

Glyphosate interview

In bijlage 1 staat nog extra achtergrond informatie voor een aantal van de vragen.

02/09/2019: Nog extra informatie toegevoegd over carcinogeniteit studies in ratten, het genotoxiciteit pakket, de reden voor verbod tallowamine en de reden waarom we genotoxiciteitsstudies vragen met producten. Ter verduidelijking is deze nieuwe informatie in het rood gezet.

- Roundup is in Nederland toegestaan omdat deze niet kankerverwekkend is. Hoe is deze conclusie tot stand gekomen?

In Europa is ECHA verantwoordelijk voor de classificatie en labelling van stoffen. Wanneer ECHA een geharmoniseerde classificatie en labelling vaststelt dan kent het Ctgb deze toe aan producten die deze stof bevatten als ze boven de wettelijke classificatielimiet in het product voorkomen. Mocht er nog geen geharmoniseerde classificatie vastgesteld zijn dan gaan we uit van het classificatie voorstel, zoals die in de EU vastgesteld wordt in de EFSA conclusie.

Glyfosaat is voor het laatst in 2017 door ECHA beoordeeld en die heeft geconcludeerd dat glyfosaat niet kankerverwekkend is.

- Hoe moeten we het oordeel van IARC over glyfosaat beschouwen?

Het IARC oordeel kan gezien worden als een signaal naar autoriteiten toe, maar heeft geen wettelijke status. Een grootste verschil tussen de beoordeling van IARC en die van EFSA en ECHA is dat IARC alleen gebruik maakt van openbare literatuur studies. In de beoordeling van EFSA en ECHA is er gebruik gemaakt van zowel openbare literatuur gegevens en carcinogeniteitsstudies die uitgevoerd zijn door industrie. Deze industriestudies worden uitgevoerd onder zogeheten GLP standaarden* om de betrouwbaarheid van de studies te waarborgen.

**In het geval van glyfosaat was er een carcinogeniteitstudie die oud is en nog niet onder GLP uitgevoerd was. Deze studie was afgekeurd door de RMS vanwege slechte methodologie.*

De EU beoordeling had een iets andere interpretatie van de epidemiologische gegevens dan IARC. In de EU beoordeling is meer gewicht gegeven aan de cohort studie (de Agricultural Health Survey) dan aan de case-control studies vanwege mogelijke recall-bias in de case-control studies. Dit betekent niet dat de case-control studie genegeerd zijn. De resultaten van alle epidemiologische studies zijn beoordeeld samen met de resultaten van de dierproeven en genotoxiciteit studies. In de EU beoordeling waren hier meer gegevens over beschikbaar dan in de IARC beoordeling (9 rat studies vs. 5 bij IARC, 5 muisstudies vs. 2 bij IARC).

ECHA/EFSA is in hun beslissing dus uitgegaan van alle gegevens, inclusief de studies die IARC gebruikt heeft. Op basis van al deze gegevens te samen is geconcludeerd dat glyfosaat niet

kankerverwekkend is. Andere autoriteiten zoals Canada in 2017 zijn ook tot de conclusie gekomen dat glyfosaat niet kankerverwekkend is.

- Muizen studies tonen een dosis gerelateerde toename van tumoren, waarom kwalificeert dit niet als 'voldoende bewijs' dat glyfosaat kankerverwekkend is?

Muizen **en ratten** kunnen ook van nature tumoren ontwikkelen. Als er een tumor wordt waargenomen in een studie hoeft dit niet per se een direct effect van een stofblootstelling te zijn, maar kan het ook een spontane incidentie zijn die van nature voorkomt in die muizen- **of ratten**soort. Wanneer wij een stof evalueren kijken we naar de natuurlijke achtergrond van dat type tumor in de muizen **of ratten**soort. Ook kijken we of er zogeheten non-neoplastische effecten worden waargenomen die als voorloper van dat type tumor te verwachten valt. In het geval van glyfosaat is het zo dat er meerdere carcinogeniteitstudies zijn waardoor het mogelijk was om te beoordelen of een bepaald effect consistent voorkomt.

Muizen studies

Er waren 3 type tumoren waargenomen in de muis, namelijk niertumoren, lymfomen en haemangiosarcoma.

Met betrekking tot de niertumoren was er geen effect in vrouwtjes in de 5 beschikbare studies. In mannetjes was er geen effect in 2 van de 5 studies en in 2 andere studies was het effect alleen waargenomen in de hoogste dosering waarbij de incidentie net zo hoog was als in de controle groep van een van de andere studies, wat er op wijst dat het een spontaan effect is. In de overgebleven studie was de dosering zeer hoog (>4000 mg/kg bw/day) en boven de zogenoemde maximaal tolereerbare dosering. Er werden ook geen histopathologische effecten waargenomen die als voorstadium van de tumoren gezien kunnen worden. Als je de studies gezamenlijk bekijkt is er geen reden om glyfosaat als kankerverwekkend te zien op basis van dit type tumoren.

Lymfoma is een veel voorkomend type tumor in de muis. In de beschikbare studies was er geen effect waargenomen in de vrouwtjes. In mannetjes is een effect waargenomen in 2 van de 5 studies. Het effect lag echter binnen de natuurlijke achtergrondincidentie (HCD) en wordt daarom als incidenteel gezien.

Met betrekking tot de haemangiosarcoma werd dit effect niet waargenomen in vrouwtjes en ook niet in mannetjes in 3 van de 5 studies. In de andere studies viel het effect binnen de natuurlijke achtergrondincidentie. Er is daarom geconcludeerd dat aangezien er geen consistent effect is en de incidentie binnen de HCD valt, er geen grond is voor classificatie van glyfosaat als kankerverwekkend.

Type tumor	In welke studies waargenomen	Evaluatie
------------	------------------------------	-----------

Niertumoren	3 van de 5 studies (significant effect)	<ul style="list-style-type: none"> - In 2 studies alleen waargenomen bij zeer hoge doseringen (>4000 mg/kg bw/day) die boven de Maximum Tolerable dose (MTD) lag. - Effect niet significant met een pair-wise comparison - Alleen in mannetjes waargenomen en niet in vrouwtjes. - Incidentie in 2 studies gelijk aan de controle incidentie in een andere studie. - Geen preneoplastic lesions die gecorreleerd kunnen worden aan de tumoren.
Lymphomas	2 van de 5 studies (significant effect)	<ul style="list-style-type: none"> - Binnen historische controle data en alleen bij dosering die boven de MTD is. - Alleen in mannetjes en niet in vrouwtjes - Resultaat niet herhaalbaar bij zelfde dosering in overige 3 studies
Haemangiosarcoma	2 van de 5 studies (niet-significant)	<ul style="list-style-type: none"> 1^e studie: binnen historische controle data (HCD) 2^e studie: alleen waargenomen bij dosering boven limit dose en MTD, geen HCD beschikbaar van het lab zelf, maar binnen Charles River HCD.

