

AUTONOME PROVINZ  
BOZEN – SÜDTIROL



PROVINCIA AUTONOMA  
DI BOLZANO – ALTO ADIGE

PROVINZIA AUTONOMA DE BULSAN – SUDTIROL

Südtiroler  
Sanitätsbetrieb



Azienda Sanitaria  
dell'Alto Adige

Azienda Sanitera de Sudtirol

# **STUDIE ZUR ÜBERPRÜFUNG DER AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE MENSCHLICHE GESUNDHEIT IN DER PROVINZ BOZEN**

DEPARTMENT FÜR GESUNDHEITSVORSORGE  
BETRIEBLICHE SEKTION FÜR UMWELTMEDIZI

## Darstellung

Bei den Pflanzenschutzmitteln handelt es sich um Substanzen und Produkte, die in die natürlichen Prozesse der lebenden Organismen eingreifen und dabei mögliche Schadorganismen beseitigen oder deren Wirkung kontrollieren.

Gleichzeitig enthalten solche Produkte allerdings oftmals Gefahrenstoffe, die bei Anwendung in die Umgebung gelangen und ein Risiko sowohl für den Menschen als auch für die Umwelt darstellen können.

Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zum Schutz der Pflanzen vor tierischen und pflanzlichen Schädlingen ist einer der kritischsten Punkte im Hinblick auf die Gesundheit nicht nur der Landwirte, sondern auch der Anwohner, die in der Nähe der behandelten Pflanzenkulturen leben.

Solche Behandlungen verursachen den so genannten "Drifteffekt", d.h. die unfreiwillige Abdrift von Partikeln des Pflanzenschutzgemisches, die das Ziel in Form der zu behandelnden Kultur oder der zu beseitigenden Schädlinge verfehlen, und sich stattdessen in der Umgebung verbreiten.

Daher sind bei der Verwendung von Pflanzenschutzmitteln unbedingt wesentliche Maßnahmen zur Minimierung des Abdrift-Phänomens zu ergreifen. Solche Maßnahmen beinhalten zum Beispiel den Einsatz von physischen Barrieren, die Festlegung eines Sicherheitsabstands, den Gebrauch von Anti-Abdrift-Düsen, das Spritzen von Pflanzenschutzmitteln bei Windstille.

Um zur Beurteilung des Umfangs dieses Problems beizutragen und das zur Eindämmung solcher Phänomene unbedingt erforderliche Wissen verständlich darzustellen, hat die betriebliche Sektion für Umweltmedizin des Südtiroler Sanitätsbetriebs diese Studie durchgeführt, die drei verschiedene Module umfasst. Das erste Modul ist eine epidemiologische Studie zur statistischen Beurteilung der Frage, ob in Gebieten mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zu Gebieten mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung ein erhöhtes Auftreten von Krankheiten und Tumoren zu beobachten ist.

Beim zweiten Modul handelt es sich um eine Erkenntnisstudie zur Bewertung der Belastung der landwirtschaftlich-gewerblichen Anwender mittels einer Analyse von Urinproben, die jeweils während der Spritzsaison und in einem anwendungsfernen Zeitraum vorgenommen wird.

Das dritte Modul dient der Beurteilung der Belastung der Einwohnerschaft mittels einer Analyse von Urinproben, die jeweils während der Spritzsaison und in einem anwendungsfernen Zeitraum vorgenommen wird. Dieses letzte Modul beinhaltet außerdem die Entnahme von Umweltproben von Flächen in den Wohnhäusern, die direkt an die behandelten Flächen angrenzen.

Wir möchten uns bei diversen Einrichtungen bedanken, die uns bei der Durchführung der Studie unterstützt haben. Es handelt sich hierbei um folgende Institutionen: Eurac Research, Fondazione Salvatore Maugeri, Epidemiologische Beobachtungsstelle (Beobachtungsstelle für Gesundheit), Tumorregister, Versuchszentrum Laimburg, Amt für Obst- und Weinbau, Südtiroler Bauernbund.

AUTONOME PROVINZ  
BOZEN – SÜDTIROL



PROVINCIA AUTONOMA  
DI BOLZANO – ALTO ADIGE

PROVINZIA AUTONOMA DE BULSAN – SUDTIROL

Südtiroler  
Sanitätsbetrieb



Azienda Sanitaria  
dell'Alto Adige

Azienda Sanitera de Sudtirol

# **STUDIE ZUR ÜBERPRÜFUNG DER AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE MENSCHLICHE GESUNDHEIT IN DER PROVINZ BOZEN**

**EPIDEMIOLOGISCHE ÜBERWACHUNG DER  
GESUNDHEITLICHEN AUSWIRKUNGEN VON  
PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE WOHNBEVÖLKERUNG  
IN GEBIETEN MIT HOHER LANDWIRTSCHAFTLICHER  
NUTZUNG**

DEPARTMENT FÜR GESUNDHEITSVORSORGE  
BETRIEBLICHE SEKTION FÜR UMWELTMEDIZIN

# 1. EPIDEMIOLOGISCHE ÜBERWACHUNG DER GESUNDHEITLICHEN AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE WOHNBEVÖLKERUNG IN GEBIETEN MIT HOHER LANDWIRTSCHAFTLICHER NUTZUNG

Ziel des ersten Moduls ist die Bewertung möglicher Differenzen beim Gesundheitszustand der Einwohnerschaft von Gegenden mit intensiver landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zur Bevölkerung in Gebieten mit weniger intensiver landwirtschaftlicher Nutzung in Bezug auf den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln.

Es wurde als wichtig erachtet in unserem Gebiet eine epidemiologische Studie durchzuführen, um mögliche Gesundheitsschäden durch die Belastung der lokalen Bevölkerung mit Pflanzenschutzmitteln zu beurteilen und die Ergebnisse denjenigen anderer nationaler und internationaler Studien gegenüberzustellen. Die Bewertung konzentriert sich speziell auf das Auftreten statistisch signifikanter Unterschiede in Bezug auf die gesundheitlichen Auswirkungen im Vergleich von Personen, die jeweils in Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher und niedriger landwirtschaftlicher Nutzung wohnen.

Anhand der von verschiedenen Institutionen geteilten Kriterien wurden zwei Makrobereiche innerhalb der Provinz geschaffen.

Im Falle der GEMEINDEN MIT STARKEM OBSTANBAU sahen die relevanten Kriterien wie folgt aus:

- 1) Ein prozentualer Wert der kultivierten Flächen im Verhältnis zur Gesamtfläche  $\geq 10$  und
- 2) kultivierte Hektar pro 100 Einwohner  $\geq 5$ .

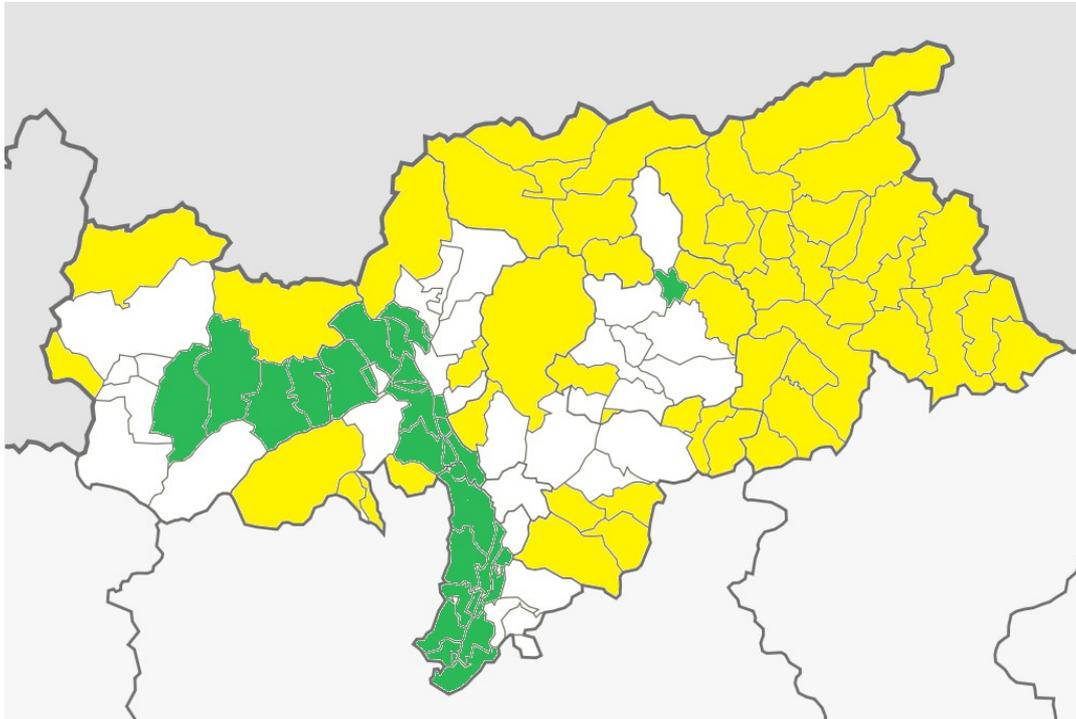
Im Falle der GEMEINDEN MIT GERINGEM OBSTANBAU sahen die relevanten Kriterien wie folgt aus:

- 1) Ein prozentualer Wert der kultivierten Flächen im Verhältnis zur Gesamtfläche  $\leq 0.1$ .

Aus den oben genannten Kriterien haben sich ergeben:

<b>Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung</b>	<b>Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung</b>
Algund, Andrian, Auer, Branzoll, Burgstall, Cortina, Eppan, Garganzon, Kaltern, Kastelbell-Tschars, Kuens, Kurtatsch, Laas, Lana, Latsch, Margreid, Marling, Nals, Naturns, Natz Schabs, Neumarkt, Partschins, Pfatten, Plaus, Salurn, Schlanders, Terlan, Tirol, Tisens, Tramin, Tschermers.	Abtei, Ahrntal, Brenner, Bruneck, Corvara, Deutschnofen, Enneberg, Freienfeld, Gais, Graun im Vinschgau, Gsies, Hafling, Innichen, Karneid, Kiens, Laurein, Lüssen, Mölten, Moos in Passeier, Mühlwald, Niederdorf, Olang, Percha, Pfalzen, Pfitsch, Prags, Prettau, Proveis, Rasen-Antholz, Ratschings, Rodeneck, Sand in Taufers, Sarntal, Schnals, Sexten, St. Christina in Gröden, St. Lorenzen, St. Martin in Thurn, St. Ulrich, Sterzing, Taufers im Münstertal, Terenten, Tiers, Toblach, Ulten, Unsere Liebe Frau im Walde St. Felix, Villanders, Vintl, Waidbruck, Welsberg-Taisten, Welschnofen, Wengen, Wolkenstein in Gröden.

In der unten folgenden Tabelle sind die beiden Gruppen grafisch dargestellt, die Südtiroler Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung in gelber Farbe, die Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung in grün. Die in weiß dargestellten Gemeinden gehören keiner der beiden Gruppen an.



Für die Analyse wurden Daten der Landesarchive aus den Jahren 2003-2015 (gemäß Verfügbarkeit) verarbeitet, die vom Tumorrregister in Südtirol und von der Epidemiologischen Beobachtungsstelle (Beobachtungsstelle für Gesundheit) bereitgestellt wurden, ferner basieren die Informationen auf Krankenhausentlassungskarteien (Schede di dimissione Ospedaliera, SDO), Dokumenten zur Geburtshilfe (Certificati di assistenza al parto, Cedap), Befreiungen von Zuzahlungen, Verschreibungen von Apotheken im Zusammenhang mit Tumorerkrankungen, Alzheimer, Parkinson, Fehlgeburten, Zwischenfällen bei Schwangerschaften und Autoimmunthyreopathien.

Um mögliche statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gebieten zu beurteilen, wurden die Inzidenzraten x 100.000 Einwohner berechnet, unaufbereitet und standardisiert nach dem Alter für die europäische Bevölkerung, wobei die für die Analyse verfügbaren Daten aggregiert wurden.

Als statistisch signifikant galt eine in den beiden oben definierten Gebieten beobachtete Differenz bei den Inzidenzraten, wenn die jeweiligen 95% Konfidenzintervalle keine Kontaktpunkte herausstellten.

