

農藥之急性參考劑量科學評估與制定

廖俊麟^{1*}、李懿庭¹、蔡建任¹

摘要

廖俊麟、李懿庭、蔡建任。2019。農藥之急性參考劑量科學評估與制定。臺灣農藥科學 7 : 1-25。

急性參考劑量 (acute reference dose, ARfD) 的定義，是指消費者在 24 小時或更短的時間內攝入食品和/或飲用水中殘留物質估算的參考劑量，該數值不會對消費者造成短期的健康危害風險。制定農藥的急性參考劑量概念與每日可接受攝食量 (acceptable daily intake, ADI) 類似，需要評估藥劑之理化特性、作用機制 (mode of action, MOA)、毒理動力學、動物毒理試驗或人體暴露研究等資料，並且分析不同資料的證據權重 (weight of evidence)，綜合評估最適合引用之推估起點劑量 (point of departure, POD) 與不確定因子 (uncertain factors, Ufs)。本文將介紹 ARfD 的評估流程，包括 ARfD 制定基本原則及判定農藥是否需制定 ARfD 評估要件，並針對包括血液毒性 (haematotoxicity)、免疫毒性 (immunotoxicity)、神經毒性 (neurotoxicity)、肝腎毒性 (liver and kidney toxicity)、內分泌干擾 (endocrine disrupting effects)、發育毒性 (developmental effects)、腸胃道影響 (effects on gastrointestinal tract) 及其他一般性症狀等不同毒性指標與評估 ARfD 之適用性差異進行說明。針對不確定因子設定上國際已導入採用特定化學物調節因子 (chemical-specific adjustment factors, CSAFs) 來精緻化相關係數，並說明調整不確定因子須考量的判定基準。一般會建議制定一個能保護所有族群的 ARfD 數值，但仍需特別考量對敏感性較高的特定族群 (subpopulation) 之危害風險。統計國際已制定農藥的 ARfD 資料中，最常被使用的試驗為出生前發育毒性及神經毒性試驗。本研究參考目前國際的 ARfD 評估指引文件及相關研究報告，闡述 ARfD 的制定流程，提供符合國際指引的評估基準，作為我國相關學者在評估農藥之 ARfD 時之參考依據，以精進短期取食風險評估及應用於殘留污染事件發生的風險評估及風險管理。

接受日期：2019 年 12 月 18 日

* 通訊作者。E-mail: clliao@tactri.gov.tw

¹ 臺中市 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

關鍵詞：農藥、急性參考劑量、評估指標、推估起點劑量、不確定因子

緒言

參考劑量 (reference dose) 是一種對於風險分析研擬的估計值，以經由攝食暴露農藥途徑而言，是用來估算一般人於長期或短期暴露農藥劑量而沒有明顯有害影響的數值基準，包括長期之每日容許攝取量 (acceptable daily intake, ADI) 及短期之急性參考劑量 (acute reference dose, ARfD)，相關數值基準對於後續制定化學物質的殘留容許量 (maximal residue level, MRL) 以及評估取食風險 (dietary risk assessment) 皆是重要的依據，一般而言是根據動物實驗或極少數為經由人體暴露研究結果計算而得。過去國內較重視 ADI 的制定，而現今各國亦重視農藥短期暴露風險之 ARfD 的評估。最早提出相關議題是世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 發展之國際化學物安全評估計畫 (International Programme on Chemical Safety, IPCS) (23)，主要內文是「考慮農藥危害風險時，除一般評估 ADI 外，應額外考慮潛在急毒性效應的風險」，因此聯合國國際食品法典會 (Codex) 在討論後，立即要求世界糧農組織及衛生組織農藥殘留專家聯合會議 (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, JMPR) 成立工作小組解決此議題，首先 JMPR 在 1993 年提出對於食物可能暴露之強急毒性農藥應制定

不同之 ADI 值，直到 1998 年 JMPR 才對短期暴露之參考劑量評估，給予正式名稱為 ARfD，及到 2002 年給予正式定義，為「根據已知的評估資料，化學品的 ARfD 設定，是指消費者在 24 小時或更短的時間內攝入食品和/或飲用水中殘留該物質估算的參考劑量，通常以體重表示，該數值是不會對消費者造成短期健康危害風險的劑量」(10, 18, 23)。除農藥須制定 ARfD 外，其他化學品包括動物用藥及環境用藥，環境污染物如黴菌毒素等，倘若有短期暴露危害風險，也皆應考慮制定 (14)。本文將針對 ARfD 制定概念、評估要件、適用評估指標 (endpoints)、不確定因子 (uncertain factors, UFs)、特定族群 (subpopulation) 評估及引用人體暴露資料等關鍵流程做全盤研析，並簡要說明 ARfD 於農藥殘留的風險評估及管理之應用，以期促使國人對於農藥殘留之 ARfD 評估有更深入之瞭解及以此科學探討作為與大眾溝通橋樑，並精進我國對於短期取食風險評估。

急性參考劑量制定基本概念及制定限值

一、制定基本概念

制定 ARfD 整體概念與 ADI 類似，其

運算公式為：急性參考劑量 = 推估起點劑量 (point of departure, POD) ÷ 不確定因子。POD 為根據實驗數據，對於試驗物於劑量效應 (dose response) 關係曲線內，評估試驗衍生沒有或極低特異性反應基準的數值，一般作為外推到人體評估參考劑量之依據。傳統上會使用動物毒理試驗所獲得的無可見毒害劑量 (noobserved-adverse-effect level, NOAEL) 作為設定 ADI 或 ARfD 的 POD，現今也可能替代以使用基準劑量 (benchmark dose, BMD) 作為設定 POD 的考量⁽²⁷⁾，BMD 為預期至少達到反應的劑量 (比如與對照組相比增加某種毒性反應發生率達 10%)，其計算是以建立劑量效應延伸的數學模型計算而來，通常伴隨著估計 10% 低基準劑量 (benchmark dose lower confidence limit, BMDL₁₀)⁽¹⁸⁾。ARfD 制定應選擇不同試驗中與急性暴露有關且最具敏感試驗體系的評估指標，並需要考量其機制與人類風險相關性⁽²³⁾。

雖然一般會建議使用與急性 (單一劑量 (single dose)) 暴露相關的試驗作為參考依據，但在缺乏可引用的急性毒性試驗結果時，亦可引用重複劑量 (repeat dose) 毒性試驗中可能與急性暴露有關的評估指標及其 POD，但需要考慮「評估指標中那項最能代表該藥劑在急性暴露試驗於目標器官 (target organ) 產生的毒性危害以制定 ARfD」及「在不同的評估指標中，那一個危害影響最有可能在單一劑量暴露後發生」^(18, 23)，此種情況會以評估在重複劑

量試驗初期即觀察到的指標為主。當引用重複劑量試驗結果時，須仔細考量證據權重，探討其毒性作用機制 (mode of action, MOA)、造成的危害反應、毒理動力學 (toxicokinetic) 資料或者其他類似結構化合物是否有相關急毒性反應的證據，最重要是評估該指標反應在急性暴露時是否同樣可能發生。引用重複劑量試驗結果作為評估 ARfD 雖然被認為是較保守的方式，但也不意味著需要使用非常規的不確定因子^(10, 23)。倘若評估單一品項產品的殘留量經短期取食風險評估會接近或高於 ARfD 時，會啟動再評估或調整農藥使用方法等機制以確保取食風險⁽¹¹⁾。另外如果在急性攝取單一品項食物農藥殘留的估計值可能大於使用重複劑量試驗所獲得的保守 ARfD，並且對該農藥急性攝取風險仍存疑慮時，則可建議依據現有的急性毒性證據資料，比如使用最敏感試驗體系以及評估最關注的評估指標，再進行一個特別設計的單一劑量毒性試驗，以獲得適當之 POD 並進一步修正 ARfD 值，後續才能得到更準確的短期取食風險結果，而為了減少實驗動物的使用量，除非具強烈需求才需要進行相關試驗⁽²³⁾。

目前包括美國環保署 (United States Environmental Protection Agency, US EPA) 或加拿大有害生物管理監管機構等國際組織 (The Health Canada Pest Management Regulatory Agency, PMRA)，特別因為推動相關食品保護法案，會考慮針對不同的特定族群 (subpopulation)，比如孕婦或胎

