

국내 사용농약의 노출 기간이 개의 독성반응에 미치는 영향 분석

이제봉* · 정미혜 · 유아선 · 홍순성 · 백민경 · 오진아 · 박경훈 · 임양빈

농촌진흥청 국립농업과학원

Toxic Impact Analysis by Exposure Duration of Dog Studies for Pesticides using in Korea

Je Bong Lee*, Mi-Hye Jeong, Are-Sun You, Soonsung Hong, Min-Kyoung Paik, Jin-Ah Oh, Kyung Hun Park and Yang Bin Ihm

National Academy of Agricultural Science, Suwon, Korea

(Received on November 12, 2013. Revised on November 25, 2013. Accepted on December 2, 2013)

Abstract Both 13-week and 1-year studies in dog were required for pesticide registration in domestic pesticide control authority. It is raising issue up whether to request 1-year dog study of pesticides using non-food crop. So at this investigation, relevant toxicity test to establish acceptable daily intake (ADI), target organs, difference of no-observed adverse-effect levels (NOAELs) in 13-week and 1-year of 166 active ingredients are analyzed. The data were evaluated to determine if the 13-week dog study and the long term studies in two rodent species (mice and rats) without 1-year dog study were sufficient for the identification of NOAELs and lowest observed adverse effect levels (LOAELs) for the derivation of ADI. Toxicity end points and dose response data from 13 week and 1-year studies were compared. The analysis showed that 68 ADIs of the 166 pesticides were established from dog studies. Major target organs of dog studies were liver in 49 cases, body weight change in 21 cases, cholinesterase inhibition in 16 cases, and alteration in hematology in 14 cases. Similarity of target organ in 13-week and 1-year was 73%. 22 of 40 pesticides had similar critical effects regardless of duration and had NOAELs within a difference of 1.5-fold of each other. For the remaining 18 pesticides, 14 items had lower NOAELs in the 1-year study than 13-week study primarily due to dose selection and spacing. In only 10% of the cases were additional toxic effects identified in the 1-year study that were not observed in the 13-week study.

Key words Toxicity test, NOAEL, Toxic effect analysis

서 론

현재 농약등록을 위한 시험성적서 요구는 주로 실험동물을 이용한 시험을 기반으로 하고 있으며 농약관리법에서 요구하고 있는 시험성적서는 마우스, 랫드, 개 등의 경구, 경피, 흡입노출 경로와 다양한 노출기간을 적용하여 수행한 시험들을 포함하고 있다. 독성시험들은 일일섭취허용량(ADI)과 같은 위해성을 평가하는 규제기준치를 설정하기 위하여 최저유해용량(LOAEL)과 최대무작용량(NOAEL) 산정

을 위해 수행되어진다. ADI는 일반적으로 일생동안 가장 민감한 인구집단에 노출되었을 때도 유해영향에 의한 위해성이 없도록 설정되어지는 것이 일반적인 원칙이다. 완전한 독성 데이터베이스는 표적장기에 대한 독성, 발암가능성, 차세대에 대한 영향, 성별, 연령별 독성반응 차이, 독성기전 등을 설명하는데 이용되어 진다. 농약등록과 같은 규제독성과 관련이 깊은 경우는 과학적으로 수행된 동물실험이 요구되고 있으며, 유해가능성을 적절하게 표현하기 위해서 동물을 이용한 시험이 매우 중요하지만, 독성시험에서 실험동물수를 최소화하는 것 또한 매우 중요한 현안문제다. 개를 이용한 수종의 독성시험 필요성에 대한 논쟁은 오래전부터 계속되었으며, 현재까지도 개 시험의 적절한 기간 설정을 위

*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0590, Fax: +82-31-290-0508

E-mail: jblee627@korea.kr

한 국제표준지침에 대해 끊임없이 논의되고 있다. 미국 환경보호청은 오랫동안 비설치류 아만성 및 만성독성 시험성적서를 농약의 등록을 위해 요구해 왔으나 2007년 10월에 화학농약의 등록을 위한 시험성적서 요구지침에서 1년 개 시험성적을 삭제하고 13주만 남겼다(US EPA, 2007). 그러나 호주에서는 여전히 13주 및 1년 개 독성시험을 요구하고 있고(Australia APVMA, 2007), 일본에서는 만성독성평가를 위해 적어도 비설치류를 이용한 1종의 시험성적서를 요구하고 있다. 비설치류에는 다양한 시험종이 있다하더라도 개를 이용하는 것이 가장 일반적이다(MAFF, 2008). EU에서는 13주 개 성적은 항상 요구하였으나 개 1년 성적은 13주 시험에서 개가 가장 민감한 종이거나 인체를 위한 최적의 모델이라는 분명한 증거가 있을 때 요구되어졌다(European Commission, 1994). 위해성평가에서 개 독성시험의 영향을 결정하기위한 다방면의 연구가 진행되고 있다. Gerbracht와 Spielmann (1998)은 랫드, 마우스 및 개에 대한 13주, 52주 및 104주에 대한 중 특이적 표적장기독성에서 유의성 있는 차이가 없었다고 보고하였고, 개에 있어서는 혈액학적 영향이 더 자주 관찰되었다. Doe 등(2006)은 US/EPA OPP가 제공해준 28종 농약에 대하여 NOAEL, LOAEL 등 중요한 독성지표들을 평가한 결과 랫드와 개는 민감성이 다르고, 동일한 영향이라 하더라도 약량수준이 달랐으며, 감수성도 서로 다른 경우가 많아 농약의 독성을 평가하기 위해서는 2종을 유지해야 한다는 견해를 밝혔다. US/EPA 농약데이터베이스(2005a)에서 개 성적에 의한 cRfD는 38%이었으며, 농약의 만성독성평가를 위하여 가장 중요한 것으로 알려진 랫드에 이어 2번째로 중요한 실험종인 것으로 밝혀졌다. Spielmann과 Gerbracht (2001)은 독일의 소비자보호 및 동물약품 연구소(Federal Institute of Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine)에 제출했던 172종 농약의 개 시험성적서의 종합분석결과를 보고하였다. 이 보고서의 요지는 개를 이용한 13주 이상의 독성시험이 이 보다 짧은 노출기간에 의해 나타낼 수 있는 독성보다 얼마나 중요한 독성정보를 추가로 제공할 수 있는지에 대한 것이었다. 이들은 농약의 표적장기 영향을 분석한 결과 동일종의 개 만성독성(52/104)시험이 26주 시험에 비해 유의한 추가 영향을 관찰할 수 없었다고 보고하였다. 또한 그들은 개를 이용한 농약의 안전성시험에서 13주 이상의 노출기간은 추가의 필요한 독성정보를 제공하지 못하기 때문에 13주 반복투여독성시험으로 제한 할 것을 제안했다. 개를 이용한 13주 시험의 추천은 개 만성독성시험, 랫드 및 마우스 시험에서 관찰되지 않은 독성학적으로 새로운 영향이 시험농약 141종 중 5%인 7종에서만 관찰되었기 때문이다. 다른 연구(Box와 Spielmann, 2005)에서도 개 만성독성시험은 아만성독성시험에서 얻을 수 없는 정보를 단지 5% 이내에서 얻을 수 있다는 결론을 내렸다. 2005년에 US/EPA는 농약등록을