## **Inzidenz von Tumorerkrankungen**

Die Analyse der vom Tumorregister Südtirol für den Zeitraum von 2003 bis 2010 bereitgestellten Daten (dargestellt mithilfe von Diagrammen mit für die europäische Bevölkerung standardisierten Inzidenzraten und den jeweiligen Konfidenzintervallen) zeigt keine signifikanten Unterschiede bei der Häufigkeit von Tumorerkrankungen bei den Bewohnern von Gebieten mit unterschiedlich intensiver landwirtschaftlicher Nutzung. Getrennt nach Geschlecht und den einzelnen Wohngebieten hat die Studie unter besonderer Berücksichtigung der in der einschlägigen Literatur dargestellten Lokalisationen (Gehirn, Schilddrüse, Magen, Lunge, Gebärmutter, Eierstöcke, Brust, Prostata, Nieren, Pankreas, Non-Hodgkin-Lymphom, Leukämie) somit keine statistisch signifikanten Unterschiede bei der Inzidenz von Tumorerkrankungen zwischen den Einwohnern von Gebieten mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung und den Einwohnern von Gebieten mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung festgestellt. Sämtliche Daten finden sich in den beigefügten, nach Code aufgeschlüsselten Tabellen.

TABELLE TUMORREGISTER ANLAGE 1 INZIDENZ

## **Mortalität bei Tumorerkrankungen**

Die Untersuchung zur Mortalität bei Tumorerkrankungen unter den Einwohnern der zwei unterschiedlichen Gebiete erfolgte auf der Grundlage der vom Mortalitätsregister Südtirol zur Verfügung gestellten Daten. Das Mortalitätsregister Südtirol ist beim Tumorregister Südtirol angesiedelt und wurde mit Beschluss der Landesregierung vom 13.11.2000, Nr. 4215, gegründet. Es arbeitet eng mit den Hygienediensten der vier Gesundheitsbezirke des Südtiroler Sanitätsbetriebs zusammen. Die auf den Zeitraum von 2003 bis 2010 bezogenen Ergebnisse dieser Analyse wurden in Form von Diagrammen mit für die europäische Standardbevölkerung standardisierten Mortalitätsraten und den jeweiligen Konfidenzintervallen von 95% dargestellt. Wie die oben genannten Grafiken zeigen, gab es keine Vorfälle, die darauf hinweisen, dass im berücksichtigten Zeitraum signifikante Unterschiede in der Mortalität bei Tumorerkrankungen zwischen den Bewohnern von Gebieten mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung und jenen von Gebieten mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung aufgetreten sind. Getrennt nach Geschlecht und den einzelnen Wohngebieten hat die Studie unter besonderer Berücksichtigung der in der einschlägigen Literatur dargestellten Lokalisationen (Gehirn, Schilddrüse, Magen, Lunge, Gebärmutter, Eierstöcke, Brust, Prostata, Nieren, Pankreas, Non-Hodgkin-Lymphom, Leukämie) somit keine statistisch signifikanten Unterschiede bei der Mortalität von Tumorerkrankungen zwischen den Einwohnern von Gebieten mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung und den Einwohnern von Gebieten mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung verzeichnet. Sämtliche Daten finden sich in den beigefügten, nach Code aufgeschlüsselten Tabellen.

TABELLE TUMORREGISTER

ANLAGE 2 MORTALITÄT

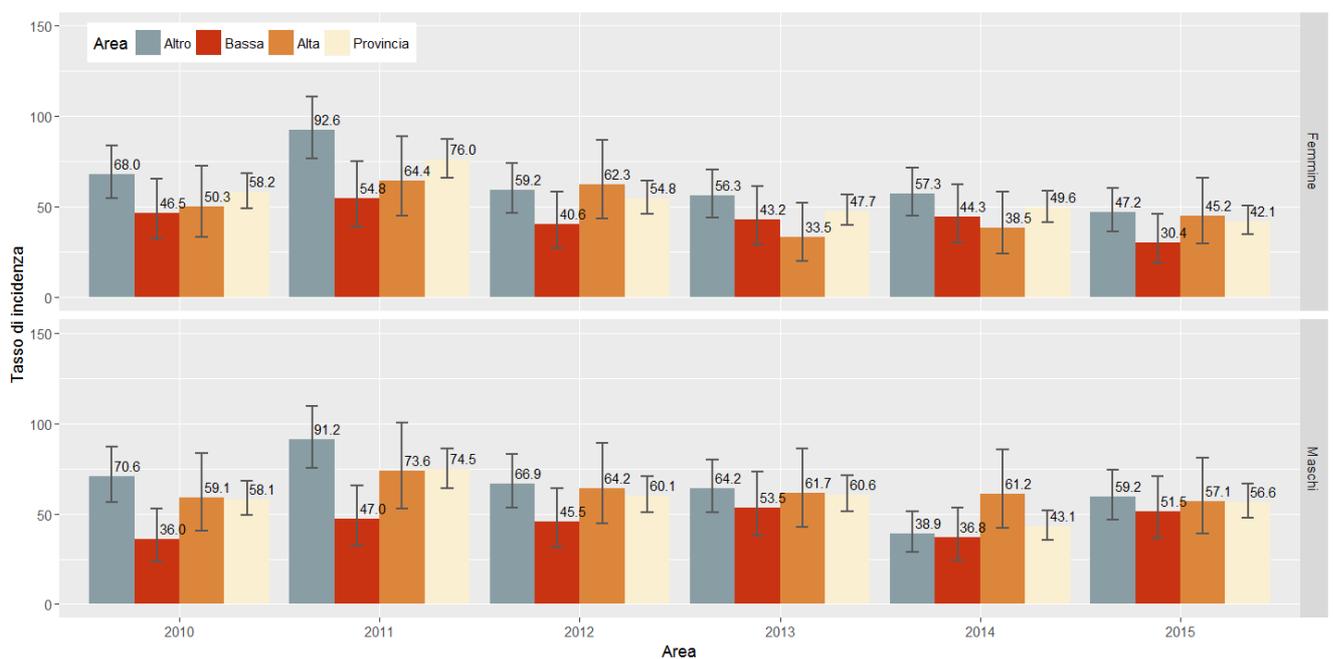
## Inzidenz von anderen Erkrankungen - Daten der Epidemiologischen Beobachtungsstelle (Beobachtungsstelle für Gesundheit)

Wie im Studiendesign vorgesehen, wurden auch andere Erkrankungen (Nicht-Tumorerkrankungen) untersucht, die in der Literatur als mögliche Folgen von Belastungen durch Pflanzenschutzmittel genannt werden. Wie bei der Bewertung der Inzidenz von Tumorerkrankungen, wurden die standardisierten Inzidenzraten (EU-Bevölkerung) für die verfügbaren Zeiträume miteinander verglichen.

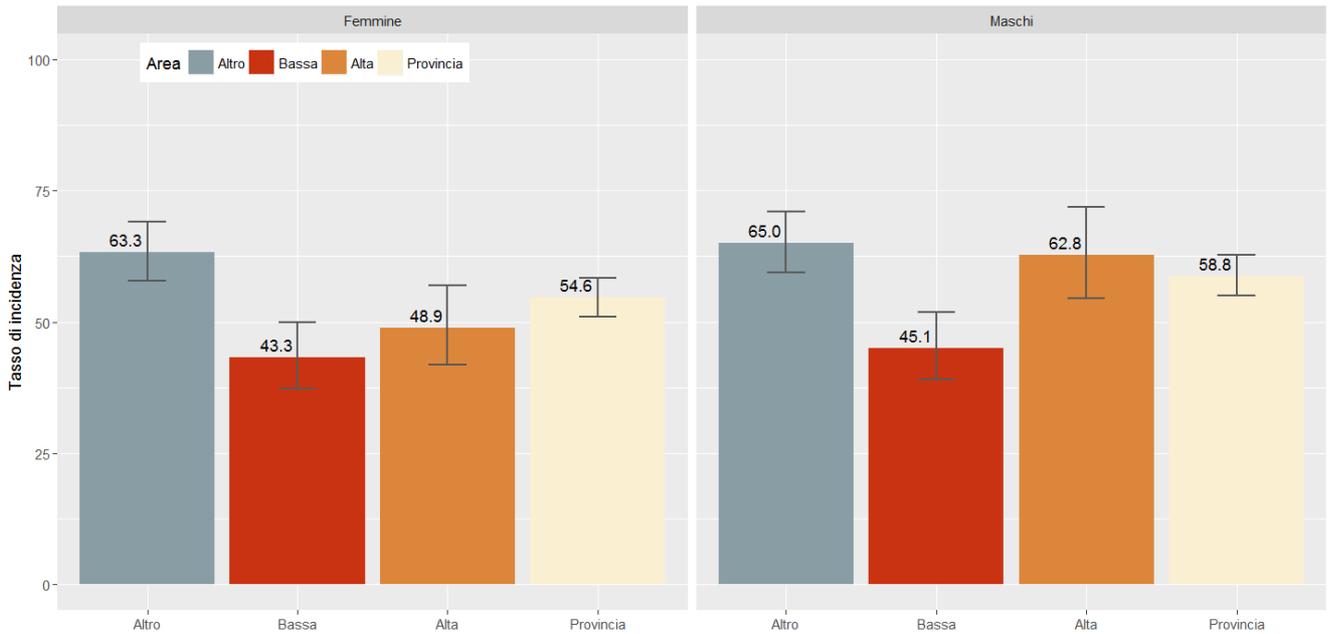
Insbesondere wurden die folgenden Krankheiten untersucht:

### Parkinson.

Inzidenzrate pro Jahr



## Inzidenzraten im Zeitraum 2010-2015



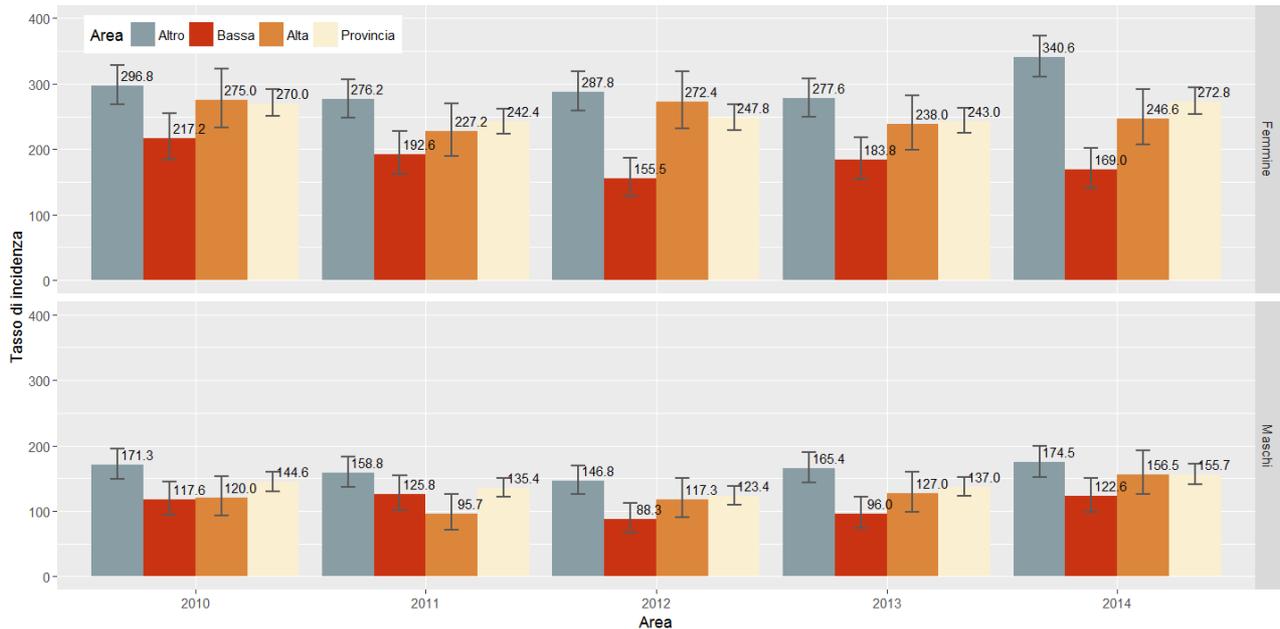
Die Analyse zeigt, dass die Inzidenz von Parkinsonerkrankungen im Zeitraum 2010-2015 bei den männlichen Bewohnern im Gebiet mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zum Gebiet mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung signifikant erhöht ist ( $p < 0.001$ ), während bei den Frauen die Differenz nicht statistisch signifikant ist.

