

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Azinphos-methyl

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

¹ *Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Azinphos-methyl; Neurotoxizität; Acetylcholinesterase-Hemmer; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Entwicklungstoxizität; Hautresorption; Hautsensibilisierung

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Azinphos-methyl. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2019 Apr;4(2):490-534]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. https://doi.org/10.34865/mb8650d0067_w

Neuveröffentlichung (Online): 08 Aug 2025

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb8650d0067>

Addendum abgeschlossen: 21 Mrz 2018

Erstveröffentlichung (Online): 25 Apr 2019

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission Regelungen und Maßnahmen etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Azinphos-methyl / 3-(Dimethoxyphosphinothioylsulfanylmethyl)-1,2,3-benzotriazin-4-one

[Azinphos-methyl]

MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb8650d0067

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated azinphos-methyl [86-50-0] considering all toxicological endpoints. Available publications and unpublished study reports are described in detail.

In human studies, the critical effect of acetylcholinesterase (AChE) inhibition was not observed up to 0.25 or 0.29 mg/kg body weight and day in men after oral application up to 28 days. The NOAELs (no observed adverse effect levels) from studies with rodents or dogs are in the same range. Based on these valid data, the MAK value is increased to 1 mg/m³ for the inhalable fraction. Since a systemic effect is critical, Peak Limitation Category II is retained. As AChE inhibition is almost irreversible with a half-life of 30 hours and a steady-state is reached after 2 weeks, the excursion factor of 8 is confirmed.

There is no adequate margin between the NOAELs for developmental and perinatal toxicity in rats and mice and the MAK value. Therefore, azinphos-methyl is assigned to Pregnancy Risk Group B. Starting from the lowest calculated air concentration of 1.18 mg/m³ as the NAEC for perinatal toxicity and taking into account the absence of teratogenic effects in all studies, damage to the embryo or foetus is unlikely at concentrations of 0.1 mg/m³ and below. Exposure to this or lower concentrations would be the prerequisite for an assignment to Pregnancy Risk Group C.

Azinphos-methyl is neither genotoxic nor carcinogenic.

Skin contact is expected to contribute significantly to systemic toxicity and azinphos-methyl remains designated with "H". Azinphos-methyl has been shown to be skin sensitizing in the guinea pig. The substance is therefore labelled with "Sh".

Biomonitoring is recommended in addition to personal protective measures. A reduction of the erythrocytic AChE activity to 70% of the reference value (biological tolerance value for AChE inhibitors) must not be exceeded.

Keywords

Azinphos-methyl; DBD; Gusathion; Guthion; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

Author Information

¹ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Azinphos-methyl

[86-50-0]

Nachtrag 2019

MAK-Wert (2018)	1 mg/m³ E
Spitzenbegrenzung (2002)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8
Hautresorption (1969)	H
Sensibilisierende Wirkung (2018)	Sh
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2018)	Gruppe B¹⁾
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert (1985)	Reduktion der erythrozytären Acetylcholinesterase-Aktivität auf 70 % des Bezugswerts

Es liegt eine Begründung aus dem Jahr 1977 und ein Nachtrag zur Spitzenbegrenzung aus dem Jahr 2002 vor.

Seit dem Jahr 2016 berücksichtigt die Kommission bei Stoffen, deren MAK-Wert auf systemischen Effekten basiert und aus inhalativen Tierversuchen oder Probandenstudien in Ruhe abgeleitet wurde, dass das Atemvolumen am Arbeitsplatz höher ist als unter diesen experimentellen Bedingungen. Mit diesem Nachtrag wird überprüft, ob aufgrund des höheren Atemvolumens am Arbeitsplatz der MAK-Wert und die Schwangerschaftsgruppe von Azinphos-methyl geändert werden müssen. Zudem sind zu anderen Endpunkten seit der Begründung aus dem Jahr 1977 zahlreiche Studien publiziert worden, welche in der Bewertung der WHO (2007) zusammengefasst sind.

1) Hinweis auf Voraussetzung für Gruppe C bei 0,1 mg/m³ siehe Abschnitt 6

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Azinphos-methyl verursacht bei Tieren und Menschen Vergiftungssymptome, die wie bei anderen Organophosphat-Insektizidverbindungen auf einer Hemmung der Acetylcholinesterase beruhen.

Eine valide Probandenstudie zeigt bei einmaliger oraler Gabe bis zu den höchsten getesteten Dosierungen von 1 mg/kg KG bei Männern bzw. 0,75 mg/kg KG bei Frauen oder 28-tägiger oraler Gabe von 0,25 mg/kg KG und Tag bei Männern keine Anzeichen einer cholinergen Wirkung und keine relevanten Veränderungen der Plasma-ChE (Cholinesterase)- oder Erythrozyten-AChE (Acetylcholinesterase)-Aktivitäten. In Tierversuchen mit wiederholter oraler Gabe an Nager und Hunde liegen die umgerechneten Konzentrationen ohne Effekt in der gleichen Größenordnung wie beim Menschen, so dass von keinen speziesspezifischen Unterschieden ausgegangen werden kann.

Azinphos-methyl wirkt in zahlreichen Untersuchungen zur Genotoxizität nicht genotoxisch. Auf Basis der vorliegenden Kanzerogenitätsstudien an Mäusen und Ratten wird Azinphos-methyl als nicht kanzerogen bewertet.

In den Entwicklungstoxizitätsstudien mit Azinphos-methyl an Ratten, Kaninchen und Mäusen tritt bis zu den jeweiligen höchsten Dosierungen von 5, 6 bzw. 5 mg/kg KG und Tag keine teratogene Wirkung auf. In zwei Generationenstudien an der Ratte zeigt sich bei 1,48 bzw. 1,54 mg/kg KG und Tag eine verringerte perinatale Überlebensfähigkeit der Jungtiere. In einer Ein-Generationenstudie wird bei 4,87 mg/kg KG und Tag die AChE im Gehirn der Jungtiere am fünften Postnataltag gehemmt. Gleichzeitig liegt maternale Toxizität in Form einer Hemmung der AChE in den Erythrozyten und im Gehirn vor.

Azinphos-methyl wirkt am Meerschweinchen hautsensibilisierend.

2 Wirkungsmechanismus

Azinphos-methyl ist ein Organophosphat, dessen Wirkung auf einer AChE-Hemmung beruht. Im Organismus wird es durch mikrosomale Leberenzyme aktiviert, indem der doppelt gebundene Schwefel durch Sauerstoff ersetzt wird, wodurch ein starker Hemmstoff („Gutoxon“) entsteht. Bei akuten Vergiftungen erwiesen sich therapeutisch zugeführte Oxime (z. B. Pralidoxim, Obidoxim) als wirksame Reaktivatoren der gehemmten AChE (Begründung 1977).

Erste klinisch manifeste Symptome treten bei einer Hemmung der AChE dann auf, wenn ihre Aktivität deutlich unter 50 % abgefallen ist. Kritische Vergiftungszustände werden bei einem Abfall der AChE-Aktivität auf 20 % des individuellen Normalwertes beobachtet. Ausschließlich die Hemmung der strukturegebundenen AChE an den cholinergen Synapsen ist für das Krankheitsbild nach Intoxikation mit AChE-Hemmern verantwortlich. So führt die akute Hemmung der AChE zu einer Anhäufung des Transmitters im Gewebe („endogene Acetylcholinvergiftung“) und zu einem dadurch bedingten Dauererregungszustand. Die AChE kommt nicht nur an den cholinergen Synapsen im zentralen Nervensystem oder den motorischen End-

platten sondern auch in Erythrozyten vor. Die Hemmung der AChE-Aktivität in den Erythrozyten ist ein Surrogat für die Hemmung der peripheren AChE-Aktivität und korreliert dosisabhängig mit der Hemmung an den cholinergen Synapsen. Cholinesterasen (ChE; Pseudocholinesterasen) bilden hingegen eine Gruppe von Isoenzymen, die unspezifischer sind, ubiquitär im Organismus vorkommen und deren Hemmung nicht dosisabhängig mit der an den cholinergen Synapsen korreliert (Henschler und Lehnert 1986).

Eine Hemmung der erythrozytären AChE auf 70 % und weniger, bezogen auf die Aktivität vor der Exposition, ist als advers anzusehen (WHO 1986). Bei der Erniedrigung der AChE-Aktivität im Gehirn wird eine Hemmung auf 80 % und weniger als advers angesehen, da die Hemmung der AChE-Aktivität im Gehirn toxikologisch kritischer zu bewerten ist und daher nur eine geringere Hemmung toleriert werden kann (Begründung „Diazinon“ 2015).

Studien an Hühnern mit einmaliger Gabe von 330 mg Azinphos-methyl/kg KG oder mit 30-tägiger Fütterung von bis zu 225 mg/kg KG und Tag geben keinen Hinweis auf eine verzögerte Neurotoxizität (WHO 2007).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Azinphos-methyl wird vom Intestinaltrakt, den Lungen, den äußeren Schleimhäuten und der Haut rasch resorbiert (Begründung 1977). Die orale Resorption bei Ratten wurde mit 90 bis 100 %, die dermale mit 19 % abgeschätzt (Cal EPA 2004).

In einer Studie zur dermalen Aufnahme erhielten jeweils sechs Probanden ¹⁴C-Azinphos-methyl in Isopropanol in Dosierungen von 2,6 oder 9,2 µg/cm² oder eine wässrige Suspension von Guthion 25 WP (wasserdispergierbare Pulver-Formulierung mit 25 % Azinphos-methyl) in einer Dosierung von 4,7 µg/cm² auf den Unterarm appliziert. Die Applikationsstelle wurde acht Stunden lang mit einer Aluminiumkalotte mit Luftlöchern abgedeckt. Blutproben wurden fünf Tage lang, Urin und Faeces 13 Tage lang gesammelt. Die Wiederfindungsrate betrug in allen Gruppen 102 bis 105 %. Die dermale Aufnahme wurde als Summe der Radioaktivität aus Urin, Faeces und Klebefilmabriss bestimmt. Sie betrug 21,5 % für die Suspension und 27,8 % für 2,6 µg Azinphos-methyl/cm² in Isopropanol, welches die Aufnahme verstärkte. Azinphos-methyl wird üblicherweise jedoch nicht am Arbeitsplatz in Isopropanol eingesetzt (Cal EPA 2001). Bei einer Sprayapplikation ist im ungünstigsten Fall eine achtstündige Exposition des ganzen Körpers gegeben. Dafür errechnet sich aus den obigen Daten mit der Suspension bei 18 000 cm² Körperoberfläche eine aufgenommene Menge von 18 mg.

Die dermale Aufnahme bei Ratte, Kaninchen, Affe und Mensch korreliert sehr gut mit der Exkretion des Metaboliten Dimethylthiophosphat (DMTP) im Urin. Die mittels DMTP-Messung bestimmte dermale Aufnahme betrug bei Ratten 50 bis 60 %, im Gegensatz zu Messungen mit radioaktiv markiertem Azinphos-methyl, mit dem bei Ratten und Kaninchen jeweils 100 % resorbiert wurden. Beim Affen betrug die dermale Resorption 30 bis 40 %. In einer Messung an Anwendern, die Azinphos-

methyl im Freien versprühten, wurde je nach Anwendungsdauer (1–9 Stunden) und versprühter Menge eine dermale Exposition von 1,1 bis 18,4 mg gemessen. Nur für die Hände betrug die Exposition 25 % dieser Menge (Franklin et al. 1986). Bei 21,5 % Resorption (Cal EPA 2004) werden von 18,4 mg etwa 4 mg aufgenommen.

Ebenfalls beim Versprühen von Azinphos-methyl wurden dermale Expositionen von bis zu 69,7 mg/Person gemessen (Begründung 1977). Bei 21,5 % Resorption werden von 69,7 mg etwa 15 mg aufgenommen.

Die Ausscheidung erfolgte nach einmaliger oraler Gabe an Ratten (k. w. A.) innerhalb von 48 Stunden zu 99 %, davon 54 bis 66 % mit dem Urin, 33 bis 45 % via Faeces (k. w. A.; WHO 2007).

Nach i. v. Gabe von 4 µg radioaktiv markiertem Azinphos-methyl wurde die Halbwertszeit bei Probanden mit 30 Stunden angegeben. Der gesamte Urin wurde fünf Tage lang gesammelt, nass verascht und das C^{14} -markierte CO_2 nach Aufnahme in Ethanolamin im Szintillationszähler gemessen (Feldmann und Maibach 1974; Begründung 1977). Neben der Unklarheit der Markierungsstelle fehlt in dieser Untersuchung die Angabe, wieviel Strahlungsaktivität pro Substanzmenge vorliegt. Somit ist unklar, welche Substanzbelastung bei den Versuchen tatsächlich verwendet wurde.

Eine andere Untersuchung an Arbeitern lässt eine schnellere Verstoffwechslung von Azinphos-methyl vermuten. Hier wurde die Azinphos-methyl-Exposition der Beschäftigten an fünf Tagen einer Arbeitswoche durch die Bestimmung des Metaboliten DMTP im Nachschichturin bestimmt. Die Ergebnisse zeigen immer wieder deutliche Abfälle von Tag zu Tag, die mit einer Halbwertszeit von 30 Stunden nicht in Einklang gebracht werden können (Kraus et al. 1977). Jedoch weisen die Autoren selbst darauf hin, dass es sich nur um semiquantitative Bestimmungen handelt, und zwar die der Metaboliten DMTP und Dimethylphosphat (DMP; Ergebnisse nicht dargestellt), deren Wiederfindungsrate nur bei 25 bis 64 % lag.

Daten zur Halbwertszeit des kritischen Metaboliten, dem oxidierten Azinphos-methyl, liegen nicht vor.

Einer Abschätzung nach ist das Fließgleichgewicht bei wiederholter Exposition beim Menschen nach zwei Wochen erreicht (Cal EPA 2001). Die Exkretion bei Ratten scheint einem Zwei-Kompartiment-Modell zu folgen. Die Eliminations-Halbwertszeit der alpha-Phase beträgt hierbei etwa zehn Stunden, die der beta-Phase zehn Tage. Die langsame Eliminationsphase wird auf die Bindung von Azinphos-methyl bzw. seiner Metaboliten an Hämoglobin zurückgeführt (Cal EPA 2004).

An 20 Arbeitern, die 30 Tage nach einer Azinphos-methyl-Behandlung (2,72 kg/ha) einer Pfirsich-Plantage 21 Tage lang innerhalb eines 44-tägigen Zeitraums Ernte- und Baumschnitt-Arbeiten durchführten, wurden Erythrozyten-AChE und Plasma-ChE, Metaboliten im Urin und dermale Exposition untersucht. Untersuchungszeitpunkte waren der 1., 2., 3. und 44. Tag. Die Erythrozyten-AChE sank um 7 % innerhalb der ersten drei Tage und um 19 % innerhalb von 44 Tagen, die Plasma-ChE entsprechend um 9 % bzw. 12 %. Die durchschnittliche dermale Exposition betrug 346 µg/Person beim Abholzen (n = 6), 10 690 µg/Person bei Ausdünnarbeiten (n = 4) und 13 600 µg/Person beim Ernten (n = 10). Die durchschnittliche Konzentration von Alkylphosphat-Metaboliten im Urin betrug 1,2; 3,8 bzw. 5 bis 7 µmol/Tag (Cal EPA 2001).

3.2 Metabolismus

Der Metabolismus von Azinphos-methyl erfolgt bei den untersuchten Säugetieren (Mäuse, Ratten, Kühe) und beim Menschen qualitativ gleichartig (Begründung 1977).

Der angenommene Metabolismus bei der Ratte ist in Abbildung 1 dargestellt. Azinphos-methyl wird schnell durch CYP450 und Glutathiontransferase in der Leber und anderen Geweben metabolisiert. Es entstehen das Azinphos-methyl sauerstoffanaloge Gultoxon, Mercaptomethylbenzazimid, Glutathionylmethylbenzazimid und Desmethylisoazinphos-methyl. Durch weitere Hydrolyse, Methylierung und Oxidierung von Mercaptomethylbenzazimid entstehen Benzazimid, Methylthiomethylbenzazimid und seine entsprechenden oxidierten Metaboliten. Durch Hydrolyse von Glutathionylmethylbenzazimid kann Cysteinylmethylbenzazimid entstehen, das zum Sulfoxid bzw. Sulfon weiteroxidiert wird (k. w. A.; WHO 2007). Außerdem entstehen Dimethylthiophosphat (DMTP) und Dimethylphosphat (DMP). Das Original der Studie konnte nicht erhalten werden, so dass unklar ist, ob und welche Metaboliten aus dem Urin isoliert wurden, und ob eine Quantifizierung durchgeführt wurde.

4 Erfahrungen beim Menschen

Es liegen keine Untersuchungen zur Reproduktionstoxizität, Genotoxizität und Kanzerogenität vor.

