

Mattilsynet, Seksjon godkjenning
Saksbehandlere: Hege Stubberud (2003-møtet) og Jorid Frydenlund (2004-møtet)
For Rådet for plantevernmidler
08.06.2004

Toksikologisk vurdering av glyfosat

Internt arbeidsdokument

1. Toksikologisk vurdering av glyfosat (Monsanto- og Cheminova-dokumentasjon)

Vurderingen er basert på tidligere norsk vurdering (1999) og tysk EU-monografi (1998). Ingen nye studier er innsendt til Mattilsynet etter vurderingen i Rådet i 1999.

1.1. Virksomt stoff

1.1.1. Glyfosat

Kinetikk:

Glyfosat absorberes raskt fra mage/tarmkanalen i rotte, men ikke mer enn 30-40 % av administrert dose tas opp. Maksimal blodkonsentrasjon nås innen 4 timer. Absorpsjon er sannsynligvis noe høyere etter administrering ved sonde.

Ekskresjon er også rask, og foregår hovedsakelig med urin og avføring. Kun 0.03 % elimineres ved ekspirasjon. Små mengder fordeles til organer og vev, og høyeste konsentrasjoner er funnet i bein og beinmarg, fulgt av nyre og lever. Forsøk gir ingen indikasjoner på at stoffet utøver toksisk effekt i beinmargen. Eliminering fra bein og beinmarg var langsommere enn fra andre vev. Etter en periode på 3-7 dager etter oral administrering var det igjen mindre enn 1% av dosen i rottene. Toksikokinetikken endres ikke særlig ved økt eller gjentatt dosering, og det er ingen tydelige kjønnsforskjeller i rotte. Elimineringen av glyfosat er bifasisk, med halveringstider for begge kjønn på 2-7 timer (α) og 69-337 timer (β).

Ved intravenøs behandling av radioaktivt merket glyfosat ble 84-86 % av radioaktiviteten gjenfunnet i urinen og 1.5 – 3.4 % i avføring. Dette er som forventet ut fra glyfosats høye vannløselighet.

Glyfosat metaboliseres i liten grad, og mesteparten skilles ut umetabolisert i rotte. Små mengder (ca 0.5 %) metaboliseres til aminometylfosforsyre (AMPA), som også er hovedmetabolitten i planter. Denne metabolitten gir anemi ved konsentrasjoner over 300 mg/kg kv i et subkronisk forsøk med hund, men siden det dannes så små mengder regnes ikke glyfosat for å gi beinmargstoksisitet. En annen mulig metabolitt er N-nitrosofosfonometylglycin (NPCG), og denne forbindelsen skilles også raskt ut. Det var ingen artsforskjeller mellom rotte, kanin, geit, høns og ape når det gjelder kinetikk og biotransformasjon. Biotilgjengelighet ble i rotte beregnet til omkring 12 % (se nærmere beskrivelse under "metabolitter" og "spesielle forsøk").

Glyfosat absorberes dårlig over human hud *in vitro*, og mesteparten finnes igjen på hudoverflaten. Epidermis representerer primærbarrieren mot penetrasjon. Absorpsjon over dermis var rask og nesten fullstendig. Mindre enn 3 % av perkutan dose når systemisk sirkulasjon. Lav dermal penetrasjon er bekreftet med *in vivo* forsøk med aper. Dårlig dermal absorpsjon skyldes glyfosats hydrofile egenskaper.

Skademekanisme:

Effekt på spyttkjertler medieres sannsynligvis via en adrenerg mekanisme. Ellers ukjent. (se nærmere beskrivelse under "spesielle forsøk").

Akutt giftighet

Glyfosatsyre og glyfosatsalter har veldig lav akutt toksisitet. Generelle forgiftningssymptomer etter oralt inntak er pustevansker, redusert aktivitet, ataksi og kramper. Symptomer etter eksponering ved inhalasjon er irritasjon i øvre luftveier, hyperaktivitet, hårtap, rufsete pels og en liten reduksjon i kroppsvekt. Glyfosatsyre og isopropylaminsaltet (IPA) av glyfosat er mer toksisk via intraperitoneal administrasjon.

Akutt oral toksisitet av glyfosatsyre:

Art	Dose (mg/kg kroppsvekt)	LD ₅₀ (mg/kg kroppsvekt)	Funn/Symptomer	Referanse
Rotte (Sprague-Dawley)	5000	>5000	Piloereksjon, redusert aktivitet, ataksi (hanner)	Cuthbert & Jackson, 1989
Mus (Bom: NMRI)	2000	>2000	Piloereksjon, depresjon	Dideriksen, 1991
Geit	1980, 3090, 4620, 10000	3530	Depresjon, ataksi, diare, endringer i blod og serumkjemi, renal tubulær	Rowe, 1981/1987

Akutt oral toksisitet av glyfosatsalter:

Art	Dose (mg/kg kv) og salt	LD ₅₀ (mg/kg kv)	Funn/Symptomer	Referanse
Rotte (SD)	IPA: 5000	>5000	Ingen funn	Dreher, 1994
Rotte (SD)	Na: 5000	>5000	Ataksi, nedsatt aktivitet, diare, rektalsår	Reagan, 1987
Rotte (SD)	Am: 2000, 5000, 7500	4613	ataksi, nedsatt aktivitet, diare, tungpusthet, mørk væske i GI i døde dyr, fargeendring lunger	Reagan, 1987
Rotte (SD)	IPA: 5000	>5000	Bleke nyrer og hydronefrose i ♀	Branch, 1981
Geit	IPA: 1400, 4290, 5360, 6700, 10000	5700	Nevrologiske symptomer, nedsatt inntak av fôr	Rowe, 1981/1987

IPA: isopropylaminsalt av glyfosat

Na: Natriumsalt av glyfosat

Am: Ammoniumsalt av glyfosat

SD: Sprague-Dawley

Akutt dermal toksisitet av glyfosatsyre:

Art	Dose (mg/kg kv)	LD ₅₀ (mg/kg kv)	Funn/Symptomer	Referanse
Kanin (NZW)	5000	>5000	Anoreksi, diare, løs avføring, 1 ♀ døde	Reagan, 1988

Akutt dermal toksisitet av glyfosatsalter:

Art	Dose (mg/kg kv) og salt	LD ₅₀ (mg/kg kv)	Funn/Symptomer	Referanse
Kanin (NZW)	Am: 5000	>5000	Diare, løs avføring, 1 død ♀	Bush, 1987
Kanin (NZW)	Na: 5000	>5000	Løs avføring	Bush, 1987
Kanin (NZW)	IPA: 5000	>5000	Ingen funn	Branch, 1981

IPA: isopropylaminsalt av glyfosat

Na: Natriumsalt av glyfosat

Am: Ammoniumsalt av glyfosat

Akutt inhalasjonstoksitet av glyfosatsyre:

Art	Dose (mg/l luft)	Eksposering	LD ₅₀ (mg/l luft)	Funn/Symptomer	Referanse
Rotte (Sprague-Dawley)	4.98	4 timer, nose-only, støvaerosol	>4.98	Ingen funn av toksikologisk betydning	McDonald & Anderson, 1989

Akutt inhalasjonstoksitet av glyfosatsalter:

Art	Dose (mg/l luft) og salt	Eksposering	LD ₅₀ (mg/l luft)	Funn/Symptomer	Referanse
Rotte (Sprague-Dawley)	IPA: 4.24	4 timer, nose-only, aerosol	>4.2	Mørke områder i lungene	Blagden, 1994
Rotte (Sprague-Dawley)	Am: 1.9	4 timer, whole-body, aerosol/damp	>1.9	Hyperaktivitet, perinasal skorpedannelse	Bechtel, 1988
Rotte (Sprague-Dawley)	IPA: 1.3	4 timer, whole-body, aerosol	>1.3	Gulbrun utflod fra nesen, hårtap, lett reduksjon i kroppsvekt, 1 ♀ døde	Dudek, 1987

IPA: isopropylaminsalt av glyfosat

Na: Natriumsalt av glyfosat

Am: Ammoniumsalt av glyfosat

Akutt intraperitoneal toksisitet av glyfosatsyre:

Art	Dose (mg/kg kv/dag)	LD ₅₀ (mg/kg kv)	Funn/Symptomer	Referanse
Rotte (Wistar)	♂: 182, 255, 357, 422, 500 ♀: 255, 357, 500, 700, 980, 1372	♂: 281 ♀: 467	Redusert aktivitet, piloereksjon, spyttutskillelse, redusert hudtemperatur. I dyr som døde: manglende stabilitetsrefleks, koma, hypertrofi i lever, mageblødninger, punktblødninger i thymus og adrenal hyperemi	Tauchi, 1978*

* forsøket betraktet kun som supplerende.