Dieses Ergebnis wird jedoch anhand zweier Betrachtungen bewertet:

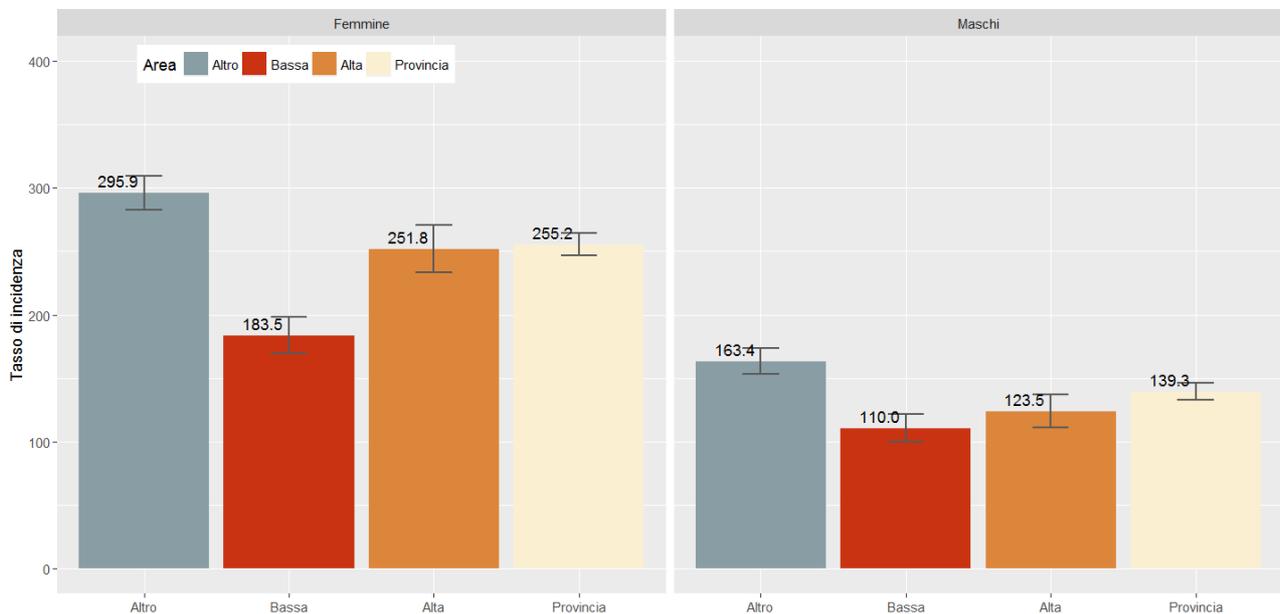
1. Die Inzidenz in der Gruppe "Andere Gemeinden" ist für beide Geschlechter signifikant höher als die Inzidenz in den Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung. Darüber hinaus wurden bei den männlichen Personen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen dem Bereich mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung und dem Bereich "Andere Gemeinden" festgestellt, während bei den weiblichen Personen im Bereich "Andere Gemeinden" eine höhere Inzidenz als in den Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung beobachtet wurde. Diese Daten suggerieren, dass die Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zum Rest der Provinz eine niedrigere Inzidenz aufweisen, und nicht die Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung eine erhöhte Inzidenz aufweisen.
2. Die für die Studie verwendeten Daten zur Inzidenz von Parkinson-Erkrankungen stammen nicht aus einem entsprechenden Register (das in Südtirol nicht existiert), stattdessen basieren sie auf einer Schätzung, die mittels einer Zusammenschau diverser Informationsquellen aus dem Gesundheitswesen (Freistellungen für diese Krankheit, Krankenhausaufenthalte mit dieser Diagnose, Verbrauch spezieller Arzneien etc.) vorgenommen wurde. Während dieses Verfahren einerseits Hinweise auf die Ausmaße dieses Phänomens in Südtirol liefert, so kann andererseits der fehlende Ad-Hoc-Informationsfluss zu einer Verzerrung der Vollständigkeit und der diagnostischen Genauigkeit führen.

## Alzheimer und Demenz.

### Inzidenzrate pro Jahr



### Inzidenzraten im Zeitraum 2010-2014



Die Analyse zeigt, dass die Inzidenz von Alzheimer- und Demenzerkrankungen im Zeitraum 2010-2014 bei den weiblichen Bewohnern im Gebiet mit intensiver landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zum Gebiet mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung signifikant erhöht ist. Bei den männlichen Personen ist die Differenz nicht statistisch signifikant. Auch bei dieser Krankheit werden die Ergebnisse aufmerksam interpretiert, wobei dieselben Betrachtungen bewertet werden wie in den obigen Punkten 1 und 2.

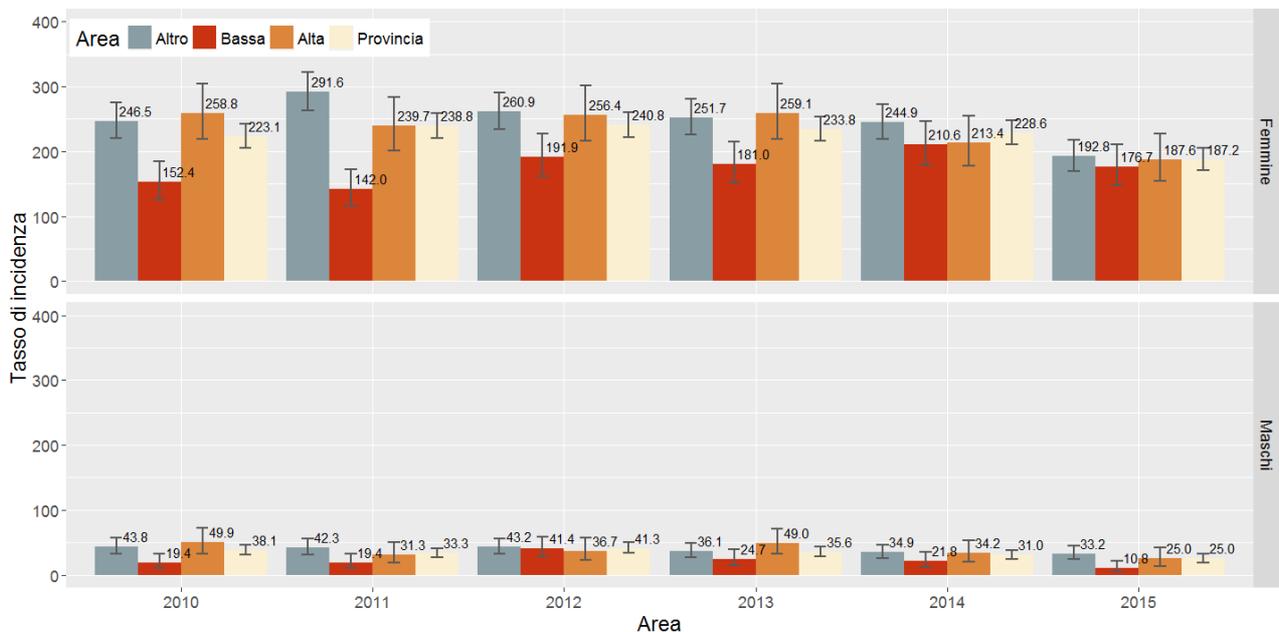
Die Inzidenz von Alzheimer und Demenz in der Gruppe "Andere Gemeinden" ist für beide Geschlechter signifikant höher als die Inzidenz sowohl in den Gemeinden mit niedriger

landwirtschaftlicher Nutzung als auch in den Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung. Diese Daten suggerieren, dass die Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung im Vergleich zum Rest der Provinz eine niedrigere Inzidenz aufweisen, und nicht die Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung eine erhöhte Inzidenz aufweisen

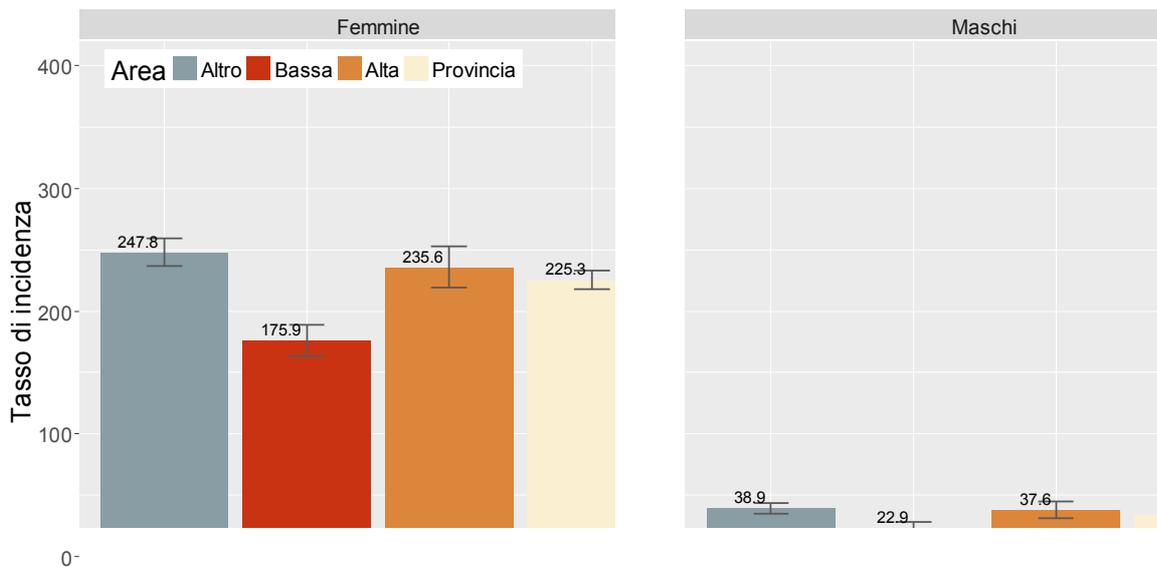
Die für die Studie verwendeten Daten zur Inzidenz von Alzheimer- und Demenzerkrankungen stammen nicht aus einem entsprechenden Register (das in Südtirol nicht existiert), stattdessen basieren sie auf einer Schätzung, die mittels einer Zusammenschau diverser Informationsquellen aus dem Gesundheitswesen (Freistellungen für diese Krankheit, Krankenhausaufenthalte mit dieser Diagnose, Verbrauch spezieller Arzneien etc.) vorgenommen wurde. Während dieses Verfahren (das das Phänomen auf einer Karte darstellt) einerseits Hinweise auf die Ausmaße dieses Phänomens in Südtirol liefert, so kann andererseits der fehlende Ad-Hoc-Informationsfluss zu einer Verzerrung der Vollständigkeit und der diagnostischen Genauigkeit führen.

## Autoimmunthyreopathie

Inzidenzraten pro Jahr - Hashimoto



## Inzidenzraten im Zeitraum 2010-2015

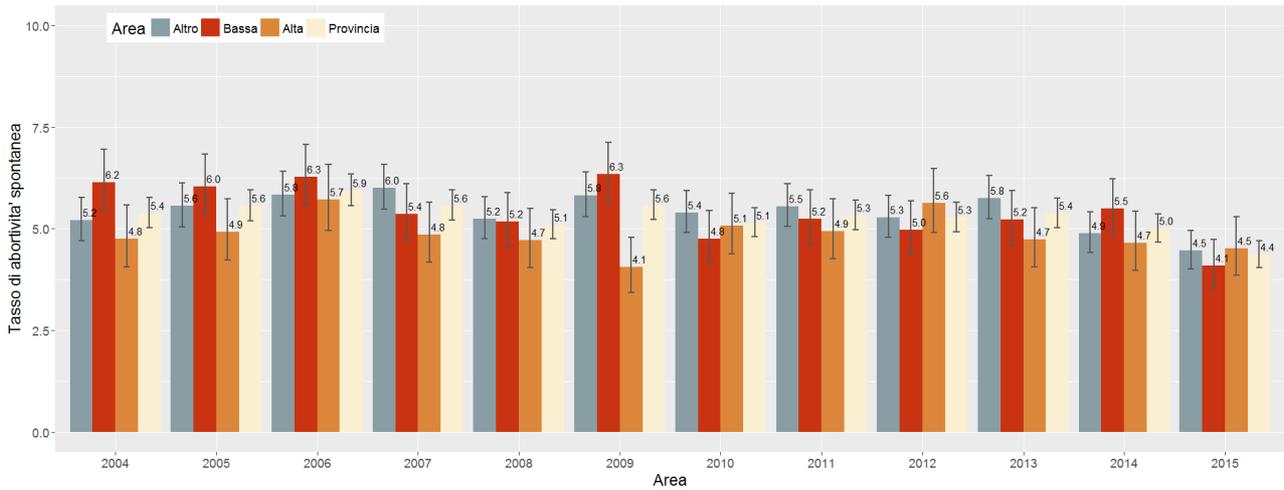


Die Autoimmunthyreopathie Hashimoto zeichnet sich durch eine chronische lymphozytäre Infiltration aus, die oft zu einer progressiven und irreversiblen Schilddrüsenunterfunktion führt. Hashimoto ist die häufigste Schilddrüsenerkrankung und die häufigste Ursache für eine Hypothyreose (Unterfunktion der Schilddrüse). Bei den Frauen beträgt die Inzidenz 3,5 Fälle je 1000 Einwohner im Jahr, bei den Männern hingegen tritt die Krankheit weniger häufig auf (0,8 Fälle je 1000 Einwohner im Jahr). Bei der fibrösen Form der Hashimoto-Thyreoiditis ist die unterschiedliche Verteilung über die Geschlechter weniger offensichtlich.