위한 CFR 40 Part 158, 독성자료요구에 대한 고시개정을 제안했고, EPA 데이터베이스에서 개 90일과 1년 시험의 독성영향분석에 기초한 고시전문 중 농약의 등록을 위한 자료 요구 지침에서 13주는 유지하되 개 1년 시험은 삭제할 것을 제안했다. EPA는 미국 농약관리법 전문가 자문위원회(FIFRA Scientific Advisory Panel (SAP))에 RfD 산출을 위한 개 시험으로부터의 영향분석 결과에 대한 검토 및 자문을 요청했다. SAP는 농약등록을 위해 수행된 개에 대한 독성성적을 전반적으로 검토하였으며, EPA가 더 방대한 자료를 분석할 것과 개 1년 시험으로부터 추가의 정보획득이 어렵다면 1년 시험을 삭제하기 위한 명확한 증거확보 등을 위한 추가분석할 것을 제안했다. SAP 검토 후 EPA는 농약의 13주 및 1년 개 독성시험의 방대한 자료 분석에 의한 결과(US EPA, 2006)를 SAP와 심의한 결과 13주 시험은 그대로 유지하되 1년 개 만성독성시험은 농약등록을 위한 데이터 요구지침에서 삭제하기로 결정했다(US EPA, 2007). 국내에서도 2009년 농약관리법 농촌진흥청 고시 제 2009-19호로 농약의 독성시험성적서 요구기준을 기존의 식용 및 비식용작물에 따른 것을 노출가능성 기준으로 개정하면서 만성독성 및 발암성 시험성적서를 상황에 따라 요구하도록 하였다. 이와 같은 국내외적인 변화에 따라 본 연구에서는 국내 등록 농약에 대하여 개 13주 및 1년 시험의 NOAEL 및 LOAEL을 비교검토하고, 분석하여 ADI 설정 등 독성평가를 위한 데이터 요구시 개에 대한 독성시험이 완전한 패키지로 존재하지 않을 경우 ADI 및 AOEL설정이 가능할 것인지, 안전계수의 적절한 수치가 어느 정도 되는 것이 합리적인지 등을 조사하기 위하여 수행 하였다.

자료 및 방법

대상농약선발 및 자료 조사

분석대상 농약은 2006년 6월 이후부터 2013년 6월까지 신규물질로 등록된 농약 40종과 기존물질 중 ADI가 고시되고 개에 대한 아급성 및 만성독성성적이 있는 성분을 설정하여 수행하였다. 개에 대한 13주 및 1년 독성시험성적서의 NOAEL 및 LOAEL은 신규물질에 대해서는 2006년부터 실시해온 농약 ADI설정 전문가 협의회 및 기준전문위원회에서 발간한 자료를 이용하였으며, 그 외 농약에 대해서는 WHO/FAO JMPR monograph (WHO, 2013), US/EPA RED (US EPA, 2013) 자료 등을 참고하여 조사하였다.

자료분석

국내 등록된 농약의 소비자 위해성을 평가하기 위하여 농촌진흥청에서는 농약의 ADI를 설정하며, ADI는 인체에 위해성이 없을 것으로 추정되는 노출농도를 동물시험 NOAEL을 근거로 안전계수를 고려하여 설정하도록 농약관리법에

Table 1. List of pesticides used for toxic impact analysis between 13-weeks and 1-Year dog study