Irritasjon/ allergi:

Glyfosatsyre og saltene er ikke hudirriterende. Ufortynnet glyfosatsyre var sterkt irriterende for øyne i kanin (**Xi; R41**). Saltene var mye mindre øyeirriterende, og ga ikke alvorlig øyeskade. Irriterende effekter er oppsummert i etterfølgende tabeller.

Glyfosatsyre eller saltene er ikke funnet allergifremkallende. Glyfosatsyre er testet for allergene egenskaper med Magnusson-Kligman Maksimeringstest (GPMT). Isopropylaminsaltet og natriumsaltet av glyfosat er ikke funnet allergifremkallende i GPMT og/eller i Buehler test.

Hudirriterende effekt av glyfosatsyre:

Art	Dosering	Funn/Symptomer	Referanse
Kanin (NZW)	0.5 g (fuktet med vann); inntakt hud	Ikke irriterende	Cuthbert, Jackson, 1989

NZW: New Zealand White rabbit

Hudirriterende effekt av glyfosatsalter:

Art/rase	Dosering og salt	Funn/symptomer	Referanse
Kanin (NZW)	IPA: 0.5 ml	Svak irritasjon	Dreher, 1994
Kanin (NZW)	Na: 0.5 g (fuktet med saltløsning)	Ikke irriterende	Bush, 1987
Kanin (NZW)	Am: 0.5 g (fuktet med saltløsning)	Ikke irriterende	Bush, 1987
Kanin (NZW)	IPA: 0.5 ml; inntakt og rispet hud	Svak irritasjon	Branch, 1981*

IPA: isopropylaminsalt av glyfosat

Na: Natriumsalt av glyfosat

Am: Ammoniumsalt av glyfosat

NZW: New Zealand White rabbit

*forsøket betraktet kun som supplerende.

Øyeirriterende effekter av glyfosatsyre:

Art/rase	Dosering	Funn/symptomer	Klassifisering	Referanse
Kanin (NZW)	100 mg (1♂)	Alvorlige øyeeffekter ⇒ forsøket stoppet	Alvorlig irriterende	Cuthbert & Jackson, 1989

Øyeirriterende effekter av glyfosatsalter:

Art/rase	Dosering/salt	Funn/symptomer	Klassifisering	Referanse
Kanin (NZW)	IPA: 0.1 ml	Irisskade, rødhet i bindehinnen og kjemose innen 1 time, uklarhet i hornhinnen innen 1 time	Svakt irriterende	Dreher, 1994

Kanin (NZW)	Na: 0.1 g	Rødhet og ødem i bindehinnen innen 24 timer, uklarhet i hornhinnen i alle dyr etter 1 time, slimhinner blærete etter 1 time	Svakt irriterende	Busch, 1987
Kanin (NZW)	Am: 0.1 g	Rødhet og ødem i bindehinnen etter 48 timer, uklarhet i hornhinnen innen 48 timer, blærete slimhinner etter 1 time	Svakt irriterende	Busch, 1987
Kanin	IPA: 0.1 ml	Ingen effekter	Ikke irriterende	Branch, 1981

IPA: isopropylaminsalt av glyfosat

Na: Natriumsalt av glyfosat

Am: Ammoniumsalt av glyfosat

NZW: New Zealand White rabbit

Gentoksisitet:

Forsøkene er oppsummert i tabellform:

	Forsøk	Renhet testmateriale	Testorganisme	Doser/metabolisk aktivator	Resultat	Referanse
Punktmutasjoner i bakterier	Ames test	Glyfosat, 98.6%	<i>S.typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	-S9: 160-2500 µg/skål +S9: 310-5000 µg/skål	Negativt	Jensen, 1991
		Glyfosat, 98.4%	<i>S.typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 <i>E.coli</i> WP2 hcr	10-5000 µg/skål +/-S9	Negativt	Shirasu <i>et al.</i> , 1978
Pattedyrceller	Muse-lymfomates t	Glyfosat, 98.6%	Lymfomaceller fra mus (L5178Y)	-S9: 0.61 - 5.0 mg/ml +S9: 0.52 - 4.2 mg/ml	Negativt	Jensen, 1991
	HGPRT test	Glyfosat, 98.7%	CHO-celler	-S9: 5-22.5 mg/ml +S9: 5-25 mg/ml	Negativt	Li, 1983
DNA skade og reparasjon in vitro	UDS	Glyfosat, 98.7%	Primære rottehepatocytter (F344)	Opptil 125 µg/ml	Negativt	Williams, 1983
	Mikrokjern e-test	Glyfosat, 98.6%	Beinmarg fra NMRI mus; én oral dosering	0 - 5000 mg/kg kv. Prøver tatt etter 24, 48 og 72 timer	Negativt	Jensen, 1991
	Cytogenisitet test	Glyfosat, 98.7%	Beinmarg fra Sprague-Dawley rotter, én i.p injeksjon	0 - 1000 mg/kg kv. Prøver tatt etter 6, 12 og 24 timer	Negativt	Li, 1983
Kimcellestest	Dominant letal test	Glyfosat, 98.7%	CD-1 mus, én oral dose. Hver behandlet hann parret med totalt 16 hunner over en 8-ukers periode	0, 200, 800, 2000 mg/kg kv	Negativt	Wrenn <i>et al.</i> , 1980

* forsøket betraktes kun som supplerende

Konklusjon gentoksisitet: Glyfosat ansees som ikke gentoksisisk. Glyfosat induserte ikke punktmutasjoner i bakterier eller i pattedyrceller. Alle kromosomavvikstestene *in vitro* og *in vivo* er negative. Glyfosat ble ikke vist å indusere DNA-skade og kimcellestesten med glyfosat var negative

Korttidforsøk:

Rotte, 3 måneder: Ti Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn fikk doser av glyfosat på 0, 30, 300 eller 1000 mg/kg kv/dag i føret i 90 dager. Histopatologisk eksaminering ble kun utført på lever lunger, nyrer og spyttkjertel. **Resultater:** Det var ingen dødelighet eller kliniske symptomer som følge av behandlingen. Det var ingen forskjeller i hematologiske parametere mellom gruppene. Høydoserte hunner hadde økt nivå av glukose, totalt protein, albumin og kreatinin. Hos begge kjønn i høyeste dosegruppe ble det målt lavere pH i urinen. Det var ingen effekt på organvekt, og ingen makropatologiske endringer ble observert. Ved histopatologisk eksaminering ble det funnet celleforandringer, bestående av dyp basofil farging og svelling av cytoplasma, i parotid spyttkjertelen i alle behandlingsgruppene. Responsen var doserelatert, og var signifikant i de to høyeste dosegruppene. I disse to gruppene ble celleforandringene funnet hos alle hannene

og hos 18 av 20 hunner. **NOAEL settes til 30 mg/kg kv/dag**, basert på signifikant økning i celleforandringer i spyttkjertelen i de to høyeste dosegruppene. (Ref.: Perry *et al.*, 1993 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, 3 måneder: Tolv Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn fikk doser på 0, 1000, 5000 eller 20000 ppm glyfosat (95 % renhet) i føret i 3 måneder. **Resultater:** Små og/eller ikke doserelaterte tilfeldige endringer i urin og blod betraktes ikke som behandlingsrelaterte. Det var ingen endringer i organvekt og heller ingen makro- eller histopatologiske funn (spyttkjertler ble ikke eksaminert mikroskopisk). **NOAEL var 20000 ppm, tilsvarende 1267 mg/kg kv for hanner og 1623 mg/kg kv for hunner.** (Ref.: Stout og Johnson, 1987 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, 3 måneder, supplerende: Tyve F344/N rotter av hvert kjønn fikk doser av glyfosat (99 % renhet) på 0, 3125, 6250, 12500, 25000 eller 50000 ppm i føret i 13 uker. **Resultater:** Høydosegruppen hadde redusert kroppsvektøkning. I denne dosegruppen var det også små endringer i hematologiske og biokjemiske parametere. Morfologiske endringer ble sett i parotide og submandibulære spyttkjertler, og var bestående av cellulær basofil endring og hypertrofi. Parotid kjertelen var mest påvirket. Her var normale granulær eosinofil farging av cytoplasma av epitelceller erstattet av basofilt og vakuolisert cytoplasma. **NOAEL var <3125 ppm, tilsvarende <156 mg/kg kv** basert på standard omregningsfaktor (OECD), basert på at endringene i spyttkjertlene ble observert allerede ved laveste dose. (Ref.: Chan og Mahler, 1992 – Monsanto/Cheminova).