兒制定除適用普遍族群外更嚴謹的參考劑量 (25, 27, 28)。另外根據其藥劑代謝試驗結果與取食風險的殘留定義，對於主要代謝物，衡量急性危害風險遠高於主成分 (parent compound) 時，在獲得足夠而可供評估的背景資料下，需考量對代謝物制定不同於主成分的 ARfD 數值⁽¹⁰⁾。一般農藥的中長期毒性試驗所得到 NOAEL 值小於短期試驗，但在部分特殊情形可能例外，比如短期試驗多以胃管投藥，而長期試驗多以藥劑混拌飼料投藥，而部分藥劑可能因具強刺激性等原因，導致胃管給藥所產生的效應大於混拌飼料方式，在此情形即可能得到短期試驗的 NOAEL 值反而小於中長期試驗，而導致所評估之 ARfD 值低於已評估之 ADI 值情形發生，此情形下則須進行 ADI 值的再評估，一般常將 ADI 調整與 ARfD 相同^(18, 23)。

二、ARfD 制定限值

當考量短期暴露農藥殘留風險時，其 ARfD 評估限值 (limit value) 為 5 mg/kg bw，其設定主要為根據估算短期最高暴露劑量推估而來，評估流程如下⁽²³⁾：(1) 假設某成人體重為 50 kg，一次食入 0.5 kg 重水果，而且主要食入部位占該產品組成大部分，水果殘留農藥容許量為 20 mg/kg，估算其最高暴露農藥攝取量 = $0.5 \text{ (kg)} \times 20 \text{ (mg/kg)} \times 5 \text{ (variability)} \div 50 \text{ (kg bw)} = 1 \text{ mg/kg bw}$ ，加入變異係數 (variability) 以 5 代表主要考量可能有少數較極端族群會有

較高攝食量可能性。(2) 另外再考慮其他特殊情形，如極少數產品容許量標準超過 20 mg/kg 或者胎兒及幼童有較高之單位體重攝食量 (暴露比例) 情形，因此再給予 5 倍作為額外的變異係數，以涵蓋上述特殊情形。(3) 因此可得到 5 mg/kg bw (1×5) 被視為最保守估計值，也是 ARfD 制定限值的由來，此數值已考量到所有因攝食產品暴露殘留農藥且為最極端之特殊情形，視同為引用動物毒理試驗得到 NOAEL 值為 500 mg/kg 之結果，不確定因子以常規使用的 100 倍為代表。

判定農藥是否制定 ARfD 評估要件

一、國際指引判定基準

一般而言化學農藥皆會進行 ADI 制定，但 ARfD 之制定被認為是在檢視該藥劑所有的資料證據後，評估有急性攝取潛在風險時才需要進行，普遍共識可免除制定 ARfD 之評估要件如下 2 點^(10, 14, 18, 23)，但目前國際可能因不同專家的風險危害考量觀點，對於不同農藥 ARfD 是否須制定的判定標準不一定相同。當建議免除制定 ARfD 時，須在評估報告中詳述其緣由。

1. 在急性暴露中給予高達 500 mg/kg/day 以上劑量時，仍未見明顯特異性之毒性表現 (亦即 NOAEL 值 $\geq 500 \text{ mg/kg/day}$)，但此部分須注意雖然主要參考急性毒性試驗之結果，但亦須要評估重複劑量試

驗中與急性暴露相關的毒性反應。

2. 在單一劑量口服急毒性試驗中，當給予 1000 mg/kg bw 以上劑量時，動物無出現因藥劑導致死亡情形，但如果死亡是在該毒性試驗唯一看到的評估指標，須確定動物死亡是否為藥劑特異性反應，比如應排除掉人為疏失之操作，以確認其毒性機制與人類可能造成的危害風險相關性。

本評估報告建議當同時滿足上述兩項要件，並評估藥劑無出生前發育或神經毒性等疑慮時，即可判斷無急性風險而不須訂定 ARfD 值。

二、其他國際組織評估考量基準

根據歐盟委員會 (EC) 出版文獻⁽⁸⁾，若有以下任一情形則需制定 ARfD，包括 (1) 在口服單一劑量後造成明顯死亡、(2) 具出生前發育毒性，除非評估該毒性是直接因母體毒性影響產生之結果、(3) 在重複劑量試驗中出現與急性暴露相關症狀，比如行為學異常，心血管症狀或呼吸症狀等、(4) 出現急性神經毒性及 (5) 在重複劑量試驗觀察到有荷爾蒙 (hormones) 異常反應，並評估為急性暴露所引起。

評估 ARfD 所適用評估指標探討

制定農藥 ARfD 須考量的評估指標，可能包括血液毒性 (haematotoxicity)、免疫

毒性 (immunotoxicity)、神經毒性、肝腎毒性 (liver and kidney toxicity)、內分泌干擾 (endocrine disrupting effects)、發育毒性、腸胃道影響 (effects on gastrointestinal tract) 及其他一般性症狀，以下將說明不同的評估指標與急性暴露可能引起反應的相關性，哪些指標相關性較高而適合引用，其他指標則可能與重複劑量暴露較有關，較不適合引用。最後對於各項評估指標與設定 ARfD 相關性之考量整理 (表一)。對於與 ARfD 評估之相關性由低至高，分別給予不同等級包括 (1) 不太可能 (unlikely)、(2) 不確定的 (questionable)、(3) 低度可能 (possible)、(4) 非常有可能 (probable)、(5) 高度相關的 (very relevant) 之分類，並提供各項目之來源比較⁽¹⁴⁾。其中屬於非常有可能或高度相關的為神經毒性或出生前發育毒性，個別指標則綜述如下。

一、血液毒性

造血系統是指動物機體內製造血液的整個系統，由造血器官和造血細胞組成。雖然造血系統除製造紅血球外，還會製造其他如白血球或淋巴球等不同細胞，但目前主要以對於紅血球之影響評估血液毒性⁽⁴⁾。當血紅素之二價鐵離子 (Fe^{2+}) 被氧化成三價鐵離子 (Fe^{3+}) 時，而失去氧氣親和性者，稱為變性血紅素 (methemoglobin, MetHb)，又稱為高變性血紅蛋白血症。MetHb 本身除不能供氧外，還同時加強了其它血紅蛋白與氧的親和力，因此即使在

表一、不同毒性評估指標與設定急性參考劑量相關性

Table 1. Relevance of comparison from different endpoints to establishing ARfD

Endpoint	Relevance for ARfD ¹⁾	Data source
methaemoglobinemia	very relevant	haematology
haemolytic anaemia	questionable	haematology
immunotoxicity	unlikely	haematology; pathology
neurotoxicity	probable	observations; clinical chemistry-che ²⁾ ; pathology
liver/kidney toxicity	possible	clinical chemistry; pathology
Endocrine (hormonal effects)	unlikely	blood hormones; pathology; reproductive performance; other functions
developmental effects	very relevant	developmental study
effects on gastrointestinal tract	possible	observations
body weight changes	possible, but only if some evidence for possible acute effect	absolute weight and rate of change

¹⁾ Relevance from high to low: very relevant > probable > possible > unlikely

²⁾ che: cholinesterase

Information extracted from JECFA⁽¹²⁾

氧分壓較低時，也不易將氧氣釋放至組織，臨床可能顯示有發瘡 (cyanosis) 及呼吸困難等症狀⁽¹³⁾。根據不同藥物之吸收及代謝速率，MetHb 可以在單次劑量投藥後 1-4 小時即發生症狀，因此被視為與急性風險相關，適合作為評估 ARfD 的評估指標，當狗試驗檢測到 >4% MetHb 的結果或者齧齒類動物 MetHb 數值與對照組相比具有統計顯著性差異時，皆可評估為具高變性血紅蛋白血症^(18, 23)。

急性溶血性貧血 (acute haemolytic anaemia) 可藉由不同機制引起，包括 (1) 紅血球機械性損傷 (mechanical damage)、(2) 免疫媒介貧血 (immune mediated anemia)