2,4-D	Buprofezin	Cyflumetofen	Ethalfuralin
Acephate	Butafenacil	Cyfluthrin	Ethoprophos
Acibenzolar-S-methyl	Cadusafos	Cyhalothrin	Famoxadone
Ametoctradin	Cafenstrole	Cyhexatin	Fenamidone
Amisulbrom	Captan	Cypermethrin	Fenarimol
Amitraz	Carbaryl	Cypermethrin	Fenbuconazole
Asulam-sodium	Carbendazim	Cyprodinil	Fenhexamid
Azinphos-methyl	Carbofuran	Cyromazine	Fenitrothion
Azocyclotin	Carbosulfan	Deltamethrin	Fenpropathrin
Azoxystrobin	Chlorantraniliprole	Diazinone	Fenpyrazamine
Benalaxyl-M	Chlormequat chloride	Dichlobenil	Fenpyroximate
Benomyl	Chlorothalonil	Dichlorvos	Fenthion
Bentazone	Chlorpropham	Difenoconazole	Fentrazamide
Benthiavalecarb-isopropyl	Chromafenozide	Diflubenzuron	Fipronil
Benzobicyclon	Clethodim	Dimethenamid	Flubendiamide
Bifenazate	Clofentezine	Dimethoate	Flucetosulfuron
Bifenthrin	Clothianidin	Dimethomorph	Fludioxonil
Bitertanol	Cyantraniliprole	Dithianon	Fluopicolide
Boscalid	Cyenopyrafen	Edifenphos	Fluopyram
Bromobutide	Cyflufenamid	Epoxiconazole	Flusilazole
Flutianil	Mecoprop	Prochloraz	Spinosad
Flutolanil	Meptyldinocap	Procymidone	Spirodiclofen
Folpet	Metaflumizone	Profoxydim	Spiromesifen
Foramsulfuron	Metalaxyl	Prohexadione-Ca	Spirotetramat
Furametpyr	Metamifop	Propamocarb hydrochloride	Tebuconazole
Glyphosate	Metamopotassium	Propargite	Tebufenozide
Haloxifop	Metconazole	Propiconazole	Teflubenzuron
Hexazinone	Methiocarb	Propyrisulfuron	Thiacloprid
Hexythiazox	Methoxyfenozide	Proquinazid	Thidiazuron
Imazapyr	Metolachlor	Pyraclostrobin	Thiodicarb
Imidacloprid	Metrafenone	Pyraflufen-ethyl	Thiophanate-methyl
Ipconazole	Myclobutanil	Pyridalyl	Tiadinil
Iprodione	Nicosulfuron	Pyriftalid	Tolclofos-methyl
Iprovalicarb	Novaluron	Pyrimethanil	Triadimefon
Isopyrazam	Orthosulfamuron	Pyriofenone	Triadimenol
Isotianil	Orysastrobin	Pyriproxyfen	Trifloxystrobin
Kresoxim-methyl	Oxadiazyl	Rimsulfuron	Triflumuron
Lepimectin	Penthiopyrad	Saflufenacil	Triforine
Malathion	Phorate	Sethoxydim	Triticonazole
Maleic hydrazide	Phosphamidon	Simeconazole	Vinclozolin
Mandipropamid	Picoxystrobin	S-Metolachlor	
MCPA	Pirimiphos-methyl	Spinetoram	

규정되어 있다. 본 연구의 자료분석은 농약등록시 제출되는 독성 데이터, 기타 국제기구 등에서 생산된 자료를 근거로 개 13주 및 1년 시험을 비교(13주/1년)해서 두 시험성적서

간의 NOEL 수치의 크기, 노출시간에 따른 독성발현차이, ADI 설정에 개 시험이 차지하는 비율, 분석대상 농약의 NAOEL, LOAEL, ADI 분포, 표적장기 및 관련독성 endpoint

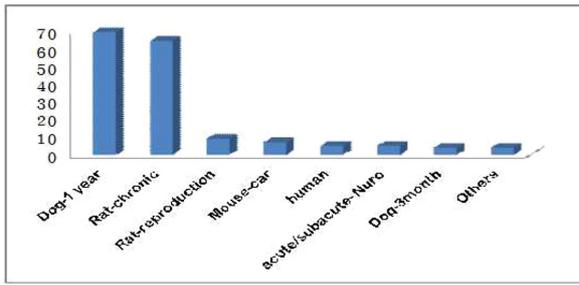


Fig. 1. Distribution of the relevant toxicity test for ADI establishment.

등을 분석하였다. 개 13주 및 1년 시험 NOAEL 차이의 구간별 분석은 ADI 설정을 위한 전문가협의회 및 기준전문위원회에서 검토한 농약 40종을 대상으로 수행하였다.

결과 및 고찰

분석농약의 ADI 설정에 사용된 독성시험

이 분석에 사용된 농약은 유기인계, 카바메이트계, 피레스로이드계, 트리azole계, 설폰닐우레아계 등 약 50계통 이상 166종 농약에 대하여 일일섭취허용량(ADI)을 분석하였다. Fig. 1과 같이 농약 166종에 대한 ADI설정에 사용된 독성시험 분포는 개 만성독성 68종, 랫드 만성/발암성 64종, 번식독성 9종, 마우스 발암성 7종, 인체성적 5종, 개 13주 아만성독성 4종, 기타 9종이었다.

본 분석에서 ADI 설정에 사용된 독성시험으로는 개 1년 독성시험성적이 이용된 경우가 가장 많았으며, 랫드를 이용한 만성독성 또는 만성/발암성 성적이 이용된 경우보다 많은 것으로 분석되었으나 실험동물 종류로만 볼 경우는 랫드가 개보다 다소 많은 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 66종의 농약성분을 이용한 개 및 랫드에 대한 만성독성시험 성적을 비교하여 ADI설정을 위한 NTEL (no-toxic effect level)을 비교한 결과 약 44%에서 개 시험성적이 랫드 시험성적 보다 낮았다는 보고(Appelman과 Feron, 1986)와 본 분석에서 총 166종 중 72종이 개의 NOAEL을 이용하여 ADI를 설정한 비율이 43%로 거의 유사하였다. 또한 EPA가 분석한 농약의 RfD (Reference Dose)설정을 위해 개를 이용한 시험성적의 NOAEL을 2번째로 많이 이용한다는 보고 (US EPA, 2005a)와 약간의 차이를 보였는데 이는 미국에 등록된 농약과 국내에 등록된 농약성분이 서로 다를 수 있고, 또한 분석에 이용된 성분이 서로 상이한 것에 기인된 것으로 판단된다.