Mus, 3 måneder, supplerende: Femten CD-1 mus av hvert kjønn fikk doser av glyfosat (99 % renhet) på 0, 5000, 10000 eller 50000 ppm i føret i 90 dager. Det ble ikke utført hematologiske eller biokjemiske analyser. **Resultater:** To hunner døde (en i kontrollgruppen og en i midtdosegruppen). Høyeste dosegruppe hadde signifikant lavere kroppsvektøkning. **NOAEL var 10000 ppm, tilsvarende omtrent 1879 mg/kg kv for hanner og 2740 mg/kg kv for hunner.** (Ref.: Tierney og Rhinohart, 1979 – Monsanto/Cheminova).

Mus, 3 måneder: Ti CD-1 mus av hvert kjønn fikk daglige doser av glyfosat (99% renhet) på 0, 200, 1000 eller 4500 mg/kg kv i føret i 13 uker. Urinanalyse ble ikke utført. Kun submandibulære spyttkjertler ble eksaminert histopatologisk, ikke parotide og sublinguale. **Resultater:** Seks dyr døde, men mortaliteten kunne ikke knyttes til behandlingen. Det var ingen behandlingsrelaterte endringer i blodparametere, øyne, kroppsvektøkning eller organvekt. Det var ingen histopatologiske endringer relatert til behandlingen. **NOAEL settes til 4500 mg/kg kv/dag**, selv om evaluering av kliniske kjemiske parametere hadde begrenset forskningsmessig verdi pga. for små prøvevolum. (Ref.: Perry *et al.*, 1991 – Monsanto/Cheminova).

Mus, 3 måneder, supplerende: Ti B6C3F1 mus av hvert kjønn fikk daglige doser av glyfosat (99% renhet) på 0, 3125, 6250, 12500, 25000 eller 50000 ppm i føret i 13 uker. Klinisk patologiske undersøkelser ble ikke utført. **Resultater:** Det var ingen kliniske symptomer på toksisitet. En hunn i høydosegruppen døde. Redusert kroppsvektøkning ble observert i de to høyeste dosegruppene. Fra dosenivå på 6250 ppm og oppover ble det sett en doserelatert økning i forekomst og grad av cellulær endring i parotid spyttkjertelen. Endringen bestod i basofile acinare celler, og i mer alvorlig påvirkede kjertler var cellene og acini forstørret med en relativ reduksjon i antall kanaler/ganger. **NOAEL var 3125 ppm, tilsvarende omtrent 469 mg/kg kv** basert på standard omregningsfaktor (OECD), basert på endringene i spyttkjertler ved høyere dosenivåer. (Ref.: Chan og Mahler, 1992 – Monsanto/Cheminova).

Hund, 3 uker, supplerende: Én Beagle hund av hvert kjønn fikk økende doser av glyfosat i 21 dager for å finne maksimum tolerert dose (MTD). Første uken var dosering 100 mg/kg kv, andre uken 200 mg/kg kv og tredje uken 1000 mg/kg kv. Stoffet ble administrert i kapsler. I andre del av forsøket fikk én hunn og én hann 1000 mg glyfosat/kg kv/dag i 14 dager i kapselform. **Resultater:** Det var ingen funn av toksikologisk betydning. Histopatologisk eksaminering ble ikke utført. **NOAEL: 1000 mg/kg kv/dag.** (Ref.: Gobordhun og Oshodi, 1989 – Monsanto/Cheminova).

Hund, 6 uker, supplerende: Én Beagle hund av hvert kjønn fikk doser på 650, 1250 eller 2500 mg glyfosat-isopropylaminsalt/kg kv, med deretter behandlingsfrie intervaller eller daglige doser på 312.5 eller 650 mg glyfosat-isopropylaminsalt /kg kv i 5 dager. En annen gruppe fikk enkel eller gjentatt dosering med 72 mg isopropylamin/kg kv. Hundene er kun observert med hensyn til kliniske symptomer, kroppsvekt, inntak av fôr og makropatologi. **Resultater:** Glyfosat-IPAsaltet ga oppkast, diare, redusert kroppsvektøkning og redusert inntak av fôr. Isopropylamin ga blodig oppkast, diare, nekrose, ødem, blødninger i mageslimhinner og sterk irritasjon i slimhinner i spiserøret. **NOAEL ble ikke fastsatt.** (Ref.: Naylor, 1982 – Monsanto/Cheminova).

Hund, 6 måneder: Seks Beagle hunder av hvert kjønn fikk MON0139 (62% isopropylaminsalt av glyfosat) i gelatinkapsler i dosenivåer 0, 10, 60 eller 300 mg/kg kv/dag i 6 måneder. **Resultater:** Høydoserte hanner hadde redusert kroppsvektøkning, men ikke signifikant forskjellig fra kontroll. Høydoserte hanner hadde økt aktivitet av alkalisk fosfatase. **NOAEL var 300 mg/kg kv/dag**, basert på at

økt aktivitet av alkalisk fosfatase ikke var korrelert med leverskade, og fordi redusert kroppsvekt bare ble sett hos hanner i høydosegruppen og at reduksjonen ikke var signifikant forskjellig fra kontroll. **NOEL var 60 mg/kg kv/dag.** (Ref.: Renya, 1983 – Monsanto/Cheminova).

Hund, 1 år: Fire Beagle hunder av hvert kjønn fikk doser av glyfosat (98-99 % renhet) på 0, 30, 300 eller 1000 mg/kg kv/dag i 52 uker, administrert oralt i gelatinkapsler. **Resultater:** I høydosegruppen ble det 4-6 timer etter dosering sett løs avføring/diare. Alle hannene og høydosehunnene hadde redusert kroppsvektøkning. Inntak av fôr var ikke påvirket. Det var ingen endringer i blodparametere relatert til behandlingen. Plasmamålinger viste bra absorpsjon av glyfosat. Aktivitet av kolinesterase var ikke påvirket. Det var ingen endringer i organvekt eller i histopatologi. **NOEL var 300 mg/kg kv/dag,** basert på endringene i konsistens av avføring som indikerer en uspesifikk behandlingseffekt. LOAEL var 30 mg/kg kv, og ga redusert kroppsvektøkning hos hannene. (Ref.: Gobordhun, 1991 – Monsanto/Cheminova).

Kanin, 3 uker, dermal: Glyfosat ble applisert dermalt i dosenivåer 0, 100, 1000 eller 5000 mg/kg kv/dag 5 dager per uke i 3 uker til grupper av NZW kaniner på 10 dyr av hvert kjønn. Halvparten av kaninene hadde inntakt hud, mens den andre halvparten hadde rispet hud. Glyfosat ble fuktet med saltløsning før applisering. Appliseringsstedet ble dekket av gaskompress. Etter 6 timer ble testsubstansen vasket bort. **Resultater:** Det var ingen symptomer på systemisk toksisitet. Den eneste observerte endringen var hudirritasjon i den høyeste dosegruppen, bestående av svak erytem og ødem. Ingen hudlesjoner ble sett ved histopatologisk eksaminering. **NOEL (systemisk): 5000 mg/kg kv/dag,** basert på at det ikke ble observert systemisk toksisitet. **NOEL (dermal): 1000 mg/kg kv/dag,** basert på hudirritasjon i høyeste dose. (Ref.: Johnson, 1982 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, 3 uker, dermal: Fem Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn fikk 0 eller 1000 mg glyfosat (99 % renhet)/kg kv applisert dermalt i 3 uker. Rottene ble eksponert i 6 timer per dag. **Resultater:** Det var ingen symptomer på systemisk toksisitet. Lett hudirritasjon ble observert i behandlingsgruppen. **NOEL (systemisk): 1000 mg/kg kv/dag. NOEL (dermal): kan ikke fastsettes** da det ble sett lett hudirritasjon i den behandlede gruppen- (Ref.: Heath *et al.*, 1993 – Monsanto/Cheminova)

Oppsummering korttidsforsøk: I subakutte og subkroniske forsøk ble det sett endringer i biokjemiske parametere (bl.a alaninaminotransferase (ALAT), aspartataminotransferase (ASAT) og alkalisk fosfatase), noe som kan indikere en effekt på lever og hjerte. En mulig effekt på nyrer indikeres ved nefrokalsinose som ble sett i ett rotteforsøk. I tillegg var det indikasjoner på irritasjon i gastrointestinkanalen (diare, løs avføring, redusert kroppsvektøkning). Isopropylaminsaltet av glyfosat ga sterkere irritasjon enn glyfosat i hund. I ett forsøk i mus og tre i rotte ble det funnet makroskopiske og histopatologiske endringer i spyttkjertler. Dette ble også sett i to av reproduksjonsforsøkene i rotte. NOEL verdier etter oral administrasjon varierte fra 30 til 1267 mg/kg kv/dag for rotte, fra 469 til 4500 mg/kg kv/dag for mus og 60 til 300 mg/kg kv/dag for hund. NOEL etter dermal påføring var 5000 mg/kg kv/dag i kanin for systemiske effekter, og 1000 mg/kg kv/dag i rotte for systemiske effekter.