4.1 Einmalige Exposition

In einer nach GLP (Good Laboratory Practice) durchgeführten randomisierten Doppelblind-Studie mit ansteigenden einzelnen Dosierungen von Azinphos-methyl (Reinheit 89,2 %) wurde ein NOAEL für die Hemmung der Cholinesterase bei Männern von 1 mg/kg KG und bei Frauen von 0,75 mg/kg KG abgeleitet. Die Substanz wurde hierzu in Kapseln in Dosierungen von 0 (Placebo); 0,25; 0,5; 0,75 oder 1 mg/kg KG an insgesamt 40 Männer ($32,7 \pm 9,3$ Jahre, $75,52 \pm 8,36$ kg KG) bzw. 0 (Placebo) oder 0,75 mg/kg KG an insgesamt zehn Frauen ($31,0 \pm 4,6$ Jahre, $63,83 \pm 6,71$ kg KG) verabreicht. Die ausgewählten, gesunden Probanden wurden drei Wochen lang vorab untersucht. Azinphos-methyl wurde in allen Dosierungen gut vertragen, und es traten keine klinisch relevanten Reduktionen in den Plasma-ChE- oder Erythrozyten-AChE-Aktivitäten auf. Die Messzeitpunkte waren nach 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 und 14 Tagen. An einzelnen der insgesamt 350 Messzeitpunkten war bei wenigen Probanden die Aktivität der AChE bis zu 27 % (hier bei 0,5 mg/kg KG) reduziert. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung oder eine Zeitabhängigkeit der verminderten Aktivität wurde nicht festgestellt. Die Mittelwerte der Hemmung lagen unter 10 %. Bei Gabe von Placebo war die maximale Hemmung etwa 17 %, die Mittelwerte lagen unter 4 %. Dies spiegelt die Messungenauigkeit bzw. die individuellen Schwankungen der AChE-Aktivität wider. Schwankungen der AChE-Aktivität fan-

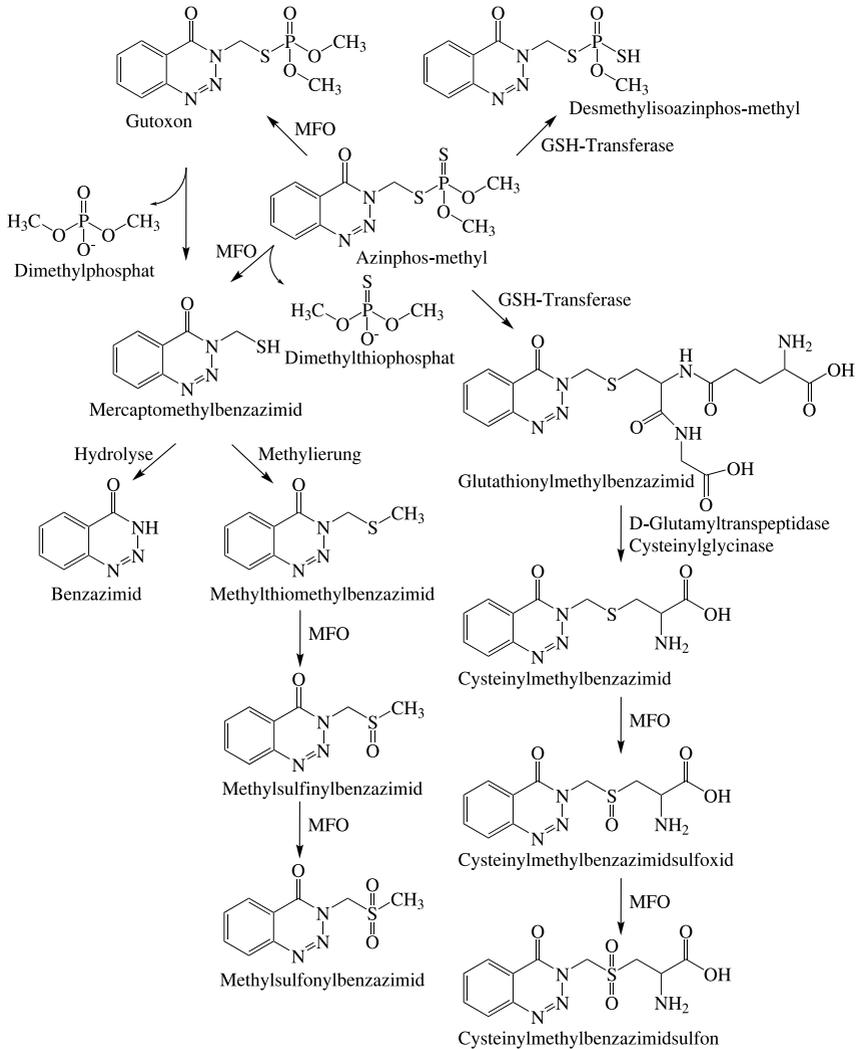


Abb. 1: Postulierter Metabolismus von Azinphos-methyl in Ratten (WHO 2007), GSH: Glutathion, MFO: mischfunktionelle Oxidasen

den sich auch während der mehrtägigen Bestimmung des individuellen Ausgangswertes für jeden Probanden. Der NOAEL dieser Studie entspricht daher der höchsten Dosis von 1 mg/kg KG für Männer und 0,75 mg/kg KG für Frauen (Bayer Corporation 1999 a).

4.2 Wiederholte Exposition

4.2.1 Inhalative Aufnahme

Es liegen keine auswertbaren Berichte vor, die bei einer gemessenen Luftkonzentration ohne Hautkontakt eine Wirkung auf den Menschen (z. B. Hemmung der Cholinesterase-Aktivität) zeigen (Begründung 1977). In einer Formulieranlage waren Arbeiter inhalativ und dermal gegen Stäube exponiert. Die Autoren berichten, dass die Produktionsanlage unter einfachsten Bedingungen betrieben wurde. Sicherheits- oder Schutzmaßnahmen für die Arbeiter existierten nicht. In der Atemzone wurden 0,5 bis 1,0 mg Azinphos-methyl/m³ Luft, und auf den Deckeln der Fässer eine Konzentration von 2,3 mg Azinphos-methyl/cm² gemessen. Bei der unter Druck stattfindenden Substanzgewinnung aus der Ethyl-Verbindung lief die Substanz aus den Behältern aus. Die Hemmungen der Cholinesterase-Aktivität im Blut der Arbeiter sind daher hauptsächlich auf den intensiven Hautkontakt zurückzuführen (Simpson 1965; Begründung 1977). Eine Korrelation der Hemmungen der Cholinesterase-Aktivität im Blut der Arbeiter mit der Luftkonzentration ist aufgrund der Verunreinigungen und fehlenden Schutzmaßnahmen gegen dermalen Kontakt nicht möglich.

4.2.2 Orale Aufnahme

Probanden erhielten oral 30 Tage lang täglich bis zu 16 mg Azinphos-methyl. Die Plasma-ChE- und Erythrozyten-AChE-Aktivität wurde vor und während der Behandlung bestimmt. Es trat keine signifikante Enzymhemmung durch Azinphos-methyl auf (Begründung 1977).

In einer nur als Zusammenfassung vorliegenden Untersuchung erhielten jeweils fünf Probanden 30 Tage lang Kapseln mit Azinphos-methyl in Dosierungen von 18 oder 20 mg/Tag (entsprechend 0,26 bzw. 0,29 mg/kg KG und Tag bei 70 kg KG). Die Plasma-ChE- oder Erythrozyten-AChE-Aktivitäten wurden während der Studiendauer zweimal wöchentlich bestimmt und zeigten keine Veränderungen. Es wurden keine klinisch-toxischen Befunde und keine Effekte auf hämatologische Parameter oder die Prothrombinzeit beobachtet. Die Urinanalyse war ohne behandlungsbedingten Befund. Der NOAEL dieser Untersuchung liegt somit bei der höchsten Dosis von 20 mg/Tag (ca. 0,29 mg/kg KG und Tag) (Rider et al. 1971).

In einer nach GLP durchgeführten Studie an gesunden Probanden erhielten acht Männer (29,3 ± 9,6 Jahre, 69,3 ± 5,62 kg KG) 28 Tage lang täglich jeweils eine Gelatine-Kapsel mit Azinphos-methyl (Reinheit 89,2 %) in einer Dosierung von 0,25 mg/kg KG und Tag. Die Dosisauswahl beruhte auf dem NOAEL von 1 mg/kg KG und Tag der 13-wöchigen Ratten-Neurotoxizitätsstudien mit oraler Gabe (Miles Inc 1995; Sheets et al. 1997; siehe Abschnitt 5.2.2). Vier weitere gesunde Probanden (35,3 ± 9,5 Jahre, 77,7 ± 12,51 kg KG) erhielten ein Placebo. Die Probanden verblieben während der Behandlungszeit in der Klinik und erhielten Standard-Ernährung. Die Aktivitäten der Plasma-ChE und Erythrozyten-AChE wurden für jeden Probanden vorab bestimmt (1., 2., 4., 6., 8., 10., 12. und 14. Tag), um die individuellen Ab-

weichungen berechnen zu können. Während der 28-tägigen Behandlung mit Azinphos-methyl traten bei der körperlichen Untersuchung oder bezüglich der Vitalzeichen, Elektrokardiogramm, Hämatologie, klinisch-biochemischen Parametern oder Urinanalyse keine behandlungsbedingten klinischen Befunde auf. Die Aktivitäten der Plasma-ChE und Erythrozyten-AChE waren ohne behandlungsbedingte Veränderungen. Die Messzeitpunkte waren direkt vor und vier Stunden nach der Dosisgabe am 1., 2., 3., 4., 5., 7., 10., 14., 17., 21., 24. Tag. Somit ist die getestete Dosis von 0,25 mg/kg KG und Tag der NOAEL dieser Untersuchung (Bayer Corporation 1999 b).

Zusammenfassung

Die 30-tägige orale Gabe von 0,29 mg/kg KG und Tag verursachte bei fünf männlichen Probanden keine cholinergen Zeichen und keine Hemmung der Plasma-ChE- oder Erythrozyten-AChE-Aktivitäten (Rider et al. 1971; liegt nur als Zusammenfassung vor). Auch in einer nach GLP-Richtlinien durchgeführten Studie verursachte die 28-tägige orale Gabe von 0,25 mg/kg KG und Tag bei acht männlichen Probanden weder cholinerge Zeichen noch Veränderungen der Plasma-ChE- oder Erythrozyten-AChE-Aktivitäten (Bayer Corporation 1999 b).

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Es wurde ein einzelner Fall eines Arbeiters berichtet, bei dem vermutlich der Kontakt mit Azinphos-methyl die Ursache für eine generalisierte Dermatose war (WHO 2007).

4.4 Allergene Wirkung

Eine Winzerin mit einem Tätigkeits-abhängigen, seit 1,5 Jahren rezidivierenden Ekzem auf Handrücken, Unterarmen und im Gesicht reagierte im Epikutantest auf sechs von 14 im eigenen Weinberg verwendeten, aber auf keines von 13 nicht eingesetzten Pestiziden. Daneben fanden sich papulo-vesikulöse Reaktionen auf das in einer Hautschutzsalbe enthaltene Fenchlor, Dichlorophen sowie auf EDTA und papulöse Reaktionen auf Tetra- und Pentachlorphenol. Die Patientin zeigte nach 24, 48 und 72 Stunden eine papulöse Reaktion auf das 1%ig in Vaseline getestete Azinphos-methyl (Pevny 1980).

Der Epikutantest mit 1 % Azinphos-methyl in Vaseline an 347 Patienten aus einem Gesamtkollektiv von 652 Patienten (davon 274 Patienten mit einem Kontaktekzem vor allem der Hände und 378 Patienten, bei denen nicht-allergische Hautveränderungen vorlagen) führte in keinem Fall zu einem positiven Ergebnis. Von den Getesteten waren 98 aktuell oder zuvor im Agrarbereich tätig. Nähere Angaben zu einer vorangegangenen Exposition der Getesteten fehlen (Lisi et al. 1987).

Berichte über eine atemwegssensibilisierende Wirkung von Azinphos-methyl liegen nicht vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Die ein- bzw. vierstündige Inhalation von Azinphos-methyl-Aerosolen ergab bei männlichen Ratten LC_{50} -Werte von 385 bzw. 152 mg/m³ (Begründung 1977).

5.1.2 Orale Aufnahme

Die orale LD_{50} bei der Maus beträgt 20 mg/kg KG (Begründung 1977).

Bei der Ratte sind LD_{50} -Werte von 4,4 bis 26 mg/kg KG berichtet worden. Wie von anderen Organophosphat-Insektiziden bekannt, sind akute toxische Zeichen Diarrhö, Speichelfluss, Tränenfluss, Erbrechen (muskarinische Effekte), Muskelzittern und Paralyse (nikotinische Effekte) sowie Unruhe, Ataxie und Krämpfe (ZNS-Effekte). Diese klinischen Zeichen treten innerhalb von 5 bis 20 Minuten nach Substanzgabe auf (WHO 2007).

In einer akuten Neurotoxizitätsstudie wurde an jeweils 18 männliche und 18 weibliche F344-Ratten Azinphos-methyl (Reinheit 92,8 %) in Dosierungen von 0, 2, 6 oder 12 mg/kg KG (männliche Tiere) bzw. 0, 1, 3 oder 6 mg/kg KG (weibliche Tiere) via Gavage verabreicht. Jeweils sechs männliche bzw. weibliche Tiere wurden zur Untersuchung der Cholinesterase-Aktivität herangezogen, die übrigen für die neurologischen Tests. Behandlungsbedingte Befunde bei den männlichen Tieren waren Urinverfärbung und rote Verfärbungen an der Nase (ab 2 mg/kg KG), Muskelfaszikulation, orale Verfärbungen und erniedrigte Körpertemperatur (ab 6 mg/kg KG), Zittern und unkoordinierter Gang (bei 12 mg/kg KG). Bei den weiblichen Tieren traten bei 6 mg/kg KG orale Verfärbungen und Urinverfärbungen sowie erniedrigte Körpertemperatur auf. Keine Effekte zeigten sich am Ende der Studie bezüglich des Körpergewichtes, des Gehirngewichtes sowie bei den makro- und mikroskopischen Untersuchungen. Signifikante Befunde in den neurologischen Tests waren bei männlichen und weiblichen Tieren ab 6 mg/kg KG zu verzeichnen (siehe Tabelle 1), wobei in der höchsten Dosis bei den weiblichen Tieren nur noch drei Tiere in der Auswertung waren, was die statistische Auswertung und Signifikanzen in ihrer Aussagekraft abwertet. Die Aktivitäten der Plasma-ChE und der Erythrozyten- und Gehirn-AChE sind in Tabelle 2 dargestellt. Diese sind bei den männlichen Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren ab 2 mg/kg KG, bei den weiblichen ab 3 mg/kg KG signifikant reduziert (WHO 2007).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

500 MAK Value Documentations

Tab. 1 Befunde (am selben Tag) in der neurologischen Untersuchung nach einmaliger oraler Gabe von Azinphos-methyl an Ratten (WHO 2007)

Parameter	Dosis in mg/kg KG					
	2	6	12	1	3	6
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
<u>Anzahl getesteter Tiere</u>	12	12	12	12	12	3
<u>Autonome Effekte</u>						
Tränenfluss	0	3	1	0	0	1*
Speichelfluss	0	4	4	0	0	1*
<u>Neuromuskuläre Effekte</u>						
Koordinationsstörungen (home cage)	0	1	3	0	0	1*
Koordinationsstörungen (open field)	0	6*	7*	0	0	1*
wiederholendes Kauen (home cage)	0	3	7*	0	0	1*
wiederholendes Kauen (open field)	0	8*	10*	0	0	1*
Körperhaltung	0	3*	6*	0	1	1*
minimale Bewegungen	1	3	6	0	0	1
<u>ZNS-Effekte</u>						
Muskelzuckungen (home cage)	0	8*	12*	0	0	1*
Muskelzuckungen (open field)	0	12*	12*	0	0	1*
Zittern (home cage)	0	3	9*	0	0	1*
Zittern (open field)	0	6*	9*	0	0	1*

* $p \leq 0,05$;

Achtung: bei den weiblichen Tieren sind in der höchsten Dosis nur noch drei Tiere in der Auswertung

Tab. 2 Cholinesterase-Aktivität nach einmaliger oraler Gabe von Azinphos-methyl an Ratten (WHO 2007)

Dosis (mg/kg KG)	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit den Kontrolltieren)		
	Plasma	Erythrozyten	Gehirn
<u>männliche Tiere</u>			
2	32*	33*	15
6	57*	67*	74*
12 (4 Tiere am Tag der Substanzgabe verstorben)	50*	63*	88*
<u>weibliche Tiere</u>			
1	11	17	5
3	36*	65*	51*
6 (alle Tiere am Tag der Substanzgabe verstorben)	–	–	–

* $p \leq 0,05$

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Die einzige vorliegende Untersuchung zur Inhalationstoxizität bei wiederholter Exposition wurde in der Begründung von 1977 kurz beschrieben und wird im Folgenden nochmals ausführlicher dargestellt.

