



Vitenskapskomiteen for mattrygghet
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

NeemAzal med virksomt stoff azadiraktin: Vurdering av gentoksisitet, foster- og reproduksjonsskadelig effekt og dokumentasjon

**Uttalelse fra Faggruppe for plantevernmidler (FG2) i Vitenskapskomiteen
for mattrygghet**

Dato: 18.1.2012

Dok. nr.: 11-206-2

ISBN: 978-82-8259-046-4

VKM Report 2012: 02



Sammendrag

NeemAzal med det virksomme stoffet azadiraktin er et nytt skadedyrmiddel i Norge. Mattilsynet har bedt faggruppe 2 om en vurdering av hvorvidt preparatet kan gi skader på arveanlegg, foster- og reproduksjon og hvorvidt dokumentasjonen som er innlevert er tilstrekkelig.

Faggruppen mener at det er en alvorlig datamangel at det ikke foreligger akseptable langtids dyreforsøk som kan gi svar på om ekstraktet kan gi svulster, samtidig som preparatet har klastogene effekter *in vitro*. Det er ikke noe som tyder på at preparatet har beinmargen som målorgan, noe som kan reise tvil om *in vivo* mikrokjerne-forsøket er tilstrekkelig til å avkrefte gentoksisk potensial. Manglende mikrokjernetest *in vitro* bidrar også til denne tvilen. Det bør derfor vurderes å kreve et nytt *in vivo* gentoksitets-forsøk med lever som målorgan, for eksempel et "Comet assay". En ville da ha et bedre grunnlag for å vurdere mulig gentoksisitet *in vivo*. Videre pekes det på at det er store mangler ved reproduksjon- og teratologistudiene, ikke minst på bakgrunn av at lignende ekstrakter tradisjonelt har vært brukt som abortmidler i India. Det mangler også teratologistudier med kanin. Faggruppen er av den oppfatning at de mange manglene i testgrunnlaget gjør det vanskelig å foreta en adekvat risikovurdering, og at det ikke kan utelukkes at preparatet kan ha et teratogent potensiale.

Bidragstere

Den som utfører arbeid for VKM, enten som oppnevnte medlemmer eller på ad hoc-basis, gjør dette i kraft av sin egen vitenskapelige kompetanse og ikke som representanter for den institusjon han/hun arbeider ved. Forvaltningslovens habilitetsregler gjelder for alt arbeid i VKM-regi.

Vurdert av

Faggruppe for plantevernmidler:

Line Emilie Sverdrup (leder), Christine Bjørge, Ole Martin Eklo, Merete Grung, Torsten Källqvist, Ingeborg Klinge, Marit Låg, Edgar Rivedal, Erik Ropstad, Steinar Øvrebø.

Koordinator fra sekretariatet:

Terje Haraldsen

Bakgrunn

NeemAzal med det virksomme stoffet azadiraktin er et nytt skadedyrmiddel i Norge. Azadiraktin er blitt vurdert i EU. Mattilsynet ønsket likevel en vurdering fra VKM om gentoksisitet, foster- og reproduksjonsskadelige effekter og om dokumentasjonen som er innlevert er tilstrekkelig.

VKM fikk oppdraget av Mattilsynet den 18. oktober 2011. Vurderingen ble vedtatt på møte i VKMs Faggruppe 2 den 24. november 2011.

Oppdrag fra mattilsynet

”NeemAzal er et nytt preparat med det virksomme stoffet azadiraktin. Preparatet virker mot ulike skadedyr og midd, og er søkt godkjent i bær, frukt, krydderurter, grønnsaker (veksthus og friland) og pryddplanter (veksthus og friland). Det kan påføres i vekstmediet (med vannkanne og lignende) eller på bladene ved hjelp av ryggsprøyte, tåkesprøyte eller åkersprøyte. Mattilsynet ønsker i denne forbindelse en vurdering av gentoksisitet, foster- og reproduksjonsskadelig effekt og om dokumentasjonen som er innlevert er tilstrekkelig for vurdering av risiko for toksiske effekter på helse”.

