

Überprüfung der toxikologischen Referenzwerte (ARfD, ADI) für Chlorpyrifos

Stellungnahme Nr. 026/2012 des BfR vom 1. Juni 2012

Für den insektiziden Wirkstoff Chlorpyrifos liegen zahlreiche toxikologische Studien vor, die mehrheitlich auch bei der Bewertung des Wirkstoffes im Jahre 2005 durch die zuständigen Gremien der Europäischen Union berücksichtigt wurden. Inzwischen sind jedoch einige neue Studien zu bestimmten toxikologischen Wirkungen von Chlorpyrifos publiziert worden. Die US-amerikanische Umweltbehörde EPA hat diese Studien ausgewertet und aufgrund dieser Bewertung neue gesundheitliche Referenzwerte für Chlorpyrifos festgelegt. Das BfR hat die Bewertung der US EPA gesichtet und ist zu dem Schluss gekommen, dass auch in der EU eine Überprüfung der gesundheitlichen Referenzwerte von Chlorpyrifos erfolgen sollte.

Chlorpyrifos ist ein umfassend untersuchter insektizider Wirkstoff, für den zahlreiche toxikologische Studien vorliegen. Seit der Bewertung des Wirkstoffes im Jahr 2005 durch die zuständigen Gremien der Europäischen Union sind jedoch einige neue Studien zu bestimmten toxikologischen Wirkungen von Chlorpyrifos veröffentlicht worden.

Im Sommer 2011 publizierte die US-amerikanische EPA eine vorläufige Bewertung des Risikos für die menschliche Gesundheit, das aus dem Acetylcholinesterase(AChE)-hemmenden Potential von Chlorpyrifos resultiert (US EPA, 2011). Die abschliessende Analyse der vorliegenden Daten einschließlich der Charakterisierung der bestehenden Unsicherheiten liegt jedoch noch nicht vor (siehe Anhang).

Die neuen bei der US EPA eingereichten toxikologischen Studien, mechanistischen Daten, epidemiologischen Studien und Biomonitoring-Untersuchungen sowie auch die in der jüngsten Literatur angeführten Daten zeigen, dass auch in der EU eine Überprüfung bzw. ein Peer Review der toxikologischen Grenzwerte initiiert werden sollte. Anschließend sollte eine Risikobewertung unter Verwendung aktueller Daten zur Exposition von Verbrauchern und Anwendern vorgenommen werden.

Akute Referenzdosis (ARfD)

Die EU (2005) hat für Chlorpyrifos eine ARfD von 0,1 mg/kg Körpergewicht abgeleitet, die auf einem NOAEL von 10 mg/kg Körpergewicht aus „akuten und verzögerten Neurotoxizitäts-Untersuchungen an Ratten“ als Ausgangspunkt (Point of Departure) und einem Sicherheitsfaktor von 100 basiert.

Im Jahr 2011 erhielt und überprüfte die US EPA eine neue toxikologische Studie zu Chlorpyrifos (Marty & Andrus, 2010), in der die Cholinesterase(ChE)-Hemmung bei Ratten am 11. postnatalen Tag (PND 11) sowie bei erwachsenen Tieren nach akuter und wiederholter Exposition gemessen wurde. Die Hauptergebnisse dieser Studie sind ebenfalls kürzlich veröffentlicht worden (Marty et al., 2012). Bei akuter Exposition betragen die NOAELs für ChE-Hemmung im Gehirn bzw. in den roten Blutkörperchen (RBC) 2 bzw. 0,5 mg/kg Körpergewicht bei beiden Altersgruppen. Außerdem wurde die Bestimmung der Benchmark-Dosis (BMD) einschliesslich einer BMD-Meta-Analyse der kombinierten Datensätze für junge und erwachsene Tiere durchgeführt (Reiss et al, 2012). Bei akuter Exposition ergab die Meta-Analyse bei beiden Altersgruppen für die RBC-ChE-Hemmung einen BMD₂₀ von 1,0 mg/kg Körpergewicht mit einem BMDL₂₀ von 0,90 mg/kg Körpergewicht, und für die Gehirn-ChE-Hemmung einen BMD₁₀ von 1,7 mg/kg Körpergewicht mit einem BMDL₁₀ von 1,3 mg/kg Körpergewicht.

