
UNIVERSITÄT HOHENHEIM

**INSTITUT FÜR BIOLOGISCHE CHEMIE UND
ERNÄHRUNGSWISSENSCHAFT**

**FACHGEBIET
PHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE DER ERNÄHRUNG**

PROF. DR. MED. H.G. CLASSEN

**TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF PESTICIDE RESIDUES
AMONG HMONG FARMERS
LIVING IN NORTHERN THAILAND**

DIPLOMARBEIT

**VORGELEGT
VON**

WOLFGANG STÜTZ

**DIESE ARBEIT WURDE GEFÖRDERT AUS MITTELN DER
VATER UND SOHN EISELEN STIFTUNG, ULM**

STUTTGART – HOHENHEIM, WINTERSEMESTER 1999/2000

1. Abstract

The Hmong population is one of the largest ethno-linguistic groups (“hill tribes”) living in the highlands of Northern Thailand. Farmers from Mae Sa Mai (MSM), a Hmong village in the Mae Sa Noi watershed, 40 km north of Chiang Mai, have been steady consumers of pesticides in form of insecticides, fungicides and herbicides since they are involved in agricultural production. The objective of the study was to collect data of pesticide use and experiences of pesticide poisonings. Further body burden of pesticides should be estimated by analysing the toxic biochemical effect of organophosphate or carbamate insecticides in blood serum and residues of organochlorine pesticides (OCPs) in human milk as well as metabolites of pyrethroid insecticides in urine of MSM farmers.

Organophosphorus compounds (mevinphos), carbamates (carbaryl) and pyrethroids (permethrin) were the most important insecticides used by the Hmong farmers of MSM. The most important fungicides used were carbamates (benomyl) and dithiocarbamates (mancozeb). The mainly used herbicides to control the weed between vegetables (carrots, cabbage), salad and litchi trees were the bispyridium compound paraquat (Gramoxone) and the phosphanoglycine glyphosphate (Round Up).

Blood serum of 12 farmers spraying organophosphates or carbamates was tested for the inhibition of the enzyme Acetylcholinesterase (AChE). Two of three farmers had unsafe levels with less than 75 Units of AChE per ml serum whereas two of three tests in the non spraying control group were measured as safe levels with at least 87.5 Units of AChE per ml. The mean AChE activity of spraying farmers of MSM had at the most 80.3% (66.25 Units) of the mean (82.5 Units) AChE activity of non spraying persons in the control group (=100%).

Human milk samples of 25 mothers of MSM nursing their first to fourth child were collected and analysed by gas chromatography for the concentration of organochlorine pesticide residues like DDT, heptachlor, hexachlorbenzene (HCB), and hexachlorocyclohexane (HCH) in the whole milk. Short questionnaires and anthropometric measurements were completed by each mother giving information on their age, height and weight, number, weight and age of the breast-fed children, contact with pesticides, dietary habits and former residence. 15 of the 25 women with a median age of 19 years and a median BMI of 22.5 were born and lived before in other rural districts of the Chiang Mai Province or other Northern Thai provinces. For that reason this human milk monitoring of OCP residues could be seen as a representative study for rural areas of Northern Thailand. Organochlorine compounds for agricultural use have been banned step by step by the Thai government during the last 15 years. Officially DDT was sprayed until 1999 to control malaria-carrying mosquitoes, whereas last spraying in

MSM was in 1989 (Malaria Center, Mae Rim, Chiang Mai). DDT residues in form of commercial p,p'-DDT and its main metabolite p,p'-DDE were found in all samples with a median and maximum level of 209 ng and 2012 ng of Total DDT per ml of milk, respectively. Heptachlor was mainly detected in the metabolised form heptachlor-epoxide in 15 samples with a median value of 4.4 ng/ml. Therefore the median values of DDT, heptachlor and heptachlor-epoxide exceeded more than 5-fold the ADI of the children for each compound. HCB was detected with a median value of 5.4 ng/ml in 9 samples from which 7 also had the highest values of DDT residues, whereas the γ -isomer of HCH (Lindane) was found in only one sample with 3.6 ng/ml. The high mean and maximum Sum DDT levels with 14.9 and 46.9 mg per kg of milk fat as well as the high mean and maximum percentages of p,p'-DDT with 23% and 45% of Total DDT as an indicator for fresh contamination are quite high like in milk samples from Kariba, Zimbabwe (Chikuni, 1997), where DDT was used for vector control programs, or from a cotton growing area in Punjab, India (Kalra, 1994). Possible risk especially for the first-born child is given by reaching levels of up to more than 50 times of the ADI. Nursing the first child, moving from a district or province where DDT is still in use as a Malaria control agent and participating in agriculture activity seemed to be the main factors for high DDT and other organochlorine pesticide residues in the milk of the MSM women.