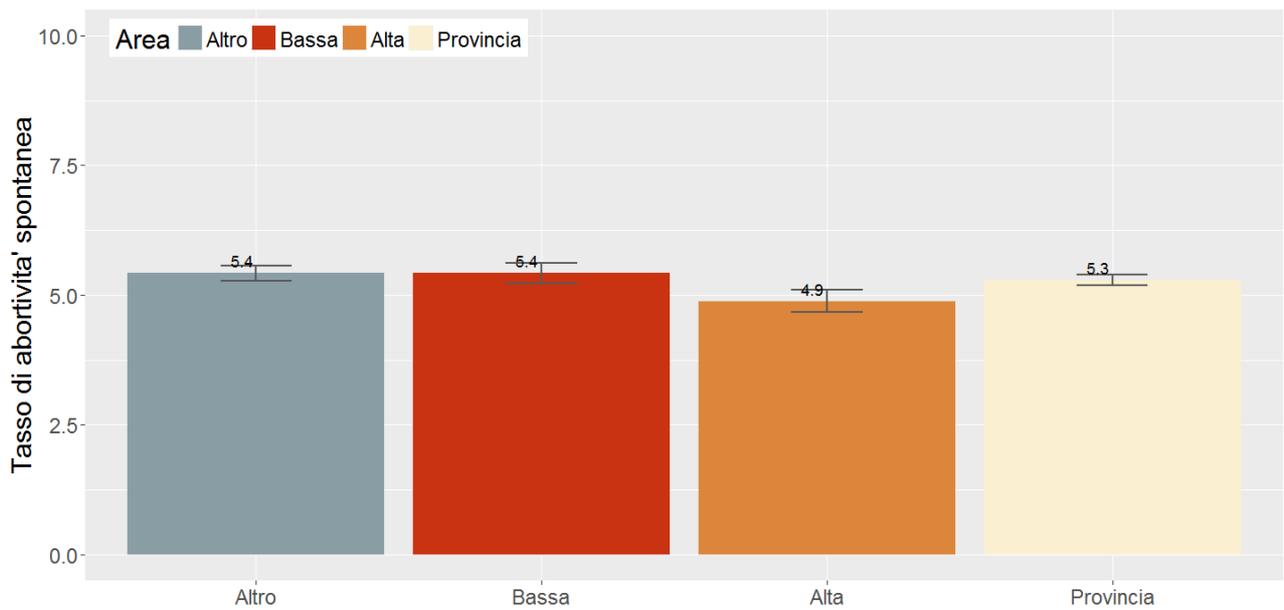
Verglichen mit den Gemeinden mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung ist die für die Jahre 2010-2015 berichtete durchschnittliche Inzidenzrate der Autoimmunthyreopathie (Hashimoto) bei beiden Geschlechtern in den Gemeinden mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung signifikant höher. Bezieht man jedoch auch die für die gesamte Provinz und für die Gruppe der "Anderen Gemeinden" berichteten Werte in den Vergleich ein, in denen die Inzidenz gegenüber dem Bereich mit intensiver landwirtschaftlicher Nutzung sowieso höher ist, scheint der Bereich mit niedriger landwirtschaftlicher Nutzung im Allgemeinen für beide Geschlechter eine niedrigere Inzidenz zu verzeichnen. Dieser Sachverhalt spricht für die Präsenz anderer möglicher, nicht in dieser Studie enthaltener Faktoren, die eine chronische Entzündung der Schilddrüse induzieren und schließlich zu einer Hashimoto-Thyreopathie führen.

## Spontane Fehlgeburten

Häufigkeit der spontanen Fehlgeburten im Zeitraum 2004-2014



## Häufigkeit der spontanen Fehlgeburten im Zeitraum 2004-2014



Im Zeitraum 2004-2014 ist die Inzidenz von spontanen Fehlgeburten in der Region mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung statistisch niedriger.

## Sonstige Risiken

### Frühgeburten

Logistic Regression

Number of obs = 56351  
LR chi2(10) = 117.89  
Prob > chi2 = 0.0000  
Pseudo R2 = 0.0039

Log likelihood = -14991.432

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
age_group						
20-25	.8223612	.156441	-1.03	0.304	.5664155	1.193961
26-29	.8761874	.1641678	-0.71	0.481	.606891	1.264979
30-34	.9888583	.1833595	-0.06	0.952	.6875427	1.422225
35-39	1.226363	.2295324	1.09	0.276	.8497748	1.769841
40+	1.473749	.2842661	2.01	0.044	1.009807	2.150843
area						
<b>Hoch</b>	<b>1.014067</b>	<b>.0448192</b>	<b>0.32</b>	<b>0.752</b>	<b>.9299201</b>	<b>1.105828</b>
Other	.9231336	.0345979	-2.13	0.033	.8577538	.9934969
yrL	.9701077	.0154058	-1.91	0.056	.9403779	1.000777
yrQ	1.01202	.0161373	0.75	0.454	.9808804	1.044148
yrC	.9554885	.0152284	-2.86	0.004	.9261027	.9858068
_cons	.0834196	.0154625	-13.40	0.000	.0580084	.1199624

### Neugeborene mit Untergewicht

Logistic Regression

Number of obs = 56351  
LR chi2(10) = 113.63  
Prob > chi2 = 0.0000  
Pseudo R2 = 0.0040

Log likelihood = -14123.031

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
age_group						
20-25	.8632298	.1744759	-0.73	0.467	.5808736	1.282836
26-29	.9021975	.1797447	-0.52	0.605	.6105438	1.333173
30-34	1.068403	.2106248	0.34	0.737	.7259881	1.57232
35-39	1.288076	.2562564	1.27	0.203	.8721657	1.902321
40+	1.522908	.3119856	2.05	0.040	1.019283	2.275371
area						
Hoch	.9164995	.0421957	-1.89	0.058	.837419	1.003048
Other	.8687447	.0334598	-3.65	0.000	.8055788	.9368635
yrL	1.011862	.0168028	0.71	0.478	.9794588	1.045336
yrQ	.9922985	.0165018	-0.46	0.642	.9604769	1.025174
yrC	.9535696	.0158492	-2.86	0.004	.9230063	.985145
_cons	.0759154	.0149557	-13.09	0.000	.0515988	.1116917

## Neugeborene mit sehr starkem Untergewicht

Logistic Regression

Log likelihood = -3184.199

Number of obs = 56351  
 LR chi2(10) = 30.14  
 Prob > chi2 = 0.0008  
 Pseudo R2 = 0.0047

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
age_group						
20-25	1.889467	1.3606	0.88	0.377	.4606716	7.749743
26-29	1.736454	1.243317	0.77	0.441	.4267711	7.065312
30-34	2.14469	1.526705	1.07	0.284	.5314149	8.655563
35-39	2.631761	1.88137	1.35	0.176	.6482569	10.68429
40+	3.211493	2.326206	1.61	0.107	.7765142	13.28203
area						
Hoch	1.069492	.1224261	0.59	0.557	.854554	1.338492
Other	.9091419	.0900849	-0.96	0.336	.7486657	1.104016
yrL						
yrQ	.9597617	.0394867	-1.00	0.318	.8854074	1.04036
yrC	1.059145	.0441145	1.38	0.168	.976117	1.149235
_cons	.9019167	.0376131	-2.48	0.013	.8311288	.9787336
	.0048601	.0034592	-7.48	0.000	.0012044	.0196109

## Totgeburten

Logistic Regression

Log likelihood = -930.98146

Number of obs = 56351  
 LR chi2(8) = 12.76  
 Prob > chi2 = 0.1204  
 Pseudo R2 = 0.0068

y	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
age_group						
26-29	1.669226	.5890779	01:45	0.147	.8358377	3.33356
30-34	1.639151	.5396495	01:50	0.133	.8597701	3.125042
35-39	1.828516	.6350433	1.74	0.082	.9257133	3.611777
area						
Hoch	.7449703	.1801929	-1.22	0.224	.4637148	1.196815
Other	.760077	.1490129	-1.40	0.162	.5175827	1.116183
yrL						
yrQ	1.072898	.0894815	0.84	0.399	.9111014	1.263427
yrC	1.123164	.0955858	1.36	0.172	.9506103	1.32704
_cons	.8306847	.0716361	-2.15	0.031	.701505	.9836524
	.0017363	.0005646	-19.55	0.000	.000918	.003284



AUTONOME PROVINZ  
BOZEN – SÜDTIROL



PROVINCIA AUTONOMA  
DI BOLZANO – ALTO ADIGE

PROVINZIA AUTONOMA DE BULSAN – SUDTIROL

Südtiroler  
Sanitätsbetrieb



Azienda Sanitaria  
dell'Alto Adige

Azienda Sanitera de Sudtiroi

# **STUDIE ZUR ÜBERPRÜFUNG DER AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE MENSCHLICHE GESUNDHEIT IN DER PROVINZ BOZEN**

**ERKENNTNISSTUDIE ÜBER DIE FREISETZUNG IN DIE  
UMWELT VON CHLORPYRIFOS: BEWERTUNG DER BERUFLICH  
EXPONIERTE BEVÖLKERUNG-LANDWIRTE**

DEPARTMENT FÜR GESUNDHEITSVORSORGE  
BETRIEBLICHE SEKTION FÜR UMWELTMEDIZIN

Das Modul II verfolgt das allgemeine Ziel einen Wissensbeitrag zur Belastung durch den in diversen Pflanzenschutzmitteln enthaltenen Wirkstoff Chlorpyrifos zu leisten, die sich direkt aus dem Einsatz seitens der belasteten professionellen Anwender ergibt, der Landwirte; anschließend wird das mögliche Phänomen einer Abdrift untersucht, das die Einwohnerschaft in der Nähe der behandelten Gebiete betrifft.

## **Chlorpyrifos, CP**

### **Anwendung**

Bei Chlorpyrifos handelt es sich um ein organophosphorhaltiges Insektizid, das in der Landwirtschaft und für den Hausgebrauch zugelassen ist.

Dieser Wirkstoff wird in der Provinz Bozen vor allem zur Bekämpfung der Apfeltriebsucht, einer Quarantäne-Pflanzenkrankheit, eingesetzt. Die von dieser Krankheit betroffenen Gemeinden liegen vor allem im Burggrafenamt und im Untervinschgau; somit befinden sich die in diese Studie eingeschlossenen Gemeinden genau in dieser Zone. Seit 2005 musste man ein starkes Wachstum bei der Anzahl der befallenen Pflanzen verzeichnen, derzeit ist eine direkte Bekämpfung der Apfeltriebsucht nicht möglich. Deshalb ist die Umsetzung präventiver Maßnahmen gegen den Überträger dieser Krankheit, den Blattsauger "Cacopsylla", wichtig. Die typischen Symptome der Krankheit sind eine Anhäufung der Triebe in Form eines Besens ("Besenwuchs") und längliche Blätter.

Im Mai 2006 hat die Landesregierung der Provinz Bozen ein Programm beschlossen, das die Pflicht einer systematischen Ausrottung von symptomatischen Pflanzen als eine der Maßnahmen vorsieht, die geeignet sind eine Ausbreitung dieser Pflanzenkrankheit zu begrenzen.

