

> Retouradres Postbus 43006 3540 AA Utrecht

**Aan de inspecteur-generaal van de
Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit**

**Voorlopig advies van de directeur bureau
Risicobeoordeling & onderzoek**

**Volksgesondheidsrisico's van de consumptie
van eieren die fipronil bevatten - aanvulling
1**

**Bureau Risicobeoordeling &
onderzoek**

Catharijnesingel 59
3511 GG Utrecht
Postbus 43006
3540 AA Utrecht
www.nvwa.nl

Contactpersoon

T 088 223 33 33
risicobeoordeling@vwa.nl

prof.dr.A.Opperhuizen

Onze referentie
NVWA/2017/6352

Aanleiding

Op 25 juli 2017 is een eerste voorlopig advies over de risico's van fipronil in eieren uitgebracht op basis van de toen beschikbare informatie. Additionele informatieverzameling was op dat moment al in gang gezet. Voor een belangrijk deel is dit onderzoek nog gaande. Wel is er inmiddels nieuwe informatie beschikbaar gekomen die aanleiding geeft voor een aanvulling op het voorlopig advies.

Datum

27 juli 2017

Onderzoeksvragen voor het aanvullende voorlopige advies

1)

Is er wetenschappelijke informatie beschikbaar die aanleiding geeft om de door EFSA afgeleide Acute Referentie Dosis (ARfD) voor fipronil te nuanceren of te herzien in geval van eierconsumptie?

2)

Is er sinds 2006 nieuwe wetenschappelijke informatie beschikbaar gekomen die aanleiding geeft de Acceptable Daily Intake (ADI) die EFSA heeft afgeleid te herzien in het geval van eierconsumptie?

3)

Wordt de ARfD of de ADI overschreden als mensen tafeleieren consumeren waarin concentraties fipronil zitten zoals die zijn bepaald in 80 monsters die zijn genomen in de Nederlandse retail op 24 juli 2017 en die gemeten zijn in het laboratorium van de NVWA op 24, 25 en 26 juli?

Aanpak

ad 1)

BuRO heeft het Frontoffice gevraagd een review uit te brengen op basis van een quick scan van de literatuur (bijlage 1).

ad 2)

BuRO heeft zelf een korte literatuurstudie verricht t.a.v. de ADI. Tevens heeft het Frontoffice gerapporteerd over de ADI (bijlagen 1 en 2).

ad 3)

Inspecteurs van de NVWA hebben monsters verzameld en het laboratorium van de NVWA heeft daarop analyses uitgevoerd. BuRO heeft geen werkinstructies gegeven voor de bemonstering die is uitgevoerd door inspecteurs van de NVWA. BuRO wilde een impressie krijgen van de omvang van de blootstelling van de bevolking aan fipronil via tafeleieren. De steekproef is niet volledig representatief voor alle geconsumeerde soorten eieren. Er was onvoldoende onderzoektijd beschikbaar om een volledig representatief steekproefdesign te maken. Er is ook niet vooraf gevraagd naar een bepaalde verdeling van monsters van eieren van de verschillende soorten leghenhouderijen. Wel is gevraagd te noteren van welke soorten houderijen de eieren afkomstig waren.

Alle EFSA-opinies over fipronil baseren zich op een uitgebreide wetenschappelijke review uit 2006 over de risico's van fipronil (1). In deze review heeft EFSA:

- een Acute Reference Dosis (ARfD) afgeleid waarboven acute toxische effecten niet uitgesloten kunnen worden bij kortdurende blootstelling;
- een Acceptable Daily Intake (ADI) afgeleid waarboven toxische effecten niet uitgesloten kunnen worden bij levenslange blootstelling.

Aanvullende informatie uit het eerste voorlopige advies van 25 juli 2017:

Bij de afleidingen van ARfD en ADI houdt EFSA rekening met verschillen in gevoeligheid en blootstelling van mensen. Bij zowel ARfD als ADI houdt EFSA rekening met een veiligheidsfactor van 100 tussen afgeleide waarden en de toxicologische effectwaarden die in proefdierstudies zijn gevonden. Deze factor 100 is opgebouwd uit een factor 10 voor mogelijke verschillen tussen mensen en dieren, en een factor 10 voor individuele verschillen tussen mensen. BuRO heeft zich in deze voorlopige risicobeoordeling in eerste instantie gebaseerd op de EFSA-opinie uit 2006.

Inspecteurs van de NVWA hebben in eerste instantie een aantal bedrijven met leghennen bezocht en daar eieren bemonsterd. Deze eieren zijn door het laboratorium van de NVWA onderzocht op de aanwezigheid van fipronil. De resultaten van deze monsters zijn in deze voorlopige risicobeoordeling gebruikt.

Bevindingen

ad 1)

Het Frontoffice heeft een quickscan van de wetenschappelijke literatuur over de gezondheidsrisico's van fipronil uitgevoerd (bijlage 1). Het grote aantal gepubliceerde artikelen kon in het beschikbare tijdbestek niet volledig geanalyseerd worden. Uit de quickscan is wel gebleken dat er enige onduidelijkheden zitten in de wijze waarop EFSA de ARfD heeft afgeleid. ARfD-waarden die zijn afgeleid door andere organisaties komen op lagere waarden uit.