Synthetic pyrethroids as sum metabolites (Cis/Trans CL₂CA) were analysed in 3 urine samples of a farmer collected 6, 15 and 24 hours after spraying 0.5 l cypermethrin with a mean of 30 μ g per litre urine and a mean of 18.8 μ g per gram creatinin. Metabolites of synthetic pyrethroids were rapidly excreted in urine with highest concentration in the first sample after 6 hours of 21.75 μ g per gram creatinin.

The protection of the farmers while spraying and handling pesticides were inappropriate in most cases. Spraying farmers were observed having direct skin contact with pesticides without shoes, gloves and any protective respiratory mask. Symptoms like headache, nausea and vomiting after spraying insecticides seemed to be normal for most farmers. Pesticide intoxications with neurological symptoms (cramps, convulsions) were reported at the end of a periodical use of high concentrations. Steps should be taken to educate the villagers of Mae Sa Mai on the safe use of pesticides as well as on suspending use of banned and restricted organochlorine pesticides in order to reduce contamination. Although in the year 2000 DDT will be replaced by the pyrethroid deltamethrin as a vector control agent, many years would be necessary to reach low levels of its residues in mother's milk like in industrial countries at the end of the 90s.

Zusammenfassung

Die Hmongbevölkerung stellt eine der größten in den Bergregionen Nordthailands lebenden ethnischen Gruppen. Der Pestizideinsatz in Form von Insektiziden, Fungiziden und Herbiziden spielt eine wichtige Rolle in der Landwirtschaft der Hmong Farmer aus Mae Sa Mai (MSM), einer Hmonggemeinde in einem Wassereinzugsgebiet 40 km nördlich von Chiang Mai. Ziel dieser Studie war es Daten über den Einsatz von Pestiziden der in MSM lebenden Farmern und deren Erfahrungen mit möglichen Pestizidvergiftungen zu gewinnen. Weiter sollte die Körperbelastung der Farmer durch Organophosphat- als auch Carbamat-insektiziden anhand eines biochemischen Parameters im Blutserum sowie durch chlororganische Pestizide gemessen an Rückständen in der Muttermilch als auch durch Pyrethroidinsektizide mit Analysen auf deren Metaboliten im Urin bestimmt werden.

Die von den Hmong Farmern aus MSM am häufigsten eingesetzten Insektizide waren Organophosphatverbindungen (mevinphos), Carbamate (carbaryl) und Pyrethroide (permethrin). In der Pestizidgruppe der Fungizide wurden hauptsächlich Carbamate (benomyl) sowie Dithiocarbamate (mancozeb) und in der Gruppe der Herbizide die Bispyridiumverbindung Paraquat (Gramoxone) und das Phosphanoglycine Glyphosate (Round Up) eingesetzt.

Von 12 Farmern wurde das Blutserum vor und nach der Anwendung von Organophosphaten und Carbamaten auf die Enzymhemmung der Acetylcholinesterase (AChE) getestet. Die Aktivität der AChE wurde bei 8 der 12 Farmer (67%) mit weniger als 75 Units per ml Blutserum als unsicher eingestuft. Die zum Vergleich getestete unbelastete Kontrollgruppe ergab zu 64% "sichere" Konzentrationen an AChE mit mindestens 87.5 Units per ml. Die durchschnittliche AChE-aktivität der 12 Farmer erreichte mit 66.25 Units per ml Serum höchstens 80.3% der durchschnittlichen Aktivität in der Kontrollgruppe mit 82.5 Units/ml.

Gesammelte Milchproben von 25 stillenden Müttern aus MSM (1-4 Kind) wurden mit Gaschromatography auf chlororganische Pestizidrückstände wie DDT, Heptachlor, Hexachlorbenzol (HCB) und Hexachlorocyclohexan (HCH) hin analysiert. Daten der Mütter und Kinder wie Alter, Größe, Gewicht, Kontakt mit Pestiziden, Essensgewohnheiten, Anzahl der Kinder und vorheriger Wohnort wurden mit Hilfe von Interviews und anthropometrischen Messungen erhoben. 15 der 25 Frauen mit einem mittleren Alter von 19 Jahren und einem BMI von 22.5 stammten aus anderen Distrikten der Chiang Mai Provinz oder aus anderen Provinzen Nordthailands. Aus diesem Grunde kann dieses Monitoring auf chlororganische Pestizidrückstände als eine repräsentative Studie für ländliche Gebiete in Nordthailand betrachtet werden. Die in der Landwirtschaft eingesetzten chlororganischen Verbindungen

sind innerhalb der letzten 15 Jahre nach und nach durch die thailändische Regierung aus dem Verkehr gezogen worden. Offiziell wird nur noch DDT bis einschließlich 1999 zur Bekämpfung der Malaria übertragenden Anophelesmücke eingesetzt. Die letzte Anwendung auf die Innenwände der Häuser in MSM mit DDT zur Vektorkontrolle war im Jahre 1989 (Malariazentrum in Mae Rim, Chiang Mai).