Ratten studies

Er waren 9 chronische (industrie) studies in de rat waarvan er 6 uitgevoerd waren volgens OECD richtlijnen. De overige 3 studies (waarvan 2 negatief) waren niet volgens OECD richtlijnen uitgevoerd en waren beoordeeld als onbetrouwbaar. De ene studie waarbij er wel tumoren (5.1.2.e Woo 1981) waren waargenomen is echter wel in detail besproken in het CLH rapport. Er worden dus 7 studies in totaal besproken. Daarnaast waren er 2 openbare literatuurstudies. Een was negatief, maar was slecht gerapporteerd en dus niet acceptabel. Van de andere (5.1.2.e Woo 2012) is bekend dat die zeer veel limitaties heeft, zoals te weinig dieren (10/dose) en deze studie is teruggetrokken in het tijdschrift waar die oorspronkelijk gepubliceerd was. Deze openbare literatuurstudies zijn dan ook niet meegenomen in de afweging of glyfosaat carcinogeen is of niet.

In 2 studies werden bepaalde tumoren waargenomen, namelijk tumoren in de eilandjes van langerhans in de alveesklier (5.1.2.e Woo 1990; 5.1.2.e Woo 1981), lever tumoren (5.1.2.e Woo 1990) en schildkliertumoren (5.1.2.e Woo 1990). De overige studies waren volledig negatief.

Voor de alveeskliertumoren is geconcludeerd dat ze incidenteel waren aangezien er geen dose-respons relatie was, alleen waargenomen waren in mannetjes en niet waargenomen waren in de overige 5 studies. Daarnaast is het zo dat in 4 van deze negatieve studies de incidentie in de controle groep hoger waren dan wat waargenomen was in de treatment-groups van de andere studies (zie bijlage).

De levertumoren (adenoma's) werden maar waargenomen in 1 studie. De overige 6 waren negatief. Er was geen progressie naar carcinoma's en er waren geen pre-neoplastische effecten waargenomen. De incidentie was laag en viel binnen de HCD. Op basis van deze punten is geconcludeerd dat de vondst van levertumoren in 1 studie binnen de HCD incidenteel was.

De schildkliertumoren werden maar waargenomen in 1 studie en toonde geen duidelijke dose-response. Er was geen progressie van adenoma's naar carcinoma's. In de overige 6 studies werden geen schildkliertumoren waargenomen en was er ook geen ander effect op de schildklieren. De schildklier lijkt dan ook geen target orgaan van glyfosaat te zijn.

Over het geheel genomen heeft ECHA geconcludeerd dat de tumoren in de rat slechts incidenteel werden waargenomen in de beschikbare studies (5 studies negatief). In geen enkel geval was er sprake van progressie van adenoma's naar carcinoma's. Voor de alveesklier tumoren en schildkliertumoren was er geen duidelijke dose-response. De lever tumoren waren binnen de HCD. ECHA heeft geconcludeerd dat er geen bewijs is in de rattenstudies dat glyfosaat carcinogeen is.

Type tumor	In welke studies waargenomen	Evaluatie
Alveesklier tumoren	2 van de 7 studies	<ul style="list-style-type: none"> - Geen duidelijke dose-respons (incidentie 2, 8, 5 en 7 in eerste studie en 0, 5, 2 en 3 in tweede studie) - Geen progressie in malignancy - Niet waargenomen in vrouwtjes - Incidentie in 1 van de studies gelijk aan controle incidentie in 4 van de negatieve studies.
Lever tumoren	1 van de 7 studies	<ul style="list-style-type: none"> - Geen progressie in malignancy - Geen preneoplastic lesions die gecorreleerd kunnen worden aan de tumoren. - Incidentie binnen HCD - Niet waargenomen in 6 andere studies
Schildkliertumoren	1 van de 7 studies	<ul style="list-style-type: none"> - Geen duidelijke dose-response (0/57, 2/60, 6/59, 6/55 in vrouwtjes en 0/54, 4/55, 8/58, 7/58 in mannetjes - Geen progressie in malignancy

Genotoxiciteit glyfosaat:

In vitro studies

Studies	Uitkomst	Opmerkingen
Bacterial gene mutation (Ames)	Negatief in 16 studies	4 studies supplementary only
Bacterial DNA repair assay (Rec-assay)	Negatief (1 studie)	Study supplementary only
Mammalian gene mutation	Negatief in 3 studies	
<i>In vitro</i> micronucleus	2 Positieve studies	1 Studie was in een ongebruikelijke cellijn (human buccal carcinoma cellijn TR146).
<i>In vitro</i> chromosoom aberratie	Negatief in 5 studies, positief in 1	Van de negatieve studies 1 supplementary only. De positieve studies (Lioi, 1998) niet volgens guideline

		uitgevoerd.
in vitro UDS	Negatief	Supplementary only (UDS niet gevoelig genoeg)
Sister chromatid exchange	Positief	
<i>in vitro</i> Comet assay	5 positieve studies.	

De *in vitro* studies laten zien dat glyfosaat geen gen mutaties veroorzaakt (Ames en mammalian gene mutation negatief). De *in vitro* chromosoom aberratie laten zowel positieve als negatieve effecten zien, de *in vitro* micronucleus is positief en de Comet assay toont aan dat glyfosaat mogelijk DNA stand breaks veroorzaakt. Evaluatie van de *in vivo* follow-up studies is nodig om een conclusie te trekken over de genotoxiciteit van glyfosaat.

In vivo studies:

Studies	Uitkomst	Opmerkingen
In vivo micronucleus via orale blootstelling	Negatief in 6 van de 7 studies, 1 studie "weakly"positief	In positieve studie was een abnormaal hoge waarde in de controle groep.
In vivo micronucleus via i.p.	5 van de 7 studies negatief	1 ^e positieve studie: - onduidelijk welk type rode bloedcel beoordeeld is (mature of immature). - te weinig cellen beoordeeld. - niet GLP, non-guideline 2 ^e positieve studie: - Weinig details over gebruikte methodologie. - niet GLP non-guideline Negatieve studies: 1 studie niet-GLP
In vivo chromosoom aberraties	2 negatieve studies	1 studie niet volgens GLP of guideline.
In vivo Comet assay	Positief in 2 studies	- non-GLP, non-guideline - Beperkte omschrijving van de gebruikte methode
Oxidative stress	1 studie negatief 1 studie positief na 24 h alleen in nier niet in lever	- non-GLP, non-guideline - Beperkte omschrijving van de gebruikte methode

Overall evaluatie:

Voor gen mutatie was glyfosaat duidelijk negatief *in vitro*. Voor chromosoom aberraties waren er 7 *in vivo* micronucleus testen met orale blootstelling, 7 met i.p. blootstelling en 2 chromosoom aberratie studies. Maar 2 studies waren duidelijk positief en 1 was zwak positief. Beide positieve

studies hebben limitaties, waren niet volgens GLP of OECD richtlijnen uitgevoerd en waren slecht gerapporteerd. Van de negatieve studies zijn er enkele die ook wat limitaties hadden, maar vanuit de meerderheid was acceptabel.