주요 관련 표적장기 및 영향 분석

ADI 설정에 관련된 장기 및 영향으로는 Fig. 2와 같이 간에 대한 영향 49, 체중변화 21, 콜린에스테라제 저해 16, 혈액학적변화 14, 신장 및 부신에 대한 영향 14, 혈청효소 13,

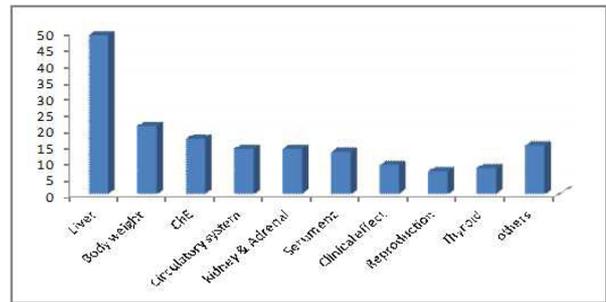


Fig. 2. Target organ and relevant effect for ADI established.

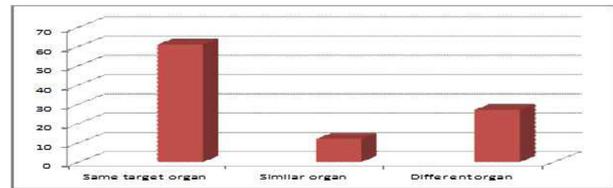


Fig. 3. Similarity of target organ and relevant effect between 13-week and 1-year dog studies.

임상증상 9, 갑상선관련 영향 8, 번식에 관련된 영향 7, 기타장기증량변화 5, 장관점막과형성, 십이지장점막비후 등 기타영향 10종이었다.

이와 같은 결과는 US/EPA가 RfD를 설정한 농약 60종의 endpoint 및 표적장기별 분포를 조사한 결과와 유사하였다. 본 분석에 사용된 농약에서는 간에 대한 영향, 체중감소, 콜린에스테라제 저해, 순환기계 영향 등의 순서로 나타났으나 US/EPA 분석결과는 콜린에스테라제 저해, 간, 체중변화, 번식 및 생식기관련 영향 등의 순으로 나타났는데 이는 분석 농약 중 유기인계 및 카바메이트계 농약이 많이 포함된 결과로 판단되며, 그 밖의 영향에서는 서로 유사한 결과를 보였다(Lee 등, 2007).

또한 13주와 1년 시험간의 표적장기의 유사성을 분석한 결과 Fig. 3과 같이 분석농약 166종 중 101종(61%)이 동일 하였으며, 20종(12%)은 표적 장기나 영향이 유사하였고, 45종(27%)은 서로 상이하였다. 이와 같은 결과는 약 73%의 농약에서 표적장기가 동일하거나 유사하여 상당부분은 13주 시험에서 영향이 감지되지만 약 27%에서는 차이가 있어서 13주와 1년의 시험성적이 동일하다는 결론을 내리기에 다소 미흡한 점이 있었다.

13주 및 1년 개독성시험성적서 비교분석

166종 농약에 대한 개 13주 및 1년 시험성적의 NOAEL을 조사하여 비교분석한 결과 14종은 13주가 1년 NOAEL 보다 2배 이상 낮았고, 72종은 1년 NOAEL이 13주 NOAEL 보다 0.6~1.5배로 유사하였으며, 40종은 1.6~3.5배였으며, 13종은 3.6~5.5배, 23종은 5.6배 이상이었다. 2종 시험간의 차이가 0.6~1.5배의 차이를 유사한 것으로 볼 때 약 43% 정

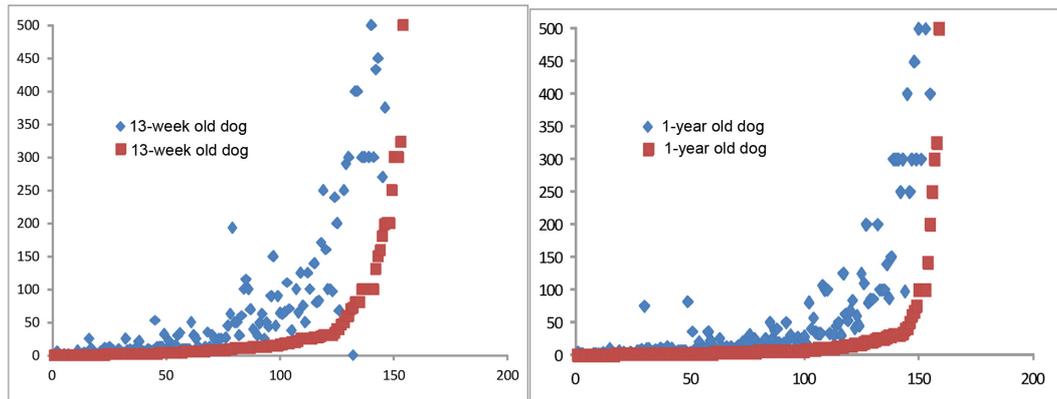


Fig. 4. NOEL and LOEL range of 13-week and 1-year on dog study used comparative analysis.