DDT-Rückstände in Form p,p'-DDT und seinem hauptsächlichen Metaboliten p,p'-DDE konnten in allen 25 Proben nachgewiesen werden. Der mediane und maximale Wert an Gesamt-DDT betrug 209 ng und 2012 ng pro ml Milch. Heptachlor wurde häufiger in seiner metabolisierten Form Heptachlorepoxyd in 15 Proben mit einer medianen Konzentration von 4.4 ng pro ml analysiert. Dabei überschritten die medianen Werte der berechneten täglichen Aufnahmen der gestillten Kinder an DDT, Heptachlor, und Heptachlorepoxyd jeweils mehr als das Fünffache des Acceptable Daily Intakes (ADI). HCB konnte in 9 Proben mit einer medianen Konzentration von 5.4 ng pro ml nachgewiesen werden, wobei 7 dieser Proben auch zugleich die höchsten Konzentrationen an DDT-Rückständen aufwiesen. Ein mögliches Risiko ist vor allem für die Erstgeborenen Kinder durch das Überschreiten der berechneten täglichen Aufnahmen an DDT-Rückständen um das bis zu über Fünzigfache des ADIs ($5\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{Tag}$) gegeben. Hexachlorhexan wurde nur in einer einzigen Probe in Form von γ -HCH (Lindan) mit 3.6 ng pro ml detektiert. Die Umrechnung der hohen DDT-Werte mit Hilfe der jeweiligen Fettkonzentration der Proben ergab eine durchschnittliche und maximale Konzentration von 14.9 mg und 46.9 mg an Summe von DDT-Isomeren pro kg Milchfett. Solche hohen Werte mit einem unmetabolisierten p,p'-DDT-Anteil bis zu 45% an Gesamt-DDT, als Indikator für kurz zurückliegende Kontamination, sind in den letzten Jahren nur in Proben aus Gebieten wie Kariba in Zimbabwe (Chikuni, 1997), wo DDT zur Vektorenkontrolle eingesetzt wurde, oder aus einem Baumwollanbauggebiet in Punjab, Indien (Kalra, 1994) nachgewiesen worden. Die Abstammung der Mutter aus einem Gebiet in welchem DDT noch bis heute zur Malariabekämpfung eingesetzt wird, als auch der direkte Kontakt der Mutter zu Pestiziden durch aktive Mitarbeit in der Landwirtschaft scheinen die Hauptfaktoren für die hohen Werte der nachgewiesenen Rückstände an DDT und anderen chlororganischen Pestiziden zu sein.

Die Rückstandsanalysen aus drei Urinproben (nach 6, 15 und 24 Stunden) eines Farmers welcher 0.5 l des Pyrethroids Cypermethrin als Insektizid eingesetzt hatte ergaben eine durchschnittliche Metabolitenkonzentration von 30 μg Cis/Trans CL₂CA pro Liter Urin. Die höchste Konzentration mit 21.75 μg pro Gramm Kreatinin in der ersten Probe, die nach sechs

Stunden der Pestizidanwendung gesammelt wurde, zeigte eine rasche Metabolisierung der aufgenommenen Pyrethroidwirkstoffe.

Auch ohne den nachgewiesenen Konzentrationen an Rückständen Rechnung zu tragen, waren die Schutzmaßnahmen der Farmer während der Anwendung von Pestiziden in den meisten Fällen weit mehr als nur unzureichend. Direkter Hautkontakt mit Pestizidlösungen wurde beobachtet. Viele Farmer trugen weder Schuhe, einen Hut, Handschuhe noch eine Atemschutzmaske während der Pestizidspritzung. Von Symptomen wie Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel und Erbrechen nach der Anwendung wurde in den Befragungen der Farmer als auch der Mütter berichtet. Für die Farmer schien das ganz normal zu sein. Von stärkeren Vergiftungserscheinungen mit Krämpfen und unwillkürlichen Muskelzuckungen als Folge kontinuierlicher Anwendung hoher Konzentrationen über einen längeren Zeitraum wurde ebenfalls berichtet. Maßnahmen zur Unterrichtung der Farmer im angemessenen Umgang und Handhabung von Pestiziden sollten eingeleitet werden. Der Einsatz von verbotenen chlororganischen Pestiziden sollte mit Rücksicht auf weitere Kontamination sofort gestoppt werden. Auch wenn das DDT für die Malariabekämpfung durch das Pyrethroid Deltamethrin ab dem Jahre 2000 ersetzt wird, werden noch viele Jahre vergehen müssen, bis vergleichbar niedrige Konzentrationen an chlororganischen Pestizidrückständen in Muttermilchproben wie aus den Industrieländern Ende der 90er Jahre (z.B. Deutschland) nachgewiesen werden können.