Alle studies samengenomen heeft de ECHA geconcludeerd dat glyfosaat niet genotoxisch is.

Met betrekking tot de oxidatieve stress merkt RAC op dat de betrouwbaarheid van deze studies slecht is en dat de beschikbare *in vivo* toxiciteitsstudies geen indicatie geven dat glyfosaat oxidatieve stress veroorzaken.

Genotoxiciteit producten:

Er zijn enkele openbare literatuur studies die lijken aan te tonen dat glyfosaat producten genotoxisch zijn. De studies met glyfosaat zelf laten duidelijk zien dat glyfosaat niet genotoxisch is. Er waren geen goede genotoxiciteitstudies beschikbaar in het stofdossier. Daarom is bij de renewal van de stof als eis gesteld dat voor elk product bij de producttoelating of herregistratie aangetoond moet worden dat het product niet genotoxisch is door het indienen van studies. Tot nu toe waren alle studies die het Ctgb gezien heeft negatief.

- Het BfR rapport heeft een aantal bevolkingsstudies niet meegewogen omdat deze 'onbetrouwbaar' zouden zijn. Waarom waren deze studies niet betrouwbaar?

Er zijn verschillende redenen waarom BfR (en de co-RMS ^{5.1.2.a Woo}) een aantal studies als niet betrouwbaar heeft geconcludeerd.

- Bij 1 studie waarbij er geen significante relatie was tussen glyfosaat en kankerincidentie was de studiepopulatie te klein om een conclusie te kunnen trekken.
- Bij een groot aantal studies werd het onderzoek uitgevoerd met vragenlijsten. Het nadeel van dit type onderzoek is dat er sprake kan zijn van zogeheten "recall bias". Recall bias houdt in dat de personen in de "case" groep die een bepaald ziektebeeld hebben meer zullen terugdenken aan mogelijke oorzaken van hun ziekte dan in de controle groep en dus eerder het gebruik van bepaalde stoffen zullen rapporteren dan de controle groep.
- Een andere studie werd afgekeurd, omdat het alleen naar algemeen herbicide gebruik heeft gekeken en niet naar glyfosaat specifiek.

Studies met BfR oordeel "not reliable"

Referentie	Type studie	Conclusie studie	Reden voor niet betrouwbaar
5.1.2.e Woo 1999	Case-control studie	link herbicide gebruik en NHL, studiepopulatie glyfosaat te klein	- Recall bias - Kleine studie populatie voor glyfosaat blootstelling (4 exposed)

		voor conclusie	cases, 3 exposed controls)
5.1.2.e Woo 2002			zelfde limitaties als 1999 publicatie
5.1.2.e Woo et al. 2005	case-control studie	positieve link algemeen herbicide gebruik en NHL	Alleen combinatie blootstellingen (herbicide als groep)
5.1.2.e Woo , 2003	case-control studie	geen link glyfosaat en NHL	Informatie over confounders (zoals roken) ontbreekt, medische geschiedenis ontbreekt.
5.1.2.e Woo 2008	Case-control studie		- Cases geselecteerd op basis van doorverwijzing van de arts (referral bias) - Recall bias

- De kwalificatie 'onbetrouwbaar' is ook de kwalificatie die de Glyphosate Task Force in het dossier dat zij inleverde bij het BfR heeft gebruikt. Is het BfR onafhankelijk van GFT tot hetzelfde oordeel gekomen zo ja, waar blijkt dat uit?

De term "not reliable" is een algemene term die gebruikt wordt in de kwalificatie van openbare literatuur gegevens en volgt uit de Klimisch Score waarbij studies ingedeeld worden in 4 categorieën op basis van hun betrouwbaarheid. Het is dus niet vreemd dat BfR dezelfde terminologie heeft gebruikt als de Glyphosate Task Force.

Bij de beoordeling van een dossier maakt een RMS gebruik van de samenvatting die aangeleverd wordt door de aanvrager. De RMS voert echter wel een onafhankelijke review uit van alle beschikbare studies.

- In de wetgeving staat dat 'beperkt bewijs' uit humane studies en 'beperkt bewijs' uit dierstudies genoeg kan zijn voor de classificatie kankerverwekkend 1B. Volgens het BfR is de categorie 'beperkt bewijs' de enige juiste categorie om de humane studies mee te omschrijven. Ook erkent het BfR dat er bewijs is uit dierstudies. Waarom is glyfosaat dan niet geclassificeerd als kankerverwekkend?

Het lijkt hier gewoon om een verschil te gaan dat in hoe de term limited evidence wordt gebruikt. De term wordt in de CLP Regulation gebruikt voor de classificatie van stoffen, maar op basis van de evaluatie door BfR wordt hier bedoeld dat er niet voldoende aanwijzingen zijn dat glyfosaat carcinogeen is.

- Zou u de stelling aandurven dat er geen wetenschappelijk bewijs bestaat dat glyfosaat kanker kan veroorzaken. En hoe zit het met Roundup? Is daar een verschil?

Zoals ook ECHA geconcludeerd is hoeft de werkzame stof glyfosaat niet als kankerverwekkend gezien te worden op basis van de huidige gegevens.

Het verschil tussen glyfosaat en Roundup is dat Roundup naast glyfosaat ook nog co-formulanten bevat. Deze co-formulanten vallen onder de REACH wetgeving. Aanvragers zijn verplicht om

informatie over de classificatie en labelling van de co-formulanten te leveren. Op basis van de samenstelling van het product stelt het Ctgb dan de classificatie van het gehele product op. Hierbij wordt uitgegaan van de concentratielimiet die vastgelegd zijn in de CLP Verordening. Het middel Roundup bevat geen componenten die geclassificeerd zijn als kankerverwekkend.

POE-Tallowamine

Gebbruik van POE-tallowamine als co-formulant in middelen met glyfosaat is verboden. De reden hiervoor was dat POE-tallowamine veel toxischer is dan glyfosaat in zowel de short tem 90-dagen studies als in 2-generatie en ontwikkelingstoxiciteit studies (NOAELs meer dan 10x lager). Daarnaast zijn er aanwijzingen dat de humane effecten die waargenomen waren na blootstelling aan glyfosaat producten veroorzaakt waren door POE-tallowamine.