Männliche und weibliche SPF-Wistar-Ratten wurden drei Monate lang an fünf Tagen pro Woche täglich sechs Stunden gegen Azinphos-methyl-Aerosol in Konzentrationen von 0; 0,195; 1,24 oder 4,72 mg/m³ exponiert. Azinphos-methyl wurde hierzu in einer 1:1 Mischung aus Ethanol und Polyethylenglycol 400 gelöst und diese Lösung vernebelt, wobei 97 % der Tropfen einen Durchmesser von $1 \pm 0,5 \mu\text{m}$ aufwiesen. Die Tiere wurden in dynamischen Expositionskammern ganzkörperexponiert. Sie zeigten bis zur höchsten Konzentration keine Veränderungen bezüglich Erscheinung oder Verhalten. Nur die männlichen Tiere wiesen bei 4,72 mg/m³ ein signifikant vermindertes Körpergewicht auf. Absolute und relative Organgewichte (Schilddrüse, Thymus, Herz, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Gonaden) waren nicht durch die Exposition beeinflusst. Histologisch nachweisbare Organschädigungen traten nicht auf. Hämatologische Untersuchung und Urinanalyse waren ohne substanzbedingten Befund. Auch die Serum-Enzymaktivitäten (Alanin-Aminotransferase, Aspartat-Aminotransferase, Alkalische Phosphatase) sowie die Harnstoff-, Kreatinin- und Bilirubin-Werte waren unverändert. Bei der höchsten Expositionskonzentration von 4,72 mg/m³ waren die Plasma-ChE- und Erythrozyten-AChE-Aktivitäten bei männlichen und weiblichen Tieren ab der 4. Expositionswoche bewertungsrelevant gehemmt (siehe Tabelle 3). Die AChE-Aktivität im Gehirn der Ratten war bis zur höchsten Konzentration unverändert (Kimmerle 1976). Die NOAEC dieser Studie, die in ihrem Untersuchungsumfang nicht den heutigen Kriterien entspricht, liegt bei 1,24 mg/m³. Die Inhalationsstudie wurde jedoch mit Ganzkörperexposition durchgeführt, so dass eine zusätzliche orale und dermale Aufnahme anzunehmen ist. Aus dieser Studie ist daher kein MAK-Wert ableitbar.

5.2.2 Orale Aufnahme

Die WHO (2007) hat die bewertungsrelevanten Studien mit oraler Aufnahme im Detail dargestellt. Seitdem liegen keine neuen Untersuchungen vor. Eine Übersicht der Studien findet sich in Tabelle 4.

Ratte

In einer **28-tägigen** Dosisfindungsstudie mit Schwerpunkt auf dem sensitivsten Endpunkt, der Hemmung der Cholinesterase-Aktivitäten, wurden Gruppen von jeweils fünf männlichen bzw. weiblichen Wistar-Ratten mit dem Futter gegen Azinphos-methyl (Reinheit 93,3 %) exponiert. Die Konzentrationen im Futter betragen 0, 5, 20 und 50 mg/kg (nach Angaben der Autoren 0; 0,35; 1,3 bzw. 3,37 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0; 0,46; 1,54 bzw. 3,96 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren). Es traten keine Effekte in äußerer Erscheinung, Verhalten, Mortalität, Körpergewichts-Zunahme, Futteraufnahme und makroskopischer Un-

502 MAK Value Documentations

Tab. 3 Cholinesterase-Aktivität nach 3-monatiger inhalativer Exposition von Ratten gegen Azinphos-methyl (Kimmerle 1976)

Unter- suchungs- woche	Azinphos-methyl-Konzentration (mg/m ³)							
	0		0,195		1,24		4,72	
Cholinesterase-Aktivität								
	Plasma	Erythro- zyten	Plasma	Erythro- zyten	Plasma	Erythro- zyten	Plasma	Erythro- zyten
μ Äquivalent Acetylcholin								
Männliche Tiere								
Ausgangswert	2,36	3,80	2,26	3,81	2,30	3,32	2,39	3,52
2	2,20	3,77	2,27	3,98	2,39	3,51	1,93 ^a	2,83
4	3,26	3,64	3,12	3,90	3,09	3,36	2,96	1,90 ^a
6	2,32	3,73	2,38	3,74	2,38	3,14	2,26	2,39 ^a
8	2,37	3,73	2,31	3,66	2,49	3,26	1,92 ^a	2,54 ^a
10	2,34	4,08	2,32	3,91	2,28	3,49	1,96 ^a	2,89 ^a
12	2,46	4,04	2,41	3,99	2,44	3,36	2,07	2,27 ^a
Weibliche Tiere								
Ausgangswert	3,30	3,50	3,32	3,40	3,28	3,27	3,35	3,34
2	3,32	3,44	3,35	3,65	3,31	3,55	3,09 ^a	2,83
4	4,24	3,06	4,20	3,21	4,14	3,06	3,08 ^a	1,90 ^a
6	3,96	3,93	3,96	3,79	3,86	3,83	3,30	2,39 ^a
8	3,60	3,63	3,65	3,85	3,58	3,62	3,93 ^a	2,54 ^a
10	4,00	3,88	4,04	4,05	3,98	4,02	3,58	2,89 ^a
12	4,05	3,55	4,02	3,56	4,00	3,97	3,45	2,27 ^a

^a Hemmung um mehr als 20 %

tersuchung auf. Die Erythrozyten-AChE-Aktivität war bei den männlichen Tieren in der mittleren Dosisgruppe unbeeinflusst, bei den weiblichen signifikant reduziert (17 bis 22 %). Bei den weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe trat verglichen mit den Kontrolltieren eine statistisch signifikante Reduktion der Plasma-ChE-Aktivität um 44 bis 61 % auf. Bei den männlichen Tieren war die Hemmung in der hohen Dosisgruppe über die gesamte Untersuchungszeit deutlich geringer, war jedoch im Gegensatz zu den weiblichen Tieren bereits in der mittleren Dosisgruppe zu sehen. Die AChE-Aktivität im Gehirn war ebenfalls nur bei den weiblichen Tieren in der hohen Dosisgruppe signifikant reduziert (siehe Tabelle 5; Bayer AG 1983). Da die Erythrozyten-AChE-Aktivität bei den weiblichen Tieren in der mittleren Dosisgruppe nicht aduers (bis 22 %) reduziert war, ist diese Dosis von 1,3 mg/kg KG und Tag für männliche bzw. 1,54 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere der NOAEL.

Tab. 4 Untersuchungen zur wiederholten Toxizität nach oraler Verabreichung von Azinphos-methyl

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte , Wistar, je 5 ♂, ♀	28 Tage , 0, 5, 20, 50 mg/kg im Futter, ♂: 0; 0,35; 1,3; 3,37 mg/kg KG u. Tag, ♀: 0; 0,46; 1,54; 3,96 mg/kg KG u. Tag, Reinheit 93,3 %, Dosisfindungsstudie	1,3/1,54 mg/kg KG: NOAEL ♂, ♀; ab 1,54 mg/kg KG: ♀: Erythrozyten-AChE-Aktivität ↓ (17–22 %, nicht adwers ^{ab}), 3,96 mg/kg KG: ♀: Gehirn-AChE-Aktivität (>30 %) ↓, Plasma-ChE-Aktivität ↓ (>30 %)	Bayer AG 1983
Ratte , Fischer, je 18 ♂, ♀ davon je 12 ♂, ♀ für Verhaltenstests, davon je 6 ♂, ♀ für neuropathologi- sche Untersuchung, je 6 ♂, ♀ für Bestimmung der ChE-Aktivität	13 Wochen , ♂: 0, 15, 45, 120 mg/kg im Futter (0); 0,91; 2,81; 7,87 mg/kg KG u. Tag), ♀: 0, 15, 45, 90 mg/kg im Futter (0); 1,05; 3,23; 6,99 mg/kg KG u. Tag), Reinheit 92,2 %, Neurotoxizitätsstudie	ab 0,91/1,05 mg/kg KG (LOAEL): ♂/♀: Erythrozyten-AChE ↓ (>30 %); ab 3,23 mg/kg KG: ♂/♀: Gehirn-AChE- und Plasma-ChE-Aktivität ↓ (>30 %), ♀: perianale Färbungen, roter Tränenfluss, erhöhte Reaktivität, unkoordinierter Gang, Zittern; 7,87/6,99 mg/kg KG: ♂/♀: KG ↓ (9 bis 10 %), Futteraufnahme ↓, ♂: perianale Färbungen, roter Tränenfluss, erhöhte Reaktivität, unkoordinierter Gang, Zittern	Miles Inc 1995; Sheets et al. 1997
Ratte , CD, je 10 ♂, ♀	13 Wochen , 0; 0,215; 0,86; 3,44 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, umgerechnet auf reines Azinphos-me- thyl: 0; 0,2; 0,8 bzw. 3,2 mg/kg KG u. Tag, Reinheit 93 %	0,2 mg/kg KG: NOAEL; ab 0,8 mg/kg KG: ♂/♀: Speichelfluss, ♀: Erythrozyten-AChE-Aktivität ↓ (29 %); 3,2 mg/kg KG: ♂/♀: Gehirn-AChE- und Plasma-ChE-Aktivität ↓ (>30 %)	MCW Ltd 1987

Tab. 4 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte , Wistar, je 60 ♂, ♀, je 10 ♂, ♀ davon für Zwischensektion	2 Jahre , 0, 5, 15, 45 mg/kg im Futter, ♂: 0; 0,25; 0,75; 2,33 mg/kg KG u. Tag, ♀: 0; 0,31; 0,96; 3,11 mg/kg KG u. Tag, Reinheit 87,2 %	0,75/0,96 mg/kg KG und Tag: NOAEL; 2,33/3,11 mg/kg KG: ♂/♀: Plasma-AChE-Aktivität ↓ (>30 %), Erythrozyten- und Gehirn-AChE-Aktivität ↓ (>30 %), ♂: KG-Zunahme ↓ (7 %)	Bayer AG 1987 c
Maus , CD1, je 50 ♂, ♀	2 Jahre , 0, 5, 20, 40 mg/kg im Futter, ♂: 0; 0,79; 3,49; 11,33 mg/kg KG u. Tag, ♀: 0; 0,98; 4,12; 14,30 mg/kg KG u. Tag, hohe Dosierung von 80 mg/kg nach einer Woche aufgrund der starken Toxizität auf 40 mg/kg reduziert, Reinheit 88,6 %	0,79/0,98 mg/kg KG: NOAEL; ab 3,49/4,12 mg/kg KG: ♂/♀: Erythrozyten-AChE-Aktivität ↓ (>30 %), ♂: Plasma-AChE-Aktivität ↓ (>30 %); ab 11,33/14,30 mg/kg KG: ♂/♀: Gehirn-AChE-Aktivität ↓ (>30 %), ♀: Plasma-AChE-Aktivität ↓ (>30 %)	Mobay Chemical Corp 1985
Hund , Beagle, je 4 ♂, ♀, nach OECD-Prüfrichtlinie 452	52 Wochen , 0, 5, 25, 125 mg/kg im Futter, ♂: 0; 0,15; 0,69; 3,84 mg/kg KG u. Tag, ♀: 0; 0,16; 0,78; 4,33 mg/kg KG u. Tag, Reinheit 91,9 %	0,15/0,16 mg/kg KG: NOAEL; ab 0,69/0,78 mg/kg KG: ♂/♀: Erythrozyten-AChE-Aktivität ↓ (>30 %), ♀: Plasma-ChE-Aktivität ↓ (>30 %); ab 3,84/4,33 mg/kg KG: Diarrhö, KG ↓ (2 ♂ Tiere), ♂/♀: Gehirn-AChE-Aktivität ↓ (signifikant, aber nur >20 %), Leber-N-Demethylase ↑; ♂: Plasma-ChE-Aktivität ↓ (>30 %), Cytochrom P450-En- zymaktivität leicht ↑, Albuminspiegel ↓	Bayer AG 1990 a

^{a)} Der aktuelle BAT-Wert ist festgelegt auf eine Reduktion der erythrozytären Acetylcholinesterase-Aktivität auf 70 % des Bezugswerts (Henschler und Lehner 1986), das heißt erst eine 30%ige oder stärkere Hemmung der erythrozytären Acetylcholinesterase-Aktivität wird als advers betrachtet.

Tab. 5 Cholinesterase-Aktivität von Ratten nach 28-tägiger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (Bayer AG 1983; WHO 2007)

Gewebe / Unter- suchungstag	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)					
	0,35	1,3	3,37	0,46	1,54	3,96
	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit Kontrolle)					
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
<u>Plasma</u>						
1	0	8	10	0	0	15
4	0	21	25	0	0	44*
14	0	21	33*	0	0	53**
28	0	26*	26*	0	0	61**
<u>Erythrozyten</u>						
1	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	+15	0
14	0	0	22**	0	17*	34**
28	0	0	14**	0	22**	35**
<u>Gehirn</u>						
28	0	0	9	0	0	53**

*p < 0,05; **p < 0,01

In einer **13-wöchigen** Neurotoxizitätsstudie an Gruppen von jeweils 18 männlichen und weiblichen Fischer-Ratten, denen Futter mit Azinphos-methyl (Reinheit 92,2 %) verabreicht wurde, erhielten die männlichen Tiere Konzentrationen von 0, 15, 45 oder 120 mg/kg im Futter (nach Angaben der Autoren 0; 0,91; 2,81 bzw. 7,87 mg/kg KG und Tag) und die weiblichen Tiere 0, 15, 45 oder 90 mg/kg im Futter (nach Angaben der Autoren 0; 1,05; 3,23 bzw. 6,99 mg/kg KG und Tag). Zwölf Ratten jeder Gruppe wurden Verhaltenstests unterzogen, die Hälfte davon neuropathologisch untersucht. Bei den übrigen sechs Tieren wurden die Aktivitäten der Cholinesterase bestimmt. Es trat keine Mortalität auf. Behandlungsbedingte klinische Zeichen bzw. neurotoxische Symptome waren perianale Färbungen, roter Tränenfluss, erhöhte Reaktivität, unkoordinierter Gang und Zittern bei den männlichen Tieren in der höchsten Dosisgruppe, bei den weiblichen Tieren ab der mittleren Dosis. Die Symptome verstärkten sich mit zunehmender Exposition, jedoch zeigte sich ab der 4. Woche keine weitere Kumulation. In der hohen Dosisgruppe waren das Körpergewicht (9 bis 10 %) und die Futteraufnahme reduziert. Eine Hemmung von mehr als 30 % wurde in allen behandelten Tieren bei der Erythrozyten-AChE-Aktivität beobachtet, bei der Gehirn-AChE- und Plasma-ChE-Aktivität ab der mittleren Dosis (siehe Tabelle 6). Makroskopische Untersuchung, Gehirngewicht, Ophthalmologie und histopathologische Untersuchung der neuralen Gewebe und Skelettmuskel waren ohne substanzbedingten Befund. Cholinerge Zeichen wurden erst bei einer Hemmung der AChE-Aktivität

Tab. 6 Cholinesterase-Aktivität von Ratten nach 13-wöchiger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (Miles Inc 1995; Sheets et al. 1997; WHO 2007)

Gewebe / Unter- suchungswoche	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)					
	0,91	2,81	7,87	1,05	3,23	6,99
	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit Kontrolle)					
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
<u>Plasma</u>						
4	7	42*	75*	14*	59*	83*
13	15*	44*	69*	13	60*	81*
<u>Erythrozyten</u>						
4	37*	88*	98*	41*	88*	91*
13	37*	84*	95*	38*	78*	95*
<u>Gehirn</u>						
13	8*	46*	82*	16*	72*	85*

*p < 0,05

im Gehirn um mehr als 70 % oder in den Erythrozyten um 65 bis 80 % beobachtet. Dies war bei Dosierungen ab 3,2 mg/kg KG und Tag zu sehen. Der NOAEL für die Hemmung der AChE im Gehirn beträgt 0,91 bzw. 1,05 mg/kg KG und Tag, ein NOAEL für die Hemmung der AChE in den Erythrozyten konnte nicht abgeleitet werden (Miles Inc 1995; Sheets et al. 1997). Dieser NOAEL diente als Dosiswahl für die Probandenstudie von Bayer Corporation (1999 b) (siehe Abschnitt 4.2.2).

Gruppen von zehn männlichen und zehn weiblichen CD-Ratten erhielten **13 Wochen** lang Azinphos-methyl (Reinheit 93 %) mittels Schlundsonde in Dosierungen von 0; 0,215; 0,86 oder 3,44 mg/kg KG und Tag. Es trat keine Mortalität auf. Ab der mittleren Dosis wurde bei den männlichen Tieren Speichelfluss beobachtet, beginnend ab der dritten Woche mit bis zu 80 % betroffener Tiere nach acht Wochen. Bei den weiblichen Tieren war Speichelfluss nur unregelmäßig zu sehen, jedoch bei zwei Tieren der mittleren Dosisgruppe während der siebten Woche und bei 40 % der Tiere in der hohen Dosisgruppe während der neunten Woche. Ophthalmoskopische Untersuchung, Körpergewichtszunahme, Futter- und Wasseraufnahme waren ohne substanzbedingten Befund. Die Plasma-Butyryl-, Plasma-, Erythrozyten-Acetyl- und Gehirn-Acetyl-ChE waren in allen Dosierungen signifikant gehemmt. Kritische Hemmungen erreichte die Erythrozyten-AChE der weiblichen Tiere in der mittleren Dosisgruppe mit 29 %, die in der hohen Dosisgruppe dann deutlich darüber lag (siehe Tabelle 7) sowie die Gehirn-AChE ebenfalls in der hohen Dosisgruppe. Substanzbedingte Effekte auf die Organgewichte oder in der histopathologischen Untersuchung wurden nicht beobachtet. Der NOAEL dieser Untersuchung wurde mit 0,2 mg/kg KG und Tag festgelegt (MCW Ltd 1987). Bei den weiblichen Tieren der 0,86 mg/kg-Gruppe war die Erythrozyten-AChE um 29 % gehemmt. Eine 30%ige Hemmung ist als kritisch zu bewerten (siehe Abschnitt 2), so dass der tatsächliche LOEAL vermutlich nur wenig oberhalb dieser Dosis liegt.