BuRO onderschrijft de redeneerlijn en opinie van het Frontoffice. Het belangrijkste argument voor BuRO om de lagere ARfD-waarde te onderschrijven is dat fipronil, en de metabole omzettingsproducten, langere tijd in het menselijk lichaam aanwezig blijven. Bij de afleiding van een ARfD-waarde wordt hier in principe niet van uitgegaan. ARfD-waardes zijn normaliter gericht op eenmalige blootstelling. Bij deze eenmalige blootstelling aan fipronil blijven residuen nog enkele dagen in het lichaam aanwezig. Dat geldt zowel voor fipronil zelf als voor de metabolieten daarvan. Bij consumptie van eieren in lijn met het consumptieadvies van het Voedingscentrum zal blootstelling niet éénmalig zijn, maar meerdere keren per week, of zelfs dagelijks. Er zal dus een bepaalde mate van ophoping plaatsvinden. Hiermee rekening houdend is de door EFSA berekende ARfD van 0,009 mg/kg lichaamsgewicht voor fipronil in eieren te hoog. De ARfD van 0,003 mg/kg lichaamsgewicht zoals die door het Frontoffice wordt gerapporteerd, en die is afgeleid door experts van de Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) is relevant voor fipronil in eieren (2,3).

ad 2)

Op basis van de quickscan van Frontoffice, en de analyse van de wetenschappelijke literatuur sinds 2006 door BuRO (bijlage 2) is er geen aanleiding tot bijstelling van de eerder gebruikte waarde voor de ADI.

ad 3)

Op verzoek van BuRO heeft het laboratorium van de NVWA 80 monsters tafeleieren onderzocht uit het verkoopkanaal voor consumenten.

Op 25 en 26 juli zijn 80 monsters onderzocht (bijlage 3). In 14 van de 80 monsters is fipronil aangetroffen in concentraties tussen 0,013 en 0,39 mg/kg. De hoogste concentraties in deze reeks zijn hoger dan de hoogste waarde die op 25 juli werd gerapporteerd (die was 0,248 mg/kg). Consumptie van de eieren met de hoogste concentraties overschrijdt niet de ARfD die door EFSA is afgeleid. Ook wordt de bijgestelde ARfD, die door het Frontoffice wordt gerapporteerd en door BuRO in het voorliggende advies wordt overgenomen, niet overschreden bij een consumptiepatroon van eieren zoals dat door het Voedingscentrum wordt geadviseerd. De marge tussen de bijgestelde ARfD en fipronil-blootstelling bij consumptie van de meest vervuilde eieren is echter niet groot. Er zal nader onderzocht worden of consumenten die extreem veel eieren eten een verhoogd acuut risico lopen.

Er zijn 80 monsters eieren onderzocht. Twee van die monsters bevatten concentraties fipronil die zo hoog zijn dat de ADI wordt overschreden als kinderen tot 15 kg er daarvan twee per week consumeren. In geen van de gevallen wordt de ADI overschreden bij volwassenen die drie eieren per week eten. Bovenstaande consumptie komt overeen met de aanbeveling van het Voedingscentrum: 1-2 eieren per week voor kinderen tot 4 jaar en 2-3 eieren per week voor iedereen ouder dan 4 jaar.

Gebaseerd op de onderzoeksresultaten, luiden de antwoorden op de onderzoeksvragen als volgt.

ad 1)

Ja, de ARfD die EFSA heeft afgeleid is te hoog om toe te passen voor mogelijke acute gevaren als gevolg van de inname van fipronil door consumptie van besmette eieren.

ad 2)

Nee, er is geen recente wetenschappelijke informatie die aanleiding geeft de door EFSA afgeleide ADI ter discussie te stellen.

ad 3)

Zowel de ARfD van EFSA als de bijgestelde ARfD worden niet overschreden, maar voor kinderen wordt de ADI wel overschreden in een aantal monsters eieren waarin fipronil is aangetroffen. Het betreft ongeveer 2,5 procent (2 van de 80) van het totaal aantal bemonsterde tafeleieren en 14 procent (2 van de 14) van de fipronil-besmette eieren, uitgaande van een kind van 15 kg dat twee eieren per week eet.

Conclusies

- Bij een concentratie fipronil van 0,9 mg per kilogram ei-inhoud of meer, kunnen acute effecten op de volksgezondheid niet uitgesloten worden als met regelmaat eieren geconsumeerd worden. Hierbij is rekening gehouden met herhaalde consumptie, en niet met eenmalige consumptie van eieren. Met name jonge kinderen lopen daarbij het grootste risico. Deze concentraties zijn **niet** aangetroffen in bemonsterde eieren van leghen-bedrijven.
- Bij de gevonden concentraties fipronil kunnen effecten op de volksgezondheid bij dagelijkse consumptie van de eieren voor kinderen niet uitgesloten worden. Deze concentraties zijn **wel** aangetroffen in bemonsterde eieren van leghen-bedrijven. Bij 2 van de 14 fipronil-bevattende eieren werd voor kinderen de ADI bij consumptie van 2 eieren per week overschreden.
- Als kinderen maximaal twee eieren per week consumeren, wat overeen komt met de bovengrens van het advies van het Voedingscentrum (1-2 eieren per week voor kinderen tot 4 jaar), dan wordt bij de twee hoogst gevonden concentraties in eieren de ADI overschreden. Bij het aanhouden van de ondergrens (1 ei per week) is dat niet het geval.
- Als volwassenen maximaal drie eieren per week consumeren, zoals wordt geadviseerd door het Voedingscentrum, dan wordt ook bij de hoogst gevonden concentratie in eieren de ADI niet overschreden. Echter, bij grotere consumptie is het denkbaar dat de ADI alsnog overschreden wordt. Effecten op de volksgezondheid kunnen dan niet worden uitgesloten.

Advies

Aan de inspecteur-generaal van de NVWA

- Er is aanleiding om de conclusies uit dit advies te delen met het Voedingscentrum, omdat op basis van de recent gemeten concentraties fipronil in eieren bij de hoogst gemeten concentratie de ADI voor kinderen op dit moment kan worden overschreden.