Achtergrond informatie:

Vraag 2: Verschil in beoordeling tussen IARC en EFSA:

Goede bron voor informatie verschil IARC en EFSA:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5515989/>

Vraag 3- Muizen studies tonen een dosis gerelateerde toename van tumoren, waarom kwalificeert dit niet als 'voldoende bewijs' dat glyfosaat kankerverwekkend is?

Muizen studies

Type tumor	In welke studies waargenomen	Evaluatie
Nier tumoren	3 van de 5 studies	<ul style="list-style-type: none">- In 2 studies alleen waargenomen bij zeer hoge doseringen (>4000 mg/kg bw/day) die boven de Maximum Tolerable dose (MTD) lag.- Effect niet significant met een pair-wise comparison- Incidentie in 2 studies gelijk aan controle incidentie in andere studie.- Geen preneoplastic lesions die gecorreleerd kunnen worden aan de tumoren.
Lymphomas	2 van de 5 studies	<ul style="list-style-type: none">1 studie: binnen historische controle data en alleen bij dosering die boven limit dose en MTD is.2^e studie: resultaat niet herhaalbaar bij zelfde dosering in overige 3 studies
Haemangiosarcoma	2 van de 5 studies	<ul style="list-style-type: none">Niet significant.1^e studie: binnen historische controle data (HCD)2^e studie: alleen waargenomen bij dosering boven limit dose en MTD

Meer detail over de evaluatie van de individuele tumoren (bron CLH rapport en RAC opinie):

Nier tumoren:

Incidences of renal adenomas and carcinomas combined in male mice

Study (strain)	Control	Low dose	Mid dose	High dose	Fisher's exact test (high dose vs control) Cochran-Armitage trend test
5.1.2.e Woo 1983; CD-1	1 / 49 (2%)	0 / 49 (157 mg/kg bw/d)	1# / 50 (2%) (814mg/kg bw/d)	3## / 50 (6%) (4841 mg/kg bw/d)	p= 0.617 p=0.0339
5.1.2.e Woo et al., 1993 CD-1	2# / 50 (4%)	2# / 50 (4%) (100 mg/kg bw/d)	0 / 50 (300 mg/kg bw/d)	0 / 50 (1000 mg/kg bw/d)	No significant increase
5.1.2.e Woo 1997 CD-1	0 / 50	0 / 50 (165 mg/kg bw/d)	0 / 50 (838 mg/kg bw/d)	2 / 50 (4%) (4348 mg/kg bw/d)	p= 0.495 p=0.0078
5.1.2.e Woo et al., 2009 CD-1	0 / 51	0 / 51 (71 mg/kg bw/d)	0 / 51 (234 mg/kg bw/d)	0 / 51 (810 mg/kg bw/d)	No significant increase

Study (strain)	Control	Low dose	Mid dose	High dose	Fisher's exact test (high dose vs control) Cochran-Armitage trend test
5.1.2.e Woo et al., 2001 Swiss albino	0 / 50	0 / 50 (15 mg/kg bw/d)	1 / 50 (151 mg/kg bw/d)	2 / 50 (4%) (1460 mg/kg bw/d)	p= 0.495 p=0.039

*PWG re-evaluation of kidney lesions, #including one carcinoma, ##including two carcinoma

Studie van 5.1.2.e Woo beide hoogste dosering boven de limit dose en lijkt boven de MTD te zijn (>4000 mg/kg bw/day).

IARC heeft de studies van 5.1.2.e Woo niet gebruikt.

RAC opinie:

No increase was reported in related preneoplastic lesions (renal tubular hyperplasia or necrosis) in male mice. In the study by 5.1.2.e Woo (1983), non-neoplastic kidney pathology in the form of chronic interstitial nephritis was reported to be increased, but is not considered to be a precursor for renal tubular cell adenoma.

In two of the five studies, no renal tumours were reported at the two highest doses and in two studies, adenomas/carcinomas were reported in the control groups. Furthermore, no increase in renal tumours was reported in female mice. There was a positive trend in male mice, but the findings were not consistent across all studies. RAC notes that although the *p*-value determined in the trend test in the study by 5.1.2.e Woo (1997) indicated that the finding was statistically significant, there were only two adenomas among the 200 males examined in this study.

In two of the three positive studies 5.1.2.e Woo et al., 1997 and 5.1.2.e Woo and 5.1.2.e Woo (1983), increased tumour incidences were only observed at very high doses (>4000 mg/kg bw/d) at which the body weight gain in males were decreased compared to controls by up to 11% and 15% in the 5.1.2.e Woo (1983) and the 5.1.2.e Woo (1997) study, respectively. The OECD TG 451 for

carcinogenicity studies does not give a precise top dose recommendation, but states that the highest dose level should elicit signs of minimal toxicity, with depression of body weight gain of less than 10%. RAC therefore gives less weight to the findings at these very high dose levels. The human relevance of the renal tumours at very high doses is considered to be low and the overall evidence for the increase in renal tumours having been caused by glyphosate is considered insufficient for classification.

Lymphomas:

Incidences of malignant lymphoma in male and female mice

Study; Strain; Duration		Males				Females			
5.1.2.e Wood <i>et al.</i> , 2009; CrI:CD-1; 18 months	Dose (mg/kg bw/d)	0	71	234	810	0	98	299	1081
	Affected	0/51	1/51 (2%)	2/51 (4%)	5/51 (10%)	11/51	8/51	10/51	11/51
	Fisher's exact test Cochran-Armitage trend test	p=0.0037			p= 0.056	No significant increase			
5.1.2.e Wood 1997; Crj:CD-1; 18 months	Dose (mg/kg bw/d)	0	165	838	4348	0	153	787	4116
	Affected	2/50 (4%)	2/50 (4%)	0/50	6/50 (12%)	6/50	4/50	8/50	7/50
	Fisher's exact test Cochran-Armitage trend test	p=0.0085			p= 0.269	No significant increase			
5.1.2.e Wood <i>et al.</i> , 1993; CD-1 (sub- strain not specified); 24 months	Dose (mg/kg bw/d)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	Affected [#]	4/50 (8%)	2/50 (4%)	1/50 (2%)	6/50 (12%)	14/50	12/50	9/50	13/50
	Fisher's exact test Cochran-Armitage trend test	p=0.076			p= 0.741	No significant increase			
5.1.2.e Wood and 5.1.2.e Wood 1983; CrI:CD-1; 24 months	Dose (mg/kg bw/d)	0	157	814	4841	0	190	955	5874
	Affected	2/48 (4%)	5/49 (10%)	4/50 (8%)	2/49 (4%)	6/50 (12%)	6/48 (13%)	7/49 (14%)	11/49 (22%)
	Fisher's exact test Cochran-Armitage trend test	No significant increase				No significant increase			
5.1.2.e Wood <i>et al.</i> , 2001; Swiss albino	Dose (mg/kg bw/d)	0	15	151	1460	0	15	151	1460
	Affected	10/50 (20%)	15/50 (30%)	16/50 (32%)	19/50 (38%)	18/50	20/50	19/50	25/50 (50%)
	Fisher's exact test Cochran-Armitage trend test	p=0.065			p=0.077	p=0.068			p= 0.225

[#] based on histological examination of lymph nodes with macroscopic changes.

