melkkoeien naar kalveren zijn alsnog PBK-modelberekeningen uitgevoerd. In de toekomst zouden *in vitro* metabolismedata van dapson kunnen dienen om de extrapolatie van klaring te verbeteren.

De PBK-modellen omvatten de resultaten van een meta-analyse van de literatuur voor fysiologische parameters en de daarmee samenhangende variabiliteit. De PBK-modelparameters hebben echter niet alle dezelfde invloed op de modelvoorspellingen. Het relatieve belang van de parameters op de PBK-modeluitkomst werd eerder beoordeeld door middel van een gevoeligheidsanalyse (Grech et al., 2019; Kasteel et al., 2021; Lautz et al., 2020b; Lautz et al., 2020c). In een globale gevoeligheidsanalyse worden parameters gelijktijdig gevarieerd, waardoor het mogelijk wordt om de schatting van de totale variabiliteit als gevolg van zowel de relatieve bijdrage van alle parameters als hun interacties mee te nemen (Zhang et al., 2015). Op basis van de gevoeligheidsanalyses kunnen enkele algemene conclusies worden geformuleerd:

1. Gevoeligheid van de PBK-modellen voor zowel lipofiele als polaire chemicaliën laat zien dat de modeloutput sterk beïnvloed wordt door lichaamsgewicht en cardiale output.
2. Voor renaal uitgescheiden chemicaliën is de bloedstroom naar de nieren een gevoelige parameter die verschillen in interne concentraties bepaalt.
3. Voor lipofiele chemicaliën zijn het relatieve volume van het vetweefsel en de gerelateerde bloedstroom gevoelige parameters.
4. Voor oraal opgenomen chemische stoffen heeft de intestinale opnamesnelheid een sterke invloed op de modelresultaten.

Het PBK-model voor koeien is al eerder beschreven en getest in het kader van een EFSA-project [EFSA/SCER/2014/06] (Lautz et al., 2020b). In het algemeen kunnen kinetische data en PBK-modellen helpen bij het verfijnen van de hazard door vertaling van een externe naar een interne dosis. Het metabolisme speelt een belangrijke rol bij de eliminatie van de meeste chemische stoffen en het ontbreken van stof-specifieke metabolismegegevens maakt de kwantificering van verschillen in metabolisme binnen een diersoort maar ook tussen de diersoorten een uitdaging. In dit rapport is gebruik gemaakt van historische *in vivo* kinetische data voor paracetamol en meloxicam. Voor dapson waren geen kinetische data beschikbaar in de literatuur en werd gebruik gemaakt van allometrische schaling en omgekeerde dosimetrie om kinetische gegevens te achterhalen. Kinetische data van *in vivo* experimenten voor chemische stoffen zijn niet vaak beschreven in de wetenschappelijke literatuur. Hetzelfde geldt voor kinetische gegevens van *in vitro* experimenten, welke zelden beschreven zijn in de wetenschappelijke literatuur. Daarom wordt de ontwikkeling van *in vitro* testsystemen van landbouwhuisdiersoorten aanbevolen om het genereren van dergelijke datasets te ondersteunen en tegelijkertijd het aantal *in vivo* testen te verminderen (EFSA Scientific Committee, 2019). Kinetische gegevens van *in vitro* experimenten kunnen ook inzicht geven in verschillen tussen stieren, melkkoeien, en kalveren. Verder kunnen verschillen tussen koeienrassen bepaald worden. Intra-species verschillen kunnen veroorzaakt worden door polymorfismen, welke het metabolisme van een chemische stof aanzienlijk beïnvloeden. Hoewel het denkbaar is dat er verschillende soorten polymorfismen bestaan in diersoorten, hebben slechts zeer weinig studies hier onderzoek naar gedaan (Martinez et al., 2018a; Martinez et al., 2018b; Vimercati et al., 2019). Als het mogelijk is, wordt gebruik gemaakt van historische *in vivo* data, maar het wordt aanbevolen om ook *in vitro* experimenten uit te voeren, vooral als geen kinetische gegevens beschikbaar zijn.