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Datum
27 juli 2017

Onze referentie
NVWA/2017/6352

- Periodiek onderzoek (elke week) op basis van een steekproef en monsteranalyse op de aanwezigheid van fipronil in tafeleieren uit de retail om na te gaan of de blokkeringsmaatregelen effectief zijn.
- Onderzoek op basis van een steekproef of eieren die geïmporteerd worden fipronil kunnen bevatten, omdat extra aanvoer vanuit andere lidstaten en derde landen verwacht mag worden vanwege de blokkeringsmaatregelen, en er niet vanuit gegaan mag worden dat deze eieren geen fipronil bevatten.

NB

Dit is een voorlopig advies. BuRO doet nog onderzoek en zal vervolgadvis uitbrengen.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'nd Opperhuizen', written in a cursive style.

prof. dr. Antoon Opperhuizen
directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Literatuur

1. EFSA Scientific Report (2006) 65, 1-110, Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fipronil.
2. JMPR/FAO (1997). Pesticide residues in Food: 1997 evaluations. 932. fipronil (pesticide residues in food: 1997 evaluations part ii toxicological & environmental).
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v097pr09.htm>
3. JMPR/FAO (2000) Pesticide residues in food 2000: FIPRONIL (addendum).
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr07.htm>

Toelichting bij de voorlopige risicobeoordeling

- Er is vooralsnog geen aanleiding om de toxicologische ARfD en ADI van EFSA uit 2006 opnieuw te evalueren. *RIVM-Frontoffice is beschikbaar.*
- Om een schatting te kunnen maken van het brede volksgezondheidsrisico moeten op basis van een brede steekproef eieren bij retailers worden bemonsterd en onderzocht op de aanwezigheid van fipronil. *Monsterresultaten zijn beschikbaar*
- Bemonstering en analyse van eieren en pluimveevlees die in opslag liggen of die getraceerd kunnen worden in het distributiekanaal, is van belang om de risico's van chronische blootstelling te kunnen schatten.
- Om na te gaan of verlaging van de blootstellingsconcentraties van consumenten aan de orde zijn doordat eieren industrieel verwerkt zijn, of omdat het een specifieke consumentengroep betreft, is informatie nodig over het distributiekanaal. *Informatie is opgevraagd*
- Snoepproducten waarin veel eiwitten verwerkt worden kunnen een bijdrage leveren aan de fipronil-blootstelling van (met name) kinderen. Deze blootstellingsroute is vooral relevant als snoepfabrikanten specifieke leveranciers hebben van eieren waarin fipronil aanwezig is.
- Hoewel actuele gegevens ontbreken, moet er rekening gehouden worden met een beperkte achtergrondbelasting aan residuen van fipronil in andere levensmiddelen. Met name melk zou een bijdrage kunnen leveren die voor kinderen relevant is vanwege hun relatief grote melkconsumptie.
- Er moet van uitgegaan worden dat het bewerken en verwerken van eieren en eiwitten geen invloed heeft op de gehalten fipronil in de levensmiddelen. *onderzoek is uitgezet naar de verdeling van fipronil tussen eiwit en dooier.*
- Voor een risicobeoordeling zijn meetgegevens van consumenten-eieren cruciaal, en concentraties in pluimveefilet op de iets langere termijn.
- Er moet van uitgegaan worden dat niet alleen de eieren, maar ook het vlees van de leghennen besmet is met residuen van fipronil die boven de MRL, ADI en MRL kunnen liggen. De kans hierop is bij uitgelegde leghennen beperkt omdat veel consumeerbaar weefsel wordt verwerkt in de levensmiddelenindustrie. Daar zal dus sprake kunnen zijn van een aanmerkelijke verdunningsfactor waardoor ADI's niet worden overschreden. Leghennen worden meestal niet direct geconsumeerd.
- Het is niet uitgesloten dat ook ander pluimvee dan leghennen fipronil bevat. Daar is momenteel geen informatie over.
- Om in te schatten of vooral naar semi-acute of ook naar chronische blootstellingseffecten gekeken moet worden, is bemonstering van mest en andere stalelementen van belang, evenals de tijdsspanne tussen behandeling van de stallen en de bemonstering. *onderzoek loopt*

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek

Datum
27 juli 2017

Onze referentie
NVWA/2017/6352

- Naast de risico's voor mensen kan fipronil uit behandelde stallen ook een risico zijn voor de leefomgeving in de nabijheid van de stallen. Ventilatie uit stallen zou de lokale leefomgeving kunnen hebben besmet. Hierover is geen informatie beschikbaar.

Bijlage 2

Toxiciteit Fipronil – aanvullende literatuur vanaf 2006-heden

Zoektocht

Via pubmed is gezocht naar de toxiciteit van fipronil. Hierbij zijn de termen 'fipronil' en 'toxicity' gecombineerd. Hierna zijn de resultaten verder verfijnd door de publicaties te beperken van 2006 tot heden. Dit leverde 263 hits op waarna nog verder verfijnd is door alleen reviews te selecteren. Omdat de focus ligt op humane toxiciteit is vervolgens gezocht op 'human toxicity' en 'fipronil'. Alleen publicaties verschenen tussen 2006 en heden zijn geselecteerd. Dit leverde 51 hits op.

Kort overzicht

Volgens Simon-Delso et al. [1] richt fipronil zicht op insect specifieke receptoren waardoor het risico voor de consument laag is, zeker in vergelijking met andere insecticiden. Het brede spectrum met betrekking tot de toxiciteit van fipronil maakt dat deze stof ook schade aanricht in organismen anders dan de doelpopulatie. Dit leidt mogelijk tot grote gevolgen voor de natuur en het milieu [1-4]. Denk hierbij bijvoorbeeld aan de bijen.

Onderzoek bij de mens

Er bestaan verschillende case reports waarin fipronil vergiftiging beschreven wordt [5, 6]. In 2011 hebben Herin en collega's [7] onderzocht bij 159 werknemers of chronische blootstelling aan fipronil geassocieerd kon worden met afwijkende schildklierfunctietesten. Een associatie is niet aangetoond.