Oppsummering av studier fra Mattilsynets notat

Det finnes tre kilder til ekstrakter av azadiraktin på markedet i EU. Det er bare en av de tre produsentene, Trifolio-M med preparatet NeemAzal, som har søkt godkjenning i Norge. To av ekstraktene (fra Trifolio-M og Sipcam) er toksikologisk ekvivalente. Det siste ekstraktet fra Mitsui er ikke toksikologisk ekvivalent.

NeemAzal viste lav akutt toksisitet oralt, dermalt og ved inhalasjon i dyreforsøk. Det er ikke hud eller øyeirriterende, men allergifremkallende ved hudkontakt. Det er ikke utført toksikokinetikk- eller metabolismestudier med noen av ekstraktene. Det var heller ikke teknisk mulig å gjennomføre et slikt forsøk med azadiraktin A, og biotilgjengeligheten for stoffet kunne ikke bestemmes. Lever ble funnet å være det mest sentrale målorganet, og relevant NOAEL verdi var 32 mg/kg kv/dag basert på effekter i lever sett ved høye doser. To langtidsstudier var ikke utført tilfredsstillende nok til å kunne konkludere på langtids toksisitet eller kreftfremkallende egenskaper. Ekstrakter fra alle 3 produsentene ble funnet å være klastogene *in vitro* i kromosom aberrasjonsstudier med dyrkede humane lymfocytter, men det er uklart hvilken del av ekstraktet som gir den klastogene effekten. *In vivo* forsøk kunne ikke bekrefte disse resultatene, og det er uklart om stoffet når beinmargen.

Det ble utført et flergenerasjonsforsøk på rotte, som ikke viste noen effekter på reproduksjon. Ingen teratogene effekter ble observert i henhold til EFSAAs konklusjon. Rapportørlandet hadde derimot foreslått merking med R63 basert på teratologistudiet i rotte med NeemAzal.

ADI ble satt til 0,1 mg/kg kv/dag basert på 90-dagers forsøk med rotte og usikkerhetsfaktor på 300 basert på manglende toksikologiske langtidsforsøk, kreftforsøk og teratologistudier på kanin.. AOEL ble satt til 0,1 mg/kg kv/dag basert på 90 dagers rotteforsøk med usikkerhetsfaktor på 300 på grunn av manglende studier på biotilgjengelighet og teratologi på kanin. Akutt referansedose (ARfD) ble satt til 0,75 mg/kg basert på teratologiforsøk på rotte med NOAEL for mødre på 225 mg/kg kv/dag og en usikkerhetsfaktor på 300 på grunn av manglende teratologiforsøk på kanin. Verdiene er uttrykt i form av helt ekstrakt og ikke som azadiraktin A forbindelsen, og verdiene gjelder kun for de to ekstraktene som er toksikologisk ekvivalente.

Faggruppens vurdering

Preparatet er et ekstrakt av frøkjerner fra en tropisk tresort *Azadirachta indica*. Hovedbestandelen i ekstraktet er Azadirachtin A som utgjør 25-50 %. Et problem er at ekstraktene fra ulike prepareringer kan variere i innhold. Det er også angitt at ekstraktene inneholder aflatoksiner, men at den maksimale mengden funnet er 300 µg/kg azadiraktin, noe

som er akseptabelt ifølge FAOs grenseverdier. Dette vil imidlertid kunne variere avhengig av hvordan frøene er behandlet. Aflatoksiner dannes av sopp-kontaminering og innhold vil kunne variere avhengig av lagringstid, fuktighet og temperatur. I alle vurderte studier er det ulike ekstrakter av type NeemAzal fra produsenten Trifolio-M som er undersøkt.

Gentoksisitet

NeemAzal er testet for gentoksisitet både *in vitro* og *in vivo*:

In vitro: Preparatet ble funnet å være klastogent i kromosom-aberrasjonsstudier med humane lymfocytter, men induserer ikke mutasjoner i bakterier eller mammalske celler. Den klastogene effekten i humane lymfocytter ble funnet for alle undersøkte ekstrakter. Statistisk signifikante økninger ble bare funnet ved konsentrasjoner som ga mer enn 50 % reduksjon i mitotisk indeks, men økning av kromosom-aberrasjoner ble også sett ved ikke-cytotoksiske konsentrasjoner.