Auf der Grundlage der oben erwähnten neuen Daten (Marty & Andrus, 2010) sowie einer weiteren Studie an männlichen Ratten am 17. postnatalen Tag (PND 17) (Moser et al., 2006), kam die US EPA (2011) zum Schluss, dass die RBC-ChE-Hemmung bei männlichen und weiblichen Jungtieren sowie die Vollblut-ChE-Hemmung bei männlichen Jungtieren die empfindlichsten Endpunkte waren und den geeigneten Ausgangspunkt für die akute Risikobewertung für Verbraucher darstellten. Der BMDL₁₀ von 0,36 mg/kg Körpergewicht für die RBC-ChE-Hemmung bei jungen männlichen und weiblichen Ratten bei Chlorpyrifos-Exposition über die Milch (Marty & Andrus, 2010) wurde als geeigneter Point of Departure ausgewählt, unterstützt durch den BMDL₁₀ von 0,4 mg/kg Körpergewicht aus der Studie von Moser et al (2006). Unter Verwendung eines Sicherheitsfaktors von 100 leitete die US EPA eine akute Referenzdosis (aPAD; acute population adjusted dose) von 0,0036 mg/kg Körpergewicht ab.

Zulässige Tagesdosis (ADI)

Die EU (2005) hat für Chlorpyrifos einen ADI von 0,01 mg/kg Körpergewicht abgeleitet, der auf einem NOAEL von 1 mg/kg Körpergewicht aus „2-Jahres-Ratten-, Mäuse- und Hundestudien“ als Ausgangspunkt (Point of Departure) und einem Sicherheitsfaktor von 100 basiert.

In der neuen toxikologischen Studie zu Chlorpyrifos (Marty & Andrus, 2010; Marty et al., 2012) betragen die NOAELs bei wiederholter Exposition für ChE-Hemmung im Gehirn bzw. in den roten Blutkörperchen (RBC) 0,5 bzw. 0,1 mg/kg Körpergewicht bei jungen (PND 11) und erwachsenen Ratten. Außerdem wurde die Bestimmung der Benchmark-Dosis (BMD) einschliesslich einer BMD-Meta-Analyse der kombinierten Datensätze für junge und erwachsene Tiere durchgeführt (Reiss et al, 2012). Bei wiederholter Exposition ergab die Meta-Analyse bei beiden Altersgruppen für die RBC-ChE-Hemmung einen BMD₂₀ von 0,21 mg/kg Körpergewicht mit einem BMDL₂₀ von 0,19 mg/kg Körpergewicht, und für die Gehirn-ChE-Hemmung einen BMD₁₀ von 0,67 mg/kg Körpergewicht mit einem BMDL₁₀ von 0,53 mg/kg Körpergewicht.

Für die chronische Risikobewertung für Verbraucher verwendete die US EPA nicht die Ergebnisse der neuen toxikologischen Studie (Marty & Andrus, 2010), sondern die Resultate einer früheren Studie zur Entwicklungsneurotoxizität (Hoberman, 1998 a,b), von der ein BMDL₁₀ von 0,03 mg/kg Körpergewicht für die RBC-ChE-Hemmung bei trächtigen Ratten als geeigneter chronischer Point of Departure abgeleitet wurde. Unter Verwendung eines Sicherheitsfaktors von 100 leitete die US EPA eine chronische Referenzdosis (cPAD; chronic population adjusted dose) von 0,0003 mg/kg Körpergewicht ab.