Langtidsforsøk:

Rotte, 2 år: I dette kombinerte kronisk toksisitet/kreft forsøket fikk 85 Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn doser av glyfosat (99% renhet) på 0, 10, 100, 300 eller 1000 mg/kg kv/dag i føret i opptil 104 uker. Femti rotter/kjønn/dose ble fordelt til 104-ukers kreftforsøk, mens 35 rotter/kjønn/dose ble fordelt til kronisk toksisitetsforsøk. I det kroniske forsøket ble 15 rotter av hvert kjønn fra hver dosegruppe avlivet etter 52 uker, mens de resterende ble dosert frem til avlivning etter 104 uker. **Resultater:** Det var ingen effekt på overlevelse, og dyrene viste ingen kliniske symptomer på toksisitet. Redusert kroppsvektøkning ble observert i høyeste dosegruppe. Det var ingen gruppeforskjeller i inntak av fôr. Det var en økning i nivå av hematokrit og hemoglobin, men siden det ikke var noen klar dose-respons sammenheng betraktes ikke dette som behandlingsrelatert. Det ble funnet økt aktivitet av alkalisk fosfatase i de tre høyeste dosegruppene. Hos hunner ble det sett en økning i total bilirubin ved alle doser, men kun etter 14 uker, endringen var altså reversibel og ble derfor ikke regnet som skadelig. Hos hanner ble det fra dosenivå 100 mg/kg kv målt redusert pH i urin. Ved eksaminering etter 52 uker hadde rottene i de tre høyeste dosegruppene redusert absolutt levervekt, men etter 104 uker var det ingen signifikante forskjeller i levervekt lenger. Etter 104 uker ble det funnet redusert gjennomsnittlig nyrevekt hos hanner i 100 og 1000 mg/kg kv dosegruppene. Det ble sett økt absolutt vekt av spyttkjertler (parotide, sublinguale og submaxillare), men økningen var bare signifikant etter 52 uker for de to høyeste dosegruppene. Ved histopatologisk eksaminering ble det funnet en doserelatert økning i antall rotter med cellulær endring i spyttkjertler (parotide og submaxillare) i de tre høyeste dosegruppene. Endringen bestod i hypertrofi og basofile acinare celler, uten degenerering eller annen toksisk skade, og ble sett allerede etter 52 uker. Det ble ikke sett behandlingsrelatert forekomst av neoplasi. **NOEL var 10 mg/kg kv,** basert på endringene i organvekt, klinisk biokjemi og histopatologiske endringer i spyttkjertler. (Ref.: Atkinson *et al.*, 1993 – Monsanto/Cheminova)

Rotte, 2 år: Grupper på 60 Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn fikk daglige doser av glyfosat (96% renhet) på 0, 2000, 8000 eller 20000 ppm i føret, tilsvarende mottatt dose var 0, 89, 362 og 940 mg/kg kv

for hanner og 0, 113, 457 og 1183 mg/kg kv for hunner. Ti rotter av hvert kjønn fra hver gruppe ble avlivet etter 12 måneder. Parotide spyttkjertler ble ikke eksaminert histopatologisk. **Resultater:** Høydoserte hunner hadde redusert kroppsvektøkning. Økt gjennomsnittlig aktivitet av alkalisk fosfatase ble målt hos høydoserte hunner, men økningen skyldtes hovedsakelig verdier fra én hunn. Høydoserte hanner hadde redusert pH i urin og økt forekomst av grå stær liknende linseforandringer. Høydoserte hanner hadde også signifikant økt absolutt levervekt etter 24 måneder og økt relativ levervekt etter 12 måneder. Det var en ikke-signifikant økning i tilfeller av betennelse i slimhinner i magen i behandlede rotter (signifikant kun hos hunner i nesthøyeste dosegruppe). Det ble ikke sett histopatologiske endringer i lever eller i spyttkjertler. Det var ingen økt svulstfrekvens som følge av behandlingen. **NOAEL var 2000 ppm, tilsvarende 89 mg/kg kv for hanner og 113 mg/kg kv for hunner** ut fra beregnet inntak, basert på at økningen i slimhinnebetennelse i magen var signifikant hos hunner i 8000 pm gruppen. (Ref.: Stout, L.D. og Ruecker, F.A., 1990 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, 26 måneder, supplerende: Grupper på 50 Sprague-Dawley (CD) rotter av hvert kjønn fikk glyfosat i føret i 26 måneder. Dosenivåer var 3, 10 og 31 mg/kg kv/dag for hanner og 3.4, 11 og 34 mg/kg kv/dag for hunner. Diettnivåene ble justert daglig for opprettholdelse av dosenivåene, som er for lave for å kunne avdekke effekter av toksikologisk betydning. **Resultater:** Behandlede hanner hadde redusert kroppsvekt, men reduksjonen var ikke signifikant ved forsøkets slutt. Det var ingen behandlingsrelaterte endringer i blod eller urin, ingen effekt på organvekt og ingen histopatologiske funn. Det var noe økt forekomst hos høydoserte hanner av interstitiell celledumor i testiklene (0/15 i kontroll, 2/26 i lavdosegruppen, 1/16 i midtdosegruppen og 4/26 i høydosegruppen) ved forsøkets slutt. Totalt antall tilfeller var 0/50 i kontroll, 3/50 i lavdosegruppen, 1/50 i midtdosegruppen og 6/50 i høydosegruppen. Denne type svulster er vanlig i eldre rotter, og verdien i høydosegruppen er bare noe høyere enn historiske kontrollverdier. Dette er heller ikke sett i noen av de andre langtidsforsøkene. Det konkluderes med at økningen av svulster i testiklene ikke var relatert til behandling med glyfosat. **NOAEL var 31 mg/kg kv/dag**, som var høyeste dose testet. (Ref.: Lankas, 1981 - Monsanto).

Mus, 2 år: Grupper på 50 CD-1 mus av hvert kjønn fikk daglige doser av glyfosat (99 % renhet) på 0, 1000, 5000 eller 30000 ppm i føret, tilsvarende mottatt dose var 0, 157, 814 og 4841 mg/kg kv/dag for hanner og 0, 190, 955 og 5874 mg/kg kv/dag for hunner. **Resultater:** Høydoserte hanner hadde signifikant redusert gjennomsnittlig kroppsvekt. Hanner i de to laveste dosegruppene hadde også signifikant redusert kroppsvekt, men det var ingen klar dose-respons sammenheng. Høydoserte hanner hadde økt gjennomsnittlig absolutt og relativ testikkelvekt, men endringen var ikke signifikant. Svulstfrekvensen økte ikke signifikant med dosen. Det var allikevel en trend mot en økt forekomst av lymforetikulær neoplas i behandlede mus, spesielt hos hunner. Hos hanner var det en marginal økning i forekomst av nyretubuli adenomer (0/49, 0/49, 1/50, 3/50 i hhv. kontroll, lavdose, midtdose og høydosegruppen). Det var en økt forekomst av centrilobulær hepatocyt hypertrofi i høydoserte hanner, og en økning i epitelhyperplasi i urinblæren hos hanner i de to høyeste dosegruppene. **NOAEL var 1000 ppm, tilsvarende 157 mg/kg kv/dag**, basert på redusert kroppsvekt og histopatologiske funn hos hanner. (Ref.: Knezevich, A.L and Hogan, G.K., 1983 – Monsanto/Cheminova).

Mus, 2 år: Grupper på 50 CD-1 mus av hvert kjønn fikk doser av glyfosat (98% renhet) på 0, 100, 300 eller 1000 mg/kg kv/dag i føret i omtrent to år. **Resultater:** Det var ingen kliniske symptomer eller effekt på overlevelse. Det var en økning i absolutt vekt av brisselen hos hanner i de to høyeste dosegruppene. Brisselen ble også beskrevet som forstørret og fast/stiv ved nekropsi, men det var ingen korrelerte histopatologiske funn. Høydoserte hanner hadde økt avsetning av mineraler i hjernen og økt lungemasse. Det var ingen økning i neoplas. **NOAEL var 100 mg/kg kv/dag**, basert på endringer i brisselen. (Ref.: Atkinson, C. *et al.*, 1993 – Monsanto/Cheminova).