Voor toekomstig onderzoek is het doel om betrouwbaardere PBK-modellen te krijgen en te onderzoeken en voor welke chemische stoffen de modellen gebruikt kunnen worden in een handhavingscontext. Om de toepasbaarheid van generieke PBK-modellen verder te valideren, is het belangrijk om PBK-modellen vaker in te zetten bij reguliere monsternames bij blootgestelde dieren of dierexperimenten. Door toepassingen in verschillende casussen kan meer inzicht verkregen worden over hoe de modellen als ondersteuning kunnen worden gebruikt en om de mogelijkheden en beperkingen beter inzichtelijk te krijgen. Ook kan het relevant zijn om vaker *in vitro* metabolismestudies mee te nemen in de ontwikkeling van generieke PBK-modellen. Dit is vooral belangrijk in gevallen, waar geen of weinig data in wetenschappelijke literatuur beschreven zijn. Verder kunnen dergelijke metingen als ondersteuning gebruikt worden ter controle van de gebruikte metabolismeparameters. Samenvattend kunnen PBK-modellen inzicht geven in de concentratie van chemische stoffen in te consumeren matrices behorend bij gemeten gehalten in excreta. Ook kunnen de PBK-modellen gebruikt worden om op basis van de gemeten concentratie de toegediende dosering te kunnen berekenen.

Literatuur

- EFSA Scientific Committee, 2019. Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA Journal*, 17: e05634. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5634>.
- EMA, 1999. Committee for veterinary medicinal products paracetamol summary report.
- EMA, 2006. COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE MELOXICAM (Extrapolation to rabbits and goats), European Medicines Agency.
- EMA, 2014. Melovem, European Medicines Agency.
- EMA, 2020. Novem, European Medicines Agency.
- Geenen, S, Yates, JW, Kenna, JG, Bois, FY, Wilson, ID, Westerhoff, HV, 2013. Multiscale modelling approach combining a kinetic model of glutathione metabolism with PBPK models of paracetamol and the potential glutathione-depletion biomarkers ophthalmic acid and 5-oxoproline in humans and rats. *Integr Biol (Camb)*, 5: 877-88. 10.1039/c3ib20245c.
- Grech, A, Tebby, C, Brochot, C, Bois, FY, Bado-Nilles, A, Dorne, JL, Quignot, N, Beaudouin, R, 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Sci Total Environ*, 651: 516-531. 10.1016/j.scitotenv.2018.09.163.
- Hendriks, AJ, Traas, TP, Huijbregts, MA, 2005. Critical body residues linked to octanol-water partitioning, organism composition, and LC50 QSARs: meta-analysis and model. *Environ Sci Technol*, 39: 3226-36. 10.1021/es048442o.
- IPCS, 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. World Health Organization, Geneva.
- Janus, K, Grochowina, B, Antoszek, J, Suszycki, S, Muszczynski, Z, 2003. The effect of food or water deprivation on paracetamol pharmacokinetics in calves. *J Vet Pharmacol Ther*, 26: 291-6. 10.1046/j.1365-2885.2003.00482.x.
- Kasteel, EEJ, Lautz, LS, Culot, M, Kramer, NI, Zwartsen, A, 2021. Application of in vitro data in physiologically-based kinetic models for quantitative in vitro-in vivo extrapolation: A case-study for baclofen. *Toxicology in Vitro*, 76: 105223. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105223>.
- Lautz, LS, Dorne, JLCM, Oldenkamp, R, Hendriks, AJ, Ragas, AMJ, 2020a. Generic physiologically based kinetic modelling for farm animals: Part I. Data collection of physiological parameters in swine, cattle and sheep. *Toxicology Letters*, 319: 95-101. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.10.021>.
- Lautz, LS, Hoeks, S, Oldenkamp, R, Hendriks, AJ, Dorne, JLCM, Ragas, AMJ, 2020b. Generic physiologically based kinetic modelling for farm animals: Part II. Predicting tissue concentrations of chemicals in swine, cattle, and sheep. *Toxicology Letters*, 318: 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.10.008>.
- Lautz, LS, Nebbia, C, Hoeks, S, Oldenkamp, R, Hendriks, AJ, Ragas, AMJ, Dorne, JLCM, 2020c. An open source physiologically based kinetic model for the chicken (*Gallus gallus domesticus*): Calibration and validation for the prediction residues in tissues and eggs. *Environment International*, 136: 105488. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105488>.
- Lautz, LS, Oldenkamp, R, Dorne, JL, Ragas, AMJ, 2019. Physiologically based kinetic models for farm animals: Critical review of published models and future perspectives for their use in chemical risk assessment. *Toxicology in Vitro*, 60: 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.05.002>.
- Lin, Z, Li, M, Wang, YS, Tell, LA, Baynes, RE, Davis, JL, Vickroy, TW, Riviere, JE, 2020. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models in food-producing animals. Part I: Cattle and swine. *J Vet Pharmacol Ther*, 43: 385-420. 10.1111/jvp.12861.
- Martinez, MN, Court, MH, Fink-Gremmels, J, Mealey, KL, 2018a. Population variability in animal health: Influence on dose-exposure-response relationships: Part I: Drug metabolism and transporter systems. *J Vet Pharmacol Ther*, 41: E57-e67. 10.1111/jvp.12670.
- Martinez, MN, Gehring, R, Mochel, JP, Pade, D, Pelligand, L, 2018b. Population variability in animal health: Influence on dose-exposure-response relationships: Part II: Modelling and simulation. *J Vet Pharmacol Ther*, 41: E68-e76. 10.1111/jvp.12666.