In vivo onderzoek

Muizen

In een muizen studie [8] zijn in totaal 25 muizen intraperitoneaal blootgesteld aan fipronil (0.2 ml van de dosering). De dosering was als volgt: groep I 15 mg/kg, groep II 25 mg/kg, groep III 50 mg/kg (=LD50), groep IV negatieve controle en groep V positieve controle. Elke groep bestond uit vijf vrouwelijke muizen. Vierentwintig uur na blootstelling is bloed afgenomen wat gebruikt is voor de comet assay en de micronucleus test. Uit de comet assay bleek dat alleen bij de hoogste dosis (50 mg/kg) een statistisch significante verhoging van het aantal beschadigde nucleotiden optrad, wat mogelijk duidt op genotoxiciteit. De hoogste dosering zorgde er in de micronucleus test ook voor dat er micronuclei aanwezig waren 24 uur na blootstelling. 48 uur na blootstelling nam het aantal micronuclei af. Dit suggereert mogelijk mutageniteit die afneemt in de tijd omdat de primaire stof verantwoordelijk is (omzetting in metabolieten en uitscheiding).

Ratten

Roques et al. [9] toonde aan dat blootstelling aan de metaboliet fipronil sulfone hetzelfde effect te weeg bracht op T4 uitscheiding en leverenzym inductie als fipronil zelf. Het feit dat de metaboliet mogelijk schildklier versturende eigenschappen heeft is kritisch omdat de metaboliet langer in het lichaam aanwezig blijft dan fipronil zelf. In een andere studie [10] hebben onderzoekers rattenlevers blootgesteld aan fipronil (dosering: 0, 10, 20, 30, 40, 50 µM) via

perfusie waarbij zij het energiemetabolisme onderzochten. Zij concluderen dat voornamelijk de fipronil metabolieten interfereren met het energiemetabolisme (i.e. mitochondria) in de lever.

Gedurende 15 dagen zijn ratten oraal blootgesteld aan fipronil (30 mg/kg/dag), waarna bleek dat de systolische bloeddruk significant gestegen was ten opzichte van de controle groep die een fysiologische oplossing kreeg [11]. Blootstelling aan fipronil leidt mogelijk ook tot een verslechterd geheugen bij ratten [12]. Op de langere termijn leidt blootstelling aan fipronil ook tot een verslechterde spermakwaliteit bij ratten [13].

Schapen

Via drie verschillende experimenten zijn schapen blootgesteld aan fipronil om te kijken of verstoring van de schildklierhormonen worden waargenomen gezien het feit dat schapen beter dan ratten op de mens lijken qua plasmabinding [14]. In vergelijking met de rattenstudies zijn de effecten van fipronil op schildklierhormonen in schapen marginaal.

In vitro onderzoek

In Duitsland heeft men weefsel van keelamandelen blootgesteld aan fipronil (dosering: 0,05 / 0,1 / 0,5 / 0,75 / 1,0 mM/ml) waarna met de comet assay gekeken is naar genotoxiciteit. Al bij de laagste concentratie fipronil werden effecten gezien [15].

Door middel van verschillende testen is gekeken naar eventuele aanwijzingen voor genotoxiciteit van fipronil door humane perifere bloedlymfocyten bloot te stellen aan fipronil (dosering: 0.7, 0.3, 0.1 mg/ml). De resultaten waren dosis afhankelijk, waarbij de hoogste dosis de meeste schade aanrichtte. In één test (alkaline comet assay) werd bij alle doseringen DNA schade waargenomen [16]. Romero et al. [17] suggereren na *in vitro* onderzoek dat de metaboliet van fipronil (fipronil sulfone) en fipronil zelf verantwoordelijk is voor fipronil gerelateerde toxiciteit. Na blootstelling van humane cellen met glycine receptoren aan fipronil concludeert Islam et al. [18] dat de glycine receptoren een mogelijk doelwit zijn voor fipronil gerelateerde toxiciteit.

Het effect van genexpressie na blootstelling van fipronil (10 µM) aan humane levercellen is onderzocht [19]. Fipronil induceert verschillende CYP transcriptie enzymen.

Verstoring van cellulaire mechanismen die een rol spelen bij apoptose door de aanwezigheid van fipronil is onderzocht door Vidau et al. [20]. Wanneer deze mechanismen verstoort raken kan dit aanleiding geven tot het vormen van bijvoorbeeld kanker of neurologische aandoeningen (e.g. Alzheimer). Humane neuroblastoomcellen (SH-SY5Y) zijn blootgesteld aan fipronil (dosering: 0, 25, 50, 75, 100, 150 µM). Vidau concludeert dat fipronil oxidatieve fosforylering ont koppelt. Dit effect treedt al op bij een dosering die gerapporteerd is bij acute fipronil vergiftigingen in de mens. Verder is fipronil in staat om celdood te induceren bij neuroblastoomcellen via de apoptotische weg (niet via necrose). Zie ook de schematische weergave hieronder:

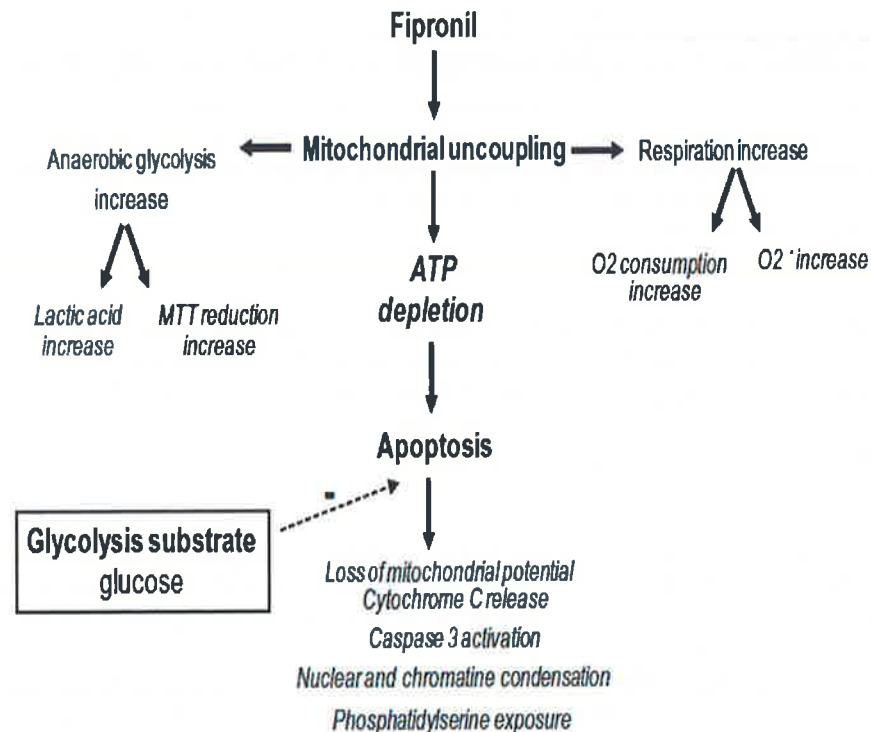


Fig. 6. Schematic diagram describing the cytotoxic model of fipronil in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Fipronil causes, in a concentration-dependent manner, mitochondrial uncoupling in the cell as detected by an increase in the anaerobic glycolysis (measured by an increase in the lactic acid as well as an increase in the MTT reduction) and the respiration (measured by an increase of oxygen consumption). This uncoupling in the mitochondria causes an ATP depletion that results, finally, in a cell death with apoptotic characteristics (such as phosphatidylserine exposure, cytochrome c release from mitochondria to cytosol, caspase-3 activation and nuclear condensation). This apoptosis is inhibited in the presence of glucose, a glycolysis substrate.

Literatuur

1. Simon-Delso, N., et al., *Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites*. Environ Sci Pollut Res Int, 2015. **22**(1): p. 5-34.
2. Pisa, L.W., et al., *Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates*. Environ Sci Pollut Res Int, 2015. **22**(1): p. 68-102.
3. Bonmatin, J.M., et al., *Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil*. Environ Sci Pollut Res Int, 2015. **22**(1): p. 35-67.
4. van der Sluijs, J.P., et al., *Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning*. Environ Sci Pollut Res Int, 2015. **22**(1): p. 148-54.

5. Bharathraj, M.Y., et al., *Fipronil Compound Consumption Presenting as Status Epilepticus*. *Toxicol Int*, 2015. **22**(1): p. 165-6.
6. Lee, S.J., et al., *Acute illnesses associated with exposure to fipronil--surveillance data from 11 states in the United States, 2001-2007*. *Clin Toxicol (Phila)*, 2010. **48**(7): p. 737-44.
7. Herin, F., et al., *Thyroid function tests in persons with occupational exposure to fipronil*. *Thyroid*, 2011. **21**(7): p. 701-6.
8. de Oliveira, P.R., et al., *Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice*. *Exp Toxicol Pathol*, 2012. **64**(6): p. 569-73.
9. Roques, B.B., et al., *CYP450-dependent biotransformation of the insecticide fipronil into fipronil sulfone can mediate fipronil-induced thyroid disruption in rats*. *Toxicol Sci*, 2012. **127**(1): p. 29-41.
10. de Medeiros, H.C., et al., *Effect of fipronil on energy metabolism in the perfused rat liver*. *Toxicol Lett*, 2015. **236**(1): p. 34-42.
11. Chaguri, J.L., et al., *Exposure to fipronil elevates systolic blood pressure and disturbs related biomarkers in plasma of rats*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016. **42**: p. 63-8.
12. Godinho, A.F., et al., *Memory impairment due to fipronil pesticide exposure occurs at the GABAA receptor level, in rats*. *Physiol Behav*, 2016. **165**: p. 28-34.
13. de Barros, A.L., et al., *Perinatal exposure to insecticide fipronil: effects on the reproductive system in male rats*. *Reprod Fertil Dev*, 2016.
14. Leghait, J., et al., *Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep?* *Toxicol Lett*, 2010. **194**(3): p. 51-7.
15. Tisch, M., M. Faulde, and H. Maier, *[Genotoxic effects of insecticides in current use on mucosal epithelial cells from human tonsil tissue]*. *Hno*, 2007. **55 Suppl 1**: p. E15-22.
16. Celik, A., et al., *In vitro genotoxicity of fipronil sister chromatid exchange, cytokinesis block micronucleus test, and comet assay*. *DNA Cell Biol*, 2014. **33**(3): p. 148-54.
17. Romero, A., et al., *Fipronil sulfone induced higher cytotoxicity than fipronil in SH-SY5Y cells: Protection by antioxidants*. *Toxicol Lett*, 2016. **252**: p. 42-9.
18. Islam, R. and J.W. Lynch, *Mechanism of action of the insecticides, lindane and fipronil, on glycine receptor chloride channels*. *Br J Pharmacol*, 2012. **165**(8): p. 2707-20.
19. Mitchell, R.D., 3rd, et al., *Impact of Environmental Chemicals on the Transcriptome of Primary Human Hepatocytes: Potential for Health Effects*. *J Biochem Mol Toxicol*, 2016. **30**(8): p. 375-95.
20. Vidau, C., et al., *Fipronil is a powerful uncoupler of oxidative phosphorylation that triggers apoptosis in human neuronal cell line SHSY5Y*. *Neurotoxicology*, 2011. **32**(6): p. 935-43.