Oppsummering langtidsforsøk: Det ble ikke funnet indikasjoner på at glyfosat er karsinogent. Det er i kroniske forsøk sett histopatologiske- og vektendringer i spyttkjertler ved relativt lave dosenivåer (fra og med 100 mg/kg kv). Den toksikologiske betydningen av disse effektene er tvetydig. Det ble også i langtidsforsøk sett endringer, bl.a. økt aktivitet av alkalisk fosfatase og endringer i levervekt, som kan tyde på effekter på lever. I ett forsøk ble det sett endringer i øyne som likner grå stær hos rotter ved høye dosenivåer, og i mage er det observert effekter på slimhinner. I tillegg er det sett hyperplasi i urinblæren i mus. NOAEL verdiene var fra 10 til 113 mg/kg kv/dag i rotte og fra 100 til 157 mg/kg kv/dag i mus.

Generasjonsforsøk

Rotte, 2-generasjonsforsøk: Grupper på 30 Sprague-Dawley rotter av hvert kjønn fikk doser av glyfosat (97 % renhet) på 0, 2000, 10000 eller 30000 ppm i føret i 11 uker før parring. Tilsvarende ble 30 rotter/kjønn/dose eksponert i 14 dager før parring for produksjon av en F2A og en F2B generasjon. Foreldre og avkom som ikke skulle brukes til videre avl ble avlivet på dag 21 etter fødselen. **Resultater:** Parental: Løs avføring ble sett hos høydoserte rotter i F0 og F1 generasjonene. Generelt hadde høydoserte dyr redusert kroppsvekt og redusert inntak av fôr. Det var ingen effekt på fertilitet. Høydosegruppen hadde redusert kullstørrelse. Reduksjonen var ikke signifikant forskjellig fra kontroll, men det var en dose-respons sammenheng (noe variasjon i F2B-kullet). Avkom: Det var ingen økning i antall døde avkom per kull, og

det var ingen effekt på fødselsvekt eller postnatal overlevelsessevne. Under dieperioden var kroppsvektøkningen redusert i høydosegruppen. F2A-avkom fra nesthøyeste dosegruppe hadde redusert kroppsvektøkning. Det var en økning i testikkelvekt/kroppsvekt ratio i høydoserte hanner forårsaket av redusert kroppsvekt. Det var ingen makro- eller mikropatologiske funn. Glyfosat hadde ingen reproduksjonstoksiske effekter i rotte, og ble ikke funnet teratogent. **NOAEL (foreldre) var 10000 ppm, tilsvarende 722 mg/kg kv/dag for hanner og 757 mg/kg kv/dag for hunner** ut fra beregnet daglig inntak, basert på redusert kroppsvektøkning og løs avføring. **NOAEL (avkom) var 10000 ppm**, basert på redusert kroppsvektøkning og redusert kullstørrelse. (Ref.: Renya, M.S., 1990 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, dosebestemmelsesforsøk: Ti parrede hunner, Sprague-Dawley (CrI:CD SD BR VAF/Plus) rotter, fikk doser av glyfosat (98 % renhet) på 0, 3000, 10000 eller 30000 ppm fra dag 3 av drektigheten inntil avvenning av avkom. Ti avkom av hvert kjønn ble eksponert fra dag 21 til 6 ukers alder. **Resultater:** Parental: Dyr i de to høyeste dosegruppene hadde løs avføring og økt urinerings. Én høydosert hunn døde. Høydosegruppen hadde redusert kroppsvektøkning og inntak av fôr, samt økt vanninntak. De to høyeste dosegruppene hadde symptomer på gastrointestinale forstyrrelser, som vandig og/eller mørkt innhold, utspilt og/eller overfylt mage, utspilt cecum (del av tykktarmen). Makroskopiske (forstørret, stiv, svullen) og histopatologiske endringer i spyttkjertler ble sett i alle behandlede dyr. Avkom: Redusert kroppsvekt hos avkom ble observert i høydosegruppen, og i mindre grad i de to laveste dosegruppene. I tillegg ble løs avføring og redusert fôrinntak sett hos avkom fra høydosegruppen. Hos høydoserte unge rotter ble det sett makroskopiske endringer i spyttkjertler og gastrointestinale forstyrrelser. **NOAEL (foreldre): < 3000 ppm, tilsvarende < 150 mg/kg kv/dag** ut fra standard omregningsfaktor (WHO, 1990), basert på at endringer i spyttkjertler ble observert i alle behandlede dyr. **NOAEL (avkom): < 3000 ppm, tilsvarende < 300 mg/kg kv/dag** ut fra standard omregningsfaktor (WHO, 1990), basert på at redusert kroppsvekt ble sett i alle behandlingsgruppene. (Ref.: Brooker, A.J., *et al.*, 1991 – Monsanto/Cheminova).

Rotte, 2-generasjonsforsøk: Sprague-Dawley rotter (CrI:CD (SD) BR VAF/Plus) fikk doser av glyfosat (99 % renhet) på 0, 1000, 3000 eller 10000 ppm i føret i 2 generasjoner, med 2 kull per generasjon. F0 generasjonen bestod av 28 rotter/kjønn/gruppe, og ble eksponert fra 10 uker før første parring og fram til avlaving. Eksponering av F1A generasjonen (24 rotter/kjønn/gruppe) startet fra 4-ukers alder. **Resultater:** Parental: Høydoserte F1 hunner hadde økt inntak av fôr og vann. Høydoserte hanner hadde redusert kroppsvekt. I F1 generasjonen var drektighetsraten lavere enn forventet, også i kontrollgruppen. Kullstørrelsen var redusert i høydosegruppen i alle fire kullene, men det var ingen klar dose-respons sammenheng. I de to høyeste dosegruppene ble det sett endringer i spyttkjertler (parotide og submaxillære), som hypertrofi av acinare celler med fremtredende granulær cytoplasma. Avkom: Det var ingen effekt på vekt, overlevelsesrate, postimplantasjonstap eller vekst av avkom. **NOAEL (foreldre): 1000 ppm, tilsvarende omtrent 79 mg/kg kv/dag for hanner og 87 mg/kg kv/dag for hunner**, basert på endringene i spyttkjertler. **NOAEL (avkom): 10000 ppm, tilsvarende 797 mg/kg kv/dag for hanner og 881 mg/kg kv/dag for hunner**, basert på at ingen behandlingsrelaterte endringer ble funnet. (Ref.: Brooker, A.J., *et al.*, 1992 – Monsanto/Cheminova).

Teratogenese:

Rotte: Grupper på 25 parrede hunnrotter, CrI:CD (SD) BR/VAF Plus, fikk doser av glyfosat (98 % renhet) på 0, 300, 1000 eller 3500 mg/kg kv/dag ved sonde, dag 6 til 15 av drektigheten. Mødrene ble avlivet på dag 20 av drektigheten. **Resultater:** Mødre: Dødelighet ble observert i høydosegruppen. Kliniske symptomer på toksisitet ble sett i de to høyeste dosegruppene, og inkluderte respirasjonsforstyrrelser, spyttutskillelse etter dosering og løs avføring. Redusert kroppsvektøkning ble sett i de to høyeste dosegruppene i begynnelsen av forsøket. Inntak av fôr var redusert i høydosegruppen under behandlingsperioden. Avkom: Det var ingen aborter eller totale resorpsjoner. Implantasjonsrate, postimplantasjonstap, kullstørrelse og kjønnsratio var lik i alle gruppene. I høyeste dosegruppe ble det målt redusert gjennomsnittlig fostervekt. Forekomst av forvridde ribbein (wavy ribs) var økt i den høyeste dosegruppen. I de to høyeste dosegruppene ble det sett redusert forbeining, og som et resultat av dette var prosentvis fostre med misdannelser i skjelettet signifikant høyere i de to høyeste dosegruppene. **NOAEL (mødre): 300 mg/kg kv/dag**, basert på dødelighet, kliniske symptomer, redusert kroppsvektøkning og redusert inntak av fôr i de to høyeste dosegruppene. **NOAEL (avkom): 300 mg/kg kv/dag**, basert på endringer i forbeining, skjelettvariasjoner og redusert fostervekt. (Ref.: Brooker, A.J., *et al.*, 1991 – Monsanto/Cheminova).