도였으며, 나머지는 여러 가지 요인에 의해 차이가 나는 것으로 판단되었다. 개 13주 및 1년 시험성적의 NOEL 및 LOEL에 대한 엑셀을 이용한 상관분석결과 NOEL의 상관성은 $r=0.74$ 로 상당한 상관성이 관찰되었으나, LOEL은 $r=0.51$ 로 상대적으로 낮았다. 각 시험별 NOEL 및 LOEL의 분포는 Fig. 4와 같았다.

이상의 결과는 US/EPA (2007)가 개 13주 시험과 1년 시험의 NOEL 및 독성영향분석에서 NOEL 차이 1.5배 이내가 약 70%의 유사성이 있었다는 보고와 상당한 차이가 있었다. 이와 같은 결과는 국내 등록 농약과 미국의 등록농약의 성분대 상의 차이와 분석대상 농약 종류가 서로 상이한 결과로 판단되지만 본 연구에서 분석한 결과로만 보면 아직 국내에서 개 만성독성 시험성적 요구를 삭제하기에는 어려움이 있을 것으로 판단되었다. 그러나 상관성분석, 13주 및 1년 NOEL간 단순 비교 등에서 상당부분 유사성이 인정되고 있는 것은 사실이다. 그러나 설치류와 비설치류에 대한 비교분석, 비설치류간의 보다 정밀한 분석을 실시한 후에 결정하는 것이 바람직한 것으로 사료된다. 또한 유럽 연합과 같이 13주 개 시험이 여러 독성적인 영향에서 ADI 설정을 위한 관련 독성영향일 가능성이 높을 때만 요구하는 방법을 채택할 수도 있을 것이다.

개 13주 및 1년 시험 NOEL 차이의 구간별 분석

최근 국내에 ADI 및 EU 재평가를 위해 평가한 농약 40종에 대한 2중 시험간 NOEL의 차이를 “13주 및 1년 개 독성시험성적서 비교분석”에서 분리한 구간별로 원인을 분석하였다. 분석결과 13주와 1년 NOEL의 차이가 1.5배 이하인 농약성분은 Benthialicarb-isopropyl, Cyantraniliprole, Flubendiamide, Isopyrazam, Lepimectin, Metaflumizone, Proquinazid, Pyriofenone 등 22종이었으며 이들은 표적장기, 독성반응 등에서 유사한 경향을 나타냈다.

13주와 1년 NOEL 비가 1.6~3.5인 농약성분은 9종이었으며 이중 6종은 표적 장기가 동일하고 독성영향도 같지만

단지 13주와 1년간의 약량설정 상의 문제로 2중시험 간에 독성반응의 차이가 없는 것으로 판단되었다. Fluopyram은 간세포비대의 영향으로 13주 LOEL은 171 mg/kg/day, NOEL은 28.5 mg/kg/day였으며, 1년 시험의 LOEL 및 NOEL은 각각 67.6과 13.2 mg/kg/day로 실제적인 NOEL은 1년 시험의 LOEL인 67.6과 13주 시험의 NOEL인 28.5 mg/kg/day 중간에 존재할 것이다. Isotianil, Metamifop, Oryastrobin, Orthosulfamuron, Spinetoram 5종 농약도 fluopyram과 같은 양상으로 사료되었다. 3중 농약은 2중 시험간에 차이가 인정되었다. Bromobutide의 13주 시험은 간세포 공포화가 300 mg/kg/day (LOEL)에서 관찰되어 100 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였으나 1년 시험의 LOEL 및 NOEL은 갑상선 중량증가가 고농도인 300 mg/kg/day에서 관찰되어 중간농도인 30 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였다. Benalaxyl-M 13주 시험의 독성학적 최저 영향은 64.0 mg/kg/day에서 간중량증가가 나타나 16.2 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였으나 1년 시험은 27.8 mg/kg/day에서 수중관위축을 보여 6.5 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였다. Epoxiconazole 13주 시험은 신장의 세뇨관상피세포 비대가 수컷 7.6 mg/kg/day에서 관찰되어 1.9 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였으나 1년 시험에서는 1.6 mg/kg/day 투여군에서 적혈구 세포수 감소가 관찰되어 NOEL을 1.1 mg/kg/day로 설정하였다.

2중 시험 간 NOEL 비가 3.6~5.5배인 농약은 2종이었다. Mandipropamid 13주 시험은 100 mg/kg/day에서 ALP, ALT 등 간효소 활성화에 기인한 간 중량증가가 관찰되어 NOEL을 25 mg/kg/day로 선정하였으며 1년 시험도 동일한 영향이 40 mg/kg/day에서 나타나 5 mg/kg/day를 NOEL로 선정하였다. Prohexadione-Ca 13 및 1년 시험의 영향은 동일하게 신장 호염기성 세뇨관 확장이 관찰되었으며 13주의 LOEL 및 NOEL은 400 및 80 mg/kg/day였으며, 1년의 LOEL 및 NOEL은 200 및 20 mg/kg/day로 설정되었다. 이와 같은 결과는 2중 농약 모두 투여농도 선정의 문제이지 노출기

Table 2. End point, NOAEL and LOAEL of pesticides used for toxic impact analyses on 13-weeks and 1-year dog study