Tab. 7 Cholinesterase-Aktivität von Ratten nach 13-wöchiger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (MCW Ltd 1987; WHO 2007)

Gewebe	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)					
	0,215	0,86	3,44	0,215	0,86	3,44
	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit Kontrolle)					
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
Plasma	18**	14*	42***	-3	7	49***
Erythrozyten	8*	17***	77***	9***	29***	78***
Gehirn	3	9*	67***	4	3	64***

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

In einer Langzeitstudie an Wistar-Ratten erhielten Gruppen von jeweils 60 männlichen bzw. weiblichen Tieren zwei Jahre lang Azinphos-methyl (Reinheit 87,2 %) mit dem Futter. Die Dosierungen betragen 0, 5, 15 oder 45 mg/kg Futter (nach Angaben der Autoren 0; 0,25; 0,75 bzw. 2,33 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere und 0; 0,31; 0,96 bzw. 3,11 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere). In einer Zwischensektion nach einem Jahr wurden jeweils zehn Tiere pro Geschlecht und Dosisgruppe untersucht. Es traten keine klinischen Symptome auf und die Überlebenszahl der Tiere war durch die Behandlung nicht verändert. Die Körpergewichtszunahme der männlichen Tiere war in der hohen Dosisgruppe, verglichen mit der Kontrolle, leicht (7 %) verringert. Hämatologie und Urinanalyse waren ohne substanzbedingten Befund. Die (A)ChE-Aktivitäten in Erythrozyten, Plasma und Gehirn war in der hohen Dosisgruppe bei beiden Geschlechtern im Vergleich zur Kontrolle deutlich reduziert (siehe Tabelle 8). Makroskopische Befundung, Organgewichtsbestimmung und histopathologische Untersuchung waren ohne substanzbedingten Befund. Der NOAEL betrug aufgrund der Hemmung der AChE-Aktivität im Gehirn bei beiden Geschlechtern und der reduzierten Körpergewichtszunahme bei männlichen Tieren in der hohen Dosisgruppe 15 mg/kg Futter (0,75 und 0,96 mg/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Tieren) (Bayer AG 1987 c).

Maus

In einer Langzeitstudie erhielten Gruppen von jeweils 50 männlichen bzw. weiblichen CD1-Mäusen zwei Jahre lang Azinphos-methyl (Reinheit 88,6 %) mit dem Futter verabreicht. Die Dosierungen betragen 0, 5, 20 oder 40/80 mg/kg Futter (nach Angaben der Autoren ca. 0; 0,79; 3,49 bzw. 11,33 für männliche Tiere und 0; 0,98; 4,12 bzw. 14,30 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere). Die Studie wurde mit einer hohen Dosierung von 80 mg/kg begonnen, die nach einer Woche aufgrund der starken Toxizität auf 40 mg/kg Futter reduziert wurde. Anschließend zeigten die Tiere dieser Dosisgruppe keine weiteren klinischen Symptome. Futterraufnahme und Körpergewichtszunahme waren bis zur Dosierung von 40 mg/kg nicht beeinträchtigt. Die hämatologischen Untersuchungen waren ohne auffälligen Befund. Die (A)ChE-Aktivitäten in Plasma, Erythrozyten und Gehirn waren in der niedrigsten Dosis verglichen mit der Kontrolle unverändert. Ab 20 mg/kg war die AChE-Aktivität in

508 MAK Value Documentations

Tab. 8 Cholinesterase-Aktivität von Ratten nach 2-jähriger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (Bayer AG 1987 c; WHO 2007)

Gewebe / Untersuchungs- zeitpunkt	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)					
	0,25	0,75	2,33	0,31	0,96	3,11
	Cholinesterase-Aktivität (% verglichen mit Kontrolle)					
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
<u>Plasma</u>						
1 Monat	93	95	62**	88	88	44**
3 Monate	91	102	60**	88	65**	35**
6 Monate	88	95	57**	92	71*	34**
1 Jahr	84	87	54**	90	65**	33**
1,5 Jahre	87	90	55**	100	74*	46**
2 Jahre	113	88	51**	102	81	38**
<u>Erythrozyten</u>						
1 Monat	97	84**	76**	105	87	74*
3 Monate	101	88**	77**	110**	88**	72**
6 Monate	97	90	80**	109*	86**	77**
1 Jahr	102	82*	73**	101	81**	69**
1,5 Jahre	96	83**	73**	94	80**	73**
2 Jahre	88**	78**	63**	98	84**	71**
<u>Gehirn</u>						
1 Jahr	130**	137**	109	112	90	50**
2 Jahre	117	112	68**	102	79**	45**

* p < 0,05; ** p < 0,01

Erythrozyten bei beiden Geschlechtern, die ChE-Aktivität im Plasma nur bei den männlichen Tieren dosisabhängig reduziert. In der hohen Dosisgruppe war eine Beeinträchtigung der AChE-Aktivität im Gehirn bei beiden Geschlechtern und der ChE-Aktivität im Plasma bei den weiblichen Tieren zu beobachten (siehe Tabelle 9).

Die histopathologischen Untersuchungen erbrachten keinen substanzbedingten Befund. Der NOAEL dieser Untersuchung betrug 5 mg/kg Futter (0,79 bzw. 0,98 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren) aufgrund der bei höheren Dosierungen auftretenden Reduktion der AChE-Aktivität (Mobay Chemical Corp 1985).

Hund

In einer 52-Wochen-Studie, die nach OECD-Prüfrichtlinie 452 durchgeführt wurde, erhielten Gruppen von jeweils vier männlichen bzw. weiblichen Beagle-Hunden Futter mit Azinphos-methyl (Reinheit 91,9 %) in Konzentrationen von 0, 5, 25 oder

Tab. 9 Cholinesterase-Aktivität von Mäusen nach 104-wöchiger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (Mobay Chemical Corp 1985; WHO 2007)

Untersuchungs- zeitpunkt / Gewebe	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)							
	0	0,79	3,49	11,33	0	0,98	4,12	14,30
	Cholinesterase-Aktivität ^{a)} (% verglichen mit Kontrolle)							
	männliche Tiere				weibliche Tiere			
<u>Plasma (µmol/ml per min)</u>								
6 Monate	3,11	3,33 (107)	2,57 (83)	1,62 (52)	5,76	5,45 (95)	3,08 (53)	1,48 (26)
1 Jahr	3,88	4,81 (124)	2,63 (68)	1,32 (34)	6,51	5,44 (84)	3,27 (50)	1,50 (23)
2 Jahre	4,33	3,95 (91)	2,97 (69)	1,89 (44)	4,98	4,93 (99)	3,86 (89)	1,65 (38)
<u>Erythrozyten (µmol/ml per min)</u>								
6 Monate	1,33	1,11 (84)	0,88 (66)	0,67 (50)	1,16	1,03 (89)	0,67 (58)	0,63 (54)
1 Jahr	1,04	0,99 (95)	0,45 (43)	0,20 (19)	0,87	0,81 (78)	0,39 (45)	0,20 (19)
2 Jahre	0,95	0,80 (84)	0,54 (56)	0,35 (37)	0,79	0,62 (78)	0,40 (51)	0,32 (41)
<u>Gehirn (µmol/g per min)</u>								
2 Jahre	14,7	12,9 (88)	12,3 (84)	5,4 (37)	14,4	13,6 (94)	10,6 (74)	4,7 (33)

^{a)} keine statistische Auswertung angegeben

125 mg/kg (entsprach nach Angaben der Autoren 0; 0,15; 0,69 bzw. 3,84 mg/kg KG und Tag für die männlichen Tiere und 0; 0,16; 0,78 sowie 4,33 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere). In der hohen Dosisgruppe trat vermehrt Diarrhö auf, zwei männliche Tiere verloren an Körpergewicht, die Futteraufnahme der Tiere war nicht beeinträchtigt. Hämatologische Untersuchungen und Urinanalyse waren ohne substanzbedingten Befund. Die Plasma-ChE- und die Erythrozyten-AChE-Aktivitäten waren ab der mittleren Dosisgruppe reduziert, die Aktivität der AChE im Gehirn in der hohen Dosisgruppe (siehe Tabelle 10). Bei beiden Geschlechtern der hohen Dosisgruppe war die Leber-N-Demethylase verglichen mit den Kontrolltieren leicht erhöht, bei den männlichen Tieren der hohen Dosisgruppe war die Cytochrom-P450-Enzymaktivität leicht erhöht und der Albuminspiegel vermindert. Organengewichtsbestimmungen, makroskopische und histopathologische Untersuchungen waren ohne substanzbedingten Befund. Der NOAEL dieser Untersuchung lag bei 0,15 bzw. 0,16 mg/kg KG und Tag aufgrund der Hemmung der Erythrozyten-AChE (Bayer AG 1990 a).

510 MAK Value Documentations

Tab. 10 Cholinesterase-Aktivität von Hunden nach 52-wöchiger oraler Aufnahme von Azinphos-methyl (Bayer AG 1990 a; WHO 2007)

Untersuchungs-zeitpunkt / Gewebe	Azinphos-methyl (mg/kg KG und Tag)							
	0	0,15	0,69	3,84	0	0,16	0,78	4,33
	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit Kontrolle)							
	männliche Tiere				weibliche Tiere			
<u>Plasma</u>								
1. Woche	0	11	12	37	0	-18	14	52*
13. Woche	0	13	15	53**	0	-2	17	58**
26. Woche	0	14	12	58**	0	-10	33	57**
52. Woche	0	11	12	53*	0	12	30	53**
<u>Erythrozyten</u>								
1. Woche	0	-9	22	66**	0	11	2	86**
13. Woche	0	8	40**	87**	0	16	43**	92**
26. Woche	0	8	32	88**	0	21	38**	91**
52. Woche	0	-5	27	86**	0	15	35*	86**
<u>Gehirn</u>								
52. Woche	0	1	10	27**	0	1	1	20*

*p < 0,05; **p < 0,01

Huhn

Bei Hennen, denen 30 Tage lang Azinphos-methyl mit dem Futter verabreicht worden war, betrug der NOAEL 18,7 mg/kg KG und Tag; bei 37,5 bzw. 75 mg/kg KG und Tag war die Blut-Cholinesterase (k. w. A.) reduziert (auf 15 % und 27 %) (WHO 2007).

Zusammenfassung

Auch nach oraler wiederholter Gabe ist der sensitivste toxische Effekt bei Nagern und Hunden die Hemmung der (A)ChE-Aktivität, Hennen waren weniger empfindlich. Bei höheren Dosierungen treten reduziertes Körpergewicht und klinische neurotoxische Zeichen auf. Dies sind muskarinische Wirkungen wie Diarrhö und Speichelfluss, die mit einer über 80%igen Hemmung der AChE-Aktivität im Gehirn korrelieren (WHO 2007).

Zusammengefasst liegt in Langzeitstudien bei Ratten der NOAEL für eine kritische Hemmung der AChE etwa im Bereich von 0,75 bis 0,86 mg/kg KG und Tag und bei Mäusen etwa im Bereich von 0,79 bis 0,98 mg/kg KG und Tag. Beim Hund liegt der NOAEL in einer einjährigen Studie bei 0,16 mg/kg KG und Tag aufgrund der Hemmung der AChE in den Erythrozyten (WHO 2007).

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.4 Allergene Wirkung

In einem Maximierungstest erhielten 20 männliche Dunkin-Hartley-Meerschweinchen zur Induktion intradermale Injektionen einer 1%igen Zubereitung von Azinphos-methyl (Vehikel: 2 % Cremophor EL in physiologischer Kochsalzlösung). Nach einer Woche folgten eine offene Behandlung mit 10 % Natriumdodecylsulfat in Vaseline und einen Tag später eine 48-stündige okklusive Behandlung mit einer 12,5%igen Zubereitung von Azinphos-methyl (Vehikel s. o.). Bei der Auslösebehandlung mit der 12,5%igen Zubereitung zeigten 19 der 20 Tiere nach 24 Stunden eine Reaktion. Ein stark ausgeprägtes Erythem oder Ödem wurde bei neun Tieren beobachtet, und die übrigen zehn Tiere zeigten ein mäßig oder gering ausgeprägtes Erythem. Die Reaktionen bestanden auch nach 48 Stunden und bei elf Tieren wurde zu diesem Zeitpunkt außerdem eine Verschorfung beobachtet. Auf das Vehikel zeigte nur eines von 20 Tieren eine Reaktion. In der mit dem Vehikel und mit Freundlichem kompletten Adjuvans vorbehandelten Kontrollgruppe reagierten jeweils fünf von zehn Tieren schwach ausgeprägt auf die Testzubereitung und auf das Vehikel. Angaben zur Reinheit der Testsubstanz fehlen, wahrscheinlich handelt es sich um ein technisches Produkt mit einer Reinheit von 92,4 bis 92,8 % (APVMA 2006).

Eine gleichartige 12,5%ige Zubereitung von technischem Azinphos-methyl (Reinheit 92,4–92,8 %) wurde auch in einem Bühler-Test mit zwölf männlichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen für die dreimalige okklusive Induktionsbehandlung eingesetzt. Für die Auslösebehandlung dienten eine 6%ige und für eine erneute Auslösebehandlung eine 0,6%ige Zubereitung im gleichen Vehikel. Schwach ausgeprägte Erytheme (Grad 1 von maximal 3) und mäßig ausgeprägte Erytheme (Grad 2) wurden 24 Stunden nach der ersten Auslösebehandlung bei je drei von zwölf Tieren beobachtet, während bei den zwölf Kontrolltieren lediglich zwei schwach ausgeprägte Reaktionen (Grad 1) auftraten. Bei den Tieren mit initialer Grad-2-Reaktion waren nach 72 Stunden noch gering ausgeprägte Erytheme (Grad 1) erkennbar. Die zweite Auslösebehandlung führte bei der 48-Stunden-Ablesung bei einem Tier der vorbehandelten Gruppe und bei zwei der zwölf Kontrolltiere zu einer schwachen Reaktion (Grad 1). Die Reaktion wurde bei zwei weiteren der zwölf Kontrolltiere nicht beurteilt, da das gesamte enthaarte Hautareal gerötet war (APVMA 2006).

Ein Bühler-Test mit dreimaliger okklusiver Applikation einer 25%igen Zubereitung einer technischen Azinphos-methyl-Charge (Reinheit 88,8 %) in Ethanol/Wasser (1:1) führte bei der Auslösebehandlung mit der gleichen Zubereitung nach 24 Stunden bei sechs von 15 männlichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen zu geringgra-

digen Reaktionen (schwaches oder gerade noch erkennbares Erythem, Grad 1) und bei einem Tier zu einer mäßig ausgeprägten Reaktion (deutlich erkennbares Erythem, Grad 2). Die Reaktionen persistierten bei sechs der sieben Tiere auch bis zum zweiten Tag (5 × Grad 1, 1 × Grad 2). Gering ausgeprägte Reaktionen (Grad 1) fanden sich nur nach 24 Stunden auch bei zwei von fünf Kontrolltieren (APVMA 2006).

Ein Fertigprodukt mit einem Gehalt von 19,3 % Azinphos-methyl (Reinheit nicht angegeben) wurde in einem weiteren Bühler-Test in 50%iger Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung für die Induktionsbehandlung und in 25%iger und 12%iger Verdünnung für die Auslösebehandlung eingesetzt. Eine zweite Auslösebehandlung erfolgte mit dem Produkt in 6%iger und 1%iger Verdünnung und die Ablesungen wurden nach 30, 54 und 78 Stunden vorgenommen. Die 25%ige Zubereitung führte bei insgesamt neun von 20 weiblichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen zu gering ausgeprägten und begrenzten bis mäßig ausgeprägten und konfluierenden Erythemen, die bei acht Tieren auch nach 78 Stunden persistierten. Auf die 12%ige Zubereitung reagierten fünf Tiere (nach 78 Stunden) positiv, und die zweite Auslösebehandlung mit der 6%igen und der 1%igen Testzubereitung führte nur nach 30 Stunden zu einer Reaktion bei jeweils zwei der 20 Tiere. Bei den zehn Kontrolltieren wurde zu keinem Ablesezeitpunkt auf eine der vier Zubereitungen eine Reaktion beobachtet (APVMA 2006).