及 (3) 細胞膜受到氧化或非氧化傷害 (oxidative or non-oxidative injury)，紅血球機械性損傷主要是因為細菌感染或者使用化療藥物引起。免疫媒介性貧血是指引起過度免疫反應促使紅血球被抗體附著標記，並引發補體反應而引起溶血，但相關疾病模式的診斷較困難。細胞膜受到氧化及非氧化傷害是指血紅素變性而在紅血球細胞膜上形成漢氏小體 (heinz body) 而容易經由脾臟作用引起溶血。這些機制引起的急性溶血性貧血較不適合作為制定農藥的 ARfD 評估指標⁽²³⁾。

在重複劑量試驗中，如果能在數個不同時間點進行採血，那麼所獲得血液學數

據會對於評估其是否與急性暴露相關有所幫助。如果血液學相關數據顯示影響時程是在前期觀察到，而在中後期已經無發現相關變化，那麼就比較傾向其機制可能與急性暴露相關；如果影響時程是在晚期，而在前期或中期無顯示相關反應，那麼會被認為其機制與重複暴露較有關。因此對於評估血液毒性作為農藥暴露的 ARfD 評估指標時，是否具足夠不同時間點的血液學相關數據是關鍵因素^(18, 23)。

二、免疫毒性

免疫毒性已越來越被認為是評估農藥毒性重要的指標，部分農藥如氨基甲酸鹽類 (carbamate) 已被證實確實可引起免疫毒性⁽⁶⁾。免疫毒性在毒性試驗評估的標準包括 (1) 免疫組織或器官病理學檢查、(2) 血清免疫球蛋白量及 (3) 脾臟、胸腺及淋巴結相對重量改變。免疫毒性分類可區分為 (1) 免疫抑制 (immunosuppression)、(2) 過敏 (hypersensitivity/allergy)、(3) 自體免疫 (autoimmunity) 及 (4) 免疫系統失調 (immune system dysregulation) 等等，可以從結構性或功能性的影響而評估具免疫抑制特性，過敏為動物個體對於外來物質有過度免疫反應進而傷害其組織器官，自體免疫為免疫系統異常攻擊於個體本身，免疫失調主要是免疫系統經由錯誤的抗原訊息處理或媒介過程，導致免疫反應受到影響⁽¹⁵⁾。

儘管少數化合物可能在單一劑量毒性

試驗即引起免疫毒性反應，但大多是因投予高劑量的藥劑所引起，並透過造成動物明顯不適反應或對其他器官影響而間接引起免疫毒性相關反應，比如減少食物攝取量、強刺激性、嚴重炎症反應或者糖皮質類固醇的釋放等原因，而並非直接對免疫器官產生毒性。以生理學功能而言，免疫系統確實不容易因為單一劑量暴露即造成明顯的免疫毒性反應，因為構成免疫器官之細胞通常具有持續性之再生功能，除非是長期重複暴露才較可能引起不可恢復的毒性反應。因此免疫毒性通常為重複劑量毒性試驗觀察的結果，不適合作為制定農藥的 ARfD 評估指標⁽²³⁾。

三、神經毒性

神經毒性主要指中樞或周圍神經系統其結構性或功能性受到影響。在急性試驗通常無法評估其結構性是否受到傷害，會藉由發現相關神經症狀比如震顫 (tremors) 或者抽搐 (convulsions) 而懷疑具神經毒性，再藉由完整測試評估其功能性是否受到影響，包括感知影響 (sensory effects)，如瞳孔反應或者疼痛感知程度、神經肌肉影響 (neuromuscular effects)、如肢體握力或者後肢展開能力及學習及記憶能力 (learning and memory)，如進行迷宮測試等等⁽⁷⁾。少數化合物會引起延遲性神經毒性 (delayed neurotoxicity)，主要是在暴露後一段時間才發現神經毒性的反應，因此如果評估有延遲性神經毒性考量時，

應注意試驗之觀察時間期程是否足夠。當測試某些特定作用機制如有機磷類 (organophosphates) 藥劑時，會增加對相關生物指標 (biomarkers) 影響作為測試項目，比如檢測血液中或腦中的乙醯膽鹼酶活性 (acetylcholinesterase activity) 是否受到抑制⁽²³⁾。

對於大部分動物而言，神經系統的再生及恢復能力相當有限，任何在重複劑量試驗觀察到的神經毒性反應，皆可評估為在急性暴露時亦會有發生之風險，因此神經毒性症狀皆適合作為制定農藥的 ARfD 評估指標^(18, 23)。在目前大多進行之急性神經毒性試驗，會將功能觀察性測試 (functional observation batteries, FOB) 列入須測定項目，雖然 FOB 測試可能會提供大量測試物質之顯著差異的統計結果，但要確定其神經毒性仍需要完整評估各項檢測項目，包括其發生之天生性 (nature)、嚴重性 (severity)、持續性 (persistence)、劑量效應關連性 (dose-relationship) 以及相較於試驗或歷史對照組別之試驗結果。大部分脊椎動物的神經系統具有類似的解剖及功能構造，因此任何在實驗動物發現的神經毒性證據，皆應視為與人體暴露造成風險相關，除非已經有明確藥劑作用機制及流行病證據確定可排除與人類風險相關性⁽²³⁾。另外在實驗動物未發現到神經毒性反應時，也不能完全排除與人類無關，比如人類已知暴露 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氫吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 神經毒

素會引起類似於帕金森氏症 (Parkinson's disease) 的症狀，但是該藥劑在大鼠試驗中不會觀察到類似的毒性反應，因此即使在動物試驗無觀察到神經毒性症狀，但從其化學物結構、與已知神經傳遞物質之關聯性等原因懷疑具神經毒性時，就不能完全排除其神經毒性在人類發生之風險。由於有機磷或胺基甲酸鹽類藥劑在使用農藥殺蟲劑中占一定比例，根據相關藥劑之作用機制，因此目前最常用來制定農藥 ARfD 所採用神經毒性的評估指標為抑制腦中或血液的乙醯膽鹼酶活性，JMPR 已建議無論評估 ADI 或者 ARfD 皆適用其具神經毒性的基準為抑制乙醯膽鹼酶活性達 20% 以上，而對於其他評估指標則認為沒有常態可適用的基準，因此一般會建議與對照組或者歷史數據進行比較才加以判斷^(18, 23)。

四、肝毒性

肝臟作為主要代謝的器官，以口服暴露途徑而言，外來物經過消化道吸收後可能即透過門脈循環進入肝臟，因此經常暴露化學物質並可能產生相關毒性反應。以一般齧齒類動物毒性試驗而言，可透過包括器官秤重、血清生化指標 (如代謝酵素活性或蛋白質比例) 及病理學檢查等等指標評估肝臟毒性，其中又以組織病理學檢查結果作為評估肝毒性之關鍵因子，實驗動物常見肝組織病變包括肝細胞肥大 (hypertrophy)、壞死 (necrosis)、脂肪變性

(fatty change)、肝炎 (hepatitis)、纖維化 (fibrosis) 或者造成膽管細胞增生 (hyperplasia of bile duct) 等反應⁽²⁶⁾。

肝毒性評估指標主要是來自重複劑量試驗，以肝毒性作為制定 ARfD 的評估指標時，須要考慮其病變是否與急性暴露有關，比如增加肝臟重量、肝細胞肥大、脂肪變性、膽管增生、纖維化或代謝酵素增加的結果，會被認為與適應性反應有關，需要較長時間才可能誘發，因此上述反應皆不建議作為制定農藥 ARfD 的評估指標，其他如肝細胞壞死則被認為是在急性暴露即可發生且為不可逆的肝臟傷害，因此較適合作為制定 ARfD 所採用，但仍需要針對個案並考量完整因子比如傷害之程度以及傷害維持之時間等等才能完整評估其風險^(18, 23)。

五、腎毒性

腎臟除作為代謝器官之一，更是主要排泄的器官，另外根據其生理特性，腎臟具有濃縮能力並且為高血液流動／器官重量比例 (high blood flow to mass ratio) 特性，因此在許多重複劑量毒性試驗顯示造成腎毒性反應的頻率亦相當頻繁⁽²²⁾。以常規啮齒類動物毒性試驗而言，可透過一系列檢查評估腎臟毒性，包括器官秤重、血清生化指標 (如代謝產物、蛋白質及離子濃度)、尿液分析及病理學檢查等等項目。以急性腎衰竭而言，造成的機制包括血管損傷、血管收縮、腎絲球體或腎小管