No.	Pesticides	13 week dog study			1 year dog study		
		End point	LOAEL	NOAEL	End point	LOAEL	NOAEL
1	Ametoctradin	No effect	912	912	No effect	848	848
2	Amisulbrom	Decreased body weight gain	1000	300	Increased adrenal gland weight	100	10
3	Benalaxyl-M	Increased liver weight	64.04	16.24	seminal canal atrophy	27.8	6.5
4	Benthiavalicarb-iso-propyl	Liver enlargement, hepatocyte hypertrophy, Liver pigmentation	200	40	Increased liver weight	400	40
5	Bromobutide	Hepatocellular diffused vacuolation	300	100	Increased thyroid weight	300	30
6	Chlorantranilprole	Increased liver weight	1163	1163	Increased liver weight	1164	1164
7	Chromafenozide	Liver pigmentation, Spleen congestion	139.1	27.2	Spleen congestion and pigmentation	139.1	27.2
8	Cyantranilprole	Arteritis	31.94	3.08	hepatocyte hypertrophy, bile duct hypertrophy, Arteritis	27	5.67
9	Cyenopyrafen	No effect	300	300	Reduced feed consumption	400	200
10	Cyflumetofen	Enlarged adrenal and vacuolation	1000	300	Enlarged adrenal and vacuolation	300	30
11	Dichlobenil	Increased liver weight	8.75	1.25	Increased liver weight	8.75	1.25
12	Epoxiconazole	Renal tubule epithelium hypertrophy	7.6	1.9	Hematological Changes	1.4	1.1
13	Fenpyrazamine	Increased liver weight	50	25	Increased liver weight	100	25
14	Flubendiamide	Increased adrenal weight	52.7	2.58	Increased liver weight	35.2	2.21
15	Fluopyram	hepatocyte hypertrophy	171	28.5	hepatocyte hypertrophy	67.6	13.2
16	Flutianil	No effect	1000	1000	No effect	1000	1000
17	Foramsulfuron	No effect	1000	1000	No effect	1000	1000
18	Imazapyr	Muscleskeletal lesion	250	250	Muscleskeletal lesion	250	250
19	Iponazole	Organ weight change	10	2	Organ weight change	5	1.5
20	Isoyrazam	Reduced feed consumption	250	30	Decreased liver weight	100	25
21	Isotianil	Seminal canal atrophy	48.8	12.2	Increased liver weight	26.1	5.22
22	Lepimectin	blood biochemistry change	5.52	1.37	blood biochemistry change	12.2	2.51
23	Mandipropamid	Increased liver weight, Increased liver enzyme activity	100	25	Liver toxicity by increased ALP and pigmentation	40	5
24	Meptyldinocap	Decreased body weight	3.85	1.63	Decreased body weight	3.85	1.63
25	Metaflumizone	Decreased body weight, Hematological Changes	30	12	Decreased body weight, Hematological Changes	30	12
26	Metamifop	Increased thyroid weight	160	30	Increased liver weight	100	10
27	Metampotassium	Hepatocyte damage	1	0.1	Hepatocyte damage	1	0.1
28	Metrafenone	Increased liver weight	500	500	Increased liver weight	500	500
29	Orthosulfamuron	Inflammatory liver disease	450	150	Inflammatory liver disease	300	75
30	Orysastrobin	Serum enzyme change	82.8	27.5	Serum enzyme change	44.3	10.8
31	Penthiopyrad	hepatocyte hypertrophy	300	100	Increased liver and adrenal weight,	56.6	8.1
32	Prohexadione-Ca	Renal dilated basophilic tubule change	400	80	Renal dilated basophilic tubule change	200	20
33	Propyrisulfuron	Anemia	115	10	Anemia, Decreased body weight	10.5	1.1
34	Proquinazid	Decreased body weight	62	17	Decreased body weight	60	15
35	Pyriofenone	blood biochemistry change	89.8	15.3	blood biochemistry change	83.5	13.7
36	Rimsulfuron	Increased liver and kidney weight	193	9.6	Increased liver and kidney weight	81.8	1.6
37	Sethoxydim	Increased liver weight	110	17.5	Increased liver weight	110	17.5
38	Spinetoram	Arteritis	10.2	4.97	Arteritis	5.8	2.5
39	Spirotetramat	Alteration in thyroid hormone	> 72	72	Decreased thyroid hormone	19	5
40	Triticonazole	Increased liver weight	100	30	Decreased body weight, blood biochemistry change	25	2.5

간의 차이는 아닌 것으로 판단된다.