Bijlage 3

Uitslagen van in de retail bemonsterde eieren, onderzocht op fipronil.

Datum: 26 juli 2017.

Er zijn 80 monsters ei onderzocht.

Daarvan zijn er 62 negatief en 4 met een concentratie beneden de limit of quantification (<LOQ).

Er zijn 14 monsters waarbij een kwantificeerbare concentratie fipronil is gemeten, dat is bij 17,5% van de genomen monsters.

De gevonden concentraties (in mg/kg) in deze 14 monsters ei zijn:

- A 0,19
- B 0,013
- C 0,39
- D 0,18
- E 0,057
- F 0,041
- G 0,044
- H 0,066
- I 0,026
- J 0,038
- K 0,23
- L 0,016
- M 0,11
- N 0,022

Bijlage 1: FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

Beoordeling van EFSA evaluatie over fipronil uit 2006

| | |
|-------------------------------|--------------------------|
| Beoordeling aangevraagd door: | NVWA; Karin Beaumont |
| Beoordeling opgesteld door: | RIVM |
| Datum aanvraag: | 24-07-2017 |
| Datum beoordeling: | 26-07-2017 (concept) |
| Coördinator: | W. Mennes |
| Opstellers Beoordeling: | S. ten Voorde, W. Mennes |
| Toetsers Beoordeling: | M. Mengelers, A de Vries |
| Projectnummer: | V/090130 |

Onderwerp

In het kader van een NVWA handhavingstraject is fipronil aangetroffen in eieren en bestaat de mogelijkheid dat fipronil wordt aangetroffen in vlees van leghennen. Leghennen en eieren zijn mogelijk blootgesteld aan producten die fipronil bevatten als werkzame stof tegen bloedluis. Naar aanleiding hiervan brengt BuRO (NVWA) een advies uit en baseert de risicobeoordeling op de informatie uit het EFSA Scientific Report (2006).

Vraagstelling

NVWA wil van het RIVM een uitspraak met betrekking tot de volgende vraag:

Is er sinds de EFSA review uit 2006 belangwekkende wetenschappelijke informatie beschikbaar gekomen die aanleiding is om de afgeleide ARfD en ADI ter discussie te stellen? Hierbij moet vooral aandacht geschonken worden aan de ADI voor kinderen.

Er is uitdrukkelijk niet gevraagd om een risicobeoordeling voor fipronil in eieren uit te voeren.

Verder is afgesproken dat een quick scan gedaan zou worden met oplevering 26-07-2017 en indien nodig een uitgebreidere beoordeling met opleverdatum 02-08-2017.

Conclusies

- 1) De beantwoording van de vraag van NVWA door het Front Office is, zoals afgesproken in dit stadium, een quick scan van de beoordeling van fipronil door EFSA 2006. Beoordeling van de vele nieuwe studies vergt zeker meer tijd dan nu beschikbaar was voor deze quick scan, aangezien er een tamelijk groot aantal studies zal moeten worden opgevraagd en beschouwd.
- 2) Er zijn sinds de EFSA beoordeling uit 2006 ca. 800 publicaties verschenen op basis van searches in Pubmed, maar daar zijn geen toxiciteitsstudies bij met de zoekterm 'chronic' of 'repeated'. Daarom is er geen reden om de staande ADI van JMPR en EFSA (0,2 µg/kg lg/d) te herzien.
EFSA heeft een ARfD van 9 µg/kg lg afgeleid, die hoger is dan de ARfD van JMPR (3 µg/kg lg). Het Front Office betwijfelt of de ARfD van EFSA wel verdedigbaar is. Er lijkt een kleine marge te bestaan tussen de ARfD van EFSA en effectdoseringen in dieren. Bovendien lijkt EFSA onvoldoende rekening te houden met de mogelijkheid van bioaccumulatie, veroorzaakt door de lange halfwaardetijd.
- 3) ADI's worden geacht beschermend te zijn voor alle individuen ouder dan circa 3 maanden. Er is geen algemene methodiek om met de gebruikelijke toxiciteitsgegevens een ADI af te leiden voor kinderen jonger dan deze leeftijd.

Inleiding

Gebruik als diergeneesmiddel

Fipronil is een stof die wordt gebruikt en is toegelaten voor het bestrijden van ectoparasieten bij honden en katten. Er zijn in de EU geen voor veterinair gebruik in de EU geen residu limieten vastgesteld omdat fipronil niet is toegelaten in diergeneesmiddelen voor voedselproducerende dieren¹.

Gebruik als gewasbeschermingsmiddel

Het is toegelaten voor gebruik als gewasbeschermingsmiddel. Hiervoor zijn tevens MRLs vastgesteld voor producten van dierlijke oorsprong².

De meest recente beoordeling van fipronil voor toxicologische eindpunten met relevantie voor de mens is de beoordeling van EFSA uit 2006. Bij deze beoordeling werd een ADI³ afgeleid van 0,2 µg/kg lg/d en een ARfD⁴ van 9 µg/kg lg.

De ADI die door EFSA in 2006 is afgeleid, is gebaseerd op een NOAEL die is bepaald aan de hand van een chronische studie in ratten. Het kritische effect was het optreden van convulsies bij een dosis \geq 59-78 µg/kg lg/d. De NOAEL in deze studie was 19 µg/kg lg/d waarop een veiligheidsmarge van 100 is toegepast.

De ARfD die door EFSA is afgeleid is gebaseerd op een neurodevelopmental toxiciteitsstudie in de rat, waarbij "neurobehavioural" effecten zijn waargenomen bij een dosis van 15 mg/kg lg/d. De NOAEL in deze studie was 0.9 mg/kg lg/d waarop een veiligheidsmarge van 100 is toegepast.

In 2013 heeft EFSA een update gepubliceerd die geheel gericht is op de risico's van fipronil voor bijen (EFSA 2013). Deze update wordt hier buiten beschouwing gelaten.