^alymphoreticular neoplasms (total); malignant lymphoma not used as a separate entity.

No significant increases in malignant lymphomas were found in the mouse studies when assessed by the pairwise Fisher's exact test. However, in two of the five studies, a significant positive trend for malignant

lymphoma incidences in males was reported. In two studies, increases were observed that were not statistically significant. In the fifth and oldest of the studies, the term malignant lymphoma was not used, but there was no statistically significant increase in lymphoreticular neoplasms reported in this study in response to glyphosate exposure. Thus, the lymphoma incidences in male mice show a slight, but clearly variable increase. Further, no increase in treatment related non-neoplastic lymph nodes were reported, thus supporting the conclusion that the tumours were of a spontaneous nature. The biological and human relevance of the findings is uncertain for the following reasons:

- i) the maximum incidences were regarded to be within the historical control range for the CD-1 mice, although adequate historical control data were not available for all studies;
- ii) the increases in malignant lymphoma incidences appeared to be confined to the high dose groups in the CD-1 mice;
- iii) the incidence of malignant lymphomas is known to be related to the age of the animals. However, significant associations between exposure to glyphosate and induction of malignant lymphomas were not observed in the 24-month studies. Furthermore, there was no reduction in overall survival in the exposed groups;
- iv) no parallel increases were observed in female CD-1 mice. It is known that female CD-1 mice are usually more prone to develop spontaneous malignant lymphoma than male mice (Son and Gopinath, 2004, ASB2015-2533). The lymphoma incidences were generally higher in females than in males, but no glyphosate related increases were seen in female CD-1 mice.

Haemangiosarcome

Incidence of haemangiosarcomas in male CD-1 mice

Dose (mg/kg bw/d)	Haemangio-sarcoma	Fisher's exact test	Dose (mg/kg bw/d)	Haemangio-sarcoma	Fisher's exact test
5.1.2.e Woo <i>et al.</i> , 1993 (24 months)			5.1.2.e Woo, 1997 (18 months)		
0	0 /50		0	0 /50	
100	0/50		165	0 /50	
300	0 /50		838	0/50	
1000	4/50 (8%)	p=0.059	4348	2/50 (4%)	p=0.495
Cochran-Armitage trend test	p=0.0004			p=0.0078	

Increased incidences of haemangiocarcomas were reported in high dose animals in the studies by 5.1.2.e Woo *et al.* (1993) and 5.1.2.e Woo (1997). The incidence in the high dose male mice in the 5.1.2.e Woo *et al.* (1993) study was at the upper edge (8%) of the historical control data of the performing laboratory (mean incidence at 3%, range 0-8%). No historical control data for haemangiosarcoma from the 5.1.2.e Woo (1997) test facility was available to RAC. The 4% incidence at the high dose

(greater than 4000 mg/kg bw/d) in the ^{5.1.2.e Woo} (1997) study is within the historical control range for CD-1 mice obtained from Charles River Laboratories with a

In three of the five studies, no increases in the incidences of haemangiosarcomas were reported in response to glyphosate treatment. Female mice had variable, but low incidences in haemangiosarcomas, with no apparent dose-response relationships. Across both sexes and all five studies, the findings of an increase in haemangiosarcomas in response to glyphosate exposure were inconsistent and the incidences are considered to be within the historical control range.

Ratten studies:

Tumoren in de eilandjes van Langerhans in de alvleesklier

Incidences of pancreatic islet cell adenomas and carcinomas combined in male rats

Study (strain)	Control	Low dose	Mid dose	Second mid dose	High dose	Response Fisher's exact test
^{5.1.2.e Woo} <i>et al.</i> , 2009 (Wistar)	4 / 51 (7.8%)	1 / 51 (86 mg/kg bw/d)	2 / 51 (285 mg/kg bw/d)	-	1 / 51 (1077 mg/kg bw/d)	No significant increase
^{5.1.2.e Woo} <i>et al.</i> , 2001 (Wistar)	1 / 53 (1.9%)	2 / 53 (121 mg/kg bw/d)	0 / 53 (361 mg/kg bw/d)	-	1 / 52 (1214 mg/kg bw/d)	No significant increase
^{5.1.2.e Woo} 1997 (Sprague-Dawley)	4 / 50 (8.0%)	1 / 50 (104 mg/kg bw/d)	2* / 50 (354 mg/kg bw/d)	-	1 / 50 (1127 mg/kg bw/d)	No significant increase
^{5.1.2.e Woo} 1996 (Wistar)	3 / 48 (6.3%)	0 / 30 (6.3 mg/kg bw/d)	0 / 32 (59.4 mg/kg bw/d)	-	1 / 49 (595.2 mg/kg bw/d)	No significant increase
^{5.1.2.e Woo} <i>et al.</i> , 1993 (Sprague-Dawley)	7 / 50 (14.0%)	1 / 24 (10 mg/kg bw/d)	2 / 17 (100 mg/kg bw/d)	2 / 21 (300 mg/kg bw/d)	1 / 49 (1000 mg/kg bw/d)	No significant increase
^{5.1.2.e Woo} 1990 (Sprague-Dawley)	2* / 43 (4.7%)	8 / 45 (17.8%) (89 mg/kg bw/d)	5 / 49 (10.2%) (362 mg/kg bw/d)		7 / 48 (14.6%) (940 mg/kg bw/d)	Significant increase in adenoma in low dose vs control
^{5.1.2.e Woo} 1981 (Sprague-Dawley)	0 / 50 (0.0%)	5 / 49 (10.2%) (3 mg/kg bw/d)	2 / 50 (4%) (10.3 mg/kg bw/d)	-	3* / 50 (6%) (31.5 mg/kg bw/d)	Significant increase in adenoma in low dose vs control

*including one carcinoma

The elevated incidences of pancreatic adenomas observed in glyphosate exposed groups in the two studies discussed above were only observed in males and did not show a dose-response relationship. Furthermore, they were not supported by findings in the additional five long-term guideline studies in rats (Table above) in which no increase in pancreatic islet cell tumours were reported in response to glyphosate. In four of these studies, the incidences were higher in the control groups than in the glyphosate exposed groups. The findings do not seem to be strain dependent as the two other studies in Sprague-Dawley did not show any increases in pancreatic islet cell tumours.

Levertumoren:

Liver adenomas and carcinomas in male rats in the Stout and Ruecker (1990) study

Dose (mg/kg bw/d)	Male rats	Liver adenoma	Liver adenoma + carcinoma
0	44	2	5
89	45	2 (1.000)	4 (0.739)
362	49	3 (1.000)	4 (0.732)
940	48	7 (0.162)	9 (0.392)
Cochran-Armitage Trend test (<i>p</i> -value)		0.0171	0.0752

p-values in brackets when using Fisher's exact test.