Schlussfolgerung

Die neuen bei der US EPA eingereichten toxikologischen Studien, mechanistischen Daten, epidemiologischen Studien und Biomonitoring-Untersuchungen sowie die neuen Informationen aus der Literatur zeigen NOAELs für die akute ChE-Hemmung von 2 mg/kg Körpergewicht (Gehirn) und 0,5 mg/kg Körpergewicht (RBCs) sowie NOAELs für die ChE-Hemmung nach wiederholter Exposition von 0,5 mg/kg Körpergewicht (Gehirn) und 0,1 mg/kg Körpergewicht (RBCs).

Deshalb kann der bei der Ableitung der ARfD in der EU verwendete NOAEL von 10 mg/kg Körpergewicht nicht mehr als geeigneter Point of Departure für die akute Risikobewertung beim Menschen angesehen werden, insbesondere auch im Hinblick auf den Schutz von

Kleinkindern und Kindern. Demzufolge sollte die 2005 in der EU festgelegte ARfD (0,1 mg/kg Körpergewicht) überprüft werden.

Des Weiteren sollte auch der NOAEL von 1 mg/kg Körpergewicht, der als Point of Departure für die chronische Risikobewertung sowie den 2005 in der EU festgesetzten ADI (0,01 mg/kg Körpergewicht) verwendet wurde, überprüft werden.

Außerdem kann der für die Ableitung des AOEL in der EU verwendete NOAEL von 1 mg/kg Körpergewicht nicht mehr als geeigneter Point of Departure für die Risikobewertung bei beruflicher und häuslicher Anwenderexposition angesehen werden, besonders im Hinblick auf akute Effekte, die die Ableitung eines akuten AOEL erforderlich machen könnten. Aus diesem Grund sollte der 2005 in der EU festgelegte AOEL (0,01 mg/kg Körpergewicht) ebenfalls überprüft werden.

Nach Überprüfung und Peer Review der oben erwähnten EU-Referenzwerte sollte eine Risikobewertung unter Verwendung aktueller Daten zur Exposition von Verbrauchern und Anwendern vorgenommen werden. Diese Bewertung sollte alle zugelassenen Anwendungen in den EU-Ländern sowie die Schlussfolgerungen aus den neuen bei der US EPA eingereichten toxikologischen Studien, mechanistischen Daten und Biomonitoring-Untersuchungen berücksichtigen.

Referenzen

- EU (2005) Review report for the active substance chlorpyrifos. SANCO/3059/99 – rev. 1.5, 3 June 2005.
- Hoberman AM (1998 a,b) Developmental neurotoxicity study of chlorpyrifos administered orally via gavage to Crl:CD(R)BR VAF/Plus(R) presumed pregnant rats. Argus Research Laboratories, Inc., Horsham, Pennsylvania (Laboratory Study No. 304-001).
- Marty MS, Andrus MK (2010) Comparison of cholinesterase (ChE) inhibition in young adult and preweanling CD rats after acute and repeated chlorpyrifos exposures. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company. Midland, Michigan 48674. Study ID: 091107. MRID No.: 48139301, Unpublished.
- Marty MS, Andrus AK, Bell MP, Passage JK, Perala AW, Brzak KA, Bartels MJ, Beck MJ, D.R. Juberg (2012) Cholinesterase inhibition and toxicokinetics in immature and adult rats after acute or repeated exposures to chlorpyrifos or chlorpyrifos-oxon. [Regulatory Toxicology and Pharmacology 63, 209–224.](#)
- Moser VC, Simmons JE, Gennings C (2006) Neurotoxicological interactions of a five-pesticide mixture in preweanling rats. *Toxicol Sci* 92, 235–45.
- Reiss R, Neal B, Lamb JC, Juberg DR (2012) Acetylcholinesterase inhibition dose–response modeling for chlorpyrifos and chlorpyrifos-oxon. [Regulatory Toxicology and Pharmacology 63, 124–131.](#)
- US EPA (2011) Chlorpyrifos: Preliminary human health risk assessment for registration review. Date: 30.06.2011.