### **Gesundheitsrisiken und neurotoxische Effekte**

Die Neurotoxizität dieses Wirkstoffs wird traditionell mit einer Aktivitätshemmung des Enzyms Acetylcholinesterase (AChE) assoziiert, die für die Deaktivierung des Neurotransmitters Acetylcholin sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem verantwortlich ist. Im Jahre 2001 hat die Umweltschutzbehörde der USA aufgrund der potentiellen erhöhten neurotoxischen Wirkung auf den sich entwickelnden Organismus starke Einschränkungen bei der Benutzung von CP eingeführt.

Sobald die Substanz mit den Lebensmitteln, über die Haut oder die Atemwege in den menschlichen Organismus eingedrungen ist, lässt sich das CP nach erfolgter Metabolisierung im Urin nachweisen, und zwar als 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol (TCPy), TCPy-Glucuronat und TCPy-Sulfat. Die CP-Belastung eines Menschen kann somit durch eine biologische Überwachung der TCPy-Konzentration im Urin bestimmt werden.

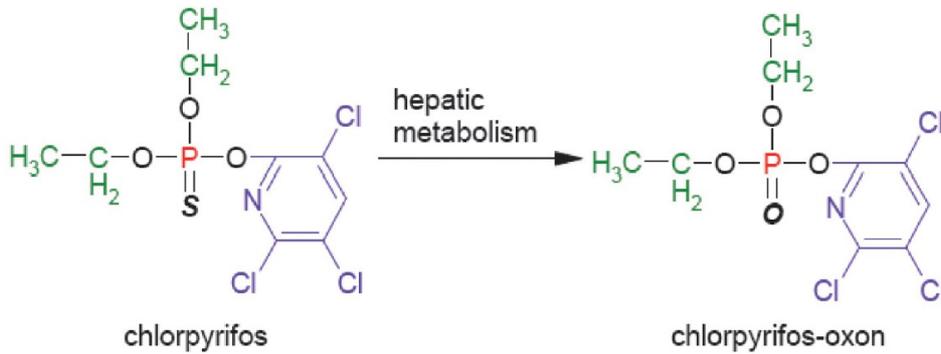
### **Zulassung auf europäischer Ebene**

Die Richtlinie 2005/72/EG der Kommission vom 21. Oktober 2005 schließt den Wirkstoff Chlorpyrifos in Anlage 1 der Richtlinie 91/414/EWG ein um zu gewährleisten, dass Pflanzenschutzmittel, die diese Substanz enthalten, in allen Mitgliedstaaten in Übereinstimmung mit den Bestimmungen zugelassen werden können.

Chlorpyrifos wird am 1. Juli 2006 zur Benutzung zugelassen, der Ablauf der Zulassung ist für den 31. Januar 2018 festgelegt.

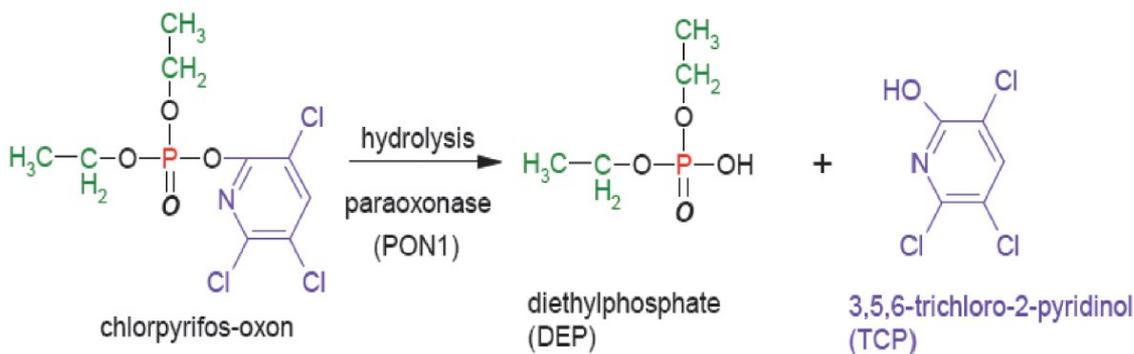
## Stoffwechsel des CP

Die chemische Reaktion, die sich im menschlichen Organismus vollzieht, ist eine Transformation der Doppelbindung des zentralen Phosphoratoms, das den Schwefel verliert und sich an den Sauerstoff bindet. Diese metabolische Reaktion findet in der Leber statt und führt zu einer metabolischen Aktivierung von CP in CP-oxon, welches für das Nervensystem schädlicher ist als CP selbst.



## Entgiftungsreaktion: 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol, TCP

CP oder CP-oxon ist selten in Körperflüssigkeitsproben (Urin) zu finden; während der metabolischen Entgiftungsreaktion durch Hydrolyse bildet sich das 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol (TCP) als Hauptmetabolit des CP-oxon. Dieses wird fast ausschließlich, zu 90%, mit dem Urin ausgeschieden, und das haben wir in der Studie analysiert.



## **II. ERKENNTNISSTUDIE ZUR ANWENDUNG VON CHLORPYRIFOS: BEWERTUNG DER BERUFLICH BELASTETEN BEVÖLKERUNG-LANDWIRTE**

Das Modul II verfolgt das allgemeine Ziel einen Wissensbeitrag zur Belastung von Arbeitern, die in einer Zone mit hoher landwirtschaftlicher Nutzung beruflich durch Pflanzenschutzmittel belastet sind (Landwirte). In Besonderen soll das Absorptionsniveau der Pflanzenschutzmittel mithilfe einer Metabolitenbestimmung in der biologischen Matrix, dem Urin, in einer speziellen Personengruppe quantifiziert werden. Die Untersuchung der biologischen Matrix (Urin) erfolgt durch die Bestimmung des vom Wirkstoff des Chlorpyrifos (CP) generierten Metabolits und beurteilt, ob die Belastung durch Chlorpyrifos während der Spritzzeit variiert.

Der vorher beschriebene Metabolit TCP wird in zwei verschiedenen Zeiträumen des landwirtschaftlichen Jahres erforscht:

1. In einem Zeitraum, der mit den speziellen Behandlungen mit CP-haltigen Pflanzenschutzmitteln zusammenfällt; von Mai bis Mitte Juni.
2. In einem behandlungsfernen Zeitraum mit dem Ziel, eine eventuelle Präsenz der analysierten Substanz auch bei fehlender Belastung durch die Behandlungen zu belegen, im Winter.

### **VERSUCHSDESIGN UND BESCHREIBUNG DER STUDIENTEILNEHMER**

Die Auswahl der Teilnehmer und die Probenentnahmen fanden im Zeitraum zwischen dem 14. Mai 2014 und dem 25. Februar 2015 statt.

Für die Studie wurden Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Bereich rekrutiert, die in den Gemeinden Kastelbell-Tschars, Latsch, Marling, Naturns und Tirol leben.



Die Teilnehmer wurden anhand eines Verzeichnisses ausgewählt, das vom Assessorat für Landwirtschaft und vom Bauernbund zur Verfügung gestellt wurde und diverse Angaben enthielt, wie z.B. die Heimatgemeinde, die Adresse, das Geburtsdatum und die Betriebsfläche (> 4 Hektar). Eine weitere Auswahl wurde anhand eines Fragebogens getroffen, mit dessen Hilfe die Landwirte ausgesucht wurden, die mindestens 70% der Spritzbehandlungen mit Pflanzenschutzmitteln persönlich durchführen und deren Wohnort dem Ort des landwirtschaftlichen Betriebes und des Lagers für die Pflanzenschutzmittel entspricht.

Eine weitere Teilnehmersauswahl fand nach der Besichtigung an Ort und Stelle durch die Sektion Umweltmedizin des Südtiroler Sanitätsbetriebs statt.

In allen Fällen war die Teilnahme freiwillig, alle Teilnehmer haben die Einwilligungserklärung unterschrieben.

Der erste Teil der Probenentnahme fand während der Behandlungssaison mit Chlorpyrifos im Rahmen der obligatorischen Bekämpfung der Quarantäne-Krankheiten statt, und zwar im Zeitraum zwischen dem 14. und dem 29. Mai 2014.

Der zweite Teil der Probenentnahme wurde in der Wintersaison durchgeführt, d.h. außerhalb der Chlorpyrifos-Spritzsaison, nämlich zwischen dem 21. Januar und dem 24. Februar 2015.

Der zweite Morgenurin eines jeden Teilnehmers wurde in einem 100 ml-Behälter gesammelt. Die gekühlte Probe wurde noch am Tag der Probenentnahme an die Biobank des Zentrums für Biomedizin in Bozen geliefert. In der Biobank wurden alle Urinproben in 12 Anteile von jeweils 220 µL aufgeteilt, bevor sie bei -80°C konserviert wurden.

Die jeweilige Teilnehmeranzahl unter Berücksichtigung der Saison, in der die Probe entnommen wurde, und der ländliche Herkunftsort sind in Tabelle 1 dargestellt. Sämtliche Teilnehmer wurden gebeten einen Fragebogen zur Erfassung der demografischen Daten und der Informationen zum Lebensstil auszufüllen, z.B. zum Nikotin- und Alkoholkonsum, zur Medikamenteneinnahme sowie zu weiteren möglichen Quellen einer Belastung mit Chlorpyrifos, wie etwa die Verwendung von Produkten zur häuslichen Schädlingsbekämpfung, zur Schädlingsbekämpfung bei Haustieren oder gegen Läuse. Das Modell des in der Studie verwendeten Fragebogens ist diesem Bericht als Anlage beigefügt.

Tabelle 1. Aufteilung der Teilnehmeranzahl nach Saison, in der die Probe entnommen wurde, und Herkunftsort

		Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Sektor Ländliches Gebiet	
Saison		Keine Behandlung	Behandlung
Gemeinde	Kastelbell-Tschars	6	7
	Latsch	7	7
	Naturns	5	6
	Tirol	2	2
	Marling	5	6
	Insgesamt	25	28

## ENTWICKLUNG UND VALIDIERUNG DES ANALYTISCHEN VERFAHRENS ZUR MASSENSPEKTROMETER-BASIERTEN TCPy MESSUNG

Das TCPy wurde mithilfe einer Methode gemessen, die auf einem Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-System gekoppelt an ein Tandem-Massenspektrometer (UHPLC-MS/MS) basiert.

Die Methode wurde im Zentrum für Biomedizin (Centro di Biomedicina, CBM) des Forschungszentrums Eurac Research entwickelt und umfasst eine erste Passage, in der eine Hydrolyse der Glucuronsäurereste durch enzymatische Inkubation mit  $\beta$ -Glucuronidase bewirkt wird. Das freie TCPy wird in der Folge durch eine Festphasenextraktion extrahiert. Die so gewonnenen Extrakte werden anschließend mit einem UHPLC-MS/MS-Verfahren analysiert.

Die entwickelte Methode wurde unter Beachtung der folgenden Richtlinien sukzessiv validiert: "European Medicines Agency Guidelines of Bioanalytical Validation" und "Food and Drug Administration Guidance of Bioanalytical Validation". Diese Richtlinien gelten für die Validierung von bioanalytischen Proben sowohl im klinischen Bereich als auch in der Forschung. Sie basieren auf der Validierung diverser spezifischer Parameter, z.B. Genauigkeit, Präzision, Trennschärfe, Sensibilität und Reproduzierbarkeit einer analytischen Methode. Damit eine Methode als validiert gilt, muss jeder dieser Parameter eine Reihe von Akzeptanzkriterien erfüllen. Darüber hinaus hat das CBM aus Gründen der Komplexität der Urinmatrix und möglicher Einflüsse auf das analytische Signal des Metaboliten auch weitere Experimente durchgeführt, um den Matrixeffekt zu bewerten. Alle Kriterien, die zur vollständigen Validierung der Methode erforderlich waren, wurden erfüllt.