-
- May, DG, Porter, JA, Uetrecht, JP, Wilkinson, GR, Branch, RA, 1990. The contribution of N-hydroxylation and acetylation to dapsone pharmacokinetics in normal subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 48: 619-27. 10.1038/clpt.1990.204.
- Meléndez, DM, Marti, S, Pajor, EA, Sidhu, PK, Gellatly, D, Janzen, ED, Schwinghamer, TD, Coetzee, JF, Schwartzkopf-Genswein, KS, 2019. Pharmacokinetics of oral and subcutaneous meloxicam: Effect on indicators of pain and inflammation after knife castration in weaned beef calves. *PLoS One*, 14: e0217518. 10.1371/journal.pone.0217518.
- Sawaguchi, A, Sasaki, K, Miyanaga, K, Nakayama, M, Nagasue, M, Shimoda, M, 2016. Rapid absorption of diclofenac and acetaminophen after their oral administration to cattle. *J Vet Med Sci*, 78: 1481-1485. 10.1292/jvms.16-0202.
- Shock, D, Roche, S, Olson, M, 2019. A Comparative Pharmacokinetic Analysis of Oral and Subcutaneous Meloxicam Administered to Postpartum Dairy Cows. *Vet Sci*, 6. 10.3390/vetsci6030073.
- van Gend, H, Brinkman, M, Mol, H, Kommerij, R, 1986. Residues of Dapsone in the milk of normal cows following single oral, intramuscular and intramammary administration. Het voorkomen van Dapsone-residuen na eenmalige orale, intramusculaire en intramammaire toepassing bij gezonde melkrunderen. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 111: 911-920.
- Vimercati, S, Elli, S, Jagannathan, V, Pandey, AV, Peduto, N, Leeb, T, Mevissen, M, 2019. In silico and in vitro analysis of genetic variants of the equine CYP3A94, CYP3A95 and CYP3A97 isoenzymes. *Toxicol In Vitro*, 60: 116-124. 10.1016/j.tiv.2019.05.011.
- WHO, 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. 9789241500906, World Health Organization, Geneva.
- Zhang, XY, Trame, MN, Lesko, LJ, Schmidt, S, 2015. Sobol Sensitivity Analysis: A Tool to Guide the Development and Evaluation of Systems Pharmacology Models. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 4: 69-79. 10.1002/psp4.6.
- Ziv, G, Nouws, JFM, 1981. Dapsone Residues in Milk and the Organs of Cows After Intramammary and Intrauterine Administration. *British Veterinary Journal*, 137: 388-397. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(17\)31637-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)31637-8).

Wageningen Food Safety Research
Postbus 230
6700 AE Wageningen
T 0317 48 02 56
wur.nl/food-safety-research

WFSR-rapport 2022.004



De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen Food Safety Research
Postbus 230
6700 AE Wageningen
T 0317 48 02 56
wur.nl/food-safety-research

WFSR-rapport 2022.004

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