Rotte: Grupper på 25 parrede CD hunnrotter fikk doser av glyfosat (98 % renhet) på 0, 300, 1000 eller 3500 mg/kg kv/dag med sonde, dag 6 til 19 av drektigheten. På dag 20 av drektigheten ble mødrene avlivet. **Resultater:** Mødre: I høydosegruppen ble det sett løs avføring, diare, rød utflod fra nesen, redusert aktivitet og rallelyder. Seks høydoserte dyr døde. Redusert kroppsvektøkning ble observert i høydosegruppen under behandlingsperioden. Avkom: I høydosegruppen var antall levende fostre per kull og gjennomsnittlig fostervekt redusert. Det var en signifikant økning i tidlige resorpsjoner, noe som ga en liten økning i totale postimplantasjonstap. I tillegg var antall fostre med misdannelser økt i høydosegruppen, men antall påvirkede kull var likt som i kontrollgruppen. Manglende forbeining av brystbeinet ble sett i høyeste

dosegruppe. **NOAEL (mødre): 1000 mg/kg kv/dag**, basert på kliniske symptomer i høyeste dosegruppe. **NOAEL (avkom):** basert på en økning i postimplantasjonstap, misdannelser og manglende forbeining av brystbeinet i høyeste dosegruppe. (Ref.: Tasker, E.J., og Rodwell, D.E., 1980 – Monsanto/Cheminova).

Kanin: Grupper på 16-17 inseminerte Durch Belted kaniner fikk doser av glyfosat (98 % renhet) på 0, 75, 175 eller 350 mg/kg kv/dag med sonde, dag 6 til 27 av drektigheten. **Resultater: Mødre:** Det var ingen effekt på kroppsvekt. Kliniske symptomer ble sett i den høyeste dosegruppen, og i noe mindre grad i den nesthøyeste, og inkluderte løs avføring, diare og neseutflod. Én kanin døde i lavdosegruppen, to i nesthøyeste og 10 i høyeste dosegruppe. **Avkom:** Det var ingen observerte effekter på fostre eller på kullparametere. **NOAEL (mødre): 75 mg/kg kv/dag**, basert på kliniske symptomer og behandlingsrelatert dødelighet i de to høyeste dosegruppen. **NOAEL (avkom): 350 mg/kg kv/dag.** (Ref.: Tasker, E.J. *et al.*, 1980 – Monsanto/Cheminova).

Kanin: Grupper på 16-20 parrede NZW hunnkaniner fikk doser av glyfosat (98 % renhet) på 0, 50, 150 eller 450 mg/kg kv/dag med sonde, dag 7 til 19 av drektigheten. **Resultater: Mødre:** Én kanin døde i høydosegruppen etter abort og vekttap. Gastrointestinale symptomer på toksisitet, manglende appetitt redusert kroppsvektøkning og redusert inntak av fôr ble sett i de to høyeste dosegruppene. **Avkom:** Det var en signifikant økning i embryodødelighet i behandlingsgruppene sammenlignet med kontroll. I overensstemmelse med dette var det en økning i prosentvis antall postimplantasjonstap. Det ble sett en økning i forekomst av fostre med hjertemisdannelser, som interventrikulær septal defekt, i høydosegruppen, men tallene var innenfor historiske kontrolldata. **NOAEL (mødre): 50 mg/kg kv/dag**, basert på kliniske symptomer og redusert kroppsvektøkning. **NOAEL (avkom): 150 mg/kg kv/dag**, basert på økt dødelighet og mulig behandlingsrelatert økning i hjertemisdannelser i den høyeste dosegruppen. (Ref.: Brooker, A. J. *et al.*, 1991 – Monsanto/Cheminova)

Mus, supplerende: Grupper på 20 parrede Kuming mus fikk doser av glyfosat på 0, 80, 420 eller 1050 mg/kg kv/dag med magesonde, dag 6 til 14 av drektigheten. Forsøket betraktes som supplerende, og er hentet fra publisert litteratur. **Resultater:** Det var ingen doserelaterte toksiske effekter i noen av gruppene. Det var ingen symptomer på strukturelle misdannelser. (Ref.: Zhu, Y. *et al.*, 1984).

Konklusjon (generasjonsforsøk og teratogenese): I generasjonsforsøkene som ble utført på rotte ble det hos foreldrene sett kliniske symptomer som løs avføring og økt urinerings. Kroppsvekten var redusert ved de høyeste dosene. I ett av forsøkene ble det registrert forstyrrelser i magen, og i to av studiene så man endringer i spyttkjertlene. Det ble ikke sett endringer i reproduksjonsparametrene. I teratologiforsøkene så man følgende effekter hos mødrene: løs avføring, respirasjonsforstyrrelser, økt spyttutskillelse, rød utflod fra nesen, redusert aktivitet, rallelyder og økt dødelighet ble sett ved høye doser. Videre ble det sett redusert kroppsvektøkning og gastrointestinale symptomer hos foreldredyrene. Effekter på avkom ble kun observert ved doser som også var toksiske for mødrene. Disse bestod av: redusert fostervekt, redusert antall levende fostre per kull, økning i antall tidlige resorpsjoner, økt antall postimplantasjonstap. I tillegg ble det sett noe økning i tilfeller av forsinket forbeining og vridde brystbein. Alle effektene som ble observert ble antatt å være relatert til mortoksisitet. Glyfosat regnes derfor ikke å være teratogent eller reproduksjonsskadelig. NOAEL verdier for foreldre var: 79 – 1000 mg/kg kv/dag for rotte og 50 – 75 mg/kg kv/dag for kanin. NOAEL verdier for avkom var: 300 – 1000 mg/kg kv i rotte og 150 – 350 mg/kg kv i kanin.

Nevrotoksisitet Ingen forsøk er innlevert.

Metabolitter: **AMPA – Aminometylfosfosyre**

AMPA er den viktigste metabolitten av glyfosat i planter, og den eneste metabolitten som sikkert er identifisert i pattedyr. Metabolismeforsøk i rotter viste at AMPA skilles ut raskt, og nesten fullstendig, via avføring (74 %) og urin (20 %), og mindre enn 0.1% elimineres ved ekspirasjon. Disse funnene indikerer at AMPA absorberes dårlig fra mage/tarmkanalen. Etter 120 timer ble bare 0.06 % av total dose funnet igjen i dyret, og da i lever, nyre og muskel. Oralt administrert AMPA ble funnet igjen umetabolisert i urinen, og det var ingen indikasjoner på videre metabolisme. (Ref.: Colvin, L.B. *et al.*, 1973 - Monsanto). AMPA har lavere akutt toksisitet enn glyfosat. Akutt oral LD₅₀ i rotte er **8300 mg/kg kv** (Ref.: Birch, M.D*, 1983; Cuthbert, J.A. og Jackson, D., 1993a), og akutt dermal LD₅₀ i rotte er funnet til **større enn 2000 mg/kg kv** (Ref.: Cuthbert, J.A. og Jackson, D., 1993b). AMPA er **ikke hudirriterende** i kanin, men **svakt øyeirriterende** (Ref.: Birch, M.D., 1973*). Metabolitten er også testet i maksimeringstest i marsvin (GPMT), og er **ikke funnet allergifremkallende** (Ref.: Cuthbert, J.A. og Jackson, D., 1993c). (* forsøket er betraktet som supplerende).

Det er utført flere subakutte og subkroniske forsøk med AMPA, og resultatene er oppsummert i tabellform. Merk at effekter på spyttkjertler som ble funnet i flere av forsøkene med glyfosat, ikke ble sett i forsøkene med AMPA.

Forsøkstype og art	Dosenivåer (mg/kg kv)	Hovedeffekter/ målorganer	NOEL/NOAEL	Referanse
14 dagers diettforsøk med CD rotter (5 rotter/kjønn/dose)	0, 1000, 2000, 4000	Redusert kroppsvektøkning og forinntak ♂, rødt materiale i urin i en høydosehann	NOEL: 2000 mg/kg kv/dag	Goldenthal, 1978*
4 uker, sonde, Sprague-Dawley rotter (5 rotter/kjønn/dose)	0, 10, 100, 350, 1000	Redusert kroppsvektøkning ♀, økt nyrevekt ♂	NOEL: 100 mg/kg kv/dag	Heath <i>et al.</i> , 1993
90 dagers diettforsøk, CD rotter (20 rotter/kjønn/dose)	0, 400, 1200, 4800	Mortalitet, kliniske symptomer ♂: ↓ kroppsvektøkning og forinntak, ↑ laktat DH, epitelhyperplasi i urinblære og nyrebekken	NOEL: 400 mg/kg kv/dag	Estes <i>et al.</i> , 1979
13 uker, sonde, Sprague-Dawley rotter (10 rotter/kjønn/dose)	0, 10, 100, 1000	Ingen funn	NOEL: 1000 mg/kg kv/dag	Strutt <i>et al.</i> , 1993
1 måned, kapsler oralt, Beagle hund (2 dyr/kjønn/dose)	0, 10, 30, 100, 300	Mild til moderat anemi, diare i høydosegruppen	NOEL: 100 mg/kg kv/dag	Stout, 1991
90 dager, kapsler oralt, Beagle hund (5 dyr/kjønn/dose)	0, 10, 30, 100, 300	Ingen funn	NOEL: 300 (263 ut fra beregnet inntak) mg/kg kv/dag	Tompkins, 1991

* forsøket betraktes som supplerende

AMPA er ikke funnet gentoksisk i bakterier eller i pattedyrceller etter å ha gitt negativt resultat i Ames test (*S.thyphimurium* TA98, 100, 1535, 1537, 1538, *E.coli* WP2hcr), muse lymfomacelletest, Rec essay, UDS test *in vitro* og mikrokjernetester i beinmarg fra mus (Ref.: Shirasu *et al.*, 1980*; Jensen, 1993a; Jensen, 1993b; Shirasu *et al.*, 1980*; Bakke, 1991; Jensen, 1993c; Klier og Stegeman, 1993). (* forsøket er betraktet som supplerende).

