

Nitrofen in Lebensmitteln - Quantitative Bewertung des gesundheitlichen Risikos

Stellungnahme des BgVV vom 3. Juni 2002

1. Daten zu Nitrofen-Rückständen in Lebensmitteln

Für eine gesundheitliche Bewertung von Rückständen an Nitrofen in Lebensmitteln liegen dem BgVV die folgenden Daten vor (Tabelle 1):

Tabelle 1: Rückstände an Nitrofen in Lebensmitteln tierischer Herkunft

| Untersuchungsstelle | Lebensmittel | mg/kg Frischgewicht |
|--------------------------|-------------------------------|---------------------|
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Legehennen | 0,029 |
| Niedersachsen*) | Geflügelwurst m. Pute | 0,040 |
| Niedersachsen*) | Geflügelwurst | 0,052 |
| Kulmbach | Bioputenflügelfleisch o. Haut | 0,070 |
| Niedersachsen*) | Putenoberkeule | 0,075 |
| Kulmbach | Bioputenoberkeulenfleisch | 0,080 |
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Legehennen | 0,082 |
| Kulmbach | Bioputenunterkeule m.Haut | 0,090 |
| Niedersachsen *) | Geflügelwürstchen | 0,120 |
| Kulmbach | Bioputenunterkeule m.Haut | 0,140 |
| Niedersachsen *) | Geflügelwürstchen | 0,220 |
| Kulmbach | Bioputenunterkeule m.Haut | 0,400 |
| Kulmbach | Putenoberkeule | 0,400 |
| Kulmbach | "Bezeichnung nicht lesbar" | 0,400 |
| Kulmbach | Bioputenfleisch gemischt | 0,500 |
| Kulmbach | Bioputenunterkeule m.Haut | 0,800 |
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Frische Eier | 0,066 |
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Frische Eier | 0,080 |
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Frische Eier | 0,131 |
| Mecklenburg-Vorpommern*) | Frische Eier | 0,180 |

*) telefonische Übermittlungen

2. Bewertung des reproduktionstoxischen und kanzerogenen Potentials des Wirkstoffes Nitrofen unter Berücksichtigung quantitativer Aspekte

Nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand sind die in Tierversuchen festgestellten fruchtschädigenden, d.h. die Entwicklung der Nachkommen beeinträchtigenden Wirkungen als das wesentliche gesundheitliche Risiko einer Exposition gegenüber Nitrofen anzusehen, weil diese Effekte im Unterschied zu den krebserzeugenden (kanzerogenen) Effekten bereits bei sehr niedrigen Dosierungen und nach nur kurzzeitiger - teilweise sogar nur einmaliger Verabreichung - des Wirkstoffes nachweisbar waren.

Die vorliegenden Untersuchungen zur Reproduktionstoxizität und Entwicklungstoxizität sowie zur Kanzerogenität entsprechen ausnahmslos nicht den Anforderungen, die heute bei den gesetzlich vorgeschriebenen Prüfungen von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen auf gesundheitliche Unbedenklichkeit zu erfüllen sind. Die Vielzahl der Originalstudien und Publikationen, in denen bestimmte kritische Befunde immer wieder bestätigt werden konnten, erlaubt jedoch die Schlussfolgerung, dass Nitrofen toxikologisch hinreichend untersucht und eine wissenschaftlich

begründete Bewertung seines reproduktionstoxischen und fruchtschädigenden sowie kanzerogenen Potentials möglich ist.

Im folgenden wird der Versuch unternommen, die dem BgVV nur teilweise im Original vorliegenden, ansonsten aber nur in zusammenfassenden Bewertungen der WHO und anderer Gremien bzw. in Übersichtsartikeln beschriebenen Untersuchungen unter dem Aspekt auszuwerten, ob sich gesundheitsbezogene Grenzwerte für eine entwicklungstoxische und fruchtschädigende oder die kanzerogene Wirkung ableiten lassen:

Reproduktionstoxizität und Teratogenität

➤ Experimentelle Befunde

Bei Ratten riefen sowohl die orale als auch die dermale Verabreichung von Nitrofen an Muttertiere während der Trächtigkeit bei den Feten ein spezifisches Muster von Schädigungen der Lunge (Verzögerung der Lungenreifung, die sich insbesondere in einem verminderten Organgewicht, nach neueren Daten auch in einer Beeinträchtigung des u.a. für die Regulierung der Oberflächenspannung in den Alveolen verantwortlichen Surfactant-Systems manifestierte), des Herzens und der großen Blutgefäße (Anomalien des Aortenbogens, falsche Positionierung der großen Gefäße, Defekt der Herzscheidewand), des Zwerchfells (Hernien, d.h. Brüche oder Ausbuchtungen des Zwerchfells) und der Nieren (Erweiterung des Nierenbeckens, Hydronephrose) hervor. Darüber hinaus war häufig das Gewicht der Feten verringert, und die intrauterinen Verluste waren erhöht.