Die Reproduzierbarkeit der Methode wurde außerdem durch die unabhängige Analyse derselben Proben in einem zweiten, auf Umweltbelastungsmessungen spezialisierten Labor kontrolliert (Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstr. 25 und 29, 91054 Erlangen). Die Messungen im zweiten Labor wurden im Gegensatz zu der Gerätekonfiguration des CBM mit einer auf Gaschromatographie-Massenspektrometrie

basierenden Methode durchgeführt. Die beiden absoluten TCPy-Messwerte zeigen eine hohe Korrelation (Pearson-Korrelationskoeffizient = 0.95, mit einem erfassten Konfidenzintervall von 93.2% bis 96.2%) und einer guten Konkordanz (Lin-Koeffizient = 82% mit einem erfassten 95% Konfidenzintervall von 79% bis 85%).

Die resultierenden TCPy-Werte wurden mithilfe der Kreatininkonzentrationen im Urin normalisiert. Die Kreatinin-Werte wurden im Zentrallabor des Krankenhauses Bozen gemessen.

### STATISTISCHE ANALYSE

Es wurde eine deskriptive Datenanalyse durchgeführt, um die Verteilung der Proben zusammenzufassen und grafisch darzustellen. Die Ausreißerproben (anormalen Werte) der an der Studie teilnehmenden Gruppen wurden mithilfe von Boxplots ermittelt. Diese Ausreißerproben (anormalen Werte) wurden durch Anwendung der Interquartilabstandsregel ermittelt. Diese Methode setzt für die "Akzeptabilität" eine Obergrenze voraus. Proben deren Messwert außerhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstandes lagen wurden als Ausreißerproben klassifiziert und entfernt.

Aufgrund der geringen Fallzahl und der asymmetrischen Verteilung wurde für den Vergleich der Gruppen (während der Behandlung und behandlungsfrem) der nichtparametrische Wilcoxon Test verwendet (Signifikanzlevel  $\alpha = 0.05$ ).

### ERGEBNISSE

Die Eigenschaften der Studienteilnehmer sind in Tabelle 2 aufgelistet. Insgesamt wurden zwei der Messwerte während der Chlorpyrifos-Behandlungssaison als Ausreißer identifiziert und von der weiteren Datenanalyse ausgeschlossen.

Während der Chlorpyrifos-Spritzsaison wiesen die Arbeiter höhere TCPy-Pegel im Urin als außerhalb der Saison auf. (Abbildung 1 und Tabelle 3). Tatsächlich belief sich der geometrische Mittelwert des TCPy während der Spritzsaison auf 7.16  $\mu\text{g}$  pro g Kreatinin und sank außerhalb der Spritzsaison auf 2.56 pro g Kreatinin (Tabelle 3).

Dieser Anstieg der TCPy Konzentration während der Chlorpyrifos-Spritzsaison war statistisch signifikant ( $p\text{-value} = 1.2 \times 10^{-10}$ ).

Die statistische Auswertung der Risikofaktoren, die die TCPy-Werte möglicherweise beeinträchtigen könnten, z.B. der Lebensstil (Nikotin-, Alkohol- oder Medikamentenkonsum) und die Benutzung von Schädlingsbekämpfungsmitteln hat keinen statistisch signifikanten Auswirkungen auf die TCPy-Gehalte gezeigt.

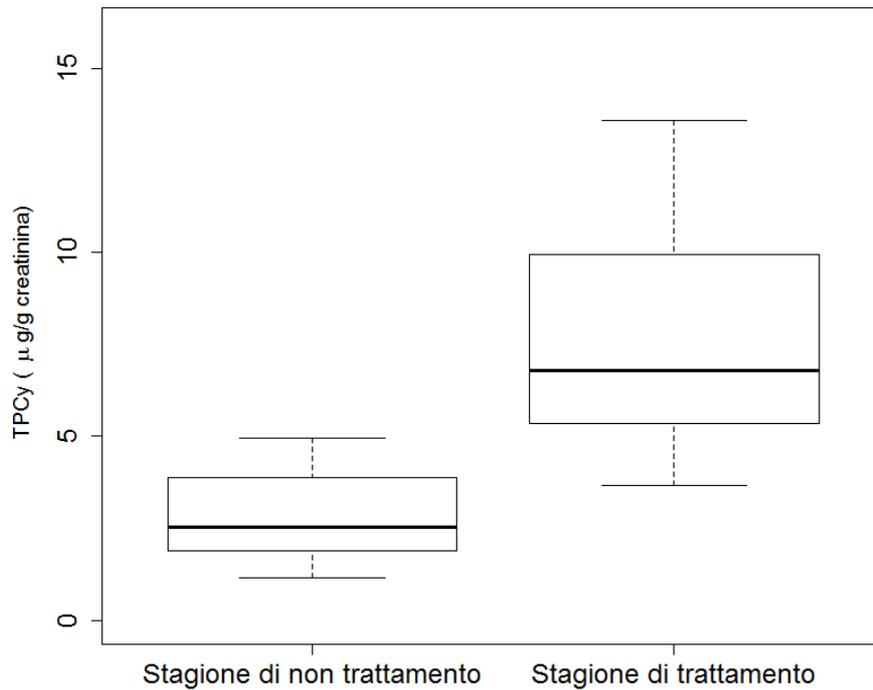
**Tabelle 2.** Beschreibung der Teilnehmer

	Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Sektor (n=23)	
	Außerhalb der Spritzsaison	Während der Spritzsaison
<b>Demografische Merkmale</b>		
Alter, median (min-max)	49 (23-63)	49 (23-63)
<b>Belastungen*</b>		
Nikotinkonsum (%)	1 (4%)	1 (4%)
Alkoholkonsum (%)	2 (7%)	1 (4%)
Medikamentenkonsum (%)	8 (29%)	5 (18%)

\*Die Belastungen sind als zum Zeitpunkt der Untersuchung zu verstehen

**Abbildung 1.** Verteilung der TCPy-Konzentration

**Lavoratori settore agricolo**



**Tabelle 3.** Zusammenfassung der statistischen Analyse

	<b>Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Sektor (n=23)</b>	
<i>TCPy</i> (µg/g Kreatinin)	<b>Außerhalb der Spritzsaison</b>	<b>Während der Spritzsaison</b>
<b>Mittel</b>	2.76	7.73
<b>Standardabweichung</b>	1.08	3.06
<b>Median</b>	2.54	6.8
<b>Mindestwert</b>	01:16	3.67
<b>Höchstwert</b>	4.96	13:59
<b>Geometrischer Mittelwert</b>	02:56	7.16

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Studie zeigt, dass:

1. Die durch Chlorpyrifos belasteten Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Sektor während der Pestizid-Spritzsaison höhere TCPy Konzentrationen aufweisen als außerhalb dieser Saison.
2. Der registrierte geometrische Mittelwert von TCPy außerhalb der Pestizid-Behandlungs-Saison lag bei 2.6 µg/g Kreatinin. Dieser Wert stimmt mit den Daten der in Tabelle 4<sup>2-5</sup> beschriebenen wissenschaftlichen Literatur überein.
3. Die Ergebnisse der Studie bleiben auch dann unverändert, wenn man andere mögliche Quellen einer Chlorpyrifos-Belastung in Betracht zieht.
4. Dennoch empfehlen wir in künftigen Studien auch zusätzliche Quellen einer möglichen Belastung zu berücksichtigen, die in diesem Projekt nicht speziell berücksichtigt wurden, z.B. die Ernährung; wie in der Literatur dargestellt, kann eine vegetarische Ernährung die TCPy-Gehalte im Urin durchaus beeinflussen<sup>4</sup>.

**Tabelle 4.** In anderen Studien berichtete TCPy-Gehalte im Urin.

<b>Land, Provinz</b>	<b>Statistik</b>	<b>TCPy (µg/g Kreatinin)</b>	<b>Publikation</b>
Italien, Südtirol	Geometrischer Mittelwert	2,6	Aktuelle Studie
Italien, Trentino	Geometrischer Mittelwert	2,8	Aprea et al. <sup>1</sup>
USA	Geometrischer Mittelwert	1,6	Barr et al. <sup>2</sup>
Spanien (Kinder)	Geometrischer Mittelwert	3,4	Roca et al. <sup>3</sup>
Israel (Vegetarier)	Geometrischer Mittelwert	5,2	Berman et al. <sup>4</sup>
Israel (Nicht-Vegetarier)	Geometrischer Mittelwert	2,8	Berman et al. <sup>4</sup>
Deutschland	Arithmetisches Mittel	2,2	Koch et al. <sup>5</sup>

## REFERENZEN

1. Aprea. *AOAC Int.* 1999; 82(2):305-12.
2. Barr. *Environ Res.* 2005; 99(3):314-26.
3. Roca. *Environ Res.* 2014; 131:77-85.
4. Berman. *Environ Int.* 2016; 96:34-40.
5. Koch. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2001; 204:175-80.

AUTONOME PROVINZ  
BOZEN – SÜDTIROL



PROVINCIA AUTONOMA  
DI BOLZANO – ALTO ADIGE

---

PROVINZIA AUTONOMA DE BULSAN – SUDTIROL

Südtiroler  
Sanitätsbetrieb



Azienda Sanitaria  
dell'Alto Adige

Azienda Sanitera de Sudtiroi

# **STUDIE ZUR ÜBERPRÜFUNG DER AUSWIRKUNGEN VON PFLANZENSCHUTZMITTELN AUF DIE MENSCHLICHE GESUNDHEIT IN DER PROVINZ BOZEN**

**ERKENNTNISSTUDIE ÜBER DIE FREISETZUNG VON  
CHLORPYRIFOS IN DIE UMWELT: BEURTEILUNG DER  
BERUFlich NICHT EXPONIERTE BEVÖLKERUNG UND  
VERUNREINIGUNG DES HÄUSLICHEN UMFELDS**

DEPARTMENT FÜR GESUNDHEITSVORSORGE  
BETRIEBLICHE SEKTION FÜR UMWELTMEDIZIN

Das Modul III verfolgt das allgemeine Ziel, einen Wissensbeitrag zur Belastung von Einwohnern in der Nähe der gespritzten Areale durch den in diversen Pflanzenschutzmitteln enthaltenen Wirkstoff Chlorpyrifos infolge des möglichen Abdrift-Phänomens zu leisten.

## **Chlorpyrifos, CP**

### **Anwendung**

Bei Chlorpyrifos handelt es sich um ein organophosphorhaltiges Insektizid, das in der Landwirtschaft und für den Hausgebrauch zugelassen ist.

Dieser Wirkstoff wird in der Provinz Bozen vor allem zur Bekämpfung der Apfeltriebsucht, einer Quarantäne-Pflanzenkrankheit, eingesetzt. Die von dieser Krankheit betroffenen Gemeinden liegen vor allem im Burggrafenamt und im Untervinschgau; somit befinden sich die in diese Studie eingeschlossenen Gemeinden genau in dieser Zone. Seit 2005 musste man ein starkes Wachstum bei der Anzahl der befallenen Pflanzen verzeichnen, derzeit ist eine direkte Bekämpfung der Apfeltriebsucht nicht möglich. Deshalb ist die Umsetzung präventiver Maßnahmen gegen den Überträger dieser Krankheit, den Blattsauger "Cacopsylla", wichtig. Die typischen Symptome der Krankheit sind eine Anhäufung der Triebe in Form eines Besens ("Besenwuchs") und längliche Blätter.

Im Mai 2006 hat die Landesregierung der Provinz Bozen ein Programm beschlossen, das die Pflicht einer systematischen Ausrottung von symptomatischen Pflanzen als eine der Maßnahmen vorsieht, die geeignet sind eine Ausbreitung dieser Pflanzenkrankheit zu begrenzen.

### **Gesundheitsrisiken und neurotoxische Effekte**

Die Neurotoxizität dieses Wirkstoffs wird traditionell mit einer Aktivitätshemmung des Enzyms Acetylcholinesterase (AChE) assoziiert, die für die Deaktivierung des Neurotransmitters Acetylcholin sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem verantwortlich ist. Im Jahre 2001 hat die Umweltschutzbehörde der USA aufgrund der potentiellen erhöhten neurotoxischen Wirkung auf den sich entwickelnden Organismus starke Einschränkungen bei der Benutzung von CPF eingeführt.

Sobald die Substanz mit den Lebensmitteln, über die Haut oder die Atemwege in den menschlichen Organismus eingedrungen ist, lässt sich das CP nach erfolgter Metabolisierung im Urin nachweisen, und zwar als 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol (TCPy), TCPy-Glucuronat und TCPy-Sulfat. Die CP-Belastung eines Menschen kann somit durch eine biologische Überwachung der TCPy-Konzentration im Urin bestimmt werden.