的傷害。檢測尿液比重、尿量、血清生化指標包括肌酸酐 (creatinine) 及血中尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 可幫助評估其嚴重程度⁽¹⁶⁾。而實驗動物常見腎組織病變包括腎小管或腎絲球體細胞變性 (degenerative changes)、壞死及炎症反應等⁽¹²⁾。以一般動物毒理試驗而言，要清楚分辨腎臟急性或慢性之病程其實是相當不容易的，因為會涉及到眾多系統對於腎臟直接或間接的影響，並且腎臟之儲備代償能力很大，要受損到一定程度才可能表現出腎毒性的反應，在一般動物毒理試驗早期較無法輕易發現動物已經有受到腎臟傷害之影響⁽²³⁾。

腎毒性評估指標有如肝毒性，亦多是來自重複劑量試驗的結果，也因此使用腎毒性作為制定 ARfD 的評估指標時，同樣需要考慮其病變究竟是否可能與急性暴露有關。比如增加腎臟重量、再生性增生反應 (regenerative hyperplasia) 及改變血清離子濃度會被認為與適應性反應有關，因此上述反應皆不建議作為制定農藥 ARfD 的評估指標，其他病變比如腎小管變性或壞死則被認為較為適合制定農藥 ARfD 的評估指標⁽²³⁾。

六、內分泌干擾

荷爾蒙調節了廣泛的生理功能尤其包括生殖及神經系統的發育及功能性，還有碳水化合物及蛋白質的代謝能力。目前國際組織皆發展了許多評估內分泌干擾的評

估方法及對應措施，比如依據最新經濟合作暨發展組織 (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) 公開之相關最新毒性試驗指引^(17, 19, 20)，說明了在試驗中如何透過檢驗各項指標以評估內分泌干擾特性，以 90 天亞慢毒性試驗為例，包括對於相關性腺或內分泌腺體臟器秤重及組織病理學檢查，血中促甲狀腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH)、甲狀腺素 (T3 or T4)、濾泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 及睪固酮 (testosterone) 等荷爾蒙含量，以及對於精子活動力 (sperm motility) 及形態學觀察 (sperm morphology) 等等精子評估指標⁽¹⁹⁾。

當化合物經評估具生殖毒性或出生前發育毒性時，會透過影響各項內分泌路徑尤其以性腺為主影響胎兒存活率及器官發育導致畸形等病變。而評估內分泌干擾特性時會再包括其他非性腺之內分泌腺體，並特別強調對於血液中荷爾蒙之影響，但要注意大鼠是對甲狀腺毒性極敏感之品種，在大鼠毒性試驗中，許多農藥會透過肝臟酵素代謝反應間接影響甲狀腺功能，其機制類似於投予苯巴比妥 (phenobarbital)，並已被證實其機制與人類低相關⁽⁵⁾。除了對於特定族群會引起後代發育毒性等內分泌影響，會評估與急性暴露有關，其他對內分泌干擾系統影響的指標，比如對於甲狀腺影響則被認為較與急性暴露低相關，因此不適合作為制定農藥 ARfD 的評估指標⁽²³⁾。

七、出生前發育毒性

發育期的定義為從親代性配子形成到配種、懷孕、分娩再到子代性成熟作為 1 個完整評估之期間，在出生前發育毒性試驗中，主要評估胚胎形成到分娩前藥劑對於發育期間的影響，期間內可能造成發育毒性之症狀反應包括 (1) 死亡，含著床前後胚胎損失 (pre- or post-implantation loss/resorption) 及死胎 (stillbirth)、(2) 畸胎或結構性異常 (malformations or variations of a structural nature)、(3) 生長遲緩 growth retardation or specific developmental delays 及 (4) 改變正常產後功能或行為能力 (altered postnatal functional or behavioural capabilities)。相較成年個體，發育中個體因隨時處在快速及複雜的組織器官發展間期，因此即使以單一劑量藥劑投予即可能產生相關毒性反應⁽²³⁾。

一般無法從生殖或出生前發育毒性試驗結果，區別其毒性反應主要是急性或是重複劑量暴露所引起，但考量發育中個體易受外來物影響之特異性，除非有明確證據可排除其毒性反應與急性暴露無關外，針對在任何發育期所發現的胎兒或後代不良影響皆適合用來評估 ARfD。另外在出生前發育毒性試驗常見之症狀—減少胎兒體重 (reductions of fetal body weight gain) 作為評估 ARfD 被認為是較保守的，主要是大多化合物單一劑量暴露之發育性毒性試驗，造成胎兒體重減少所獲得的 NOAEL 值，往往相較重複劑量暴露試驗

為高，以一般出生前發育毒性試驗評估減少胎兒體重作為制定 ARfD 指標時，應更詳細檢視母體是否產生毒性的證據^(18, 23, 27)。

除非缺乏其他與胎兒或發育毒性相關的指標，否則在出生前發育毒性試驗發現母體毒性的結果並不建議用來制定 ARfD。而當出現與胎兒相關毒性指標時，亦需要了解同樣劑量基準是否明顯引起母體毒性反應，因為一般而言出生前發育毒性試驗選用之最高劑量會建議至少引起母體輕微之毒性反應，因此區分胎兒所引起毒性劑量是直接從化合物影響，或者因為母體已經有過度毒性反應，導致其生理恆定性失衡才間接引起胎兒毒性反應是關鍵的，其中藥劑是否可通過胎盤能力之動力學資料更可以加強其評估證據^(8, 27)。

八、腸胃道影響

腸胃道是動物體內主要吸收營養之器官，可維持動物體生理恆定性，除此之外腸胃道也負責形成障壁對抗外來病原微生物。在一般毒理試驗中，部分化合物可見明顯腸胃道影響症狀，主要藉由3項作用模式引發，包括 (1) 當動物給予禁食，再使用胃管餵食或者以膠囊投藥時顯示明顯症狀，而同樣劑量藥劑如果以飼料混拌時則未發現明顯症狀，此模式被認為是因為化合物在高濃度時可能對消化道產生局部高刺激性反應所觸發，並非直接造成消化道器官毒性、(2) 給予藥劑是以混拌飼料

或添加至飲水中等路徑投藥，而動物即顯示相關消化道症狀，此模式被認為是藥劑可直接對於消化道器官或組織具毒性反應，但仍須就毒理動力學及毒理藥效學 (toxicodynamic) 考慮物種差異之影響及 (3) 當藥劑先明顯造成動物系統性反應，再間接引起動物消化道症狀，舉例而言當人或狗等動物種別投予多巴胺致效劑 (dopamine agonists) 時，會因為造成動物體中樞神經影響，刺激大腦髓質後區中與嘔吐反應相關之化學受器，再引起動物嘔吐之症狀，此模式被認為是藥劑間接對於消化道器官或組織具毒性反應，但同樣須要考慮物種差異之影響，上述模式 (2) 及 (3) 較適合作為設定 ARfD 之評估指標⁽²³⁾。

九、其他一般性症狀

在許多短期暴露毒性試驗會看到一些非特異性的症狀，在沒有其他特異性毒性反應時，亦可作為制定 ARfD 之評估指標，分別包括 (1) 呼吸道症狀，如呼吸困難 (dyspnea)、腹式呼吸 (abdominal breathing)、喘息 (gaspings) 及發紺 (cyanosis)、(2) 心血管症狀，如心跳速率改變 (change in heart rate) 及心律不整 (abnormal cardiac rhythm)、(3) 眼睛症狀，如流淚 (lacrimation)、縮瞳 (miosis)、散瞳 (mydriasis) 及紅淚 (chromodacryorrhea)、(4) 皮膚症狀，如紅腫 (redness of skin)、水腫 (oedema) 及豎毛 (piloerection) 及 (5) 泌尿道症狀，

如紅尿症 (red urine)⁽¹⁸⁾。

無論在短期或長期毒理試驗中，體重及攝食量變化為最常觀察到毒性症狀之一，相關症狀通常為藥劑造成動物系統性毒性再影響動物生理功能之結果，但當藥劑投予方式為混拌至飼料時，必須得評估該藥劑是否因影響嗜口性而造成動物攝食量下降再影響體重變化，當藥劑為投予於飲水中也會因為氣味或者其他因子造成攝水量下降並連帶影響攝食量。部分藥劑可能影響動物自主神經系統而間接造成攝食量下降，當在無其他可被引用之評估指標時，體重或攝食量變化症狀可被利用來評估 ARfD，但得特別考量藥劑本身對於動物適口性的影響⁽¹⁸⁾。