Ein anderes Fertigprodukt mit einem Azinphos-methyl-Gehalt von 35 % lieferte in einem Bühler-Test mit 15 männlichen Hartley-Meerschweinchen und dreimaliger okklusiver Applikation einer 5%igen Zubereitung in Ethanol/Wasser (1:1) ebenfalls ein positives Ergebnis. Bei den 24 und 48 Stunden nach der Auslösebehandlung mit der gleichen Zubereitung vorgenommenen Ablesungen zeigten insgesamt elf der 15 Tiere ein schwach ausgeprägtes (zehn Tiere) oder ein mäßig ausgeprägtes Erythem (ein Tier). Die fünf Kontrolltiere zeigten keine Reaktionen (Anonym 1996).

Ein ähnliches Produkt (Azinphos-methyl-Gehalt: 36–38 %) wurde offenbar unverdünnt in einem Bühler-Test mit je zehn weiblichen und männlichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen eingesetzt. In diesem zeigten je zwei weibliche und männliche Tiere 24 Stunden nach der Auslösebehandlung ein sehr schwach ausgeprägtes und sieben Tiere (3 weibliche, 4 männliche) ein gering ausgeprägtes Erythem (Grad 1). Nach 48 Stunden bestanden die Erytheme bei den sieben Tieren weiterhin, während bei drei männlichen und einem weiblichen Tier sehr gering ausgeprägte Erytheme festgestellt wurden. Die zehn Kontrolltiere reagierten zu keinem der Ablesezeitpunkte (APVMA 2006).

In einem modifizierten Bühler-Test wurden zunächst 500 mg schwach braunes, festes und mit dem Vehikel befeuchtetes (k. w. A.) Azinphos-methyl (Reinheit nicht angegeben) für die jeweils an alternierenden Tagen erfolgende Induktionsbehandlung eingesetzt. Die applizierte Menge wurde für die letzten vier der insgesamt zehn Induktionsbehandlungen und die zwei Wochen nach der letzten Induktionsbehandlung erfolgende Auslösebehandlung wegen der aufgetretenen Letalität halbiert. Keines der sechs überlebenden Tiere zeigte 24 und 48 Stunden nach der Auslösebehandlung eine Reaktion (APVMA 2006).

Auch für einen Bühler-Test, der mit einem 13 % Azinphos-methyl enthaltenden Fertigprodukt an 15 Hartley-Meerschweinchen durchgeführt wurde, ist ein negatives Ergebnis angegeben. Eines der vorbehandelten Tiere zeigte nach 48, nicht aber

nach 24 Stunden ein gering ausgeprägtes Erythem (Grad 1). Es ist nicht angegeben, ob der Test mit dem unverdünnten Produkt durchgeführt wurde (APVMA 2006).

Zusammenfassung

Die vorwiegend positiven Ergebnisse zeigen, dass Azinphos-methyl in technischen Qualitäten ein gering bis mäßig ausgeprägtes kontaktsensibilisierendes Potenzial besitzt. Die Untersuchungen erlauben jedoch keinen Rückschluss darauf, ob auch stärker gereinigte Qualitäten eine kontaktsensibilisierende Wirkung aufweisen.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In einer Zwei-Generationen-Studie (zwei Würfe pro Generation), erhielten jeweils zwölf männliche und 24 weibliche Wistar-Ratten Futter mit Azinphos-methyl (Reinheit 87,2 %) in Konzentrationen von 0, 5, 15 oder 45 mg/kg Futter (nach Angaben der Autoren 0; 0,33–0,42; 1,02–1,22 bzw. 3,46–7,37 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren und 0; 0,48–0,67; 1,48–2,02 bzw. 4,84–10,27 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren). Bei der höchsten Dosis waren die Fertilität der F_0 - und F_{1b} -Muttertiere sowie die Gesamtzahl der Nachkommen reduziert. Der Überlebensindex sowohl bis zum 5. als auch bis zum 21. Postnataltag war in der hohen Dosisgruppe bei den F_{1a} -, F_{1b} - und F_{2a} -Würfen signifikant reduziert, während dieser Effekt in der mittleren Dosisgruppe fraglich war (siehe Tabelle 11). Ebenfalls in der hohen Dosisgruppe traten ein Anstieg der Mortalität der Muttertiere in der F_0 -Generation sowie ein reduziertes mittleres Überleben der Nachkommen der F_{1a} -, F_{1b} - und F_{2a} -Würfe am 5. Postnataltag auf. Dadurch waren nur fünf weibliche Tiere für die Paarung in der F_{1b} -Generation vorhanden. Es waren in keiner Generation behandlungsbedingte grobstrukturelle Missbildungen zu beobachten. Die Futterraufnahme war nicht beeinträchtigt. Klinische Wirkungen waren ein reduziertes Körpergewicht in der hohen Dosisgruppe sowie cholinerge Zeichen. Der NOAEL für Fertilität betrug 15 mg/kg Futter (1,02–1,22 mg/kg KG und Tag für die männlichen Tiere bzw. 1,48–2,02 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere) (Bayer AG 1987 a).

Eine weitere Ein-Generationenstudie wurde durchgeführt, um den leichten Effekt auf die Überlebensfähigkeit der Nachkommen bei 15 mg/kg im Futter zu bestätigen. Gegebenenfalls sollte bestimmt werden, ob der Effekt der Behandlung den männlichen oder den weiblichen Tieren zugeordnet werden kann und ob er mit der Hemmung der Cholinesterase verknüpft ist. Gruppen von jeweils 18 männlichen und 46 weiblichen Wistar-Ratten erhielten Futter mit Azinphos-methyl (Reinheit: 92 %) in Konzentrationen von 0, 5, 15 oder 45 mg/kg (entsprechend 0; 0,43; 1,30 bzw. 3,73 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0; 0,55; 1,54 bzw. 4,87 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren). Die behandelten Tiere wurden verpaart und die Nachkommen bis zum 28. Postnataltag gehalten. Zusätzlich wurden behandelte männliche Tiere mit unbehandelten weiblichen Tieren verpaart. In der höchsten Dosisgruppe mussten zwei weibliche Tiere aufgrund der starken Toxizität (cholinerge Effekte, schlechter Gesamtzustand, blutige Nasen, Trägheit und unsicherer Gang) aus dem Versuch genommen werden. Die männlichen Tiere zeigten bei der gleichen

514 MAK Value Documentations

Tab. 11 Parameter der Nachkommen von Ratten einer 2-Generationenstudie mit Fütterung von Azinphos-methyl (Bayer AG 1987 a)

Parameter	Azinphos-methyl in mg/kg Futter ^{a)}			
	0	5	15	45
E_{1a}				
lebende/tote Nachkommen bei Geburt (Anzahl)	252/1	247/0	204/8	197/9
männliche/weibliche Nachkommen (%)	52/48	53/47	49/51	52/48
Wurfgröße Tag 0/Tag 5 (Anzahl)	11,5/11,1	11,2/10,5	10,1/8,7*	10,1/3,9**
Überlebensindex (%)	96,8	93,9	86,6**	38,7**
Nachkommen an Tag 5 ^{b)} /Woche 4 (Anzahl)	175/169	167/156	139/134	62/17
Laktationsindex (%)	96,6	93,4	96,4	27,4**
Körpergewicht an Tag 0/Woche 3 (g)	5,8/36,7	5,7/37,5	5,9/35,9	5,4/25,8**
E_{1b}				
lebende/tote Nachkommen bei Geburt (Anzahl)	235/1	236/11	175/1	133/0
männliche/weibliche Nachkommen (%)	52/48	50/50	51/49	55/45
Wurfgröße Tag 0/Tag 5 (Anzahl)	10,6/10,5	9,8/9,5	9,7/9,7	8,9/2,8**
Überlebensindex (%)	98,3	97,3	98,9	31,6**
Nachkommen an Tag 5 ^{b)} /Woche 4 (Anzahl)	165/161	164/162	128/117	39/18
Laktationsindex (%)	97,6	98,8	91,4*	46,2**
Körpergewicht an Tag 0/Woche 3 (g)	5,7/39,9	5,8/39,2	5,9/37,8	5,2**/27,2**
E_{2a}				
lebende/tote Nachkommen bei Geburt (Anzahl)	295/3	270/0	230/0	43/0
männliche/weibliche Nachkommen (%)	55/45	55/45	54/46	51/49
Wurfgröße Tag 0/Tag 5 (Anzahl)	11,7/11,5	11,2/10,8	11,0/10,7	8,6*/7,0*
Überlebensindex (%)	98,1	95,9	97,8	81,4**
Nachkommen an Tag 5 ^{b)} /Woche 4 (Anzahl)	176/173	185/174	152/134	29/21
Laktationsindex (%)	98,3	94,1	88,7*	72,4**
Körpergewicht an Tag 0/Woche 3 (g)	5,7/37,3	5,7/35,6	5,7/36,0	5,4/22,4**

Tab. 11 (Fortsetzung)

Parameter	Azinphos-methyl in mg/kg Futter ^{a)}			
	0	5	15	45
F_{2b}				
lebende/tote Nachkommen bei Geburt (Anzahl)	223/1	244/2	214/3	25/0
männliche/weibliche Nachkommen (%)	51/49	55/45	49/51	56/44
Wurfgröße Tag 0/Tag 5 (Anzahl)	10,6/10,1	11,0/10,0	9,6/8,5	6,2/6,2
Überlebensindex (%)	95,5	90,1*	88,6*	100
Nachkommen an Tag 5 ^{b)} /Woche 4 (Anzahl)	143/133	165/138	137/123	22/20
Laktationsindex (%)	93,0	83,6*	89,8	90,9
Körpergewicht an Tag 0/Woche 3 (g)	5,8/40,2	5,9/39,6	5,6/37,8	5,8/27,0**

^{a)} 5, 15 oder 45 mg/kg im Futter entspricht 0,33–0,42; 1,02–1,22 bzw. 3,46–7,37 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0,48–0,67; 1,48–2,02 bzw. 4,84–10,27 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren

^{b)} nach Reduktion

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Dosis keine klinischen Zeichen. Es traten keine behandlungsbedingten Effekte auf die Fertilitätsparameter auf (Verpaarungs-, Fertilitäts- und Trächtigkeitsindex, sowie Dauer der Trächtigkeit). In der mittleren Dosisgruppe und bei Behandlung beider Elterntiere war der Überlebensindex der Nachkommen bis zum 5. Postnataltag leicht reduziert, ohne dass ein reduziertes Körpergewicht bei den Nachkommen zu beobachten war. In der hohen Dosisgruppe wurde bei den Nachkommen ein signifikant reduzierter Überlebensindex am 5. Postnataltag festgestellt, einhergehend mit einem verminderten Körpergewicht. Nach Behandlung von nur männlichen Tieren waren diese Effekte nicht zu beobachten. Untersuchungen der Cholinesterase-Aktivitäten der Elterntiere zeigten eine Hemmung der Plasma-ChE- und Erythrozyten-AChE-Aktivität in allen behandelten Tieren sowie eine Hemmung der AChE-Aktivität im Gehirn bei den männlichen Tieren der höchsten Dosisgruppe und bei den weiblichen Tieren ab der mittleren Dosisgruppe (siehe Tabelle 12) (Bayer AG 1990 b).

Es traten bei den Nachkommen zum Zeitpunkt der Geburt oder der vierwöchigen Aufzucht keine behandlungsbedingten klinischen Zeichen auf. Histopathologische Befunde wurden nicht beobachtet. In der höchsten Dosisgruppe wiesen die Nachkommen am fünften und 28. Postnataltag im Vergleich zur Kontrolle eine um 17 bzw. 46 % reduzierte AChE-Aktivität im Gehirn auf (Bayer AG 1990 b). Der NOEL dieser Untersuchung betrug für die Elterntiere 5 mg/kg Azinphos-methyl im Futter, was für die weiblichen Tiere 0,55 mg/kg KG und Tag entspricht. Bei der

516 MAK Value Documentations

Tab. 12 Cholinesterase-Aktivität in F0- und F1-Nachkommen von Ratten nach Fütterung von Azinphos-methyl (Bayer AG 1990 b)

Azinphos-methyl (mg/kg Futter)	Cholinesterase-Aktivität (% Hemmung verglichen mit Kontrolle)						
	männliche F0-Tiere			weibliche F0-Tiere		F1-Nachkommen	
	Ende der Verpaarung	Ende der Behandlung	postcoital Tag 11	postnatal Tag 5	postnatal Tag 28	postnatal Tag 5	postnatal Tag 28
<u>Plasma</u>							
5	2,3	n. b.	n. b.	26*	5	n. b.	n. b.
15	14***	25*	18	46***	39**	n. b.	n. b.
45	43***	62***	60***	66***	63***	n. b.	n. b.
<u>Erythrozyten</u>							
5	19**	n. b.	n. b.	25**	47***	n. b.	n. b.
15	69***	46***	52***	75***	84***	n. b.	n. b.
45	94***	71***	81***	91***	89***	n. b.	n. b.
<u>Gehirn</u>							
5	1	10*	n. b.	n. b.	12	n. b.	n. b.
15	n. b.	4	21**	38**	48***	1	14
45	19**	55***	69***	66***	68***	17*	46***

^{a)} 5, 15 oder 45 mg/kg im Futter entspricht 0,43; 1,30 bzw. 3,73 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0,55; 1,54 bzw. 4,87 mg/kg KG bei weiblichen Tieren

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; n. b.: nicht bestimmt

nächsthöheren Dosis wurde eine Hemmung der Erythrozyten-AChE-Aktivität um mehr als 46 % (am Ende der Vorbehandlung) und bis zu 91,1 % (5. Postnataltag) gemessen. Für die Nachkommen betrug der NOAEL für perinatale Toxizität ebenfalls 0,55 mg/kg KG und Tag und der NOAEL für die Abnahme der AChE-Aktivität im Gehirn 1,54 mg/kg KG und Tag.

Zusammenfassung

Die Mehrgenerationenstudien mit Ratten zeigen, wie auch die anderen Untersuchungen mit wiederholter oraler Gabe, cholinerge Toxizität in den hohen Dosisgruppen sowie reduziertes Körpergewicht und eine Hemmung der AChE-Aktivitäten. Der NOAEL für Parentaltoxizität liegt bei 0,55 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL für perinatale Toxizität beträgt 0,55 mg/kg KG und Tag und der NOAEL für die Abnahme der AChE-Aktivität im Gehirn der Nachkommen 1,54 mg/kg KG und Tag.

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Ratte

Es wurden zwei Untersuchungen zur Entwicklungstoxizität von Azinphos-methyl (Reinheit: 90,6 %) an CD-Ratten durchgeführt. In der ersten erhielten jeweils 20 bis 22 Tiere orale Dosierungen (Schlundsonde) von 0; 1,25; 2,5 oder 5 mg/kg KG und Tag, zehn Tage lang, beginnend am 6. Trächtigkeitstag. In der zweiten Untersuchung wurden die Tiere bis zum 21. Postnataltag weiterbehandelt. In der ersten Studie traten bei der Untersuchung am 20. Trächtigkeitstag bei den Feten keine Anomalien oder Missbildungen auf. Eine verringerte Körpergewichtszunahme und ein reduzierter Futterkonsum sowie vermehrter Speichel- und Tränenfluss, häufigeres Urinieren und Tremor waren bei den Muttertieren in dieser Untersuchung nur in der höchsten Dosisgruppe zu sehen. Zudem zeigten einige Muttertiere (k. w. A.) Anzeichen einer cholinergen Wirkung. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt für die Ratte 5 mg/kg KG und Tag, für die Maternaltoxizität 2,5 mg/kg KG und Tag. In der zweiten Studie hingegen reagierten die Muttertiere in der letzten Trächtigkeitphase sensitiver gegen Azinphos-methyl und es wurden in der hohen Dosisgruppe von 5 mg/kg KG und Tag stärkere Zeichen einer cholinergen Wirkung, einschließlich Mortalität, beobachtet. Als Ergebnis war das Fetengewicht bei der Geburt und am vierten Postnataltag sowie das Überleben der Feten von der Geburt bis zum 4. Postnataltag und während der weiteren Laktation (4. bis 21. Postnataltag) reduziert, und es überlebte nur einer von 13 Würfen in dieser Gruppe die Laktationszeit. Am 22. Postnataltag wiesen die Nachkommen dieser Gruppe Anzeichen neuromuskulärer Probleme auf (Short et al. 1980; US EPA 1978).