Beoordeling

Voor de beantwoording van de vraag van NVWA heeft het Front Office een quick scan in de openbare literatuur (database Pubmed) met de volgende zoek-strings:

| Search nr | Search string (Pubmed) | Aantal hits |
|-----------|--|-------------|
| 1 | Search ((fipronil) OR 120068-37-3) AND ("2006"[Date - Publication] : "3000"[Date - Publication]) | 794 |
| 2 | Search (((fipronil or 120068-37-3)) AND ("2006"[Date - Publication] : "3000"[Date - Publication])) AND ((human or man or rat or rats or mice or mouse) | 159 |
| 3 | Search (((fipronil or 120068-37-3)) AND ("2006"[Date - Publication] : "3000"[Date - Publication])) AND ((human or man or rat or rats or mice or mouse) Filters: Review | 10 |

Uit het grote aantal hits in search 1 wordt meteen duidelijk dat binnen het korte tijdsbestek dat voor de beantwoording van deze vraag beschikbaar is, het onmogelijk is om alle studies die na 2006 zijn gepubliceerd in detail te beoordelen. Zelfs een eerste selectie op

¹ Fipronil is niet opgenomen in bijlage I van Verordening EU 37/2010 en daarom niet toegelaten in voedselproducerende dieren. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02010R0037-20170408&qid=1500993164023&from=NL>

² Zie <http://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>

³ Acceptable Daily Intake

⁴ Acute Reference Dose

basis van slechts de titels is niet mogelijk. Overigens levert deze search duidelijk veel hits op die niet relevant zijn voor deze specifieke vraag, maar die wél relevant kunnen zijn voor een uitgebreide risicobeoordeling. Veel studies richten zich op neurotoxische effecten in *in vitro* studies of in insecten; er zijn ook nieuwe neurotoxiciteitsstudies in zoogdieren.

Een eerste inperking in search 2, die focust op studies in mensen, ratten en muizen levert nog altijd 159 hits op; nog steeds te veel als het gaat om een snelle beantwoording van de vraag. Als verder wordt ingeperkt tot reviews (search 3), dan blijven 10 studies over, die geen van allen specifiek gericht zijn op fipronil, maar die meer in algemene zin in gaan op de relatie tussen (blootstelling aan) pesticiden en neurotoxiciteit.

Additionele searches binnen search 1 met de zoekterm 'chronic' of 'repeated' leverden geen hits op die aanleiding zouden kunnen geven tot herbeschouwen van de ADI.

Andere beoordelingen:

De JMPR/FAO (1997) heeft in 1997 op basis van dezelfde chronische studie als die van EFSA een ADI van 0,2 µg/kg lg/d afgeleid. De JMPR/FAO heeft in 1997 een ARfD vastgesteld van 3 µg/kg lg. Deze ADI en ARfD zijn bevestigd in JMPR/FAO 2000.

De ARfD van JMPR is afgeleid uit een 13 weken neurotoxiciteitsstudie in rat (gerefereerd naar Driscoll & Hurley, 1993), waarbij neurotoxische effecten (overgevoeligheid voor aanraking en geluid) zijn waargenomen bij een dosis van 8,9 mg/kg lg. Voor deze effecten werd een NOAEL gerapporteerd van 0,3 mg/kg lg. Met toepassing van een veiligheidsfactor van 100 volgt hieruit een ARfD van 3 µg/kg lg.

Het is niet duidelijk of deze studie ook meegenomen is door de EFSA. In EFSA (2006) wordt wel een 90-dagen neurotoxiciteitsstudie in rat vermeld, waarbij een NOAEL van 0,3 mg/kg lg/d is vastgesteld voor algemene toxiciteit en 8,9 mg/kg lg/d voor neurotoxiciteit (bij deze hoogste dosis getest zouden, volgens EFSA, geen neurotoxische effecten waargenomen zijn). Referenties worden echter niet vermeld in het EFSA rapport. Voorts baseert EFSA (2006) zich op een neurodevelopmental toxiciteitsstudie (niet nader gespecificeerd welke studie dat is) waarin een NOAEL van 0,9 mg/kg lg/d is gerapporteerd. Het lijkt erop dat EFSA de toxiciteitsdata van enkele studies heeft gecombineerd (gecombineerde NOAEL van 2,5 mg/kg lg uit twee acute orale neurotoxiciteitsstudies in ratten). EFSA komt daarmee tot een wat hogere ARfD onder toepassing van een veiligheidsfactor van 100 op de NOAEL van 0,9 mg/kg lg/d. Helemaal zeker is dat echter niet, want EFSA heeft dit onvoldoende gedocumenteerd.

Het JMPR rapport beschrijft dat in de chronische studie in ratten bij een dosis $\geq 59\text{-}78$ µg/kg lg convulsies optreden met fatale afloop vroeg in de behandelingsperiode ("*Convulsive episodes, some lasting as long as 25 min and often fatal, were observed in three males at 1.5 ppm⁵, one male and three females at 30 ppm⁵, and eight males and 12 females at 300 ppm⁵. The convulsions tended to occur early in the treatment period but were also seen later*"). Vergeleken met de (door EFSA) afgeleide ARfD van 9 µg/kg lg lijkt dit een nauwe veiligheidsmarge op te leveren, hoewel niet duidelijk is uit de rapportage hoe vroeg na dosering deze convulsies optraden.