死亡率 (mortalities) 增加亦可被利用來評估 ARfD，但一般是在無法釐清其毒性機制並且無其他明顯可被引用之評估指標時才會使用，並須要完整評估其他試驗所獲得毒性反應之證據權重，盡量釐清其死亡可能原因，當評估其死亡之機制或原因與人類暴露低相關時則不建議使用，比如評估動物在試驗中是否有病原感染情形、動物天生器官解剖學上是否異常、試驗過程中人為操作疏失或者其他意外發生等等⁽¹⁸⁾。

制定 ARfD 給予不確定因子考量

一、不確定因子設定概念

在進行食品殘留化學物的風險評估時，理想情形是能夠獲得充分人體暴露的所有背景資料，但實際上大部分化合物可能只具有動物或體外試驗的數據，在解釋未知之變數時會進行不確定因子之設定⁽¹⁰⁾。不確定因子亦被稱為安全係數 (safety factor)，由於不同物種及個體對於毒性反應常有程度不一之敏感性，不確定因子可以向上或向下調整毒性測試結果，以涵蓋不同敏感度之個體，確保其引用動物試驗或人類暴露數據，在制定參考劑量時可以囊括評估所有族群人類暴露毒性物質的風險^(10, 25)。

不確定因子之評估取決於現有毒理學數據庫資料完整性，傳統上由毒理試驗之實驗動物推估到人類的的不確定性會給予 10 倍係數，再考量人與人間之個體差異再給予 10 倍係數共 100 倍作為常規的不確定因子，近年來針對不確定因子之係數會以毒理動力學及毒理藥效學數據解釋，以作為更精緻化的評估，毒理動力學主要探討藥物於血中濃度與時間的關係，毒理藥效學主要探討藥物於血中濃度與效果的關係，首先動物與人類 10 倍係數中會再細分 4 倍作為毒理動力學差異，2.5 倍作為毒理藥效學差異；個體差異 10 倍係數中毒理動力學及毒理藥效學差異皆為細分成 3.16 倍。另外如果藉由人體暴露研究所獲得的 POD 值則往往可以減少動物推估到人 10 倍係數的不確定因子^(10, 23, 27)。

透過對於不同物質之毒理動力學研究，可以採用特定化學物調節因子(chemical-

specific adjustment factors, CSAFs) 來精細評估不確定因子的設定。關於 CSAFs 之概念早期由國際化學品安全規劃小組 (International Programme on Chemical Safety, IPCS) 所提出，另外 WHO 亦發表了完整的以 CSAFs 評估化合物暴露風險指南⁽³⁰⁾，CSAFs 主要為透過毒理動力學資料以解釋物種及個體間劑量反應之差異，而可減少不確定性，比如探討血中最高藥物濃度 (C_{max}) 及血中藥物濃度-時間曲線下面積 (area under curve, AUC) 的關係。當試驗中達到 C_{max} 所須時間為達峰時間 (T_{max})，兩者反映了藥品在人體內的吸收速率，而 AUC 主要為利用積分得到的曲線下面積，可代表藥物的生物利用率 (bioavailability)，數值越高表示進入人體的吸收量越多。當評估的化合物與其作用標的 (比如受體或者離子通道) 的影響是可逆性的，那麼決定其效應影響應該是暴露物質濃度高於暴露總量，因此評估 C_{max} 會比 AUC 更加適合。JMPR 過去利用 CSAFs 評估數種氨基甲酸鹽類農藥的 ARfD，考量相關化合物經暴露後於體內不需要代謝反應活化即可發揮作用，並且排泄迅速，因此在評估 CSAFs 決定危害影響因素在於 C_{max} ，主要取決於胃腸道吸收的速率，在不須考慮代謝反應的差異下，可以將不確定因子的毒理動力學係數減少，比如以評估加保扶 (carbofuran) 為例，以 CSAFs 評估後使用之不確定因子為 25，相較常規不確定因子為減少動物與人類間及不同個體間之毒理動力學差異各

2 倍，但該評估結果於當時仍被其他風險評估機關持保留態度⁽²³⁾。2015 至 2016 年 WHO 繼續推動化合物 CSAFs 風險評估計畫，以審查和總結自 2005 年指南發布以來該技術領域最新的現狀，對於從世界風險評估機關已發表的文獻中獲得的 100 多個化學品風險評估實例進行了完整分析。一般情形下，使用常規的不確定因子是可以被接受的，因為大多數化合物 (特別是農藥) 鑑於與人體暴露相關的資料搜集限制性，皆難以完整評估其 CSAFs，但對於一些已完整釐清包括作用機制、劑量效應關係、動物體內可逆性等數據的化合物，再結合完整的毒理動力學資料評估，則可建議使用 CSAFs 以精進不確定因子之評估⁽³⁾。

在沒有其他特殊考量下，可以直接給予常規的不確定因子，但如果最後給予非常規的不確定因子，無論是增加或減少，皆應該有充分的證據及在報告結論完整的論述其理由^(10, 25, 27)。

二、增加不確定因子之考量

1. 當認定已選用最適合的評估指標但仍無法確定其 NOAEL 值時，會建議改以 BMD 方式評估 POD，或者使用該試驗最低可見毒害劑量 (lowest-observed-adverse-effect level, LOAEL) 值計算，但在不確定其 NOAEL 的基準下，以 LOAEL 制定通常會增加不確定因子的倍數，並有增加 1 到 10 倍之可能，整

體考量應根據該 LOAEL 反應的危害嚴重程度及劑量效應曲線之斜率，斜率越大代表每單位劑量引起的危害反應越高，因此整體認定具較高的不確定性及風險考量^(10, 23, 27)，如果根據反應的危害嚴重評估、劑量效應、毒理動力學資料及已釐清其 MOA，認為 10 倍過高，則可建議給予 $\sqrt{10} \approx 3$ 倍，其推估主要根據過去統計多數化合物的劑量效應常數關係，推估到大多數化合物的 LOAEL 值約為 NOAEL 值的 3 倍，但在少數案例也有最高到 10 倍之可能^(21, 31, 32)。

2. 根據資料搜集的不確定性或毒性反應的嚴重程度，會考量給予額外增加不確定因子之倍數，但通常沒有一定標準，根據不同毒理學家或機構考量的因子可能有相異的評估結果^(23, 25, 27)，但普遍原則會考量該反應的嚴重程度及發生比例，在其他結構相近化合物是否看到類似的反應，是否為不可逆性反應，劑量效應關係的斜率，以及再評估與人體危害相關性的證據權重包括 (1) 毒理動力學資料、(2) 相同反應是否發生在多個動物種類上、(3) 是否釐清該毒性反應之作用機制、(4) 選用毒性指標所針對的體系對於該反應的敏感性以及 (5) 該試驗設計評估組數及個體數是否已足夠等因素皆須納入考量^(10, 23, 25, 27)。
3. 美國環保署及加拿大有害生物管理監管機構等國際組織分別因為食品品質保護法 (Food Quality Protection Act, FQPA)

及害物控制產品法案 (Pest Control Products Act, PCPA) 的推動，特別考量對於特定族群包括懷孕婦女、胎兒及兒童的風險，而在不確定因子之評估上須制定額外 10 倍的 FQPA 因子及 PCPA 因子，後續會衍生出校正的族群參考劑量 (population adjusted dose, PAD)，但如果評估在現有的發育毒性資料已足夠釐清其風險下，代表原先適用各族群的參考劑量已能充分保護相關特定族群，則就不須進行額外的不確定因子設定，其原則是使用證據權重方式評估包括 (1) 發生毒性危害時期點是否發生在動物 1 或多個生命週期階段、(2) 不同的潛在族群發生毒性反應的特異性、(3) 劑量效應關係及 (4) 危害反應的嚴重程度及持續性等資料皆會納入考量^(25, 27, 28)。