Bei Mäusen wurden gleichartige Veränderungen an den Lungen und am Zwerchfell festgestellt, wobei diese Tierart von den zu ihrer Auslösung erforderlichen Dosierungen her weniger empfindlich zu sein scheint als die Ratte. Darüber hinaus wurden weitere Missbildungen wie Hydrocephalus, Mikroophthalmie und Gaumenspalten sowie Entwicklungsverzögerungen (Verzögerungen in der Skelettreifung, fehlende Verlagerung der Hoden aus der Bauchhöhle in den Hodensack, retardierte Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane) und reduzierte Organengewichte z.B. der Harderschen Drüse und der Samenblasendrüse beobachtet.

Wenn behandelte Ratten oder Mäuse ihre Nachkommen zur Welt bringen konnten, starben diese meist kurz nach der Geburt aufgrund der mangelnden Ausreifung der Lungen. Bei überlebenden Jungtieren wurden häufig Entwicklungsverzögerungen beobachtet. Eine erhöhte peri- und postnatale Sterblichkeit war auch der wesentliche Effekt in zwei Mehrgenerationenstudien an Ratten, obwohl es in einer der Untersuchungen auch bereits ab einer Dosis von 10 mg Nitrofen/kg Futter (ca. 0,7 mg/kg Körpergewicht/Tag) Hinweise auf eine verminderte Konzeptionsrate gab.

Es muss betont werden, dass in der Mehrzahl der Experimente die entwicklungstoxischen Effekte von Nitrofen auftraten, ohne dass die Muttertiere Anzeichen einer Intoxikation zeigten.

➤ Pathogenese

Der den oben beschriebenen Schädigungen zugrundeliegende Mechanismus ist nicht abschließend aufgeklärt. Es ist wahrscheinlich, dass die beschriebenen toxischen Effekte von Nitrofen bei den Nachkommen auf eine Interaktion mit den Schilddrüsenhormonen zurückgehen. Es gibt Hinweise, dass Nitrofen (oder einer seiner Metaboliten) mit dem Schilddrüsenhormon Trijodthyronin (T3) aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit um die gleichen Rezeptoren konkurriert (thyreomimetische Substanzwirkung) und insbesondere zu einem Zeitpunkt während der intrauterinen Entwicklung an fetale Rezeptoren bindet, an dem T3 normalerweise im fetalen Organismus noch nicht aktiv ist. Dadurch werden an den Zielorganen vorzeitig bestimmte Entwicklungs-

schritte ausgelöst, die an Herz und Gefäßen zu Missbildungen und an der Lunge zu einer beschleunigten Differenzierung des Lungengewebes bei gleichzeitig verzögerter Gewichtszunahme des Organs führen. Alternativ wird diskutiert, dass Nitrofen mit dem Schilddrüsenhormon Thyroxin (T4) um die Bindung an ein die Schilddrüsenhormone im Blut transportierendes Protein (TBG, d.h. "thyroid binding globulin") konkurriert. Dadurch könnte eine erhöhte Menge des physiologisch vorkommenden T4 des Muttertieres ungebunden bleiben, die Plazenta passieren, im fetalen Organismus (vorzeitig) an die Rezeptoren für Schilddrüsenhormone binden und somit die beschriebenen Veränderungen auslösen.

➤ **Quantitative Aspekte und Risikobewertung**

Bei Mäusen traten entwicklungstoxische Wirkungen bis zur niedrigsten oral verabreichten Dosis von 6,25 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag auf.