Je 33 CD-Ratten erhielten vom 6. bis zum 15. Trächtigkeitstag Azinphos-methyl (Reinheit 87,7 %) mittels Gavage in Dosierungen von 0; 0,5; 1,0 oder 2 mg/kg KG und Tag in wässriger Emulphorlösung. Aus jeder Gruppe wurden fünf Tiere am 16. Trächtigkeitstag untersucht, die übrigen wurden bis zum 20. Trächtigkeitstag gehalten. Zusätzlich zu den üblichen Parametern einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 414 wurden die ChE-Aktivität im Plasma und die AChE-Aktivität in den Erythrozyten und im Gehirn bei den Elterntieren am 16. und 20. Gestationstag und bei den Feten am 20. Gestationstag bestimmt. Bei den Elterntieren waren Erscheinung, Verhalten, Futteraufnahme und Körpergewichtszunahme nicht substanzbedingt verändert. Am 16. Trächtigkeitstag waren die ChE-Aktivität im Plasma sowie die AChE-Aktivitäten in Erythrozyten und im Gehirn nur bei den Muttertieren der höchsten Dosisgruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren erniedrigt. Dieser Befund war am 20. Trächtigkeitstag nur noch im Gehirn der Muttertiere statistisch signifikant vermindert. Die Gewebe der Feten wurden hierauf am 16. Trächtigkeitstag nicht untersucht, am 20. Trächtigkeitstag ließ sich keine Abnahme der AChE-Aktivitäten im Gehirn der Feten feststellen (siehe Tabelle 13). Azinphos-methyl verursachte bei bis zu 2 mg/kg KG und Tag keine embryotoxischen, fetotoxischen oder teratogenen Effekte. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität entspricht daher 2 mg/kg KG und Tag, der NOAEL für maternale Toxizität liegt bei 1 mg/kg KG und Tag (Astroff und Young 1998; Bayer AG 1987 b).

In einer Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 414 erhielten je 22 Sprague-Dawley-Ratten vom 6. bis zum 15. Trächtigkeitstag mittels Gavage Azinphos-methyl

Tab. 13 Cholinesterase-Aktivität in Ratten (und deren Fetten) nach Fütterung von Azinphos-methyl vom 6. bis zum 15. Trächtigkeitstag (Astroff und Young 1998; Bayer AG 1987 a, b)

Gewebe	Cholinesterase-Aktivität (% der Kontrolle)		
	Azinphos-methyl in mg/kg KG und Tag		
	0,5	1,0	2,0
<u>16. Trächtigkeitstag</u>			
Plasma	90	95	63
Erythrozyten	90	90	21*
Gehirn	107	101	61*
<u>20. Trächtigkeitstag</u>			
Plasma	102	97	92
Erythrozyten	103	106	77
Gehirn	102	92	72*
fetales Gehirn	91	100	96

*p ≤ 0,05

(Reinheit 92,7 %) in Dosierungen von 0; 0,4; 1,2 oder 3,6 mg/kg KG und Tag. Am 20. Trächtigkeitstag fand die Nekropsie der Tiere statt. Es trat keine Mortalität auf. Futteraufnahme, Körpergewicht und Körpergewichtszunahme waren durch die Behandlung nicht verändert. Die graviden Uterusgewichte, Anzahl und Geschlecht der lebenden Fetten sowie Zahl der Resorptionen waren verglichen mit den Kontrolltieren nicht verändert. In der höchsten Dosisgruppe war eine erhöhte Inzidenz verzögerter Ossifikation in Hinterhauptsbein, Schambein oder Zungenbein zu sehen. Ebenso wurde in der höchsten Dosisgruppe ein Anstieg der Inzidenz (7/149 Fetten zu 0/147 Fetten in der Kontrolle, 4,7 %; $p < 0,01$; 7/21 Würfen zu 0/21 Würfen in der Kontrolle, 4,9 %, $p < 0,01$) von überzähligen Rippen (14. Rippe) beobachtet, was außerhalb der historischen Kontrolle des Testlabors lag (0–3,1 % der Fetten). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt 1,2 mg/kg KG und Tag, bis zur höchsten Dosis von 3,6 mg/kg KG und Tag zeigte sich keine maternale Toxizität (MCW Ltd 1988 a). Untersuchungen zur AChE-Hemmung, der Hauptwirkung des Azinphos-methyl, wurden nicht vorgenommen. Eine sekundäre Entstehung der beobachteten Effekte bei den Fetten durch eine Hemmung der AChE bei den Muttertieren ist denkbar. Aufgrund der fehlenden Untersuchung zur Hemmung der AChE und der ansonsten nicht beobachteten Maternaltoxizität sind die aufgetretenen verzögerten Ossifikationen des Schädels und die zusätzliche 14. Rippe bei den Fetten nicht bewertbar. Die Studie wird nicht zur Bewertung der Entwicklungstoxizität herangezogen.

Kaninchen

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Himalaya-Kaninchen erhielten jeweils elf oder zwölf Tiere vom 6. bis zum 18. Trächtigkeitstag Azinphos-methyl (Reinheit 92,4 %) in Dosierungen von 0; 0,3; 1,0 oder 3,0 mg/kg KG und Tag mittels

Gavage. Eine Schnittentbindung fand am 29. Trächtigkeitstag statt. Es wurden weder maternale noch feto- oder embryotoxische Effekte beobachtet (Bayer AG 1975). AChE-Aktivitäten wurden nicht bestimmt.

In einer weiteren pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an American-Dutch-Kaninchen erhielten je 20 Tiere vom 6. bis zum 18. Trächtigkeitstag Azinphos-methyl (Reinheit 87,7 %) mittels Gavage in Dosierungen von 0; 1; 2,5 oder 6 mg/kg KG und Tag. Die Plasma-ChE- und Erythrozyten-AChE-Aktivitäten wurden am 19. und 28. Trächtigkeitstag, die im Gehirn nur am 28. Trächtigkeitstag untersucht. Vier Tiere der hohen Dosisgruppe zeigten Ataxie, zwei davon Zittern. Die Plasma-ChE- und Erythrozyten-AChE-Aktivitäten waren im Vergleich zu der der Kontrolltiere am 19. Trächtigkeitstag ab der mittleren Dosis reduziert. Am 28. Tag war dieser Befund reversibel, die AChE-Aktivität im Gehirn in der höchsten Dosis jedoch vermindert. Es traten keine Zeichen von feto- oder embryotoxischen Effekten oder Teratogenität auf. Nach Angaben der Autoren liegt der NOEL für maternale Toxizität bei 1 mg/kg KG und Tag aufgrund der oben genannten Effekte bei der mittleren und hohen Dosis. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität für Kaninchen beträgt 6 mg/kg KG und Tag (Bayer AG 1988).

Eine dritte Untersuchung zur Entwicklungstoxizität bei Weißen Neuseeländer-Kaninchen wurde mit Gavage von 0; 1,5; 4,75 oder 15 mg/kg KG und Tag (Reinheit 92,7 %) vom 7. bis zum 19. Trächtigkeitstag durchgeführt. Es wurden 15 bis 18 Tiere pro Gruppe eingesetzt. Die Aktivitäten der AChE in den Erythrozyten und der ChE im Plasma wurde vor der Verpaarung und nach elf Behandlungstagen bestimmt. In den Dosisgruppen 0; 1,5; 4,75 oder 15 mg/kg KG und Tag verstarben 1, 2, 1 bzw. 3 Tiere pro Gruppe, in der hohen Dosisgruppe aufgrund falscher Gabe in die Lunge und die anderen Tiere aufgrund einer Infektion (Pneumonie oder Gastroenteritis). Behandlungsbedingte klinische Symptome oder Veränderungen der Körpergewichtszunahme traten nicht auf. Nach elf Behandlungstagen (17. Gestationstag) war die Erythrozyten-AChE-Aktivität in der hohen Dosisgruppe um 27 % signifikant reduziert. Die Plasma-ChE war zu diesem Zeitpunkt bei allen behandelten Tieren signifikant reduziert, wobei keine klare Dosisabhängigkeit vorlag (22, 29 und 26 % bei 1,5; 4,75 bzw. 15 mg/kg KG und Tag). Beim korrigierten Uterusgewicht, der Zahl lebender Feten, der Anzahl der Resorptionen, dem Plazenta-Gewicht und der Scheitel-Steiß-Länge ergaben sich keine behandlungsbedingten Befunde. In der hohen Dosisgruppe war die Zahl der Feten mit einem Körpergewicht von weniger als 30 g signifikant erhöht. Zudem war die Inzidenz der verminderten Ossifikation der Röhrenknochen-Epiphysen ab 4,75 mg/kg KG und Tag erhöht. Auf Fetenbasis waren 36 von 85 (42,4 %) bzw. 54 von 122 (44,3 %) Feten bei 4,75 und 15 mg/kg KG und Tag betroffen, verglichen mit 21/117 (17,9 %) Feten in der Kontrolle (historische Kontrolle 10,7–35,9 %). Auf Wurfbasis waren 8 von 12 (40,1 %) bzw. 11 von 14 (41,4 %) Würfen bei 4,75 und 15 mg/kg KG und Tag betroffen, verglichen mit 10 von 14 (18,7 %) in der Kontrollgruppe (historische Kontrolle 10,3–31,6 %). Der NOAEL für entwicklungstoxische Effekte beträgt daher 1,5 mg/kg KG und Tag, gleichzeitig lag Maternaltoxizität vor (MCW Ltd 1988 b). Eine Beurteilung der entwicklungstoxischen Effekte (Ossifikationsverzögerungen und eine erhöhte Anzahl

an Fetten mit einem Körpergewicht unter 30 g) ist vor dem Hintergrund einer Infektion und vor der möglicherweise sekundären Beeinflussung durch die AChE-Hemmung bei den Muttertieren schwierig. Die Fehlapplikation in der hohen Dosierung ist als methodischer Mangel zu bewerten. Deswegen wird die Studie nicht zur Bewertung der Entwicklungstoxizität herangezogen.

Maus

Jeweils 22 bis 23 CD-1-Mäuse erhielten beginnend vom 6. Trächtigkeitstag zehn Tage lang Azinphos-methyl (Reinheit 90,6 %) in oralen Dosierungen von 0; 1,25; 2,5 oder 5,0 mg/kg KG und Tag. Bei der Untersuchung am 18. Trächtigkeitstag wurde kein substanzbedingter Anstieg von Variationen oder Fehlbildungen festgestellt. Die Muttertiere wiesen in der höchsten Dosisgruppe Zeichen von Toxizität wie vermehrter Speichel- und Tränenfluss, häufigeres Urinieren und Tremor auf. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität bei Mäusen betrug somit 5 mg/kg KG und Tag und für Maternaltoxizität 2,5 mg/kg KG und Tag (Short et al. 1980; US EPA 1978).

Generationenstudien

In den beiden Generationenstudien an der Ratte (siehe Abschnitt 5.5.1 Fertilität; Bayer AG 1987 a, 1990 b) zeigten sich erste toxische Effekte auf die Nachkommen (verminderter Überlebensindex am 5. Postnataltag) und in der Ein-Generationenstudie Effekte auf die AChE im Gehirn der Jungtiere am fünften Postnataltag bei 1,48 bzw. 1,54 mg/kg KG und Tag. Gleichzeitig lag in der Ein-Generationenstudie maternale Toxizität in Form von Hemmung der ChE im Plasma auf 46 % der Kontrolle, der AChE in den Erythrozyten auf 75 % und im Gehirn auf 38 % vor. Der NOAEL für die perinatale Toxizität ist 0,48 bzw. 0,54 mg/kg KG und Tag, bzw. für Effekte auf die AChE im Gehirn der Jungtiere 1,54 mg/kg KG und Tag.

Zusammenfassung

Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt für die Ratte 2 mg/kg KG und Tag, für das Kaninchen 6 mg/kg KG und Tag und für die Maus 5 mg/kg KG und Tag, den höchsten getesteten Dosen. Eine Inhibierung der Gehirn-AChE-Aktivität der Muttertiere wird bei Ratten bis zu 1 mg/kg KG und Tag und bei Kaninchen bis zu 2,5 mg/kg KG und Tag nicht beobachtet. Bei Mäusen liegen keine entsprechenden Untersuchungen zur AChE-Aktivität vor. In einer Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten weisen die Fetten am 20. Trächtigkeitstag bei 2 mg Azinphos-methyl/kg KG und Tag keine, die Muttertiere dagegen eine statistisch signifikante Hemmung der AChE im Gehirn auf (Astroff und Young 1998; Bayer AG 1987 b). Der NOAEL für Effekte auf die AChE-Aktivität im Gehirn der Fetten bei der Ratte beträgt aus der Entwicklungstoxizitätsstudie (20. Trächtigkeitstag) 2 mg/kg KG und Tag bzw. aus der Ein-Generationenstudie (5. Postnataltag) 1,54 mg/kg KG und Tag. In den beiden Generationenstudien an der Ratte tritt ab 1,48 bzw. 1,54 mg/kg KG und Tag am fünften Postnataltag eine reduzierte Überlebensfähigkeit der Jungtiere auf. Hieraus ergibt sich ein NOAEL für die perinatale Toxizität der Jungtiere bis zum fünften Postnataltag von 0,48 bzw. 0,55 mg/kg KG und Tag.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Azinphos-methyl wurde in einer Vielzahl von In-vitro-Testsystemen untersucht (siehe Tabelle 14).

In einer Studie wurde Azinphos-methyl zusammen mit anderen Pestiziden in insgesamt 14 Testsystemen geprüft. In zwölf Tests auf Mutationen oder DNA-Schädigungen war Azinphos-methyl negativ. Ein positives Ergebnis wurde im Test auf mitotische Rekombination an *Saccharomyces cerevisiae* D3 erhalten. Es wurden fünf Konzentrationen (k. w. A.) jeweils mit und ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems getestet. Bei zytotoxischen Substanzen wurde die höchste Konzentration so gewählt, dass noch 50 % Toxizität vorlag. Ebenfalls positiv war das Ergebnis im TK^{+/-}-Test an Mauslymphom-Zellen nur in Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems. Die Ergebnisse wurden bei zweifacher Erhöhung der Mutationshäufigkeit und einem konzentrationsabhängigen Anstieg als positiv gewertet. Getestet wurde bis zur Zytotoxizität (Waters et al. 1982). Es liegen keine Angaben vor, ob zwischen großen und kleinen Kolonien unterschieden wurde.

In CHO-K1-Zellen des Chinesischen Hamsters induzierte Azinphos-methyl Chromosomenaberrationen in Konzentrationen von 60 bis 120 µg/ml, wobei Dosierungen ab 80 µg/ml zu einem Arrest in der S-Phase führten, 60 µg/ml zum verzögerten Wachstum (Alam et al. 1974).

Humane Lymphozyten wurden in einem Chromosomenaberrationstest gegen Konzentrationen von bis zu 100 µg/ml ohne S9-Mix und bis zu 500 µg/ml mit S9-Mix exponiert. Es zeigte sich Klastogenität bei gleichzeitiger Zytotoxizität nur in der höchsten Konzentration von 500 µg/ml mit S9-Mix (Bayer AG 1986).

Den wenigen positiven Ergebnissen in vitro stehen zahlreiche negative In-vivo-Untersuchungen zur Genotoxizität entgegen (siehe Tabelle 15).

5.6.2 In vivo

Mit Azinphos-methyl liegen zwei negative Mikronukleustests an der Maus, einmal mit i. p. Gabe, einmal mit oraler Gabe von bis zu zweimal 5 mg/kg KG vor. Ein Chromosomenaberrationstest am Knochenmark der Ratte mit oraler Verabreichung von etwa 6 mg/kg KG war ebenfalls negativ. Des Weiteren wurden zwei Dominant-Letal-Tests an der Maus durchgeführt, einmal mit i. p. Gabe, einmal mit oraler Gabe von bis zu 4 mg/kg KG, die beide ebenfalls ein negatives Ergebnis erbrachten (siehe Tabelle 15; WHO 2007).

Zusammenfassung

Azinphos-methyl wurde in zahlreichen In-vitro- und In-vivo-Testsystemen auf eine genotoxische Wirkung hin untersucht und ist als nicht genotoxisch zu bewerten (WHO 2007).