三、減少不確定因子之考量

1. 在完整評估化合物 CSAFs 之資料時，可減少不確定因子^(10, 23)。
2. 當引用重複劑量試驗的評估指標，並且為較輕微之反應，比如減少食物攝取量或日增重等，可以視情形減少其不確定因子，但在多數毒性反應之機制尚無法釐清前，一般不會減少其不確定因子⁽²³⁾。
3. 部分藥劑根據現有的人體暴露研究仍不夠完整到可使用來評估 ARfD，比如沒有適當的 POD 值，但這些人體研究資

料已可充分說明人體暴露的結果接近於動物試驗，並且能說明該毒性物質在大多物種皆呈現類似的毒性作用效應，那麼可視情況評估減少其由動物推估到人類的⁽²³⁾不確定因子。

4. 大多試驗所得到之 NOAEL 值與實際該化合物之 BMDL₁₀ 可能有極大之差距，許多情形 BMDL₁₀ 會比 NOAEL 值高上許多，因此若有適當方法可評估 BMD 值時，即使不減少不確定因子，亦可放寬最後計算的 ARfD^(25, 27)。

於特定族群是否須制定不同急性參考劑量之探討

特定族群以廣泛性定義可能包括老人、病人、孕婦、胎兒或者孩童等⁽²⁵⁾，由於特定族群的 (1) 毒理動力學差異性、(2) 攝食量／體重比率較高或 (3) 內分泌、免疫及神經系統對化合物的敏感性差異，可能導致特定族群對化合物在同樣劑量基準下，其危害反應會異於一般族群^(22, 24)。以目前農藥風險評估而言，因為大多數的毒理試驗皆以健康成年的動物個體進行，少數如出生前發育毒性或生殖毒性等特定試驗才可能觀察到對於胎兒或後代的影響，因此依據可用的資料是不容易精準評估特定族群的風險，但由於在制定參考劑量流程中，會使用不確定因子概念調整相關數值，因此理論上皆應有考量到特定族群的風險。目前國際對於特定族群是否制定不同 ARfD 仍沒有一定結論，但普

遍共識為建議只制定一個能保護所有族群的 ARfD 數值，再針對不同年齡層族群分別進行短期取食風險評估，這樣對於後續管理機關在風險評估或風險管理是較容易的^(8, 11, 29)。

引用人類相關暴露資料評估急性參考劑量之探討

人體暴露農藥或者結構相近化合物的資料對於評估短期或長期暴露風險皆是非常有價值的，即使相關資料可能因為沒有適合的 POD 值等暴露劑量的數據而無法用於制定參考劑量，但仍有利我們評估該化合物危害的影響、發病模式或者反應持續的時間等。以下簡介不同人體暴露的資料來源以及對於評估 ARfD 的適用性等資料⁽²³⁾。

一、醫院臨床意外或者蓄意中毒資料

這種情況一般為在短時間內暴露高劑量的農藥，雖然通常沒有準確人體暴露劑量的數據，但相關資料仍可有利我們評估該化合物暴露，相較動物實驗實際對於人體的毒性症狀等研究，如果有可靠的暴露劑量數據資料庫，再參考實驗動物的數據，或許可以使我們更有效評估其劑量效應的關係。

二、流行病學研究

部分流行病學研究會特別針對短期暴露的危害風險進行，雖然相關研究通常也沒有描述暴露劑量的數據資料，但相關研究可有利於評估疾病模式等證據權重的完整性。

三、監測性研究

監測性研究一般是針對目標對象的生物指標數據變化進行分析，相關資料對於準確預測目標對象暴露的劑量是非常有參考價值的，比如當評估有機磷藥劑的危害風險，能得到人體血液中乙酰膽鹼酶活性的數據會更有利我們了解人體風險及證實動物試驗研究的數據可用性。如果這些監測性研究有評估單一劑量或短期暴露的資料，並且有精準的暴露劑量紀錄下，即可作為制定 ARfD 所使用。

四、臨床試驗

部分農藥（通常為殺菌劑等抗生素）可能同時作為動物用藥及人類用藥，而具備同樣化合物人體臨床試驗 (clinical trials) 的研究數據資料，相關數據往往適合作為制定 ARfD 所使用，但在部分國家可能因其法規規定會限制相關資料的取得。

五、自願性試驗

無論執行人體自願性農藥暴露試驗 (volunteer studies) 或者使用相關數據，對

於評估危害風險的需求合理性，至今仍受不同國家、組織或個人廣泛爭議，其中最主要提出質疑的爭論點是道德問題。人類用藥執行臨床試驗的合理性是在於那些藥物開發的目的為了增進廣泛人類的健康或治療受試者的疾病狀態，而人體自願暴露農藥基本上對受試者的健康是完全沒有任何正向的影響，而只是為了研發廠商所進行。無論如何研發廠商在執行相關研究應遵守相關國際人體試驗道德指導的共同原則，如赫爾辛基宣言 (Declaration of Helsinki) 或者不同國家相關人體試驗的規範。而另一方面相關數據因為有準確的暴露劑量數據及良好的試驗設計，往往適合作為制定 ARfD 所參考，並且可減少不確定因子的使用。

國際已評估急性參考劑量統計資料

目前國際對於 ARfD 評估流程雖然主要皆參考相關公開科學指引，但各國有不同的管理法規規範及不同風險危害考量，仍可能對於評估 ARfD 有程度不一的差異性，比如對於 ARfD 是否須制定的判定基準、選用不同的評估指標或給予不同的不確定因子等，以下簡介不同國家組織對於 ARfD 制定的統計研究，尤其可有利瞭解國際對於評估 ARfD 考量的評估指標。

1. JMPR 於 2002 年完成調查國際 (包括澳洲、德國、歐盟、荷蘭、英國、美國) 現有的農藥參考劑量清單，統計共 494

種主要成分的農藥，其中有 387 種訂有 ARfD，制定的 ARfD 有 39% 是根據出生前發育毒性試驗；23% 為根據單一劑量且多是大鼠急性神經毒性試驗；少數為根據人體自願試驗，主要都是一些有機磷藥劑；極少數為根據其他中長期之重複劑量毒性試驗⁽²³⁾。

2. Solecki 等人進行歐洲 2000 年至 2008 年農藥參考劑量的分析性研究，統計共 198 種主要成分的農藥，其中 48% 的農藥因沒有急性暴露的危害風險而不須制定，另外須制定的藥劑，大部分是依據常規農藥申請所進行的毒理試驗，另外有少數藥劑 (4/198) 因為沒有適合的急性暴露試驗可引用，若使用重複劑量試驗所獲得的保守 ARfD，在短期取食風險評估中會有超過攝取單一品項食物殘留估計值的可能性，因此使用額外特別設計的單一劑量毒性試驗研究⁽²⁴⁾。
3. Midori 等人對於日本當時已評估 ADI 值的 201 種農藥，再衍生進行 ARfD 制定之研究，其中 32% 的農藥因沒有急性暴露的危害風險而不須制定，其他須制定的 ARfD 農藥有包括 33% 為根據出生前發育毒性試驗；10% 為根據急性及重複劑量神經毒性試驗；5% 為根據人體暴露資料；5% 為根據一般藥理試驗；5% 為根據 90 天亞慢性毒性試驗；3.5% 為根據慢性、生殖毒性或其他機制試驗，另外有 6.5% 因為資料不足無法評估⁽³¹⁾。
4. 分析澳洲農藥及動物用藥管理局 (Australian Pesticides and Veterinary

Medicines Authority, APVMA) 對於 ARfD 制定報告 (2019)⁽²⁾，因該清單為同時統計農藥與動物用藥，因此先參考澳洲官方已公告農藥容許量清單確認具農藥使用用途且為化學農藥⁽¹⁾才納入，共統計包括 143 種農藥，針對是否須制定 ARfD 及衍生使用評估指標並探討緣由，將農藥分類成 A 至 I 等 9 大類別 (表二)，詳細統計結果 (圖一)，其中有 45% 建議不須制定 ARfD，理由包括有低口服急毒性以及缺乏單一劑量引起發育毒性的證據。另外 55% 評估須制定 ARfD 的藥劑中有約 20% 為根據出生前發育毒性試驗所制定；18% 為根據單一及重複劑量神經毒性試驗所制定；7% 為根據人體暴露資料；6% 為根據其他急性或亞急性試驗；只有約 3% 為根據亞慢性、慢性及生殖毒性試驗。