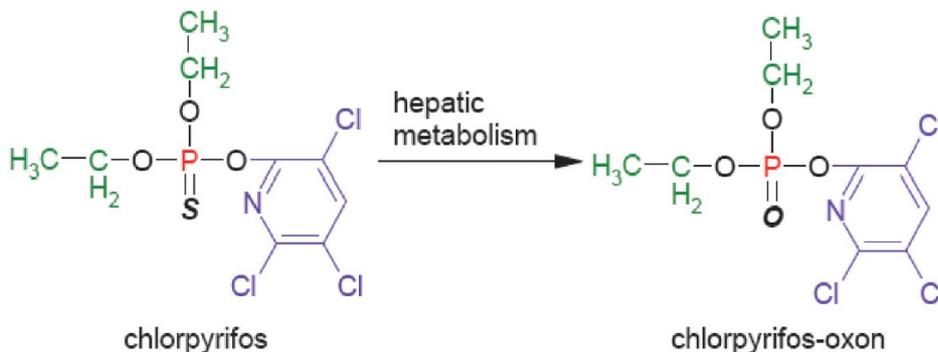
### **Zulassung auf europäischer Ebene**

Die Richtlinie 2005/72/EG der Kommission vom 21. Oktober 2005 schließt den Wirkstoff Chlorpyrifos in Anlage 1 der Richtlinie 91/414/EWG ein um zu gewährleisten, dass Pflanzenschutzmittel, die diese Substanz enthalten, in allen Mitgliedstaaten in Übereinstimmung mit den Bestimmungen zugelassen werden können.

Chlorpyrifos wird am 1. Juli 2006 zur Benutzung zugelassen, der Ablauf der Zulassung ist für den 31. Januar 2018 festgelegt.

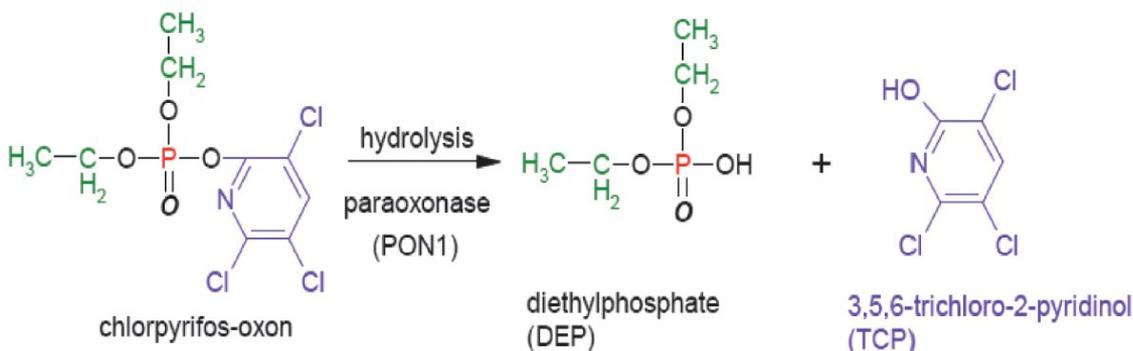
## Metabolismus des CP

Die chemische Reaktion, die sich im menschlichen Organismus vollzieht ist eine Transformation der Doppelbindung des zentralen Phosphoratoms, das den Schwefel verliert und sich an den Sauerstoff bindet. Diese metabolische Reaktion findet in der Leber statt und führt zu einer metabolischen Aktivierung von CP in CP-oxon, welches für das Nervensystem schädlicher ist als CP selbst.



## Entgiftungsreaktion: 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol, TCP

CP oder CP-oxon ist selten in Körperflüssigkeitsproben (Urin) zu finden; während der metabolischen Entgiftungsreaktion durch Hydrolyse bildet sich das 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol (TCP) als Hauptmetabolit des CP-oxon. Dieses wird fast ausschließlich, zu 90%, mit dem Urin ausgeschieden, und das haben wir in der Studie analysiert.



## III. ERKENNTNISSTUDIE ZUM VERSPRITZEN VON CHLORPYRIFOS IN DIE UMWELT: BEURTEILUNG DER NICHT BERUFLICH BELASTETEN BEVÖLKERUNG UND KONTAMINATION IHRER HÄUSLICHEN UMGEBUNG

Das allgemeine Ziel des dritten Moduls besteht darin, mithilfe der Erforschung der Metaboliten in der biologischen Matrix, dem Urin, einer Personengruppe, die in nächster Nähe der kultivierten Flächen wohnt, zum Wissen über das "Drift"-Phänomen des Pflanzenschutzmittels Chlorpyrifos beizutragen. Diese Untersuchung wird noch ergänzt durch die Quantifizierung eventueller Chlorpyrifos-Rückstände auf Flächen innerhalb von Wohnungen.

Der Metabolit TCP wird in zwei verschiedenen Zeiträumen des landwirtschaftlichen Jahres erforscht:

1. In einem Zeitraum, der mit den speziellen Behandlungen mit CP-haltigen Pflanzenschutzmitteln zusammenfällt; von Mai bis Mitte Juni.

2. In einem behandlungsfernen Zeitraum mit dem Ziel, eine eventuelle Präsenz der analysierten Substanz auch bei fehlender Belastung durch die Behandlungen zu belegen, im Winter. Es wird immer der zweite Morgenurin gesammelt.

### **VERSUCHSDESIGN UND BESCHREIBUNG DER STUDIENTEILNEHMER**

Die Auswahl der Teilnehmer und die Probenentnahme fanden im Zeitraum zwischen dem 3. Juni 2014 und dem 19. Dezember 2014 statt.

Für die Studie wurden Bewohner der ländlichen Gebiete der Gemeinden Kastelbell-Tschars, Latsch, Lana, Naturns, Partschins, Plaus, Schlanders und Tisens rekrutiert.



Eine erste Auswahl der Teilnehmer erfolgte anhand der vom Amt für Obst- und Weinbau der Provinz Bozen bereitgestellten Karten mit Erfassung der Häuser, die an mehreren Seiten an kultivierte Areale angrenzen. Mithilfe eines Fragebogens wurden sukzessive Teilnehmer ausgewählt, die bestimmte Voraussetzungen erfüllten, z.B., dass sie nicht in der Landwirtschaft tätig waren, dass sie gewisse Lebensstile hatten (z.B. Rauchen, Alkoholkonsum und Medikamenteneinnahme in den letzten 30 Tagen) und dass sie keinen speziellen CP-haltigen Substanzen ausgesetzt waren. Das Modell des Fragebogens, der mit weiteren Auswahlkriterien in der Studie verwendet wurde, wird diesem Bericht als Anlage beigefügt.

Die endgültige Auswahl der Teilnehmer fand nach der Besichtigung an Ort und Stelle durch die Sektion Umweltmedizin des Südtiroler Sanitätsbetriebs statt.

Der erste Teil der Probenentnahme wurde im Frühling durchgeführt, wo die Chlorpyrifos-Spritzbehandlungen im Rahmen der obligatorischen Bekämpfung der Quarantäne-Krankheiten stattfinden, und zwar Zeitraum zwischen dem 3. und dem 13. Juni 2014. Der zweite Teil der Probenentnahme fand in der Wintersaison statt, d.h. zeitlich entfernt von der Chlorpyrifos-Spritzsaison, nämlich zwischen dem 4. November und dem 19. Dezember 2014.

Der zweite Morgenurin eines jeden Teilnehmers wurde in einem 100 ml-Behälter gesammelt. Die gekühlte Probe wurde noch am Tag der Probenentnahme an die Biobank des Zentrums für Biomedizin in Bozen geliefert. In der Biobank wurden alle Urinproben in 12 Anteile von jeweils 220 µL aufgeteilt, bevor sie bei -80°C konserviert wurden.

Die jeweilige Teilnehmeranzahl unter Berücksichtigung der Saison, in der die Probe entnommen wurde, und der ländliche Herkunftsort sind in Tabelle 1 dargestellt. In allen Fällen war die Teilnahme freiwillig, alle Teilnehmer haben die Einwilligungserklärung unterschrieben.

**Tabelle 1.** Aufteilung der Teilnehmeranzahl nach Saison, in der die Probe entnommen wurde, und Herkunftsort

		Bewohner von landwirtschaftlich genutzten Gebieten	
Saison		Außerhalb der Spritzsaison	Innerhalb der Spritzsaison
Gemeinde	Kastelbell-Tschars	4	4
	Latsch	5	5
	Naturns	12	12
	Partschins	6	5
	Plaus	3	3
	Schlanders	6	6
	Lana	3	3
	Tisens	2	3
	Insgesamt	41	41

### **ENTWICKLUNG UND VALIDIERUNG DES ANALYTISCHEN VERFAHRENS ZUR MASSENSPEKTROMETER-BASIERTEN TCPy- MESSUNG**

Das TCPy wurde mithilfe einer Methode gemessen, die auf einem Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-System gekoppelt an ein Tandem-Massenspektrometer (UHPLC-MS/MS) basiert.

Die Methode wurde vom Zentrum für Biomedizin (Centro di Biomedicina, CBM) des Forschungszentrums Eurac Research entwickelt und umfasst eine erste Passage, in der eine Hydrolyse der Glucuronsäurereste durch enzymatische Inkubation mit  $\beta$ -Glucuronidase bewirkt wird. Das freie TCPy wird in der Folge durch eine Festphasenextraktion extrahiert. Die so gewonnenen Extrakte werden anschließend mit einem UHPLC-MS/MS-Verfahren analysiert.

Die entwickelte Methode wurde unter Beachtung der folgenden Richtlinien sukzessive validiert: "European Medicines Agency Guidelines of Bioanalytical Validation" und "Food and Drug Administration Guidance of Bioanalytical Validation". Diese Richtlinien gelten für die Validierung von bioanalytischen Proben sowohl im klinischen Bereich als auch in der Forschung. Sie basieren auf der Validierung diverser spezifischer Parameter, z.B. Genauigkeit, Präzision, Trennschärfe, Sensibilität und Reproduzierbarkeit einer analytischen Methode. Damit eine Methode als validiert gilt, muss jeder dieser Parameter eine Reihe von Akzeptanzkriterien erfüllen. Darüber hinaus hat das CBM aus Gründen der Komplexität der Urinmatrix und möglicher Einflüsse auf das analytische Signal des Metaboliten auch weitere Experimente durchgeführt, um den Matrixeffekt zu bewerten. Alle Kriterien, die zur vollständigen Validierung der Methode erforderlich waren, wurden erfüllt.

Die Reproduzierbarkeit der Methode wurde außerdem durch die unabhängige Analyse derselben Proben in einem zweiten, auf Umweltbelastungsmessungen spezialisierten Labor kontrolliert (Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstr. 25 und 29, 91054 Erlangen). Die Messungen im zweiten Labor wurden im Gegensatz zu der Gerätekonfiguration des CBM mit einer auf Gaschromatographie-Massenspektrometrie basierenden Methode durchgeführt. Die beiden absoluten TCPy-Messwerte zeigen eine hohe Korrelation (Pearson-Korrelationskoeffizient = 0.95, mit einem erfassten Konfidenzintervall von 93.2% bis 96.2%) und einer guten Konkordanz (Lin-Koeffizient = 82% mit einem erfassten 95% Konfidenzintervall von 79% bis 85%).

Die resultierenden TCPy Werte wurden mithilfe der Kreatininkonzentrationen im Urin normalisiert. Die Kreatinin-Werte wurden im Zentrallabor des Krankenhauses Bozen gemessen.

## STATISTISCHE ANALYSE

Es wurde eine deskriptive Datenanalyse durchgeführt, um die Verteilung der Proben zusammenzufassen und grafisch darzustellen. Es wurden Kastengrafiken (Boxplots) verwendet, um die Ausreißerproben anomalen Werte innerhalb der an der Studie teilnehmenden Gruppen zu ermitteln. Diese Ausreißerproben (anomalen Werte) wurden durch Anwendung der Interquartilabstandsregel ermittelt. Diese Methode setzt für die "Akzeptabilität" eine Obergrenze voraus. Proben, deren Messwerte außerhalb dieses Interquartilsabstands lagen, wurden als Ausreißerproben klassifiziert und entfernt. Aufgrund der geringen Fallzahl und der asymmetrischen Verteilung wurde für den Vergleich der Gruppen (während der Behandlung und behandlungsfrem) der nichtparametrische Wilcoxon Test verwendet (Signifikanzlevel  $\alpha = 0.05$ ).