Annex:**Summary and conclusions from the FIFRA Draft Issue Paper of the Scientific Advisory Panel in April 2012**

Chlorpyrifos is a comprehensively studied pesticide using an expansive suite of toxicity tests conducted in accordance with harmonized, scientifically peer-reviewed study protocols and published in the scientific literature. New research on chlorpyrifos, including epidemiological studies in mothers and children, has posed the issue of whether AChE inhibition is the most sensitive endpoint, and thus have raised some uncertainty in the chlorpyrifos risk assessment. In order to determine the degree to which these recent studies are appropriate for incorporation into risk assessment the US EPA is taking a stepwise approach to evaluate and interpret all the scientific information related to the potential for adverse neurodevelopmental effects in infants and children as a result of prenatal exposure to chlorpyrifos, as well as to characterize thoroughly the strengths and uncertainties associated with these studies (FIFRA SAP, 2012).

The evaluation of these recent studies began in September 2008 and subsequent Agency activities have involved developing the draft "Framework for Incorporating Human Epidemiologic & Incident Data in Health Risk Assessment" for integration of epidemiology with other types of experimental data (USEPA, 2010; FIFRA SAP 2010). In summer 2011, the Agency released its preliminary human health risk assessment that focused on the AChE inhibiting potential of chlorpyrifos (US EPA, 2011a). Additionally an Occupational and Residential Exposure Assessment was also published (US EPA, 2011b).

A full weight of the evidence including characterization of uncertainty has not yet been conducted; however, the April 2012 FIFRA Draft Issue Paper of the Scientific Advisory Panel (FIFRA SAP, 2011, 2012) is an important step toward this effort. The types of information reviewed by FIFRA SAP (2012) are less often available and therefore approaches for their use in risk assessment (qualitatively or quantitatively) are less well established (e.g., epidemiology studies, biomonitoring data, modes of action/adverse outcome pathways for neurodevelopmental outcomes, etc). Each of these lines of evidence is important for the pending weight of the evidence analysis and uncertainty characterization.

- *AChE inhibition:*
Consistent with the concept that younger juvenile animals are more sensitive due to immature metabolic systems, PND11 rat pups provide the most sensitive cholinesterase inhibition data for deriving the acute oral PoD (BMDL10 0.36 mg/kg). In repeated dosing studies, pups exhibit similar sensitivity to adult rats and it is pregnant dams which provide the most sensitive data for deriving a repeated exposure oral point of departure (BMDL10 0.03 mg/kg/d).
- *Neurodevelopmental Outcomes in Laboratory Animals:*
Many studies report effects at a dose of 1 mg/kg/d, a dose that produces some amount of brain ChE inhibition when given directly to the pups postnatally, but may or may not alter fetal brain ChE activity when given to the dams gestationally. One study (Braquenier et al., 2010) using lower doses, administered to the dam on GD15-LD14, reported a NOEL of 0.2 mg/kg/d. These new studies suggest a potential for long-term effects of chlorpyrifos from early-life exposure and they suggest neurodevelopmental effects below doses which elicit 10% AChE inhibition.

- *Epidemiology studies in mothers and children:*
US EPA summarized the available epidemiologic data concerning the relation between gestational exposure to chlorpyrifos and adverse neurodevelopmental outcomes in infants and children. The epidemiology studies reviewed are well-conducted studies with numerous strengths, as well as some limitations. These limitations include use of non-specific biomarkers of chlorpyrifos exposure in some of these studies, lack of measurement of postnatal chemical exposure, and the proportion of missing data among several key variables in these investigations. In occupational settings, exposure measurement error has been shown to more greatly influence epidemiology study results than unknown or unmeasured confounding variables (Blair et al., 2011). For example, Rauh et al. (2011) reported that, in the Columbia cohort, “the dose-effect relationships between CPF [chlorpyrifos] exposure and log-transformed Working Memory Index and Full-Scale IQ scores are linear across the range of exposures in the study population, with no evidence for a threshold” (Rauh et al., 2011). Departures from linearity were not statistically significant. Two possible explanations for this finding are that 1) the exposure response is linear on the scale assessed, or that 2) the studies did not have sufficient power to detect departures from linearity in the shape exposure-outcome relationship. Overall, the newly available data support and strengthen the conclusion that prenatal exposure to chlorpyrifos likely plays a role in adverse neurodevelopmental outcomes measured in children.
- *Biomonitoring data:*
Chlorpyrifos is one of a small set of pesticides for which there is a large database of biomonitoring studies available for a variety of lifestages and subpopulations. Biomonitoring data provide real world information on exposed individuals; however, their interpretation is challenging given that the timing, magnitude, and source of exposures are most often unknown or only partially known. At this time, the existing models are not equipped for a sophisticated analysis. It is proposed that this is an area where additional research could significantly improve the ability to determine whether actual exposures experienced by participants in the epidemiology studies were above or below AChE inhibition concentrations.