Teratogeneseforsøk AMPA:

Art/stamme og antall parrede hunner	Dosenivå og oppsett	NOEL maternal toksisitet	NOEL føtotoksitet	Referanser
Sprague-Dawley Crl:CD rotter (8/gruppe – dosebestemmel-sesforsøk)	0, 125, 250, 500, 750, 1000 mg/kg kv; oral sonde administrasjon fra dag 6 til 15 av drektigheten	1000 mg/kg kv/dag	1000 mg/kg kv/dag	Holson, 1991a
Sprague-Dawley Crl:CD rotter (25/gruppe)	0, 150, 400, 1000 mg/kg kv; oral sonde administrasjon fra dag 6 til 15 av drektigheten	150 mg/kg kv/dag; kliniske symptomer i de to høyeste dosegruppene var hårtap og slim i avføring, samt ↓kv.økning og inntak av før i høyeste dosegruppe	400 mg/kg kv/dag: gjennomsnittlig føtal vekt ↓ i høyeste dosegruppe.	Holson, 1991b
Sprague-Dawley rotter (25/gruppe)	0, 100, 350, 1000, oral sonde administrasjon fra dag 6 til 15 av drektigheten	1000 mg/kg kv/dag	1000 mg/kg kv/dag	Hazelden, 1992*

* forsøket betraktes som supplerende

(N-metyl-N-fosfonometyl)glycin

Metabolitt av glyfosat som er funnet i planter og i jord. Akutt oral LD₅₀ er større enn 5000 mg/kg kv. Kliniske symptomer ved dette dosenivået var piloereksjon, tynn mage og diare (Ref.: Jacobsen, S.D., 1991).

Spesielle forsøk

Glyfosat og IPA-saltet av glyfosat er ikke mer akutt toksisk for drøvtyggere enn for laboratoriedyr. Forgiftning med IPA-saltet i drøvtyggere ga nevrologiske symptomer og svak nyreskade. Akutt administrasjon av glyfosat med magesonde i geit ga LD₅₀-verdi på 3530 mg/kg kv. Det ble sett endringer i biokjemiske parametere, mageforstyrrelser og ataksi. Akutt oral toksisitet av isopropylaminsaltet av glyfosat etter administrasjon med magesonde i geit ble funnet til LD₅₀ på 5700 mg/kg kv. Symptomer på toksisitet inkluderte mageproblemer, liggende dyr, nevrologiske symptomer og nyrebetennelse. En geit hadde skader i hippocampus.
(Ref.: Rowe, L.D., 1981/1987 – Monsanto/Cheminova).

IPA-saltet av glyfosat er også testet i kveg. Dyrene ble dosert 540, 830, 1290 eller 2000 mg/kg kv/dag med magesonde i 7 dager. Alle høydoseddyrene døde, og disse dyrene hadde effekter på nervesystemet, som hodeskjelvinger, kramper, ataksi og synsforstyrrelser. I de høyeste dosegruppene ble det i tillegg til nevrologiske symptomer sett endringer i blodparametere (økt hematokrit, hemoglobin og røde blodceller), økt BUN og kreatinin og en økning i ASAT, kreatin fosfokinase og laktat DH, indikativt på muskelskade siden det ikke var noen histopatologiske funn i leveren. Økt relativ lever- og nyrevekt til hjernevekt ble målt i de to høyeste dosegruppene. Redusert inntak av fôr og diare ble sett fra nest laveste dosenivå
(Ref.: Rowe *et al.*, 1982/1987 – Monsanto/Cheminova).

Mekanistiske forsøk for klargjøring av endringene i spyttkjertler:

Effekter på spyttkjertler ble observert i ett langtidsforsøk i rotte og i noen subkroniske forsøk i rotte og mus, og i generasjonsforsøk i rotte. På grunn av at liknende morfologiske endringer i spyttkjertler har blitt sett med den adrenerge agonisten isoproterenol, ble det testet om glyfosat medierte effekt på spyttkjertler via en adrenerg mekanisme. Etter 14-dagers behandling ble spyttkjertlene (parotide og submandibulære/sublinguale) eksaminert histopatologisk og ved elektronmikroskopi. Glyfosat og isoproterenol ga forstørrede spyttkjertler, og glyfosat hadde størst effekt. Propranolol hemmet denne effekten, men ikke fullstendig når det gjaldt glyfosat. Mikroskopisk ble like endringer induert av glyfosat og isoproterenol, bestående av cytoplasmisk basofil endring, vakuolisering og svelling av acinare celler, og resulterende reduksjon i antall kanaler. Glyfosatbehandlede dyr var sterkest påvirket. Propranolol beskyttet mot de største lesjonene. Cytoplasmiske endringer i submandibulære kjertler ble sett kun i glyfosatbehandlede dyr histopatologisk, men ved elektronmikroskopi i dyr både behandlet med glyfosat og med isoproterenol. Det ble ikke sett effekter på sublinguale kjertler, noe som demonstrerer en spesifisitet mot spyttkjertler som innverves av adrenerge fibre. Det antas derfor at glyfosats effekt på spyttkjertler utøves via en adrenerg mekanisme
(Publisert litteratur: Chan og Mahler, 1992).

Farmakologiske og biokjemiske forsøk:

Ammoniumsaltet: Ammoniumsaltet av glyfosat ble administrert intraperitonealt til hann og hunn ICR mus i dosenivåer opptil 5000 mg/kg kv, og intravenøst til anesteseerte og ikke-anesteseerte hannkaniner i dosenivåer opptil 500 mg/kg kv. Alle høydoserte mus og alle høydoserte anesteseerte kaniner døde kort tid etter dosering. Ikke-anesteseerte høydoserte kaniner overlevde, men hadde nevrologiske symptomer. Det ble også sett effekt på kardiorespiratoriske funksjoner (Ref.: Takahashi, H. og Kakinuma, Y., 1992 – Monsanto/Cheminova).

IPA-saltet: Irriterende effekter av IPA-saltet av glyfosat, Roundup (41 % IPA) og et overflateaktivt stoff, MON0818, (15 % av Roundup) og 0.25 M saltsyreløsning (kontroll) ble direkte administrert i mage- og tynntarmslimhinner i fastende Beagle hannhunder. Applikasjon av Roundup og det overflateaktive stoffet ga lett skade på slimhinnene i mage og tarm. Effektene var alvorligst med Roundup, og tarmen var mer påvirket enn magen. Skaden var tilsvarende den forårsaket av 0.25 N HCl (Mizuyama, K., 1987 – Monsanto/Cheminova).

Human toksisitet:

Produksjonsarbeidernes helse: Det ble ikke funnet noe unormalt eller skader som følge av eksponering for glyfosatsyre eller formulert IPA-salt av glyfosat. Ved et tilfelle ble det sett neseblødning hos to av arbeiderne som hadde blitt eksponert for et intermediat av glyfosat. Det ble ikke observert hudirritasjon, hudallergi eller luftveisallergi. (Monsanto).

Eksponering av brukere: Det foreligger en del publisert litteratur på eksponering av brukere. Eksponering av 14 frøplantearbeidere for Roundup via rester, direkte kontakt ved applisering eller sesongeksponering ga ingen helseeffekter under normale forhold (Ref.: Lavy *et al.*, 1992).