Die fruchtschädigenden Effekte bei Ratten wurden sowohl nach einmaliger Verabreichung höherer Dosen (z.B. ab 75 mg Nitrofen/kg Körpergewicht am Tag 11 der Trächtigkeit), als auch nach wiederholter Gabe kleiner Dosen über einen längeren Abschnitt während der Gravidität bzw. über die Geburt hinaus festgestellt. Schwerwiegende viszerale Missbildungen wie Zwerchfellhernien sind nach wiederholter oraler Verabreichung der Substanz während der Trächtigkeit (Tag 8-16) an Ratten ab einer Dosis von 1,39 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag aufgetreten, während die nächstniedrigere Dosis von 0,46 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag unwirksam war (Ostby et al., 1985). Bei längerer Exposition der Muttertiere vom Trächtigkeitstag 7 an über den Wurftermin (bei der Ratte normalerweise nach einer Tragezeit von 21 bis 23 Tagen) hinaus bis zum 15. Tag der Laktation wurden Zwerchfellhernien bei den Nachkommen jedoch bereits in der niedrigsten geprüften Dosierung von 0,15 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag beobachtet (Unger et al., 1983). Nach allen dem BgVV vorliegenden Informationen handelt es sich dabei um die niedrigste Dosis, nach deren wiederholter Gabe teratogene Wirkungen an Ratten festgestellt wurden. Dieser Wert wird durch das Ergebnis aus zwei anderen Studien an Ratten bestätigt (Costlow et al., 1983; FAO/WHO, 1983), in denen eine erhöhte intrauterine Sterblichkeit und pathologische Veränderungen (erweitertes Nierenbecken) nach wiederholter dermalen Verabreichung einer Dosis von 0,3 mg Nitrofen/kg Körpergewicht beobachtet wurden. Bei Ratten kann nach den vorliegenden kinetischen Daten eine mindestens 50%ige Absorption von Nitrofen über die Haut angenommen werden.

Eine Dosis ohne entwicklungstoxische Wirkung von Nitrofen ist somit weder bei Ratten noch bei Mäusen experimentell ermittelt worden.

In einer Publikation der US-amerikanischen Herstellerfirma (Burke Hurt et al., 1983) wurde - ausgehend von einer der oben erwähnten dermalen Rattenstudien - unter Einsatz eines mathematischen Modells auf Basis der Dosis-Wirkungskurve eine Dosis ohne Wirkung (No Observed Effect Level, NOEL) von 0,17 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag für die zu diesem Zeitpunkt als sensitivsten Parameter betrachtete Dilatation des Nierenbeckens berechnet. Dabei wurde offenbar nicht zwischen dermalen und oraler Exposition unterschieden. Mit einem Sicherheitsfaktor von 100 wurde eine "akzeptable Aufnahme" von 0,0017 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag (1,7 µg/kg KG/Tag) für schwangere Frauen abgeleitet ("Pregnant women should not be exposed to more than 1.7 µg/kg in any single 24-h period"). Bei einem angenommenen Körpergewicht von 60 kg würde dies einer "tolerierbaren" Aufnahme von 102 µg (0,102 mg) Nitrofen entsprechen.

Geht man von der bislang festgestellten höchsten Rückstandsmenge von Nitrofen in Putenfleisch (0,8 mg/kg) aus, wäre die o.a. "akzeptable Aufnahme" bei einem täglichen Verzehr von etwa 125 g Putenfleisch ausgeschöpft. Bei einer höheren täglichen Verzehrsmenge (z.B. 300 g Putenfleisch) würde der normalerweise als notwendig angesehene Sicherheitsfaktor von 100 bereits unterschritten.

Nach Auffassung des BgVV kann die von Burke Hurt et al. (1983) vorgeschlagene "akzeptable Aufnahme" von 1,7 µg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag für schwangere Frauen nicht akzeptiert werden, weil in der Studie von Unger et al. (1983) bereits bei einer Dosis von 0,15 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag schwerwiegende Missbildungen (Zwerchfellhernien) aufgetreten sind. Auf der Grundlage dieser Studie hat das US-amerikanische "Safe Drinking Water Committee" (Thomas, 1986) eine konservative Ableitung der "akzeptablen Aufnahme" für Nitrofen vorgeschlagen. Die Wahl eines erhöhten Sicherheitsfaktors von 1000 wurde hier wie folgt begründet: "The committee felt that a conservative safety factor of 1,000 was appropriate because a LOEL rather than a NOEL was used and also because nitrofen induces a spectrum of major malformations, some of which are lethal to newborn while others persist and cause irreversible impairment of the offspring."

Ein dementsprechend abgeleiteter Grenzwert von 0,00015 mg/kg KG/Tag (0,15 µg Nitrofen /kg Körpergewicht/Tag) würde für einen Menschen von 60 kg Körpergewicht einer maximalen täglichen Aufnahme aus allen Quellen von 9 µg Nitrofen entsprechen und wäre bereits bei Aufnahme nur geringer Mengen von mit Nitrofen belasteten Lebensmitteln ausgeschöpft, was in der folgenden Tabelle am Beispiel des Verzehrs von belasteten Putenfleisch demonstriert werden kann.