急性參考劑量於風險評估之應用

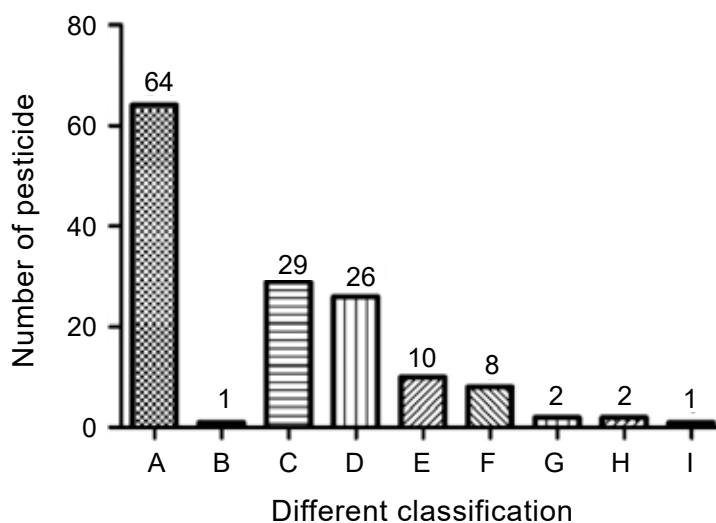
一般而言評估消費者暴露農藥殘留農產品之風險會進行長期及短期取食風險評估，長期取食風險評估 (long-term dietary risk assessment) 主要以 ADI 作為基準並使用估算每日攝取總量 (estimated daily intake, EDI) 或者理論最大每日攝取總量 (theoretical maximum daily intake, TMDI) 進行，短期取食風險評估則會以 ARfD 作為基準並使用估算短期膳食攝入量 (estimated short-term intake, ESTI) 進行⁽¹¹⁾。

表二、澳洲農藥及動物用藥管理局制定農藥急性參考劑量分類基準

Table 2. Classification of baseline characteristics for pesticide’s ARfD established by the APVMA¹⁾

Classification	Baseline characteristics
A	ARfD <u>unnecessary</u> . Reason: Low oral toxicity and absence of developmental toxicity.
B	ARfD <u>unnecessary</u> . Reason: Others.
C	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Developmental study.
D	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Acute or subchronic neurotoxicity study.
E	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Human acute study.
F	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Acute and subacute study.
G	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Subchronic study.
H	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Chronic study.
I	ARfD <u>necessary</u> . Endpoint: Reproductive study.

¹⁾ APVMA: Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority
Information extracted from APVMA⁽²⁾



圖一、統計澳洲農藥及動物用藥管理局農藥評估急性參考劑量不同分類之農藥數目。

Fig. 1. Analytical results of numbers of pesticides to develop ARfD statistics established by the APVMA¹⁾.

¹⁾ APVMA: Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority
Information extracted from APVMA⁽²⁾

另外以 2017 年芬普尼殘留雞蛋事件為例，事件自荷蘭及比利時等歐洲國家開始蔓延到韓國及臺灣等超過 45 個國家，從生產地區或輸入地區皆受到波及。當時荷蘭聯邦食品鏈安全局 (Federal Agency for the Safety of the Food Chain, FASFC) 及德國聯邦風險評估研究所 (German Federal Institute for Risk Assessment, BfR) 針對相關污染殘留事件即以採用 ARfD 作為評估對人體暴露風險及後續風險管理之依據，主要為考量類似污染殘留事件為偶發事件，發生間期具時限性，如果以 ADI 評估是較不合理的，芬普尼於歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 建議的 ARfD 值為 0.009 mg/kg bw，利用此數值最後歐盟計算出雞蛋殘留芬普尼的風險危害管制值標準 (safety threshold) 為 0.72 ppm，其計算主要同時考量一般大人及幼兒的風險後，以最保守方式評估幼兒潛在風險作為判定指標，其管制值計算公式如下：殘留雞蛋風險管制值 = $8.7 \text{ kg (1)} \times 0.009 \text{ mg/kg (2)} \div 108 \text{ g (3)} \times 1000$ (單位換算) $\approx 0.72 \text{ mg/kg (ppm)}$ 。(1) 為歐盟幼兒平均體重 (以 1 歲齡計算); (2) 為芬普尼之 ARfD; (3) 為幼兒每日最高可能攝食雞蛋量。根據歐盟攝食資料 (Pesticide Residue Intake Mode)，以平均體重 8.7 公斤幼兒，每日最高可能攝食 2 顆雞蛋量計算。代表孩童以至多每天都吃到最大量雞蛋而言，每顆雞蛋的殘留芬普尼濃度要達到 0.72 ppm，才可能會對孩童造成最低的潛在風險。利用此風險危害管制

值標準及容許量標準作為分界，分別進行不同風險管制措施，對於產品檢出超過容許量標準者 (歐盟芬普尼殘留雞蛋容許量標準為 0.005 ppm) 皆進行下架，但檢出超過危害管制濃度才會啟動召回 (recall) 機制，會通知消費者將購買到殘留疑慮風險的雞蛋繳回，以確保對消費者的健康風險⁽⁹⁾，這樣的措施也值得國內權責單位參考，作為農藥殘留偶發事件的風險評估或管理方式。

總結

隨著消費者意識抬頭，農產品中農藥殘留成為民眾關注之食品安全議題之一，無論評估 ADI 或 ARfD 等參考劑量，皆是農藥毒理評估中危害辨識到危害特徵描述的基本核心要件，也是為了後續進行取食風險評估所使用，並會影響到農產品殘留容許量的設定。ARfD 評估整體概念與 ADI 類似，但特別著重在評估急性暴露對人體可能產生的危害效應。其標準制定應基於毒理學考量，詳細審議不同資料的證據權重，評估其適當性及再現性，尤其在引用重複劑量試驗時應特別判斷其評估指標是否在急性暴露亦會發生。另外應注意評估 ARfD 值倘若低於已評估之 ADI 值發生時，須重新考慮 ADI 值的評估。首先在判定是否須訂定 ARfD 時，當同時滿足兩項要件含「(1) 在急性暴露中給予高達 500 mg/kg/day 以上劑量時，仍沒有產生明顯特異性之毒性表現」以及「(2) 在單一

劑量口服急毒性試驗中，當給予 1000 mg/kg bw 以上劑量時，動物無出現因藥劑導致死亡情形」，並評估藥劑無出生前發育或神經毒性等疑慮時，即可判斷無急性風險而不須訂定 ARfD 值。當判斷須要訂定 ARfD 值時，應詳細參考所有的毒理試驗資料，篩選與急性暴露最有關的評估指標，選擇最具敏感試驗體系的評估指標及取相關 POD 值。其中最常被使用的試驗來源為出生前發育毒性試驗及神經毒性試驗。在不確定因子的設定上，在沒有其他特殊考量時，可使用常規的 100 倍，而當有其他考量無論在減少或增加不確定因子時，都應有充分的證據權重所支持，並且應詳細說明使用非常規不確定因子的理由。當有人體暴露農藥的資料應仔細評估，即使無法使用該資料制定 ARfD，也還是可以利用作為整體的風險評估。

本研究參考目前國際的 ARfD 評估指引文件或研究報告，詳細說明 ARfD 的制定流程，提供與國際相符的評估基準，以期未來我國相關學者在制定農藥之 ARfD 時可參考使用，並可精進短期取食風險評估或應用在部分殘留污染事件的風險評估及風險管理上。

謝辭

感謝行政院農業委員會補助本研究計畫 107 農科-8.8.1-藥-P1，謹此致謝。

引用文獻

1. Australian Government. 2019. Australia New Zealand Food Standards Code - Schedule 20 - Maximum residue limits. Retrieved from: <https://www.legislation.gov.au/Details/F2017C01208> (Aug 09, 2019)
2. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA). 2019. Acute Reference Doses (ARfD) for agricultural and veterinary chemicals used in food producing crops or animals. Retrieved from: <https://apvma.gov.au/node/26591#Copyright> (Aug 09, 2019)
3. Bhat, V. S., Meek, M. E. B., Valcke, M., English, C., Boobis, A., and Brown, R. 2017. Evolution of chemical-specific adjustment factors (CSAF) based on recent international experience; increasing utility and facilitating regulatory acceptance. *Crit. Rev. Toxicol.* 47: 729-749.
4. Bloom, J. C., Schade, A. E., and Brandt, J. T. 2013. Toxic responses of the blood, pp. 527-558. In: C. D. Klaassen [ed.], *Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons*, 8th ed. McGraw-Hill Education. New York, USA. 1454 pp.
5. Braeuning, A., Gavrilov, A., Brown, S., Wolf, C. R., Henderson, C. J., and Schwarz, M. 2014. Phenobarbital-mediated tumor promotion in transgenic mice with humanized CAR and PXR. *Toxicol. Sci.* 140: 259-270.
6. Dhoub, I. B., Annabi, A., Jallouli, M., Marzouki, S., Gharbi, N., Elfazaa, S., and