## ERGEBNISSE

Die Eigenschaften der Studienteilnehmer sind in Tabelle 2 aufgelistet. Insgesamt wurden vier der Messwerte während der Chlorpyrifos-Spritzsaison als Ausreißer identifiziert und von der weiteren Datenanalyse ausgeschlossen. Die endgültige Analyse wurde unter Berücksichtigung von 36 Messpaaren durchgeführt.

Während der Chlorpyrifos-Belastungszeit (Spritzsaison) wiesen die Studienteilnehmer höhere TCPy-Pegel als außerhalb der Saison auf. (Abbildung 1 und Tabelle 3). Tatsächlich belief sich der geometrische Mittelwert des TCPy während der Spritzsaison auf 5.83  $\mu\text{g}$  pro g Kreatinin und sank außerhalb der Spritzsaison auf 3.68 pro g Kreatinin (Tabelle 3).

Dieser Anstieg der TCPy Konzentration während der Chlorpyrifos-Spritzsaison war statistisch signifikant ( $p\text{-value} = 7.5 \times 10^{-4}$ ).

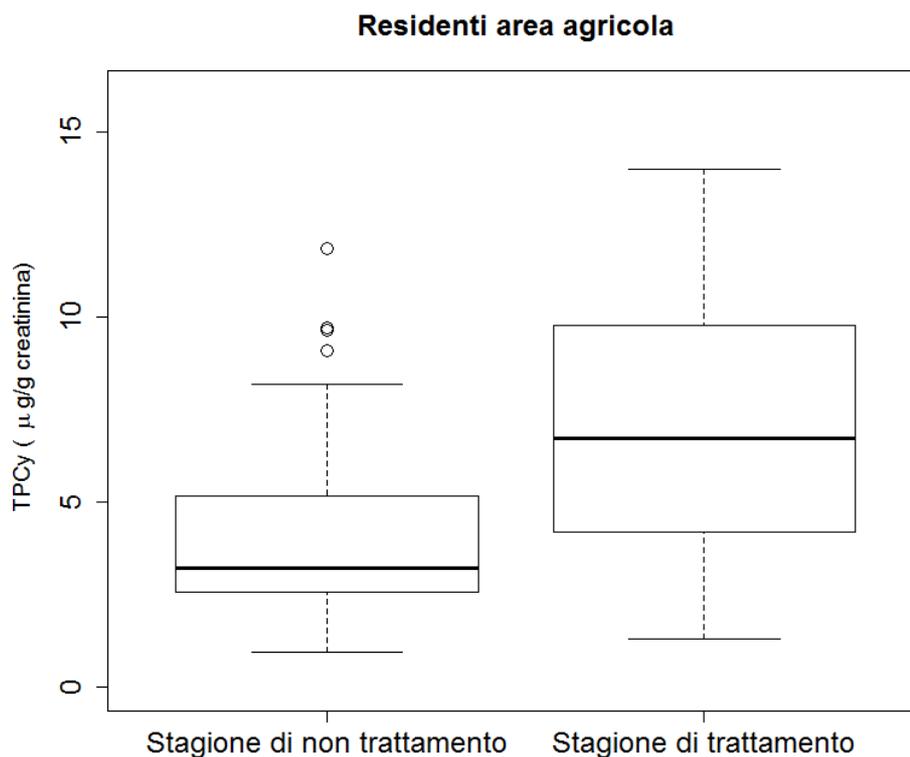
Die statistische Auswertung der Risikofaktoren, die die TCPy -Werte möglicherweise beeinträchtigen könnten, z.B. der Lebensstil (Nikotin-, Alkohol- oder Medikamentenkonsum) und die Benutzung von Schädlingsbekämpfungsmitteln hat keine statistisch signifikanten Auswirkungen auf die TCPy-Gehalte gezeigt.

**Tabelle 2. Beschreibung der Teilnehmer**

	<i>Bewohner von landwirtschaftlich genutzten Gebieten (n=36)</i>	
	<b>Außerhalb der Spritzsaison</b>	<b>Während der Spritzsaison</b>
<b>Demografische Merkmale</b>		
Anz. Frauen (%)	21 (49)	21 (49)
Alter, median (min-max)	55 (5-73)	55 (5-73)
<b>Belastungen*</b>		
Nikotinkonsum (%)	1 (2%)	1 (2%)
Alkoholkonsum (%)	0 (0%)	1 (2%)
Medikamentenkonsum (%)	14 (33%)	14 (33%)

\*Die Belastungen sind als zum Zeitpunkt der Untersuchung zu verstehen

**Abbildung 1.** Verteilung der TCPy-Konzentration



**Tabelle 3.** Zusammenfassung der statistischen Analyse

	Bewohner von landwirtschaftlich genutzten Gebieten	
<i>TCPy</i> ( $\mu\text{g/g}$ Kreatinin)	<b>Außerhalb der Spritzsaison</b>	<b>Während der Spritzsaison</b>
Mittel	4.3	6.87
Standardabweichung	2.57	3.65
Median	3.22	6.73
Mindestwert	0.92	1.3
Höchstwert	11.84	13.98
Geometrischer Mittelwert	3.68	5.83

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Studie zeigt, dass:

1. Die durch Chlorpyrifos belasteten Arbeiter aus dem landwirtschaftlichen Sektor während der Pestizid-Spritzsaison höhere TCPy-Konzentrationen aufweisen als außerhalb dieser Saison.
2. Der registrierte geometrische Mittelwert von TCPy außerhalb der Pestizid-Behandlungs-Saison bei 3.7 µg/g Kreatinin lag . Dieser Wert stimmt mit den Daten der in Tabelle 4<sup>2-5</sup> beschriebenen wissenschaftlichen Literatur überein.
3. Die Ergebnisse der Studie auch dann unverändert bleiben , wenn man andere mögliche Quellen einer Chlorpyrifos-Belastung berücksichtigt.
4. Dennoch empfehlen wir in künftigen Studien auch zusätzliche Quellen einer möglichen Belastung zu berücksichtigen, die in diesem Projekt nicht speziell berücksichtigt wurden, z.B. die Ernährung; wie in der Literatur berichtet, kann eine vegetarische Ernährung die TCPy-Gehalte im Urin durchaus beeinflussen<sup>4</sup>.

**Tabelle 4.** In anderen Studien berichtete TCPy-Gehalte im Urin.

<b>Land, Provinz</b>	<b>Statistik</b>	<b>TCPy (ug/g Kreatinin)</b>	<b>Publikation</b>
Italien, Südtirol	Geometrischer Mittelwert	3,7	Aktuelle Studie
Italien, Trentino	Geometrischer Mittelwert	2,8	Aprea et al. <sup>1</sup>
USA	Geometrischer Mittelwert	1,6	Barr et al. <sup>2</sup>
Spanien (Kinder)	Geometrischer Mittelwert	3,4	Roca et al. <sup>3</sup>
Israel (Vegetarier)	Geometrischer Mittelwert	5,2	Berman et al. <sup>4</sup>
Israel (Nicht-Vegetarier)	Geometrischer Mittelwert	2,8	Berman et al. <sup>4</sup>
Deutschland	Arithmetisches Mittel	2,2	Koch et al. <sup>5</sup>

## REFERENZEN

1. Aprea. *AOAC Int.* 1999; 82(2):305-12.
2. Barr. *Environ Res.* 2005; 99(3):314-26.
3. Roca. *Environ Res.* 2014; 131:77-85.
4. Berman. *Environ Int.* 2016; 96:34-40.
5. Koch. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2001; 204:175-80.

## ANALYSE DER DATEN AUS DEN WIPE-TESTS

Diese umweltbezogene Untersuchung soll eine mögliche Präsenz des Wirkstoffs Chlorpyrifos auf in der Regel nicht genutzten Flächen im Inneren der Wohnungen von Einwohnern in der Nähe der kultivierten Flächen untersuchen. Die Umweltproben wurden zusammen mit den biologischen Proben der Anwohner entnommen.

Der erste Teil der Probenentnahme wurde im Frühling durchgeführt, in der die Behandlungen mit Chlorpyrifos stattfinden, und zwar zwischen dem 3. und dem 13. Juni 2014. Der zweite Teil der Probenentnahme fand in der Wintersaison statt, d.h. zeitlich entfernt von der Behandlungssaison mit Chlorpyrifos, genauer gesagt zwischen dem 4. November und dem 19. Dezember 2014.

Aufteilung der Wipe-Test-Anzahl nach Saison, in der die Probe entnommen wurde, und Herkunftsort

		Wipe-Tests in Wohnungen der Bewohner landwirtschaftlich genutzter Gebiete	
Saison		Außerhalb der Spritzsaison	Spritzsaison
Gemeinde	Kastelbell-Tschars	2	2
	Latsch	2	2
	Naturns	5	5
	Partschins	3	3
	Plaus	3	3
	Schlanders	4	4
	Lana	2	2
	Tisens	2	2
	Insgesamt	23	23

## WIPE-TEST-PROBENENTNAHMEVERFAHREN

Um die Oberflächenproben zu entnehmen wird eine genau definierte Oberfläche bemustert. Dazu wird ein zweckmäßiges STANDARD KIT mit folgenden wesentlichen Bestandteilen benötigt:

- Maske zur Abgrenzung des Probenentnahmeareals
- geeignetes Lösungsmittel, das je nach Typ des polaren oder hydrophoben Analyts gewählt wird
- Pipette oder Pasteurpipette aus Kunststoff
- 10x10 cm große Wipes oder entsprechend großes Vliessubstrat



## **Probenentnahme**

- 1.** Mithilfe einer Pipette werden 2.5 mL eines geeigneten Lösungsmittels entnommen. Das Vorgehen wird auf dem folgenden Foto dargestellt.
- 2.** Zur Durchführung des Tests wird der von der Maske bestimmte Bereich von 4 dm<sup>2</sup> mit dem Substrat oder dem angefeuchteten Wipe eingerieben. Der Bereich muss unbedingt zweimal behandelt werden (siehe folgende Abbildung/Schema), da die Wirkstoffe nicht nur durch ihre Löslichkeit in der probaten Mischung sondern auch wegen eines mechanischen Mitnahmeeffekts als Proben entnommen werden.

## **Regeln/Standards zur Umweltprobennahme**

Die Bestimmung der Probeentnahmestellen ist die Strategieweise für den Erwerb nützlicher Informationen zur Belastungsbewertung. Voraussetzung für die Probenentnahme war das Vorhandensein eines zum kultivierten Areal ausgerichteten Fensters im Raum. Außerdem musste die Fläche bei der üblichen täglichen Reinigung ausgelassen werden.

## **Studiendesign und Beschreibung der Wohnungen**

Die Auswahl der Wohnungen und die Probenentnahmen fanden unter Befolgung derselben Kriterien statt, die auch für die Auswahl der Anrainer verwendet wurden.

Wie bei der Rekrutierung der Teilnehmer aus Modul III erfolgte auch bei dieser Analyse eine erste Auswahl der Einwohner anhand der vom Amt für Obst- und Weinbau der Provinz Bozen bereitgestellten Karten mit Erfassung der Häuser, die an mehreren Seiten an kultivierte Areale angrenzen. Mithilfe eines Fragebogens wurden Wohnungen ausgewählt, die bestimmte Voraussetzungen erfüllten, z.B., dass die Bewohner nicht in der Landwirtschaft tätig und keinen speziellen CP-haltigen Substanzen ausgesetzt waren.

Die endgültige Auswahl der Wohnungen mit den relativen Flächen der Probennahme fand nach der Besichtigung an Ort und Stelle durch die Sektion Umweltmedizin des Südtiroler Sanitätsbetriebs statt.

Die Wohnungen befinden sich in den Gemeinden Kastelbell-Tschars, Latsch, Lana, Naturns, Partschins, Plaus, Schlanders und Tisens und die gültigen Proben belaufen sich bei insgesamt 46 geeigneten Objekten auf 23 für die einzelnen Zeiträume.

Die Proben wurden vom Zentrum für Umweltforschung der Fondazione Salvatore Maugeri in Pavia untersucht.

## **Ergebnisse**

Von 46 mittels Wipe-Test analysierten Proben wies keine einen höheren analytischen Wert als 0,5 ng Chlorpyrifos pro cm<sup>2</sup> auf.