With respect to the key questions being considered by the US EPA in 2012 (*i.e.*, whether chlorpyrifos causes long-term effects from fetal or early life exposure and if adverse effects can be attributed to doses lower than those which elicit 10% inhibition of AChE), when taken together the evidence from the experimental toxicology studies evaluating outcomes such as behavior and cognitive function; mechanistic data on possible adverse outcome pathways/modes of action; and epidemiologic and biomonitoring studies:

- Qualitatively, US EPA preliminarily concludes that these lines of evidence together support a conclusion that exposure to chlorpyrifos results in adverse neurodevelopmental outcomes in humans, at least under some (still unclear) conditions.
- Quantitatively, the dose –response relationship of AChE inhibition across different life stages is established, but other adverse outcome pathways/modes of action are not established. The question posed regards the nature and degree of uncertainty around points of departure based on 10% AChE inhibition to protect against neurodevelopmental outcomes.

Additional References to the Annex

- Blair, A., Thomas, K., Coble, J., Sandler, D. P., Hines, C. J., Lynch, C. F., et al. (2011). Impact of pesticide exposure misclassification on estimates of relative risks in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med*.
- Braquenier, J. B., Quertemont, E., Tirelli, E., & Plumier, J. C. (2010). Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. *Neurotoxicol Teratol*, 32(2), 234-239.
- FIFRA Scientific Advisory Panel. (2010). February 2 - 4, 2010: Incorporation of Epidemiology and Human Incident Data into Human Risk Assessment.
- FIFRA Scientific Advisory Panel. (2011). Chlorpyrifos Physiologically Based Pharmacokinetic and Pharmacodynamic (PBPK-PD) Modeling linked to Cumulative and Aggregate Risk Evaluation System (CARES). Report from the FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting of February 15-18, 2011. FIFRA Scientific Advisory Panel, Office of Science Coordination and Policy, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC. Available: <http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2011/index.html>.
- FIFRA Scientific Advisory Panel. (2012). " Draft Issue Paper: Scientific Issues Concerning Health Effects of Chlorpyrifos April 10-13, 2012 Available: <http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2012-0040-0002>.
- Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F., Hoepner, L., Barr, D. B., et al. (2011). Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environ Health Perspect*, 119(8), 1196-1201.
- Rauh, V. A., Garfinkel, R., Perera, F. P., Andrews, H. F., Hoepner, L., Barr, D. B., et al. (2006). Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics*, 118(6), e1845-1859.
- Ray, A., Liu, J., Ayoubi, P., & Pope, C. (2010). Dose-related gene expression changes in forebrain following acute, low-level chlorpyrifos exposure in neonatal rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 248(2), 144-155.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2010a). Draft Framework for Incorporating Human Epidemiologic and Incident Data in Health Risk Assessment, January 7, 2010.
- US EPA (2011a) Chlorpyrifos: Preliminary human health risk assessment for registration review. Date: 30.06.2011.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2011b). Chlorpyrifos: Occupational and Residential Exposure Assessment, EPA Barcode: D388165. In Office of Pesticide Programs (Ed.). Washington D.C.