Tab. 14 Genotoxizität von Azinphos-methyl in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [$\mu\text{g}/\text{Platte}$] ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotox. ^{a)}	Ergebnis -m.A. +m.A.	Literatur
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0–160	–	k. A.	–	WHO 2007
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	4–2500	–	k. A.	–	WHO 2007
DNA-Reparatur-Synthese (UDS)	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	75–9600	–	k. A.	–	WHO 2007
	S. typhimurium TA98, TA100, 33–4000 TA1535, TA1537, TA1538	33–4000	–	k. A.	–	WHO 2007
SCE	S. cerevisiae S138 and S211 α	33,3–10 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	WHO 2007
	S. cerevisiae D3	k. A., höchste Konzentration maximal 50 % Zytotoxizität	k. A.	k. A.	+	Waters et al. 1982
DNA-Reparatur-Synthese (UDS)	E. coli W3110, E. coli p3478	625–10 000	–	k. A.	–	WHO 2007
	V79-Zellen	5–25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	WHO 2007
Genmutation, TK ^{+/–} -Test	V79-Zellen	2,5–20 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	WHO 2007
	Rattenhepatozyten	0,25–50,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	WHO 2007
Genmutation, TK ^{+/–} -Test	Maus-Lymphoma-Zellen	bis zur Zytotoxizität getestet	k. A.	k. A.	–	Waters et al. 1982
					+	nicht getestet
					–	+ k. A. ob Unterscheidung zwischen großen und kleinen Kolonien

Tab. 14 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [$\mu\text{g}/\text{Platte}$] ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotox. ^{a)}	Ergebnis	Literatur
CA	CHO-Zellen (K1)	60–120 $\mu\text{g}/\text{ml}$	60 $\mu\text{g}/\text{ml}$	ab 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Mitoserate < 50 % der Kontrolle, ab 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Arrest in der S-Phase	- m.A. + bei nicht getestet Zytotoxi- zität	Alam et al. 1974
	Humanlymphozyten	1–100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (-S9) 5–500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (+S9)	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (+S9)	500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (+S9)	- + bei Zytotoxi- zität	Bayer AG 1986

^{a)} Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich die Angabe auf [$\mu\text{g}/\text{Platte}$]

Tab. 15 Genotoxizität von Azinphos-methyl in vivo (WHO 2007)

Endpunkt	Spezies	Dosis	Ergebnis
Mikronukleustest	Maus	2 × 2,5 und 2 × 5 mg/kg KG, oral in Cremophor/Wasser	–
		5 mg/kg KG, einmalig i. p. in Cremophor/Wasser	–
Chromosomenaberrationstest	Ratte	6,28 mg/kg KG, einmalig oral in Methylcellulose	–
Dominant-Letal-Test	Maus	1 × 4 mg/kg KG, einmalig oral in Cremophor/Wasser	–
		0,125 oder 0,25 mg/kg KG, einmalig i. p. in Maiskeimöl	–

5.7 Kanzerogenität

Ratte

In einer Kanzerogenitätsstudie des National Cancer Institute (NCI) wurde Azinphos-methyl (Reinheit 90 %) 80 Wochen lang mit dem Futter an jeweils 50 Osborne-Mendel-Ratten pro Geschlecht und Dosisgruppe verabreicht. Als Kontrollgruppe dienten je zehn unbehandelte männliche und weibliche Ratten. Anschließend wurden die Tiere weitere 34 bis 35 Wochen lang beobachtet. Die Dosierungen betragen bei den männlichen Tieren 0, 78 oder 156 mg/kg Futter, was nach Angaben der Autoren ca. 0; 6,25 bzw. 12,5 mg/kg KG und Tag entsprach. Bei den weiblichen Tieren betrug die Konzentration im Futter 0; 62,5 oder 125 mg/kg (ca. 0; 3,12 bzw. 6,25 mg/kg KG und Tag). Bei einigen Tieren in der hohen Dosisgruppe traten die typischen Symptome von Organophosphat-Vergiftungen auf, wie Hyperaktivität, Zittern und Atemnot. Die nur in Diagrammen berichtete Körpergewichtszunahme war bei beiden Geschlechtern in der hohen Dosisgruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren verzögert. Die Anzahl der überlebenden männlichen Tiere war mit 6/10 (60 %), 35/50 (70 %) bzw. 27/50 (54 %) bei 0; 6,25 bzw. 12,5 mg/kg KG und Tag und die der weiblichen Tiere mit 7/10 (70 %), 34/50 (68 %) und 25/50 (50 %) bei 0; 3,12 bzw. 6,25 mg/kg KG und Tag ausreichend groß, um spät auftretende Tumoren erkennen zu können. Nur bei männlichen Ratten wurden erhöhte Inzidenzen der Tumoren der Inselzellen des Pankreas und der Follikelzellen der Schilddrüse beobachtet (siehe Tabelle 16). Die Tumorzinidenzen waren, verglichen mit der Laborkontrolle, statistisch signifikant erhöht. Die Tumorzinidenzen der Kontrolltiere können nicht herangezogen werden, da die Anzahl der Kontrolltiere mit nur je zehn Tieren viel zu gering war. Die unter Einbeziehung der Laborkontrolltiere sich ergebenden signifikant erhöhten Inzidenzen der Pankreas- und Schilddrüsentumoren bewerteten die Autoren als Hinweis, nicht aber als Beleg für eine kanzerogene Wirkung von Azinphos-methyl (NCI 1978). Für die Kommission ergibt sich aus dieser Studie allenfalls ein Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung, der sich jedoch in den anderen Studien nicht bestätigt hat.

Tab. 16 Studie zur Kanzerogenität von Azinphos-methyl an Ratten

Autor:	NCI 1978			
Stoff:	Azinphos-methyl (Reinheit 90 %)			
Spezies:	Ratte , Osborne-Mendel, je 50 ♂, ♀ Tiere pro Dosis, je 10 ♂, ♀ Tiere in Kontrollgruppe			
Applikation:	Futter			
Dosis:	männliche Tiere: 0; 6,25 oder 12,5 mg/kg KG und Tag; weibliche Tiere: 0; 3,12 oder 6,25 mg/kg KG und Tag			
Dauer:	kontinuierliche Dosierung: 80 Wochen, Nachbeobachtung: 34–35 Wochen			
Toxizität:	12,5/6,25 mg/kg KG: typische Symptome der Organophosphat-Vergiftung wie Hyperaktivität, Zittern und Atemnot, sowie verzögerte KG-Zunahme			
		Dosierung (mg/kg KG und Tag) bei ♂/♀		
		0	6,25/3,12	12,5/6,25
Überlebende	♂	6/10 (60 %)	35/50 (70 %)	27/50 (54 %)
	♀	7/10 (70 %)	34/50 (68 %)	25/50 (50 %)
Tumoren				
Pankreas:				
Inselzell-Adenome ^{a)}	♂	0/9 (0 %)	1/47 (2 %)	4/45 (9 %)
Inselzell-Karzinome ^{a)}	♂	0/9 (0 %)	0/47 (0 %)	2/45 (4 %)
Schilddrüse:				
Zystadenome ^{b)}	♂	0/9 (0 %)	7/44 (16 %)	10/43 (23 %)
Zystadenokarzinome ^{b)}	♂	0/9 (0 %)	1/44 (2 %)	0/43 (0 %)
papilläre Zystadenokarzinome ^{b)}	♂	0/9 (0 %)	0/44 (0 %)	1/43 (2 %)

Laborkontrolle (nur kombinierte Angaben vorhanden):

^{a)} Pankreas, Inselzelladenome und -karzinome: 2/92 (2 %)

^{b)} Schilddrüse, Zystadenome, Zystadenokarzinome, papilläre Zystadenokarzinome: 0/86 (0 %)

In einer zweiten Kanzerogenitätsstudie erhielten Gruppen von jeweils 60 männlichen und weiblichen Wistar-Ratten zwei Jahre lang Azinphos-methyl (Reinheit 87,2 %) mit dem Futter verabreicht (siehe auch Abschnitt 5.2.2). Die Konzentrationen betragen 0, 5, 15 oder 45 mg/kg Futter und entsprachen nach Angaben der Autoren 0; 0,25; 0,75 bzw. 2,33 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren und 0; 0,31; 0,96 bzw. 3,11 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren. In einer Zwischensektion nach einem Jahr wurden jeweils zehn Tiere pro Geschlecht und Dosisgruppe untersucht. Es traten keine klinischen Symptome auf und die Anzahl der überlebenden Tiere war durch die Behandlung nicht verändert. Die Körpergewichtszunahme der männlichen Tiere war verglichen mit der Kontrolle in der hohen Dosisgruppe leicht (7 %) verzögert. Die makroskopischen Befunde, die Organgewichte

und die histopathologischen Untersuchungen waren ohne substanzbedingte Befunde (Bayer AG 1987 c).

Maus

In einer Kanzerogenitätsstudie des National Cancer Institute (NCI) wurde Azinphos-methyl (Reinheit 90 %) 80 Wochen lang mit dem Futter an jeweils 50 B6C3F1-Mäuse pro Geschlecht und Dosisgruppe verabreicht, die Kontrollgruppe bestand jedoch nur aus 10 Tieren pro Geschlecht. Anschließend wurden die Tiere weitere 12 bis 13 Wochen beobachtet. Die Konzentrationen betragen bei den männlichen Tieren 0; 31,3 oder 62,5 mg/kg Futter, was einer Aufnahme von ca. 0; 4,7 bzw. 9,4 mg/kg KG und Tag entsprach. Die weiblichen Tiere erhielten 0; 62,5 oder 125 mg/kg Futter (nach Angaben der Autoren ca. 0; 9,4 bzw. 18,75 mg/kg KG und Tag). Bei einigen Tieren traten in der hohen Dosisgruppe die typischen Symptome von Organophosphat-Vergiftungen auf, wie Hyperaktivität, Zittern und Atemnot. Die nur in Diagrammen berichtete (Zahlenwerte fehlen) Körpergewichtszunahme war bei beiden Geschlechtern in der hohen Dosisgruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren verzögert. In allen Gruppen überlebten ähnlich viele Tiere: männliche Tiere 8/10 (80 %), 45/50 (90 %) bzw. 42/50 (84 %) bei 0; 4,7 bzw. 9,4 mg/kg KG und Tag; weibliche Tiere 7/10 (70 %), 44/50 (88 %) und 42/50 (84 %) bei 0; 9,4 bzw. 18,75 mg/kg KG und Tag. In der hohen Dosisgruppe war die Inzidenz der hepatozellulären Karzinome bei den männlichen Tieren signifikant erhöht (siehe Tabelle 17), verglichen mit denen der niedrigen Dosis und der mitlaufenden Kontrolle, jedoch nicht verglichen mit der Laborkontrolle. Da die Anzahl der Kontrolltiere (Versuchskontrolle) mit je zehn Tieren pro Geschlecht zu gering für eine statistische Auswertung war, wurden weitere Kontrolltiere des beauftragten Labors für statistische Vergleiche herangezogen (Laborkontrolle). Diese stammten von Experimenten, die gleichzeitig im Auftragslabor durchgeführt wurden. Auf diese Weise erhöhte sich in den Kontrollgruppen die Anzahl der männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäuse auf 140 bzw. 130 Tiere. Die Tiere der Laborkontrolle stammten vom selben Züchter, erhielten dasselbe Futter und waren in denselben Räumlichkeiten untergebracht (NCI 1978; WHO 2007). Aufgrund der zu geringen Tierzahl in der Kontrollgruppe, ist keine valide statistische Auswertung möglich. Da sich überdies hepatozelluläre Karzinome bei der männlichen B6C3F1-Maus mit einer hohen Spontaninzidenz entwickeln, wird der Befund von der Kommission, und auch von den Studienautoren und der WHO (2007) als nicht bewertungsrelevant betrachtet.

In einer zweiten Kanzerogenitätsstudie erhielten Gruppen von jeweils 50 männlichen und weiblichen CD1-Mäusen zwei Jahre lang Azinphos-methyl (Reinheit 88,6 %) mit dem Futter verabreicht (siehe auch Abschnitt 5.2.2). Die Konzentrationen betragen 0, 5, 20 oder 40/80 mg/kg Futter (nach Angaben der Autoren ca. 0; 0,79; 3,49 bzw. 11,33 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0; 0,98; 4,12 bzw. 14,30 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren). Die Studie wurde in der Hochdosisgruppe mit einer hohen Konzentration von 80 mg/kg Futter begonnen, die nach einer Woche aufgrund der starken Toxizität, wie Hyperaktivität, Zittern, Atemnot und verzögerte Körpergewichtszunahme, auf 40 mg/kg Futter reduziert wurde. Anschließend zeigten die Tiere dieser Konzentrationsgruppe mit Ausnahme einer verringerten Futteraufnahme und einer verzögerten Körpergewichtszunahme

Tab. 17 Studie zur Kanzerogenität von Azinphos-methyl an Mäusen

Autor:	NCI 1978			
Stoff:	Azinphos-methyl (Reinheit 90 %)			
Spezies:	Maus , B6C3F1, je 50 ♂, ♀ Tiere pro Dosis, je 10 ♂, ♀ Tiere in Kontrollgruppe			
Applikation:	Futter			
Dosis:	männliche Tiere: 0; 4,7 oder 9,4 mg/kg KG und Tag; weibliche Tiere: 0; 9,4 oder 18,75 mg/kg KG und Tag			
Dauer:	kontinuierliche Dosierung: 80 Wochen, Nachbeobachtung: 12–13 Wochen			
Toxizität:	9,4/18,75 mg/kg KG: typische Symptome der Organophosphat-Vergiftung wie Hyperaktivität, Zittern, Atemnot, sowie verzögerte KG-Zunahme			
		Dosierung (mg/kg KG und Tag) bei ♂/♀		
		0	4,7/9,4	9,4/18,75
Überlebende	♂	8/10 (80 %)	45/50 (90 %)	42/50 (84 %)
	♀	7/10 (70 %)	44/50 (88 %)	42/50 (84 %)
Tumoren				
Leber:				
hepatozelluläre Adenome	♂	2/8 (25 %)	8/49 (16 %)	7/50 (14 %)
hepatozelluläre Karzinome	♂	0/9 (0 %)	2/49 (6 %)	12/50 (24 %)*

*p = 0,006 signifikant linearer Trend im Cochran-Armitage-Test; Laborkontrolle 27/128 (21 %)

keine weiteren toxischen Symptome. Erhöhte Tumorinzidenzen wurden nicht verursacht. Die histopathologischen Untersuchungen erbrachten keine substanzbedingten Befunde (Mobay Chemical Corp 1985).

Zusammenfassung

Von je zwei Kanzerogenitätsstudien an der Maus (Mobay Chemical Corp 1985; NCI 1978) und an der Ratte (Bayer AG 1987 c; NCI 1978) zeigte sich nur in einer Kanzerogenitätsstudie an der Ratte (NCI 1978) eine erhöhte Anzahl von Tumorinzidenzen in endokrinen Organen. Dieses Ergebnis wird allenfalls als Verdacht einer kanzerogenen Wirkung gewertet. Aufgrund des experimentellen Designs kommt diesen erhöhten Tumorinzidenzen vor dem Hintergrund der drei negativen Kanzerogenitätsstudien wenig Relevanz zu.

6 Bewertung

Kritischer Effekt ist die Hemmung der Acetylcholinesterase (AChE).

MAK-Wert. Der sensitivste Endpunkt bei der Exposition gegen Azinphos-methyl ist die Hemmung der Acetylcholinesterase (AChE)-Aktivität beim Menschen und beim Tier.

Die NOAEC einer dreimonatigen Inhalationsstudie an Ratten liegt bei 1,24 mg/m³ (unter Einberechnung des erhöhten Atemvolumens 0,62 mg/m³). Die Inhalationsstudie wurde jedoch mit Ganzkörperexposition durchgeführt, so dass eine zusätzliche orale Aufnahme anzunehmen ist und die rein inhalative NOAEC wahrscheinlich höher ist.

Die 4-wöchigen Probandenstudien zeigen bis zur höchsten oralen Dosis von 0,29 mg/kg KG und Tag keine Effekte. Auch die NOAEL aus oralen Langzeitstudien mit Ratten, Mäusen und Hunden resultieren in NOAEL-Werten der gleichen Größenordnung (siehe Tabelle 18).

Tab. 18 Bewertungsrelevante NOAEL bei Ratte, Maus, Hund und Probanden aus Untersuchungen zur wiederholten oralen Gabe und toxikokinetische Umrechnung der NOAEL in eine Luftkonzentration

NOAEL für	NOAEL mg/kg KG u. Tag	Toxikokinetische Umrechnung ^{a)} des NOAEL in mg/m ³	LOAEL mg/kg KG u. Tag	Toxikokinetische Umrechnung ^{a)} des LOAEL in mg/m ³	Literatur
Ratte, 2 Jahre, Fütterung	0,75	1,84	2,33	5,71	Bayer AG 1987 c
Maus, 2 Jahre, Fütterung	0,98	1,37	4,1	5,74	Mobay Chemical Corp 1985
Hund, 1 Jahr, oral	0,16	1,12	0,74	5,18	Bayer AG 1990 a
Probanden, 28 Tage, oral, n = 8, männl., GLP-Studie	0,25	1,75	n. b.	n. b.	Bayer Corporation 1999 b
Probanden, 30 Tage, oral, n = 5, männl., liegt nur als Zusam- menfassung vor	0,29	2,03	n. b.	n. b.	Rider et al. 1971

^{a)} unter Einberechnung des speziesspezifischen Korrekturwertes, der nachgewiesenen oralen und angenommenen inhalativen Resorption von jeweils 100 %, des Körpergewichts von 70 kg und des Atemvolumens von 10 m³ des Menschen (siehe MAK- und BAT-Werte Liste);
n. b.: nicht bestimmt

Da valide Humandaten vorliegen, wird daraus der MAK-Wert abgeleitet. Aus dem NOAEL bei Probanden (0,25 bis 0,29 mg/kg KG und Tag) resultiert unter Einberechnung des Körpergewichtes von 70 kg und des Atemvolumens von 10 m³ eine Konzentration von 1,75 bis 2,03 mg/m³, aus der unter Berücksichtigung des Preferred Value Approach ein MAK-Wert von 1 mg/m³ E festgelegt wird. Dieser MAK-Wert liegt auch unterhalb der Luftkonzentrationen, die sich aus den NOAEL der oralen Tierstudien berechnen.

Spitzenbegrenzung. Die kritische Wirkung ist die Hemmung der AChE, also ein systemischer Effekt, so dass eine Zuordnung zur Spitzenbegrenzungs-Kategorie II erfolgt.