In vivo: Mikrokjernetesting i Swiss mus er utført og ga et negativt resultat. Det angis som sannsynlig at testsubstansen i dette studiet når beinmargen basert på at forholdet mellom modne (normokromatiske) og umodne (polykromatiske) erythrocytter var redusert i eksponerte dyr.

Karsinogenisitetstesting

De utførte studiene i rotte og mus har åpenbare mangler. Det ble ikke observert toksisitet ved høyeste dose, og effekter som ble sett i 90-dagers forsøk ble ikke observert i langtidsstudiet. Lever er funnet å være det viktigste målorganet.

Foster- og reproduksjonskader

Det er utført flergenerasjonsforsøk på rotte, som ikke viste noen effekter på reproduksjon.

I rotte teratologistudiet med NeemAzal ble det observert septale defekter i hjertet hos foster utenfor historiske kontrolldata. Det ble sett alvorlige effekter på hjertet hos ett foster der det ikke ble observert mortoksisitet.

Konklusjon

Faggruppen mener at det er en alvorlig datamangel at det ikke foreligger akseptable langtids dyreforsøk som kan gi svar på om ekstraktet kan gi svulster, samtidig som preparatet gir klastogene effekter *in vitro*. Det er usikkert om preparatet har beinmargen som målorgan, noe som kan reise tvil om *in vivo* mikronukleus-forsøket er tilstrekkelig til å avkrefte gentoksisisk potensial. Manglende mikrokjernetest *in vitro* bidrar også til denne tvilen. Det bør derfor vurderes å kreve et nytt *in vivo* gentoksisitets-forsøk med lever som målorgan, for eksempel et "Comet assay". En ville da ha et bedre grunnlag for å vurdere *mulig* gentoksisitet *in vivo*. EFSA har ikke fremmet "Comet assay" som et datakrav (EFSA, 2010) og anser det som usannsynlig at stoffet har et humant gentoksisisk potensial. FG2 mener likevel at det er en usikkerhet knyttet til dette. Usikkerheten har også sammenheng med at det dreier seg om et ekstrakt med uklar og varierende kjemisk sammensetning samt mangel på akseptable langtidsstudier.

FG2 diskuterte om usikkerheten er så stor at det bør stilles krav om nye langtidsstudier. EFSA har ikke krevd ytterligere dokumentasjon av verken gentoksisitet eller kroniske studier men har økt usikkerhetsfaktoren med en faktor på 3 i sin risikovurdering. Faggruppens anbefaling

er å kreve nye studier til avklaring av det gentoksiske potensialet, samt beholde en ekstra usikkerhetsfaktor på 3 som følge av manglende akseptable kroniske forsøk.

Faggruppen peker på at det er store mangler ved reproduksjon- og teratologistudiene, ikke minst på bakgrunn av at lignende ekstrakter tradisjonelt har vært brukt som abortmiddel i India. Det mangler også teratologistudier med kanin som forsøksdyr. Faggruppen er av den oppfatning at manglene i testgrunnet gjør det vanskelig å foreta en adekvat risikovurdering, og at det ikke kan utelukkes at preparatet kan ha et teratogent potensiale.

De høye dosene på opptil 500 mg/kg kv/dag som brukes i enkelte tester, samt de rapporterte funn, kan tyde på at preparatet trolig ikke er potent helseskadelig. Likevel er det faggruppens oppfatning at det ut ifra manglende data på prinsipielt grunnlag bør vurderes nøye om preparatet i det hele kan gis godkjenning uten at ytterligere studier gjøres.

Referanser

Mattilsynet, 2011: ”Problemnotat for vurdering av azadirachtin og NeemAzal”. Mattilsynet, Nasjonalt senter for planter og vegetabilsk mat.

EU, 2010: ”Azadirachtin”. Monografi (DAR) utarbeidet av rapportørland (RMS) Tyskland.

EFSA, 2010: ”Conclusions on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azadirachtin”. EFSA Journal 2010;8 (10):1858