이외 5.5배 이상인 농약은 모두 7종으로 각각의 농약별로 2종 시험간의 차이를 분석하면 다음과 같다. Amisulbrom 13주 시험에서는 증체율감소가 관찰되어 NOAEL을 300 mg/kg/day으로 설정하였으나 1년 시험에서는 증체율감소 및 부신증량증가로 10 mg/kg/day로 설정하였다. 2종 시험간 NOAEL의 차이는 고농도 장기간 반복노출에 기인한 것으로 판단되었으며, 1년 시험의 부신증량증가는 13주에서는 관찰되지 않았던 새로운 영향이었다. Cyflumetofen 13주 및 1년 시험의 표적장기와 독성학적 영향은 부신의 공포화 변성으로 동일하였으나 NOAEL은 각각 300 및 30 mg/kg/day로 10배정도 차이가 나는 것은 고농도 반복노출에 의한 투여기간의 차이인 것으로 사료되었다. Penthiopyrad 13주 시험의 NOAEL, 표적장기 및 독성학적 영향은 76.7 mg/kg/day, 효소활성에 의한 간 무게증가였으며, 1년 시험의 NOAEL, 표적장기 및 독성학적 영향은 7.9 mg/kg/day, 간 무게증가와 혈액학적 변화였다. 2종 시험간의 NOAEL의 현저한 차이는 고농도 장기간 반복노출에 의한 것으로 판단되나 혈액학적 변화는 13주에서 관찰되지 않은 영향이었다. Propyrisulfuron 13주 및 1년 시험의 표적장기와 독성학적 영향은 체중감소 및 빈혈로 동일하였으나 NOAEL은 각각 10 및 1.1 mg/kg/day로 10배 정도 차이가 나는 것은 고농도 반복노출에 의한 투여기간에 기인하는 것으로 사료되었다. Rimsulfuron 13주 및 1년 시험의 표적장기와 독성학적 영향은 간 및 신장무게증가로 동일하였으나 NOAEL은 각각 9.6과 1.6 mg/kg/day로 상당한 차이를 보였다. 그러나 본 약제의 경우는 중간농도와 최저농도간의 간격이 81.8 mg/kg/day과 1.6 mg/kg/day으로 설정농도간의 차이에 의한 문제로 판단되며 새로운 표적장기나 독성학적 영향은 관찰되지 않았다. Spirotetramat의 13주 시험 최고농도 72 mg/kg/day에서도 투여에 의한 영향은 관찰되지 않았으나 1년 시험 19 mg/kg/day에서 갑상선 및 혈액생화학적 변화가 나타나 NOAEL을 5 mg/kg/day로 설정하였다. 본 약제의 경우는 고농도 반복투여 및 투여기간의 연장에 기인한 영향으로 13주와 1년 시험간의 차이라고 판단되나 독성영향은 일반적으로 나타나는 현상이어서 새로운 독성학적 영향은 아닌 것으로 사료된다. Triticonazole 13주 및 1년 시험의 독성학적 영향 및 표적 장기가 동일하였으며, 단지 고농도 반복투여 및 투여기간의 연장에 의한 차이로 판단되었다. 또한 개 13주 시험과 설치류 만성독성시험이 있을 경우 추가의 안전계수 적용은 설치류 시험성적의 분석이 필요할 것으로 판단되며 장기간의 인체노출이 예상되지 않는 경우는 개에서 나타나는 영향이 가장 민감한 것인가를 검토하여 결정해야 하며, 가장 민감한 경우는 추가의 안전계수를 종합적으로 검토하여 조정해야 할 것으로 판단되었다.

EPA는 2007년까지 농약의 안전관리를 위하여 설치류와

비설치류에 대한 시험을 요구하여 왔으며, 개 시험에서 얻어진 정보 가치에 대한 끊임없는 논란이 지속되어 오고 있다(Appelman과 Feron, 1986, Lumley 등, 1992; Parkinson 등, 1995; Gerbracht와 Spielmann, 1998; DeGeorge 등, 1999; Spielmann과 Gerbracht, 2001; Box와 Spielmann, 2005). Lumley 등(1992)은 약물의 사용수준과 유해반응 수준간의 안전한계와 유해반응 검색을 위해 필요한 만성동물 시험의 최소 소요기간을 산정했다. 개를 이용하여 수행한 시험에서 약물 98%의 모든 유의한 영향이 6개월 이내에 나타났으며(55 of 56 case studies), Parkinson 등(1995)은 117종(의학연구센터 독성데이터베이스)의 약물을 대상으로 개 6개월 이상시험을 분석한 결과 117종 중 단지 13종에서 추가의 영향이 관찰되었다고 설명했다. DeGeorge 등(1999)에 의해 지적된 것처럼 9~12개월 시험에 관찰된 소수의 추가 독성정보는 단지 안전한계 내의 미세적인 차이에 불과하며, Spielmann와 Gerbracht (2001) 그리고 Box와 Spielmann (2005)은 독일의 소비자보호 및 동물약품 연구소(Federal Institute of Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine)에 제출했던 216종 농약의 개 만성독성시험의 표적장기에 대한 독성 분석결과 26주 시험에서 관찰된 영향외의 추가 정보는 없었다고 보고하였다. 그들은 개를 이용한 안전성시험은 노출기간의 연장에 의한 추가의 정보를 획득할 수 없기 때문에 아만성(13주)으로 제한해야 할 것을 주장했다. 드물게 13주나 설치류 시험에서 나타나지 않는 새로운 독성이 관찰되는 경우도 있었다. 예를 들면 Cypermethrin의 경우 13주에서는 나타나지 않았던 치사가 1년 시험에서 관찰되었는데 이는 pyrethroid계 농약의 신경독성이 13주 내에 관찰되는 것이 일반적이고 일시적이기 때문에 설명하기가 곤란한 현상이었다. 다른 예는 Fosetyl-AI로 개 만성독성 500 mg/kg/day에서 13주에서는 관찰되지 않은 고환의 퇴화가 나타났다. Fosetyl-AI의 일차적인 독성기전이 칼슘과인의 침전, 방광에 urothelium을 자극함으로써 결석형성, 과형성 및 방광암 등을 포함한 뇨 생리장애를 일으킨다. 후자가 랫드에서 더 많이 연구되어 있다. 그러나 이 경우 13주 개 시험의 NOAEL이 만성 LOAEL에서 보인 고환 병변을 방지할 수 있을 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 종합하면 약 70% 정도가 표적장기 및 독성학적 영향이 같거나 유사하였으며, 2종 시험간의 NOAEL 차이도 크지 않았다. 그러나 1년 개에 대한 NOAEL이 13주보다 현저하게 낮은 22.5%의 경우는 1년 개에 대한 독성시험이 위해성평가를 위한 기준설정에 중요한 역할을 한 것으로 판단되었다. 또한 만성적인 인체노출이 일어나지 않을 것으로 예상되는 비식용의 경우는 개 1년 시험성적이 없어도 ADI 설정에 심각한 영향을 미치지 않는 것으로 생각되었다.

감사의 글

본 연구는 2013년 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발 사업(과제 번호 : PJ0063402013)의 지원에 의해 이루어진 것임.