- Lasram, M. M. 2016. Carbamates pesticides induced immunotoxicity and carcinogenicity in human: A review. *J. Appl. Biomed.* 14: 85-90.
7. Eaton, D. L. and Gilbert, S. G. 2013. Principles of toxicology, pp. 13-48. In: C. D. Klaassen [ed.], *Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, 8th ed. McGraw-Hill Education. New York, USA. 1454 pp.
 8. European Commission (EC). 2001. Draft Guidance Document, Guidance for the setting of an acute reference dose (ARfD). Document number 7199/VI/99 rev. 5.
 9. Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC). 2017. Risk assessment and risk management with regard to the presence of fipronil in eggs, egg products, poultry meat and processed products. Document number Note Fipronil_23.08.17_ENG_v1.2.
 10. A joint publication of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization. 2009. Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. Geneva, Switzerland. 752 pp.
 11. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed, pesticide residues, 3rd ed. FAO, Rome, Italy.
 12. Frazier, K. S., Seely, J. C., Hard, G. C., Betton, G., Burnett, R., Nakatsuji, S., Nishikawa, A., Durchfeld-Meyer, B., and Bube, A. 2012. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse urinary system. *Toxicol. Pathol.* 40: 14S-86S.
 13. Gribaldo, L. 2002. Haematotoxicology: scientific basis and regulatory aspects. *Altern. Lab. Anim.* 30: 111-113.
 14. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2017. Guidance document for the establishment of Acute Reference Dose (ARfD) for veterinary drug residues in food. WHO, Geneva, Switzerland. 24 pp.
 15. Kaplan, B. L. F., Sulentic, C. E. W., Holsapple, M. P., and Kaminski, N. E. 2013. Toxic responses of the immune system, pp. 559-638. In: C. D. Klaassen [ed.], *Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, 8th ed. McGraw-Hill Education. New York, USA. 1454 pp.
 16. Kim, S. Y., and Moon, A. 2012. Drug-induced nephrotoxicity and its biomarkers. *Biomol. Ther.* 20: 268-272.
 17. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2008. Test no. 407: Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents, OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4. OECD, Paris, France. 13 pp.
 18. Organization for Economic Cooperation

- and Development (OECD). 2010. Series on testing and assessment No. 124 guidance for the derivation of an acute reference dose. OECD Series on Testing and Assessment. OECD, Paris, France. 45 pp.
19. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2018. Test No. 408: Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents, OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4. OECD, Paris, France. 16 pp.
20. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2018. Test No. 414: Prenatal developmental toxicity study, OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4. OECD, Paris, France. 14 pp.
21. Pieters, M. N., Kramer, H. J., and Slob, W. 1998. Evaluation of the uncertainty factor for subchronic-to-chronic extrapolation: statistical analysis of toxicity data. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 27: 108-111.
22. Schnellmann, R. G. 2013. Toxic responses of the kidney, pp. 665-690. In: C. D. Klaassen [ed.], *Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons*, 8th ed. McGraw-Hill Education. New York, USA. 1454 pp.
23. Solecki, R., Davies, L., Dellarco, V., Dewhurst, I., Raaij, Mv., and Tritscher, A. 2005. Guidance on setting of acute reference dose (ARfD) for pesticides. *Food. Chem. Toxicol.* 43: 1569-1593.
24. Solecki, R., Moeller, T., Herrmann, M., and Stein, B. 2010. A retrospective analysis of Acute Reference Doses for pesticides evaluated in the European Union. *Crit. Rev. Toxicol.* 40: 24-34.
25. The Health Canada Pest Management Regulatory Agency (PMRA). 2008. Science policy note: The application of uncertainty factors and the pest control products act factor in the human health risk assessment of pesticides. Ottawa, Canada. Document number SPN2008-01.
26. Thoolen, B., Maronpot, R. R., Harada, T., Nyska, A., Rousseaux, C., Nolte, T., Malarkey, D. E., Kaufmann, W., Küttler, K., Deschl, U., Nakae, D., Gregson, R., Vinlove, M. P., Brix, A. E., Singh, B., Belpoggi, F., and Ward, J. M. 2010. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicol. Pathol.* 38: 5S-81S.
27. United States Environmental Protection Agency (US EPA). 2002. A review of the reference dose and reference concentration processes. Document number EPA/630/P-02/002F.
28. United States Environmental Protection Agency (US EPA). 2002. Determination of the appropriate FQPA safety factor(s) in assessing pesticide tolerances. EPA, Washington, DC. 74 pp.
29. Van Raaij, MTM. 2001. Guidance

- document for setting an Acute Reference Dose in Dutch national pesticide evaluations. Document number 620555002.
30. World Health Organization (WHO). 2005. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment. Berlin, Germany. 96 pp.
31. Yoshida, M., Suzuki, D., Matsumoto, K., Shirota, M., Inoue, K., Takahashi, M., Morita, T., and Ono, A. 2013. Simulation of acute reference dose (ARfD) settings for pesticides in Japan. *J. Toxicol. Sci.* 38: 205-214.
32. Zarn, J. A., and O'Brien, C. D. 2018. Current pesticide dietary risk assessment in light of comparable animal study NOAELs after chronic and short-termed exposure durations. *Arch. Toxicol.* 92: 157-167.

Scientific Assessment and Setting on Acute Reference Dose for Pesticides

Chun-Lin Liao^{1*}, Yi-Ting Li¹, Wei-Ren Tsai¹

Abstract

Liao C. L., Li Y. T. and Tsai W. R. 2019. Scientific assessment and setting on acute reference dose for pesticide. *Taiwan Pestic. Sci.* 7: 1-25.

Acute reference dose (ARfD) is defined as “Estimate the amount of a substance in food and/or drinking water, that can be ingested in a period of 24 h or less without appreciable health risk to the consumer”. For pesticides, the process involved in setting ARfD values is similar to that used in setting acceptable daily intake (ADI) values. Both processes involve assessing the scientific studies include physical and chemical properties, mode of action, toxicokinetics, toxicological studies of animals and investigations of human exposures. After analyzing the weight of evidence from different sources, the most appropriate point of departure (POD) and uncertainty factors (Ufs) are derived. This article introduces the stepwise process to set ARfD, such as the basic concepts of ARfD and the principles to determine whether it is necessary to set an ARfD value. In this study, we also explain the relevance of setting ARfD values for various endpoints, including haematotoxicity, immunotoxicity, neurotoxicity, liver and kidney toxicity, endocrine disrupting effects, developmental effects, effects on the gastrointestinal tract and other non-specific findings. We further discuss the derivation of UFs and explain the criteria used in adjusting UFs. (Note that, in calculating UFs, the international has introduced the use of chemical-specific adjustment factors (CSAFs) to refine coefficient settings.) It is generally recommended to set one ARfD value which is capable of protecting all populations. However, it is also necessary to specially consider hazards which affect specific subpopulations. In this study,

Accepted: December 18, 2019.

* Corresponding author, E-mail: clliao@tactri.gov.tw

¹ Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung

we also reviewed statistics results of pesticide's ARfDs established by a number of countries. In so doing, we found that the developmental toxicity test and the neurotoxicity test are the most commonly used endpoints of toxicological studies. In summary, the current work was primarily based on current international ARfD assessment guidelines and research reports. It provides a detailed description of the derivation process of ARfD and a practical evaluation process that is consistent with international trends. Our process can be applied in future studies which assess pesticide ARfDs and can also be used to refine short-term dietary risk assessments, conduct risk assessments, and manage cases involving incidental pesticide residues.

Key words: pesticide, acute reference dose, endpoints, point of departure, uncertainty factors