Die Inaktivierung der AChE durch Organophosphate ist nahezu irreversibel und hält über mehrere Tage an. Aus der schwer löslichen Bindung des kritischen Azinphos-methyl-Metaboliten an das Enzym resultiert die Halbwertszeit von 30 Stunden, die in der Studie von Feldmann und Maibach (1974; siehe Abschnitt 3.1) nach i. v. Gabe von radioaktiv markiertem Azinphos-methyl an Probanden ermittelt worden ist. Sie erklärt auch, weshalb das Fließgleichgewicht von Azinphos-methyl erst nach zwei Wochen beim Menschen erreicht wird (Cal EPA 2001). Trotz der rasch einsetzenden Phosphorylierung des Enzyms durch das Organophosphat sind daher für das Ausmaß der Hemmung nicht die kurzzeitigen Expositionsspitzen relevant, sondern die kumulative Dosis. Dies spricht für einen Überschreitungsfaktor von 8.

Die einmalige orale Gabe reduzierte die AChE-Aktivität bei wenigen Probanden ohne Dosis-Wirkungs- und Zeitbezug. Die Mittelwerte der Hemmung lagen auch bei 1 mg/kg KG unter 10 %, bei Gabe von Placebo unter 4 % (Bayer Corporation 1999 a). Dies spiegelt die Mess-Ungenauigkeit bzw. die individuellen Schwankungen der AChE-Aktivität wieder. Geht man wegen der Mess-Unsicherheiten nicht von der maximalen, sondern von der mittleren Hemmung der AChE aus, ist bei einem Überschreitungsfaktor von 8, was einer Konzentration von 8 mg/m³ für 15 Minuten entsprechen würde, nicht mit einer adversen AChE-Hemmung (>30 %) zu rechnen.

Fruchtschädigende Wirkung. Zur Bewertung der fruchtschädigenden Wirkung von Azinphos-methyl ist sowohl die pränatale Toxizität als auch die peri- bzw. postnatale neurotoxische Wirkung durch die Hemmung der AChE zu berücksichtigen.

Beim Menschen liegen keine Untersuchungen zur Entwicklungstoxizität vor.

In einer Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten wiesen die Feten am 20. Trächtigkeitstag keine AChE-Hemmung im Gehirn, die Muttertiere eine statistisch signifikante Hemmung bei 2 mg Azinphos-methyl/kg KG und Tag auf 61 % des Kontrollwertes (Astroff und Young 1998; Bayer AG 1987 b) auf. Auch in einer Ein-Generationenstudie an Ratten bestätigte sich dieser Befund (Bayer AG 1990 b). Die Nachkommen reagieren also bezüglich der AChE-Hemmung weniger sensitiv als die Muttertiere.

Die bewertungsrelevanten NOAEL für Ratten, Kaninchen und Mäuse aus Entwicklungstoxizitäts- und Generationenstudien sind in Tabelle 19 aufgelistet.

Die Abstände der berechneten Konzentrationen in der Luft ohne Effekt für den jeweiligen Endpunkt (siehe Tabelle 19) zum MAK-Wert sind bis auf eine Ausnahme nicht ausreichend groß. Deswegen wird Azinphos-methyl der Schwangerschaftsgruppe B zugeordnet.

Tab. 19 Bewertungsrelevante NOAEL bei Ratte, Maus und Kaninchen aus pränatalen Entwicklungstoxizitäts- und Generationenstudien, toxikokinetische Umrechnung der NOAEL in eine Luftkonzentration und die daraus resultierenden Abstände zum MAK-Wert von 1 mg/m³ E

NOAEL für	NOAEL mg/kg KG u. Tag	Toxikokinetische Umrechnung ^{a)} in mg/m ³	Abstand zum MAK-Wert von 1 mg/m ³ E	Literatur
Entwicklungstoxizität	Ratte, Gavage			
	5 (höchste Dosis)	8,75	9	Short et al. 1980
	Kaninchen, Gavage			
	6 (höchste Dosis)	17,5	18	Bayer AG 1988
	Maus, Gavage			
	5 (höchste Dosis)	5	5	Short et al. 1980
AChE-Aktivität im Gehirn	Ratte			
bei Feten am 20. Trächtigkeitstag	2 (höchste Dosis), Gavage	3,5	4	Bayer AG 1987 b; Astroff und Young 1998
bei Jungtieren am 5. Lebenstag	1,54 (mittlere Dosis), Futter	3,77 ^{b)}	4	Bayer AG 1990 b
perinatale Toxizität	Ratte, Futter (Generationen-Studien)			
	0,48 (niedrigste Dosis)	1,18 ^{b)}	1	Bayer AG 1987 a
	0,54 (niedrigste Dosis)	1,35 ^{b)}	1	Bayer AG 1990 b

^{a)} unter Einberechnung des speziesspezifischen Korrekturwertes, der nachgewiesenen oralen und angenommenen inhalativen Resorption von jeweils 100 %, des Körpergewichts von 70 kg und des Atemvolumens von 10 m³ des Menschen (siehe MAK- und BAT-Werte Liste)

^{b)} zusätzliche Umrechnung von 7-tägiger Gabe beim Tier auf die 5-tägige Arbeitswoche beim Menschen (7/5)

Hinweis auf Voraussetzung für Gruppe C

Da Azinphos-methyl zwar entwicklungstoxisch wirkt, aber keine teratogene Wirkung zeigt, kann aus den niedrigsten berechneten Luftkonzentrationen ohne Effekt (siehe Tabelle 19) abgeleitet werden, dass bei einer Konzentration von 0,1 mg/m³ eine fruchtschädigende Wirkung nicht anzunehmen ist.

Krebserzeugende Wirkung. Azinphos-methyl ist nicht genotoxisch. Es liegen zwei Kanzerogenitätsstudien an der Maus (Mobay Chemical Corp 1985; NCI 1978) und eine an der Ratte vor (Bayer AG 1987 c), jeweils ohne eine substanzbedingte

Erhöhung der Tumorinzidenzen. Eine zweite Kanzerogenitätsstudie an der Ratte (NCI 1978) zeigt eine erhöhte Anzahl von Tumorinzidenzen in endokrinen Organen, die allenfalls als Verdacht, nicht aber Beleg für eine kanzerogene Wirkung zu sehen ist. Aufgrund des experimentellen Designs kommt diesen erhöhten Tumorinzidenzen vor dem Hintergrund der drei negativen Kanzerogenitätsstudien wenig Relevanz zu. Es erfolgt daher keine Einstufung von Azinphos-methyl in eine Kategorie für Kanzerogene.

Keimzellmutagene Wirkung. Azinphos-methyl hat sich *in vitro* als nicht mutagen in Bakterien und Säugerzellen gezeigt. Den *in vitro* positiv verlaufenen Studien zur klastogenen Wirkung bei gleichzeitiger Zytotoxizität stehen negative Studien zur Induktion von Mikronuklei in der Maus oder Chromosomenaberrationen im Knochenmark der Ratte gegenüber. Auch zwei Dominant-Letaltests an der Maus haben negative Resultate ergeben. Es erfolgt daher keine Einstufung von Azinphos-methyl in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

Hautresorption. Messungen am Menschen mit radioaktiv markiertem Azinphos-methyl in einer kommerziellen Formulierung ergaben eine berechnete Aufnahme von 18 mg bei achtstündiger Exposition der ganzen Körperoberfläche. In diesem Fall wird wegen der Anwendung als Sprayinsektizid nicht von den Standardexpositionsannahmen eine Stunde und 2000 cm² Körperoberfläche ausgegangen. Unter realen Anwendungsbedingungen lässt sich eine dermale Aufnahme von etwa 4 bis 18 mg abschätzen.

Die systemisch tolerable Dosis beim Menschen beträgt 0,25 mg/kg KG, das entspricht bei 70 kg Körpergewicht einer Menge von 17,5 mg.

Aufgrund der Untersuchungen ist davon auszugehen, dass die aufgenommene Menge bei Sprayapplikation mehr als 25 % des chronischen systemischen NOAEL des Menschen betragen kann. Die Substanz wird weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Es liegt nur ein Bericht über eine mögliche Sensibilisierung und ein positiver Epikutantest mit Azinphos-methyl vor. Daher basiert die Bewertung der hautsensibilisierenden Wirkung fast ausschließlich auf den Resultaten der tierexperimentellen Untersuchungen am Meerschweinchen, die jedoch kein vollständig schlüssiges Bild ergeben. Die vorwiegend positiven Ergebnisse zeigen aber, dass Azinphos-methyl in technischen Qualitäten ein gering bis mäßig ausgeprägtes kontaktsensibilisierendes Potenzial besitzt, so dass die Substanz mit „Sh“ markiert wird. Aufgrund der unvollständigen Charakterisierung der eingesetzten Prüfsubstanzen erlauben die Untersuchungen keinen Rückschluss darauf, ob auch stärker gereinigte Qualitäten eine kontaktsensibilisierende Wirkung aufweisen. Berichte über eine atemwegssensibilisierende Wirkung von Azinphos-methyl liegen nicht vor. Daher erfolgt keine Markierung mit „Sa“.

7 Literatur

- Alam MT, Corbeil M, Chagnon A, Kasatiya SS (1974) Chromosomal anomalies induced by the organic phosphate pesticide guthion in Chinese hamster cells. *Chromosoma* 49: 77–86
- Anonym (1996) Monograph: Azinphos-methyl. Report and proposed decision. Rapporteur Member State: Germany; 18. September 1996, www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/02_eu_berichte/Azinphos-DAR-Part3.pdf
- APVMA (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority) (2006) The reconsideration of approvals of the active constituent azinphos-methyl, registrations of products containing azinphos-methyl and their approved labels. Preliminary Review Findings. Volume 2: Technical Report – Toxicology. Department of Health and Ageing; Canberra, Australia
- Astroff AB, Young AD (1998) The relationship between maternal and fetal effects following maternal organophosphate exposure during gestation in the rat. *Toxicol Ind Health* 14: 869–889
- Bayer AG (1975) Azinphos-methyl, studies for embryotoxic and teratogenic effects on rabbits following oral administration, Bayer report no. 5455, 3. Juni 1975, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1983) Azinphos-methyl, toxicity study on rats with particular attention to cholinesterase activity (28-day feeding study as a range-finding test for a 2-year study), Bayer report no. 11813, 18. Mai 1983, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1986) Azinphos-methyl, cytogenetic study with human lymphocyte cultures in vitro to evaluate for harmful effect on chromosomes, Bayer report no. 15145, 20. Okt. 1986, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1987 a) Azinphos-methyl, two generation study on rats, Bayer report no. R3956 / T6006415, 10. März 1987, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1987 b) A teratology study with azinphos-methyl in the rat, Bayer report no. MTD0043 / toxicology report no. 973, 22. Dez 1987, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1987 c) Azinphos-methyl, study of chronic toxicity and carcinogenicity to Wistar rats (administration in the feed for up to 2 years) in three sections, Bayer report no. 16290 / T2015169, 10. Dez 1987, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1988) A teratology study in the rabbit with azinphos-methyl, Bayer report no. MTD0070 / toxicology report no. 1030, 27. Juni 1988, Institut für Toxikologie, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1990 a) 52-Week oral toxicity (feeding) study with azinphos-methyl in the dog, RCC project 204388, Bayer project T2027698, 31. Mai 1990, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer AG (1990 b) Azinphos-methyl, investigation of inhibition of cholinesterase activity in plasma, erythrocytes and brain in a 1-generation study. Report no.: 19594, study no. T0027362, 8. Okt. 1990, Bayer AG, Fachbereich Toxikologie, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bayer Corporation (1999 a) A randomised double blind ascending single oral dose study with azinphos-methyl to determine the no effect level on plasma and RBC cholinesterase activity. ICR Report No. 013219, Addendum 20. Juli 1999, Bayer Corporation, Agriculture Division, South Metcalf, Stilwell, KS, USA, unveröffentlicht
- Bayer Corporation (1999 b) A randomised double blind placebo controlled study with azinphos-methyl to determine the no effect level on plasma and RBC cholinesterase activity after repeated doses. ICR report no. 013580, 15. April 1999, Bayer Corporation, Agriculture Division, South Metcalf, Stilwell, KS, USA, unveröffentlicht

- Cal EPA (California Environmental Protection Agency) (2001) Estimation of Exposure of persons in California to pesticide products that contain azinphos-methyl. Worker Health and Safety Branch, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, January 02, 2001, <http://www.cdpr.ca.gov/docs/whs/pdf/hs1650.pdf>
- Cal EPA (2004) Azinphos-methyl (guthion) risk characterization document (revision no. 1). Medical Toxicology and Worker Health and Safety Branches, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, February 26, 2004, <http://www.cdpr.ca.gov/docs/risk/rcd/azmrcdre.pdf>
- Feldmann RJ, Maibach HI (1974) Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. *Toxicol Appl Pharmacol* 28: 126–132
- Franklin CA, Muir NJ, Moody RP (1986) The use of biological monitoring in the estimation of exposure during the application of pesticides. *Toxicol Letters* 33: 127–136
- Henschler D, Lehnert G (Hrsg) (1986) Acetylcholinesterase-Hemmer. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), 3. Lieferung, VCH, Weinheim, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/3527600418>
- Kimmerle G (1976) Subchronic inhalation toxicity of azinphos-methyl in rats. *Arch Toxicol* 35: 83–89
- Kraus JF, Richards DM, Borhani DM, Mull R, Kilgore WW, Winterlein W (1977) Physiological response to organophosphate residues in field workers. *Arch Environ Contam Toxicol* 5: 471–485
- Lisi P, Caraffini S, Assalve D (1987) Irritation and sensitization potential of pesticides. *Contact Dermatitis* 17: 212–218
- MCW Ltd (Makhteshim Chemical Works Limited) (1987) Cotnion technical: toxicity study by oral (gavage) administration to CD rats for 13 weeks. LSR Report No. 86/MAK057/342, 23 January 1987, Makhteshim Chemical Works Limited, Beer-Sheva, Israel, unveröffentlicht
- MCW Ltd (1988 a) Cotnion-M, teratogenicity study in the rat. LSR Report No. MAK/124/AZM, 10 February 1988, Makhteshim Chemical Works Limited, Beer-Sheva, Israel, unveröffentlicht
- MCW Ltd (1988 b) Cotnion-M, teratogenicity study in the rabbit. LSR Report No. MAK/126/AZM, 15 June 1988, Makhteshim Chemical Works Limited, Beer-Sheva, Israel, unveröffentlicht
- Miles Inc (1995) A subchronic dietary neurotoxicity screening study with technical grade azinphos-methyl in Fischer 344 rats. Study number 93-472-VJ, 14. Feb. 1995, Miles Inc, Kansas City, MO, USA, unveröffentlicht
- Mobay Chemical Corp (1985) Oncogenicity study of azinphos-methyl in mice. Toxicology report no. 612, Study number 60-271-02, 10. April 1985, Mobay Chemical Corporation, Kansas City, MO, USA, unveröffentlicht
- NCI (National Cancer Institute) (1978) Bioassay of azinphos-methyl for possible carcinogenicity. Technical report series No. 69. Carcinogenesis Testing Program, Division of Cancer Cause and Prevention, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr069.pdf
- Pevny I (1980) Pestizid-Allergie. Allergisches Kontaktekzem bei einer Winzerin (Pesticide allergy. Allergic contact eczema of a winner). *Derm Beruf Umwelt* 28: 186–189
- Rider JA, Swader JI, Puletti EJ (1971) Anticholinesterase toxicity studies with methyl parathion, guthion and phosdrin in human subjects (Abstract 1382). *Fed Proc* 30: 443

534 MAK Value Documentations

- Sheets LP, Hamilton BF, Sangha GK, Thyssen JH (1997) Subchronic neurotoxicity screening studies with six organophosphate insecticides: an assessment of behavior and morphology relative to cholinesterase inhibition. *Fundam Appl Toxicol* 35: 101–119
- Short RD, Minor JL, Lee CC, Chernoff N, Baron RL (1980) Developmental toxicity of guthion in rats and mice. *Arch Toxicol* 43: 177–186
- Simpson GR (1965) Exposure to guthion during formulation. *Arch Environ Health* 10: 53–54
- US EPA (U.S. Environmental Protection Agency) (1978) Teratology of azinphos-methyl. Midwest Research Institute Contract No. 68-02-2746; EPA-600/1-78-056, August 1978, US EPA, Research Triangle Park, NC, USA
- Waters MD, Sandhu SS, Simon VF, Mortelmans KE, Mitchell AA, Jorgenson TA, Jones DCL, Valencia R, Garrett NE (1982) Study of pesticide genotoxicity. In: Fleck RA, Hollaender A (Hrsg) *Genetic toxicology – an agricultural perspective*, Plenum Press, New York, NY, 275–326
- WHO (World Health Organization) (1986) Organophosphorus insecticides: a general introduction. *IPCS – Environmental health criteria* 63, WHO, Genf, Schweiz, <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc63.htm>
- WHO (2007) Pesticide residues in food: 2007, Evaluations 2007, Part II –Toxicological, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues – International Programme on Chemical Safety, Geneva, Switzerland, 18–27 September 2007, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44064/1/9789241665230_eng.pdf

abgeschlossen am 21.03.2018