A positive trend for liver adenomas was reported in the study by **5.1.2.e Woo** (1990) in male rats (Table above). The increase in adenomas was statistically significant when using the Cochran-Armitage trend-test, but not in the pairwise testing against controls (Fisher's exact test). There was no progression to malignancy in the exposed groups as the incidence of liver carcinomas was slightly higher in controls than in the glyphosate treated groups. No statistically significant increase was reported for liver adenomas and carcinomas combined.

At the interim sacrifice, relative liver weights were slightly, but statistically significantly increased in high-dose males whereas absolute and relative liver weight was increased in high dose males at the end of the study. No pre-neoplastic liver lesions were reported in the CLH report or the RAR.

The hepatocellular adenoma incidences in the glyphosate treated animals were within the historical control range from the test facility (1.4%-18.3%) as cited by EPA (EPA 2015).

No significant increases in glyphosate-related liver tumours were reported in the other long-term studies in rats.

Schildkliertumoren:

Thyroid C-cell adenomas and carcinomas in study by Stout and Ruecker (1990)

Dose (mg/kg bw/d)	Female rats Adenomas; Carcinomas	Fisher's exact test	Male rats Adenomas/ Carcinomas
0	2/57 (3.5%);		2/54 (3.7%);

Dose (mg/kg bw/d)	Female rats Adenomas; Carcinomas	Fisher's exact test	Male rats Adenomas/ Carcinomas
	0/57		0/54
89	2/60 (3.3%); 0/60	NS	4/55 (7.3%); 2/55
362	6/59 (10.2%); 1/59 (1.7%)	NS	8/58 (13.8%); 0/58
940	6/55 (10.9%); 0/55	NS	7/58 (12.1%); 1/58
Cochran- Armitage Trend test (p-value)	p=0.0435 (adenomas)		Non-significant

An increase in the incidence of thyroid C-cell adenomas was reported for both sexes in the study by Stout and Ruecker (1990) and a significant trend was found for female rats using the Cochran-Armitage test with a p-value of 0.0435. No statistical significance was found when using pairwise comparison (Fisher's exact test). For males, the increased incidences of adenomas or combined adenomas/carcinomas were not statistically significant. No progression from adenoma to carcinoma is indicated in this study.

The thyroid C-cell adenoma incidences in the high dose glyphosate treated animals were slightly higher than the historical control range (3.3%-10.0% in females) as cited by EPA (2015).

No increase in thyroid C-cell adenomas was reported in the other long-term studies in rats. In these other studies, there were no increases in pre-neoplastic histological lesions and no thyroid weight change was noted in response to glyphosate exposure.

Overall conclusie van RAC over de rattenstudies:

The significant tumour incidence increases were only observed for benign neoplastic lesions (adenomas) and no progression into more malignant forms were observed for any of the tumour types evaluated. Furthermore, increased incidences of the pancreatic islet adenomas and the hepatocellular adenomas were only observed in male rats.

The incidences of pancreatic islet adenomas were above the historical control range from the test facility, whereas the liver adenoma incidences were within the historical control range and those for the thyroid C-cell adenoma were at the upper range of the historical control data.

Limited information was provided to RAC on potential findings in the planned interim sacrificed animals.

No significant treatment related increases in these tumours were observed in the five more recent guideline studies. The general lack of increases in pre-neoplastic lesions in the affected organs as well as a lack of progression toward increased malignancy, suggest that the findings in the study by

5.1.2.e Woo (1990) is sporadic in nature. This is further supported by lack of consistency between males and females for pancreatic and liver tumours and the negative findings in the five more recent rat cancer bioassays.

RAC considers that the rat studies did not demonstrate convincing evidence of glyphosate induced neoplasia across the seven studies evaluated and therefore did not support classification for carcinogenicity.

Gentox data glyfosaat:

Bacterial gene mutation:

Table 21: Summary of *in vitro* mutagenicity and genotoxicity tests with glyphosate acid in bacteria

Reference; Study identification; Owner	Type of study	Test organism / test system	Dose levels; purity; metabolic activation	Results
5.1.2.e Wood 1991; TOX9552371; Cheminova	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537	- S9: 160 – 2500 µg/plate; + S9: 310 – 5000 (plate-incorporation and pre-incubation test); 98.6%	Negative
5.1.2.e Wood et al., 1978; TOX9552368; Monsanto	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537, 1538 and <i>E. coli</i> WP2 hcr	10 – 5000 µg/plate (plate-incorporation assay); 98.4%; +/- S9	Negative (supplementary study)
5.1.2.e Wood 1995a; ASB2012-11462; Arysta	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	156-5000 µg/plate (pre-incubation test); 95.68%; +/- S9	Negative (supplementary study)
5.1.2.e Wood, 2007a; ASB2012-11463; Nufarm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	3 – 5000 µg/plate (plate-incorporation), 33 – 5000 µg/plate (pre-incubation test); 95.1%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood, 2007b; ASB2012-11464; Nufarm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	3 – 5000 µg/plate (plate-incorporation) 33 – 5000 µg/plate (pre-incubation test); 97.7%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood 2007c; ASB2012-11465; Nufarm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	3 – 5000 µg/plate (plate-incorporation) 33 – 5000 µg/plate (pre-incubation test); 95.0%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood 2007; ASB2012-11466; Helm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 102, 1535, 1537	648 – 5000 µg/plate (plate-incorporation); 98.01%; +/- S9	Negative (supplementary study)
5.1.2.e Wood 2009a; ASB2012-11468; Helm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 102, 1535, 1537	31.6 – 3160 µg/plate (plate-incorporation and pre-incubation test); 98.8%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood 2010; ASB2012-11469; Helm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 102, 1535, 1537	31.6 – 3160 µg/plate (plate incorporation and pre-incubation test); 96.4%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood, 2010; ASB2012-11470; Helm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	3 – 5000 µg/plate (plate incorporation and pre-incubation test); 97.16% technical a.i. containing 0.63% glyphosine; +/- S9	Negative
5.1.2.e Wood, 2010;	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98,	31.6 – 5000 µg/plate (plate	Negative