Tabelle 2: Maximal mögliche Verzehrsmenge (bei einer "akzeptablen Aufnahme" von 0,15 µg Nitrofen/kg Körpergewicht/Tag)

| Angenommene Rückstandsmenge von Nitrofen im Putenfleisch | Maximal mögliche Verzehrsmenge |
|--|--------------------------------|
| 0,01 mg/kg | 900 g |
| 0,08 mg/kg | 112,5 g |
| 0,8 mg/kg | 11,25 g |

3. Kanzerogenität

In Langzeitstudien an Ratten und Mäusen hat sich Nitrofen in beiden Spezies als krebserzeugend erwiesen (FAO/WHO, 1983; IARC, 1983).

Bei Mäusen (Stamm: B6C3F1) wurde in zwei separaten Studien des "National Cancer Institute (NCI)" der USA über jeweils 18 Monate eine deutlich erhöhte Inzidenz von Lebertumoren festgestellt.

Tabelle 3: Inzidenz von Lebertumoren bei Mäusen; erste Studie (NCI, 1978)

| Dosis | 0 mg/kg Futter (Kontrolle) | | ca. 2350 mg/kg Futter (ca. 336 mg/kg KG/d) | | ca. 4700 mg/kg Futter (ca. 671 mg/kg KG/d) | |
|-----------|----------------------------|---|--|-------|--|-------|
| | m | w | m | w | m | w |
| Karzinome | 4/20 | 0 | 36/49 | 36/41 | 46/48 | 43/44 |

KG: Körpergewicht, m: männlich, w: weiblich

Tabelle 4: Inzidenz von Lebertumoren bei Mäusen; zweite Studie (NCI, 1979)

| Dosis | 0 mg/kg Futter (Kontrolle) | | Ca. 3000 mg/kg Futter (ca. 429 mg/kg KG/d) | | Ca. 6000 mg/kg Futter (ca. 857 mg/kg KG/d) | |
|-----------|----------------------------|------|--|------|--|-------|
| | m | w | m | w | m | w |
| Adenome | 1/20 | 0/18 | 18/49 | 9/48 | 20/48 | 17/50 |
| Karzinome | 0/20 | 0/18 | 13/49 | 5/48 | 20/48 | 13/50 |
| Blastome | 0/20 | 0/18 | 3/49 | 1/48 | 4/48 | 0/50 |

KG: Körpergewicht, m: männlich, w: weiblich

Bei den männlichen Tieren ergaben sich in der ersten Studie darüber hinaus Hinweise auf eine erhöhte Inzidenz von bösartigen Tumoren, die ihren Ausgang von den Wänden der Blutgefäße nahmen (Hämangiosarkome) und in der Leber, der Milz und der Bauchhöhle gefunden wurden. Dieser Befund konnte allerdings in der zweiten Studie und generell bei weiblichen Tieren nicht bestätigt werden.

In einer NCI-Studie an Osborne-Mendel-Ratten wurde bei weiblichen Tieren dosisabhängig ein vermehrtes Auftreten eines bei dieser Tierart sehr selten auftretenden Adenokarzinoms des Pankreas festgestellt (0/130 bei den Kontrolltieren; 2/50 in der niedrigen Dosis von 1300 mg/kg Futter, ca. 65 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/d, und 7/50 bei 2600 mg Nitrofen/kg Futter, ca. 130 mg Nitrofen/kg Körpergewicht/d). Bei Ratten eines anderen Stammes (Fischer 344) war die Tumorfrequenz in einer weiteren Untersuchung jedoch nicht erhöht.

Aus heutiger Sicht weisen die Langzeituntersuchungen erhebliche Mängel auf. So war bei den Studien an Mäusen die Anzahl der Tiere in der Kontrollgruppe zu gering und betrug bei Versuchsbeginn nur 40% der Tierzahl in den behandelten Gruppen. Insbesondere die erste Mäusestudie war von einer hohen Mortalität auch in der Kontrollgruppe gekennzeichnet. Für eine quantitative Risikobewertung ist es problematisch, dass nur hohe Dosierungen geprüft wurden, bei denen zumindest bei Mäusen sehr hohe Tumorzinzenzen aufgetreten sind. Es wurde nicht versucht, durch Einbeziehung weiterer Dosisgruppen Dosierungen ohne eine kanzerogene Wirkung zu ermitteln. Die Ableitung einer Dosis-Wirkungsbeziehung muss unter diesen Voraussetzungen besonders kritisch betrachtet werden. Konsequenterweise kam ein Expertengremium von FAO und WHO (FAO/WHO, 1983) unter expliziter Bezugnahme auf die Untersuchungen zur Kanzerogenität und Teratogenität zu der Schlussfolgerung, keine Grenzwerte ableiten zu können, obwohl in einer Langzeitstudie an Ratten ein NOEL von 10 ppm (ca. 0,5 mg/kg KG/Tag) festgestellt worden ist.