Literature Cited

- Appleman, L. M. and V. J. Feron (1986) Significance of the dog as "second animal species" in toxicity testing for establishing the lowest 'no-toxic-effect level. *Journal of Applied Toxicology*. 6(4):271-279.
- Australia APVMA (2007) *Agricultural Manual of Requirements and Guidelines - Ag MORAG*. Volume 3.
- Box, R. J. and H. Spielmann (2005) Use of the dog as non-rodent test species in the safety testing schedule associated with the registration of crop and plant protection products (pesticides): present status. *Archives of Toxicology*. 79(11): 615-26.
- DeGeorge, J., L. Meyers, M. Takahashi and J. Contrera (1999) The duration of non-rodent toxicity studies for pharmaceuticals. *Toxicological Sciences* 49:143-155.
- Doe, J. E., A. R. Boobis, A. Blacker, V. Dellarco, N. G. Doerrer, C. Franklin, J. I. Goodman, J. M. Kronenberg, R. Lewis, E. E. McConnell, T. Mercier, A. Moretto, C. Nolan, S. Padilla, W. Phang, R. Solecki, L. Tilbury, B. van Ravenzwaay and D. C. Wolf (2006) A tiered approach to systemic toxicity testing for agricultural chemical safety assessment. *Crit Rev Toxicol*. 36:37-68.
- European Commission (1994) Commission Directive 94/79/EC of 21 December 1994 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market.
- Gerbracht, U. and H. Spielmann (1998) The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. I. Interspecies comparison. *Archives of Toxicology*. 72(6): 319-29.]
- Lee, J. B., J. S. Shin, Y. K. Park, A. S. You, S. S. Hong, G. J. Im and K. Y. Kang (2007) Establishment acceptable daily intakes (ADIs) for pesticides registered in Korea. *The Korean Journal of Pesticide science* 11(4):289-298.
- Lumley, C. E., C. Parkinson and S. R. Walker (1992) An international appraisal of the minimum duration of chronic toxicity studies. *Human and Experimental Toxicology* 11:155-162.
- MAFF (2008) *Data Requirements for Supporting Registration of Pesticides*, (Notification No. 12-Nouan-814724 November, 2000).
- Parkinson, C., C. E. Lumley and S. R. Walker (1995) The value of information generated by long-term toxicity studies in the dog for the nonclinical safety assessment of pharmaceutical compounds. *Fundamental and Applied Toxicology*. 25(1): 115-123.
- Spielmann, H. and U. Gerbracht (2001) The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. Part II: Subacute, subchronic and chronic studies in the dog. *Archives of Toxicology*. 75(1):1-21.
- US EPA (2005a) *A Comparison of the Results of Studies on Pesticides from 12- or 24-Month Dog Studies with Dog Studies of Shorter Duration*, Karl P. Baetcke, Whang Phang, and Vicki Dellarco, Health Effects Division, Office of Pesticide Programs, 2005 at <http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2005/may2/dogstudymay05.pdf>.
- US EPA (2005b) FIFRA Scientific Advisory Panel (SAP) Meeting Minutes, May 5-6, 2005, A Set of Scientific Issues Being Considered by the Environmental Protection Agency Regarding: A Comparison of the Results of Studies on Pesticides from 1- or 2-Year Dog Studies of Shorter Duration.
- US EPA (2006) *Length of Dog Toxicity Study(ies) that is Appropriate for Chronic RfD Determinations of Pesticide Chemicals*.
- US/EPA (2007) *Federal Register Notice - Pesticides; Data Requirements for Conventional Chemicals, Technical Amendments, and Data Requirements for Biochemical and Microbial Pesticides; Final Rules*(October 26, 2007).
- US EPA (2013) <http://www.epa.gov/pesticides>.
- WHO (2013) <http://www.who.int/foodsafety/chem/jmpr/publications/monographs/en/index.html>.

국내 사용농약의 노출 기간이 개의 독성반응에 미치는 영향 분석

이제봉* · 정미혜 · 유아선 · 홍순성 · 백민경 · 오진아 · 박경훈 · 임양빈

농촌진흥청 국립농업과학원

요 약 농약의 등록을 위한 국내 독성시험성적 요구 기준 중 비식용 농약 등 인체노출이 장기적으로 발생되지 않는 물질에 대하여 개 1년 독성시험 성적을 요구할 것인가에 대한 검토를 목적으로 개 13주와 1년 시험성적을 독성학적으로 비교분석 하였다. 본 연구는 최근에 ADI 설정을 위하여 평가한 40종 농약과 기존에 등록된 농약 중 ADI가 고시된 농약 등 총 166종을 대상으로 ADI설정에 사용된 독성시험성적, 주요관련 표적장기, 13주 및 1년의 표적장기 및 영향의 유사성, NOAEL 차이 등을 검토하였다. 그 결과 166종 중 68(41%)종이 개를 이용한 독성시험 NOAEL을 이용하여 ADI를 설정하였고, 표적장기에 대한 영향으로는 간에 대한 영향 49건, 체중변화 21건, 콜린에스테라제 저해 16건, 혈액학적변화 14건 등의 순이었으며, 13주와 1년 시험의 표적장기 및 영향의 유사성은 73%에 달했다. 두 시험 간 NOAEL에 대한 차이는 최근 등록된 40종을 대상으로 분석한 결과 1.5배 이내로 관찰된 것이 22종(55%)으로 가장 많았고 1.6~3.5배가 9종이었다. 나머지 9종에서도 대부분 투여용량 설정 등의 문제였으며 4종(10%)만이 13주 및 1년간에 독성학적 영향이 다른 것으로 나타났다.

색인어 독성시험, NOAEL, 독성영향분석