Reference; Study identification; Owner	Type of study	Test organism / test system	Dose levels; purity; metabolic activation	Results
ASB2012-11471; Helm		100, 102, 1535, 1537	incorporation and pre-incubation test); 98.2%; +/- S9	
5.1.2.e Woo, 1996; ASB2012-11472; Nufarm	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP <i>uvrA</i>	0 – 5000 µg/plate (plate-incorporation); 95.3%; +/- S9	Negative (supplementary study)
5.1.2.e Woo, 1996; ASB2012-11473; Syngenta	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP2P <i>uvrA</i> and WP2P	100 – 5000 µg/plate (plate-incorporation and pre-incubation assays); 95.6%; +/- S9 (for pre-incubation test only with S9 mix)	Negative
5.1.2.e Woo 2009; ASB2012-11474; Syngenta	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> pKM 101 and WP2 pKM 101	3 – 5000 µg/plate (plate-incorporation and pre-incubation assays); 96.3%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Woo, 2012; ASB2014-9133; Industria Afrasa	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 102, 1535, 1537	10 – 5000 µg/plate (plate-incorporation and pre-incubation assays); 97%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Woo, 2014; ASB2014-9148; Albaugh	Ames test	<i>S. typhimurium</i> TA 98, 100, 1535, 1537 and <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	1.5 or 5 – 5000 µg/plate (plate-incorporation and pre-incubation assays); 85.79%; +/- S9	Negative
5.1.2.e Woo 1995b; ASB2012-11477; Arysta	Rec assay	<i>B. subtilis</i> strains H17 and M45 (+/- S9)	+/- S9 : 7.5 – 240 µg/disk; Lot 940908-1; 95.68%	Negative (supplementary study)

Mammalian in vitro studies:

Table 22: Summary of *in vitro* tests for mutagenicity, clastogenicity or DNA damage/repair with glyphosate acid in mammalian cells

Reference; Study identification; Owner	Type of study	Test organism / test system	Dose levels*; test conditions; purity	Results
5.1.2.e Woo 1983; TOX9552369; Monsanto (also published by 5.1.2.e Woo and 5.1.2.e Woo 1988, TOX9500253)	Mammalian cell gene mutation	Chinese hamster ovary (CHO) cells; HGPRT assay	- S9: 2 – 22.5 mg/mL + S9: 5 – 22.5 (25 ??) mg/mL; Lot XHJ-64; 98.7%	Negative
5.1.2.e Woo 1991; TOX9552372; Cheminova	Mammalian cell gene mutation	Mouse lymphoma cells (L5178Y TK ⁺)	- S9: 0.61 – 5.0 mg/mL, + S9: 0.52 – 4.2 mg/mL; 98.6%	Negative
5.1.2.e Woo 1996, TOX2000-1994; Syngenta	Mammalian cell gene mutation	Mouse lymphoma cells (L5178Y TK ⁺)	+/- S9: 296 – 1000 µg/mL; P24; 95.6%	Negative
5.1.2.e Woo 1995; TOX9651525; Agrichem	Chromosomal aberration	Peripheral human lymphocytes (-S9: 24, 48 h exposure; +S9: 3 h, harvest after 24 or 48 h)	- S9: 33 – 333 µg/mL + S9: 237 – 562 µg/mL; 96%	Negative (supplementary study)
5.1.2.e Woo 1995; ASB2012-11475; Arysta	Chromosomal aberration	Chinese hamster lung (CHL) cells	- S9: 62.5 – 500 µg/mL, + S9: 255 – 1000 µg/mL; 95.68%	Negative
5.1.2.e Woo 1996; ASB2012-11476; Nufarm	Chromosomal aberration	CHL cells	+/- S9: 312.5 - 1250 µg/mL; 95.3%	Negative
5.1.2.e Woo, 1998; TOX2000-	Chromosomal	Human lymphocytes	- S9: 100 – 1250 µg/mL	Negative

Reference; Study identification; Owner	Type of study	Test organism / test system	Dose levels*; test conditions; purity	Results
1995; Syngenta	aberration		+ S9: 100 – 1250 µg/mL; 95.6%	
5.1.2.e Woo et al., 1998, ASB2013-9836	Chromosomal aberration	Bovine lymphocytes	-S9: 17 - 170 µM (3 - 30 µg/mL) +S9: not tested ≥ 98%	Positive (-S9)
5.1.2.e Woo et al., 2009a, ASB2012-11907	Micronucleus formation	Human lymphocytes	-S9/+S9: 0.5 - 580 µg/mL 98%	Negative (-S9) Positive (+S9)
5.1.2.e Woo et al., 2009, ASB2012-11892	Chromosomal aberration	Human lymphocytes	-S9: 0.2-6.0 mM (34 - 1015 µg/mL) +S9: not tested 96%	Negative
5.1.2.e Woo et al., 2012, ASB2014-7618	Micronucleus formation	Buccal carcinoma TR146 cells	10-20 µg/mL 95%	Positive
5.1.2.e Woo et al., 1994; TOX9400697; Feinchemie (ADAMA)	UDS assay	Primary rat (Sprague-Dawley) hepatocytes	0.20 – 111.69 mM; >98%	Negative
5.1.2.e Woo et al., 1997, Z59299	Sister-chromatid exchange	Human lymphocytes	-S9: 0.33 and 6 mg/mL +S9: not tested 99.9%	Positive
5.1.2.e Woo et al., 2005, ASB2012-11910	Comet assay	Human fibroblast GM 39 and Human fibrosarcoma HT1080 cells	-S9 (GM39): 4.0-6.5 nM, -S9 (HT1080): 4.5-6.5 nM +S9: not tested Purity: not given	Positive
5.1.2.e Woo et al., 2009, ASB2012-11892	Comet assay	Human liver Hep-2 cells	-S9: 3 - 7.5 mM (507.2 - 1268 µg/mL) +S9: not tested 96%	Positive
5.1.2.e Woo et al., 2009b, ASB2012-11906	Comet assay	Human lymphocytes	-S9/+S9: 0.5-580 µg/mL 98%	Positive
5.1.2.e Woo et al., 2012, ASB2014-7618	Comet assay	Buccal carcinoma TR146 cells	10-2000 µg/mL 95%	Positive
5.1.2.e Woo et al., 2014, ASB2014-6902	Comet assay	Human lymphocytes	-S9: 0.0007-0.7 mM (0.118- 118 µg/mL) +S9: not tested 96%	Positive

* Sometimes, higher concentrations were included in testing but these were the dose levels up to which analysis was carried out or reported.