Ungeachtet der oben vorgetragenen Bedenken wurde ein Versuch unternommen (Burke Hurt et al., 1983), die neoplastischen Befunde aus einer Kanzerogenitätsstudie an Ratten (Pankreastumoren) in den Niedrigdosisbereich zu extrapolieren und das Krebsrisiko zu quantifizieren. Die Adenokarzinome der Bauchspeicheldrüse sind im Vergleich zu den Lebertumoren bei Mäusen bei geringeren Dosierungen beobachtet worden und vom toxikologischen Standpunkt unter Berücksichtigung der vorliegenden Erkenntnisse zur Übertragbarkeit auf den Menschen insgesamt als das größere Risiko zu betrachten. Unter Verwendung von drei unterschiedlichen mathematisch-statistischen Modellen wurde eine "akzeptable" tägliche Aufnahme von 0,001 mg/kg KG (1 µg/kg KG) für den Menschen abgeleitet, unterhalb derer keine kanzerogene Gefährdung gesehen wird.

Dieser „Grenzwert“ liegt noch über der vom BgVV - wie oben dargestellt - angenommenen Belastungsgrenze in Hinblick auf die teratogenen Effekte. Es kann also davon ausgegangen werden, dass das kanzerogene Risiko mit abgedeckt ist und die fruchtschädigenden und entwicklungsstoxischen Wirkungen von Nitrofen im Mittelpunkt einer Risikobewertung stehen sollten.

4. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend muss konstatiert werden, dass das gesundheitliche Risiko bei einer Nitrofenexposition für schwangere Frauen am höchsten ist. Der Abstand zwischen der niedrigsten Dosis, bei der im Tierversuch noch fruchtschädigende Wirkungen auftraten, und der im ungünstigsten Fall anzunehmenden Belastung von Verbraucherinnen über Rückstände in Lebensmitteln ist geringer als der für Wirkstoffe in Pflanzenschutzmitteln oder Umweltchemikalien in der Regel als notwendig angesehene Sicherheitsfaktor von 100. Eine Schädigung der Gesundheit kann somit nicht mit hinreichender Sicherheit ausgeschlossen werden, wenn größere Mengen an Lebensmitteln verzehrt werden, die Rückstände an Nitrofen enthalten, welche höher als die geltenden Höchstmengen sind. Es sind deshalb alle Anstrengungen zu unternehmen, belastete Lebensmittel zu erkennen und vom Markt zu nehmen, um mögliche Belastungen des Verbrauchers zu minimieren.

Literatur

Burke Hurt, S.S. et al. (1983). Nitrofen: A review and perspective. *Toxicology*, 29, 1-37.

Costlow, R.D. et al. (1983): The effects on rat pups when Nitrofen (4-(2,4-dichlorophenoxy)nitrobenzene) was applied dermally to the dam during organogenesis. *Toxicology*, 28, 37-50.

FAO/WHO (1983): Pesticides residues in food. Joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment and the WHO expert group on pesticide residues; Geneva, 5-14 December 1983. FAO plant production and protection paper 61, Rome, 1985.

IARC (1983): IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 30, IARC, Lyon, 1983.

Manson, J.M. (1986): Mechanism of Nitrofen teratogenesis. *Env Health Perspect*, 70, 137-147.

Ostby, J.S. et al. (1985): The postnatal effects of prenatal exposure to low doses of Nitrofen (2,4-dichlorophenyl-*p*-nitrophenyl ether) in Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, 34, 285-297.

Thebaud, B. et al. (2001): Restoring effects of Vitamin A on surfactant synthesis in Nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Am J Respir Crit Care Med*, 164, 1083-1089.

Thomas, R.D. [editor]: Drinking water and health. Volume 6 (1986). Safe Drinking Water Committee, Board on Toxicology and Environmental Health Hazards, Commission on Life Sciences, National Research Council (U.S.A.). National Academy Press, Washington, D.C., 1986.

Unger et al. (1983): Perinatal toxicity of Nitrofen in rats. MRI Project No. 4443-B (11), Midwest Research Institute, Kansas City, Unpublished report to the U.S. Environmental Protection Agency. Zitiert nach Thomas (1986).