Fipronil is in 2011 opnieuw beoordeeld door de Australische Autoriteit voor Pesticiden en Veterinaire medicinale producten (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority; APVMA, 2011), onder beschouwing van literatuur gepubliceerd tot dat jaar. Uit deze review komen geen recentere toxiciteitsdata naar voren, die aanleiding zijn tot het ter discussie stellen van de ADI. APVMA (2011) is tot dezelfde ADI gekomen (0,2 µg/kg lg/d) als EFSA en JMPR/FAO. Echter, APVMA heeft in een eerdere evaluatie in 2006 een ARfD van 20 µg/kg vastgesteld die in 2011 is gehandhaafd. Voordien hanteerde APVMA, net als

⁵ Een dosis van 1.5, 30 en 300 ppm komt overeen met 0.059, 1.3 en 13 mg/kg lg. in mannetjes en 0.078, 1.6 en 17 mg/kg lg. in vrouwtjes.

JMPR, een ARfD van 3 µg/kg lg gebaseerd op dezelfde 3 maanden neurotoxiciteitsstudie in rat. De ARfD van APVMA uit 2006 (gerapporteerd in APVMA 2009) is gebaseerd op de gecombineerde NOEL van 2,5 mg/kg lg uit twee acute orale neurotoxiciteitsstudies in ratten na toepassing van een veiligheidsmarge van 100 met afronding. APVMA heeft de neurodevelopmental studie, die de basis is voor de ARfD van EFSA, wel meegenomen, maar heeft besloten dat het door hun gekozen kritische eindpunt (verminderd lichaamsgewicht) niet relevant was voor de afleiding van de ARfD. APVMA nemen de gevonden neurodevelopmental effecten niet mee in de afleiding van de ARfD.

Relevante informatie over de toxicokinetiek

Fipronil wordt grotendeels gemetaboliseerd tot fipronil sulfon. In het JMPR rapport staat beschreven dat deze metaboliet 96-98% van het totale residu in eieren omvat.

In een kinetiekstudie in ratten, beschreven in het JMPR rapport, waarin ¹⁴C-fipronil gedoseerd werd, werd een plasma halfwaardetijd van 6,2-8,3 dagen vastgesteld voor het radiolabel (inclusief metabolieten) (JMPR, 1997).

Er zijn nauwelijks data gevonden over humane kinetiek van fipronil. Echter, er wordt na accidentele ingestie bij mensen een halfwaardetijd voor fipronil 7-8 uur beschreven en 7-8 dagen voor metaboliet fipronil sulfon (Page, 2008).

Het Front-Office heeft twijfels bij de juistheid van de ARfD van EFSA omdat:

- 1) Kort na aanvang van een chronische rattenstudie zijn nog neurotoxische effecten gevonden bij doseringen van 59-78 µg/kg lg/d. De marge tussen deze doseringen en de ARfD van EFSA (9 µg/kg lg) bedroeg slechts een factor 7-9.
- 2) Fipronil en ten minste één van de metabolieten (fipronil sulfon; zie AVPMA, 2006 en EFSA 2006) hebben een lange halfwaardetijd, waardoor neerwaartse bijstelling van de ARfD nodig is. De JMPR heeft rekening gehouden met de trage eliminatie bij de afleiding van de ARfD. Bovendien heeft deze metaboliet waarschijnlijk dezelfde toxicologische werking als fipronil (EFSA 2006).

Conclusies

De beantwoording van de vraag van NVWA door het Front Office is, zoals afgesproken in dit stadium, een quick scan van de beoordeling van fipronil door EFSA 2006. Beoordeling van de vele nieuwe studies vergt zeker meer tijd dan nu beschikbaar was voor deze quick scan, aangezien er een tamelijk groot aantal studies zal moeten worden opgevraagd en beschouwd.

Er zijn sinds de EFSA beoordeling uit 2006 ca. 800 publicaties verschenen op basis van searches in Pubmed, maar daar zijn geen toxiciteitsstudies bij met de zoekterm 'chronic' of 'repeated'. Daarom is er geen reden om de staande ADI van JMPR en EFSA (0,2 µg/kg lg/d) te herzien.

EFSA heeft een ARfD van 9 µg/kg lg afgeleid, die hoger is dan de ARfD van JMPR (3 µg/kg lg). Het Front Office betwijfelt of de ARfD van EFSA wel verdedigbaar is. Er lijkt een kleine marge te bestaan tussen de ARfD van EFSA en effectdoseringen in dieren. Bovendien lijkt EFSA onvoldoende rekening te houden met de mogelijkheid van bioaccumulatie, veroorzaakt door de lange halfwaardetijd.

ADI's worden geacht beschermend te zijn voor alle individuen ouder dan circa 3 maanden. Er is geen algemene methodiek om met de gebruikelijke toxiciteitsgegevens een ADI af te leiden voor kinderen jonger dan deze leeftijd.

Referenties

- APVMA (2009) Review of the mammalian toxicology and metabolism/toxicokinetics of fipronil. <https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/15176-fipronil-prf-vol2-toxicology.pdf>
- APVMA (2011) The reconsideration of the active constituent fipronil, registration of products containing fipronil and approvals of their associated labels. <https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/15216-fipronil-preliminary-review-findings-report.pdf>
- EFSA (2006) Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fipronil. EFSA Scientific Report (2006) 65, 1-110, Conclusion on the peer review of fipronil. doi: 10.2903/j.efsa.2006.65r
- EFSA (2013) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance fipronil. EFSA Scientific Report (2006) 65, 1-110, Conclusion on the peer review of fipronil. EFSA Journal 2013;11(5):3158 [51 pp.]. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3158
- JMPR/FAO (1997). Pesticide residues in Food: 1997 evaluations. 932. fipronil (pesticide residues in food: 1997 evaluations part ii toxicological & environmental). <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v097pr09.htm>
- JMPR/FAO (2000) Pesticide residues in food 2000: FIPRONIL (addendum). <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr07.htm>
- Page et al. (2008) Antiparasitic drugs. In: Maddison et al (eds). Small Animal Clinical Pharmacology. Elsevier Health Sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-070202858-8.50012-9>
-