Eksponering av skogsarbeidere for Roundup er målt under skogplanting. En gruppe på fem arbeidere sprøytet gjennomsnittlig omtrent 10 liter av en 8 % Roundup-løsning på en 6 timers arbeidsdag i 5 dager på rad. Eksponering under påføring var lav. Luftkonsentrasjoner målt var generelt lavere enn deteksjonsgrensen på 1.3 µg/m³, bortsett fra på slutten av perioden da det ble to ganger målt hhv. 3 og 17.5 µg/m³. Med en estimert pustefrekvens på 1.8 m³/time, ble beregnet eksponering ved inhalasjon 31.5

µg/time. Det ble ikke funnet spor av glyfosat i urinen. Det var ingen helsemessige effekter, bortsett fra hodepine hos to av arbeiderne under feltarbeid. (Ref.: Jauhainen *et al.*, 1991).

Forsøk med frivillige mennesker: Roundup, inneholdende IPA-saltet av glyfosat (41 % glyfosat) ble evaluert for irritasjon og allergi i 346 personer. Preparatet ble brukt konsentrert eller som 10 % løsning i vann. Kun veldig svak hudirritasjon kunne bli observert. På rispet hud ble noe erytem sett etter 24 timer. Det var ingen indikasjoner på fotoirritasjon, allergi eller fotoallergisk kontaktdermatitt. (Ref.: Maibach, 1986).

Kliniske forgiftningstilfeller: Det er ingen rapporterte forgiftningstilfeller med glyfosatsyre, natriumsaltet eller monoammoniumsaltet av glyfosat. Kjente forgiftningstilfeller er med IPA-saltet, spesielt med Roundup. Eksponering var hovedsakelig oralt, men i noen tilfeller inhalativ eller dermal. Toksisiteten kan skyldes formuleringsstoffer så vel som virksomt stoff.

Mellom 1980 og 1989 var det 90 tilfeller av akutte forgiftninger med Roundup, IPA-saltet av glyfosat, i Taiwan. I alle tilfellene var preparatet inntatt oralt, og i de fleste med hensikt. I tillegg var det 6 tilfeller av dermal eksponering. Syttifire av de eksponerte personene hadde kliniske symptomer på forgiftning, og syv av dem døde. To av personene som døde hadde tatt inn både Roundup og parakvat eller paration. Symptomene inkluderte gastrointestinale forstyrrelser (kvalme, oppkast, diare, smerter i mage, munn, svelg, blødninger, betennelse i mage og spiserør), munnsår, lavt blodtrykk, lunge dysfunksjon, syre/base forstyrrelser, leverskade, nyreskade, hjertestans og koma. Oralt inntak ved ulykke var asymptomatisk og forårsaket mildt ubehag i munnen. Gjennomsnittlig inntak for de som døde var 85 – 200 ml Roundup. I kontrast til dette skulle personer som overlevde, og som kun hadde milde til moderate symptomer, ha hatt inntak på opptil 500 ml Roundup. I samsvar med 56 forgiftningstilfeller fra Japan ble det konkludert at stort inntak av Roundup gir irritasjon i slimhinner i mage og tarm, hypotensjon og lungeproblemer. Det så ut til at personer over 40 år, som inntok over 100 ml, hadde høyest risiko for fatalt utfall. (Ref.: Talbot *et al.*, 1991 – Review, publisert).

Forfatterne har oppsummert 6 artikler omhandlende forgiftningstilfeller med Roundup, de fleste selvmordsforsøk. Inntak av små volum gir ingen alvorlige effekter, kun mild irritasjon. Inntak av store mengder gir irritasjon i mage/tarm, sjokk, lungeødem, nyresvikt og mulig død. Det er også observert nevrologiske, kardiovaskulære og respiratoriske symptomer, og i tillegg effekter på nyre og metabolisme. Hud- og øyeirritasjon kan forårsakes av direkte kontakt, oralt inntak eller ved inhalasjon. Enhver som har inntatt mer enn 0.5 ml Roundup/kg kv bør innlegges på sykehus til observasjon. (Ref.: Tominack *et al.*, 1989).

To forgiftningstilfeller er rapportert fra Japan etter inntak av Roundup (selvmordsforsøk), på 100 ml og 20 ml. Magetømming, væsketerapi og diurese ble startet straks. Begge overlevde, og det var ingen alvorlige toksiske effekter. Hemodialyse og hemoperfusjon bør igangsettes dersom inntaket er større enn 100 ml. (Ref.: Kawamura *et al.*, 1987).

Behandling etter forgiftning: Det foreligger en del rapporter som fokuserer på ulike metoder for å fjerne Roundup fra kroppen. Et *in vitro* forsøk viste at 20 % av IPA-saltet av glyfosat adsorberes til kolestyramin ved pH 7, men ingenting ved pH 1. Ingen adsorpsjon til aktivt kull eller Kayexalate. (Ref.: Takagagi, S., 1987 – Monsanto/Cheminova). Hemodialyse er vist å være bedre enn hemoperfusjon for å fjerne Roundup fra blodet. Diurese er også effektivt (Ref.: Hiraiwa *et al.*, 1990 – Publisert).

Klassifisering: Glyfosat (N-(fosfonometyl)glycin) er oppført i Stofflisten med klassifisering: Xi; R41. I EU (monografien) har stoffet blitt foreslått merket Xi; R41 for glyfosatsyre og ikke merkepliktig for glyfosatsaltene. I konklusjon foreslås klassifisering: **Xi; R41 for glyfosatsyre. Glyfosatsaltene er ikke merkepliktige.**

1.2. Risikovurdering (helse)

ADI: JMPR har satt ADI til 0-0.3 mg/kg/dag (1986), basert på 26 måneders forsøk i rotte der NOEL var 31 mg/kg kv (høyeste dose testet). (Lankas, 1981). Dette forsøket er i EU-monografien betraktet kun som supplerende, siden dosenivåene testet er for lave. Dette forsøket er også relativt gammelt. Det vurderes derfor dithen at dette forsøket ikke lenger er egnet til bruk for fastsettelse av akseptabelt daglig inntak. Rotte var mest sensitive art i langtidsforsøkene. NOAEL verdier var i området fra 10 til 100 mg/kg kv/dag. **ADI settes til 0.1 mg/kg**, basert på toårs diettforsøk i rotte med NOAEL på 10 mg/kg kv/dag (Atkinson *et al.*, 1993). Usikkerhetsfaktor settes til 100. I EU-monografien baseres beregning av ADI på forsøk med rotte, som var den mest sensitive arten. NOEL verdier for kroniske effekter i rotte var mellom 10 og 100 mg/kg kv/dag. De antar at LOEL for glyfosatrelaterte langtidseffekter i rotte er omtrent 60 mg/kg kv/dag. Dermed estimeres det at dosen på 31 mg/kg kv/dag (NOAEL fra forsøket som JMPR har basert ADI på) er

en pålitelig NOEL-verdi som ADI kan deriveres fra. De baserer altså ikke beregningen på ett forsøk, men på en total vurdering av langtidsforsøkene i rotte. Med en usikkerhetsfaktor på 100 blir dermed ADI på 0.3 mg/kg kv. (produsentenes forslag til ADI varierer).

AOEL: AOEL settes på bakgrunn av et tre måneders oralt studie i rotter hvor NOAEL var 30 mg/kg kv/dag. Oral absorpsjonsrate var 30 % slik at AOEL må justeres for dette. Usikkerhetsfaktoren settes til 100. AOEL blir da **0.1 mg/kg kv**. I EU-monografien baseres AOEL beregningen på fra teratogeneseforsøk i kanin (Tasker *et al.*, 1980) der NOEL var 75 mg/kg kv/dag. Med en usikkerhetsfaktor på 100 og oral absorpsjonsrate på 30 % blir systemisk AOEL 0.2 mg/kg kv/dag. Dette er en endring fra forrige helhetsvurdering hvor man satt AOEL på bakgrunn av et teratologiforsøk vi i dette tilfellet ikke har tilgang til. I tillegg var det ikke tatt hensyn til lavt oralt absorpsjonsrate. AOEL ved forrige vurdering var 0.2 mg/kg kv/dag, basert på en NOAEL på 20 mg/kg kv/dag.

ARfD Akutt referensedose er ikke relevant i dette tilfellet da glyfosat har lav toksisitet ved akutt eksponering.

1.3. Dokumentasjonens tilstrekkelighet

Den foreliggende dokumentasjon er tilstrekkelig til å foreta en toksikologisk vurdering av virksomt stoff .

2. Vedlegg

A1: Siste etikettforslag

A2: Uttalelse fra Planteforsk

F1: Fullstendig sammensetning av preparatet og formuleringsstoffenes egenskaper

T1: Tysk EU monografi

Ø1: Rapport fra Miljøstyrelsen Danmark, 2000

Ø2: EU-monografi (1998)