In vivo data:

Table 23: Summary of somatic cell mutagenicity tests in mammals, *in vivo*

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, application route, dose levels, sampling time	Results	GLP, Test guideline	Result details	Comments
5.1.2.e Woo 1991, TOX9552374	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 98.6% oral, 1x 0 or 5000 mg/kg bw, sampled after 24, 48 and 72 h	Negative	GLP, OECD 474 (1983)	<i>MN/2000 PCE [mean (range)]:</i> Control: 2.7 (1-4) 24h, 5000 mg/kg: 3.2 (1-5) 48h, 5000 mg/kg: 2.8 (1-5) 72h, 5000 mg/kg: 1.7 (0-4) PosControl: 48.2 (32-58)	5 animals per sex and sampling time. 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect.
5.1.2.e Woo 1993, TOX9551100	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 96.8% oral, 2x 0, 50, 500 or 5000 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Weakly positive for top dose females	GLP, OECD 474 (1984)	% <i>MNPCE [mean (range)], male/female:</i> Control: 0.69 (0.1-1.6)/0.51 (0.2-1.0) 50 mg/kg: 0.84 (0.2-1.4)/0.28 (0.0-0.5) 500 mg/kg: 0.73 (0.4-1.6)/0.52 (0.2-1.3) 5000 mg/kg: 0.89 (0.7-1.1)/1.05*(0.4-1.6) PosControl: 2.33* (1.5-3.2)/2.39* (1.4-3.4) *p<0.05	5 animals per sex and dose (Control: 10/sex). 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect (but PosControl).
5.1.2.e Woo 1994, TOX9400323	Mouse, Chromosome aberration test, bone marrow	Glyphosate, 96.8% oral, 2 x 0-5000 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Negative	GLP, OECD 475 (1984)	<i>No. of aberrations per 250-250-500 metaphases (male/female/total)</i> Control: 12/10/22 5000 mg/kg: 10/11/21 PosControl: 139*/155*/294* *p<0.05	5 animals per sex. 50 metaphases/animal examined. <i>Mitotic index (%)</i> <i>(male/female/total)</i> Control: 13.3/17.4/15.3 5000 mg/kg: 8.9*/9.5*/9.2* PosControl: 14.7/5.5*/10.1*
5.1.2.e Woo 1996, TOX2000. 1996	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 95.6% oral, 1x 0 or 5000 mg/kg bw, sampled after 24 and 48 h	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	<i>MN/1000 PCE (mean±SD), male/female:</i> 24h, Control: 1.6±0.8/1.4±0.7 24h, 5000 mg/kg: 2.1±1.6/2.1±2.5 24h, PosControl: 22.2±6.1*/23.3±4.9* 48h, Control: 1.7±1.3/0.7±0.6 48h, 5000 mg/kg: 2.1±1.9/0.8±0.8 *p<0.01	5 animals per sex and sampling time. 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect.
5.1.2.e Woo 2008, ASB2012- 11483	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 99.1% oral, 1x 0, 500, 1000 or 2000 mg/kg bw, sampled after 24 h 1x 0 or 2000 mg/kg bw, sampled after 48 h	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	<i>MN/2000 PCE [mean (range)]:</i> 24h, Control: 1.4 (0-3) 24h, 500 mg/kg: 1.6 (1-2) 24h, 1000 mg/kg: 1.6 (1-2) 24h, 2000 mg/kg: 1.4 (0-2) 24h, PosControl: 63.0 (44-92)* 48h, Control: 1.4 (0-3)	5 males per group and sampling time. 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect. Historical control data (293 studies): % <i>MNPCE [mean±SD, (range)]:</i>

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, application route, dose levels, sampling time	Results	GLP, Test guideline	Result details	Comments
					48h, 2000 mg/kg: 1.6 (0-3) *p<0.01	0.084±0.031 (0.01 – 0.18)
5.1.2.e Woo 2012, ASB2014- 9277	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 98.9% oral, 2 x 0 or 2000 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	% <i>MNPCE [mean (range)]:</i> Control: 0.033 (0-0.05) 2000 mg/kg: 0.0 (0-0) PosControl: 2.49* (1.1-3.7) *p<0.01	6 males per group. 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect at 2000 mg/kg, increased in PosControl. Historical control data (of 73 studies) % <i>MNPCE [mean±SD (range)]:</i> 0.02±0.02 (0.0-0.07)
5.1.2.e Woo 2012, ASB2014- 9333	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 96.3% oral, 1 x 0 or 2000 mg/kg bw, sampled after 24 and 48 h	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	<i>MN/2000 PCE [mean±SD, (range)]:</i> 24h, Control: 3.2±3.6 (0-8) 24h, 2000 mg/kg: 2.3±0.5 (2-3) 24h, PosControl: 40.2±18.2* (16-57) 48h, Control: 1.4±1.1 (0-3) 48h, 2000 mg/kg: 1.1±1.3 (0-3) *p<0.01	7 males per group (Control and PosControl: 5 males each). 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect. Historical control data (of 219 studies) % <i>MNPCE [mean±SD (range of mean group value)]:</i> 0.108±0.039 (0.01-0.25)
5.1.2.e Woo 2009, ASB2012- 11479	Rat, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 98.8% oral, 1 x 0, 500, 1000 or 2000 mg/kg bw, sampled after 24 and 48 h	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	<i>MN/2000 PCE (mean±SD), male/female:</i> 24h, Control: 1.6±1.1/1.8±0.4 24h, 500 mg/kg: 1.0±1.2/1.2±1.3 24h, 1000 mg/kg: 0.8±0.4/1.6±0.9 24h, 2000 mg/kg: 1.2±0.8/0.8±0.8 24h, PosControl: 30.2±10.5*/24.0±4.9* 48h, Control: 2.0 ±1.9/2.2 ±1.3 48h, 2000 mg/kg: 1.6±0.9/0.8±0.8 *p<0.05	5 animals per sex and dose and sampling time. 2000 PCE scored/animal. PCE/NCE: no effect. Historical control data (24, 48 and 72 h samplings combined): <i>MN/1000 PCE [mean and (range)]:</i> Males: 1.97 (0.4 – 5.7) Females: 1.86 (0.4 – 4.7)
5.1.2.e Woo 1988, TOX9500253	Rat, Chromosome aberration test, bone marrow	Glyphosate, 98% i.p., 1 x 0 or 1000 mg/kg bw, sampled after 6, 12 and 24 h	Negative	No GLP, no reference to TG	% <i>aberrant cells (mean), male/female/total:</i> 6h, Control: 1.3/2.7/2.0 6h, 1000 mg/kg: 2.3/3.0/2.7 12h, Control: 1.0/1.5/1.2 12h, 1000 mg/kg: 2.0/2.5/2.3 24h, Control: 1.3/2.3/1.8 24h, 1000 mg/kg: 1.0/3.7/2.6	<u>Consistent with OECD 475 (1984):</u> 6 animals per sex and sampling time. Ca 50 metaphases/animal examined. Slides were coded and scored “blind”.
5.1.2.e Woo 1983, TOX9552369						<u>Original study reported in RAR as</u>

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, application route, dose levels, sampling time	Results	GLP, Test guideline	Result details	Comments
					PosControl: 42.2*/23.8*/40.8* * p < 0.05	Li, 1983 (TOX9552375).
5.1.2.e Wood et al., 1993, Z82234	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate isopropylamine salt, purity not stated i.p., 1 x 0, 100, 150 or 200 mg/kg bw sampled after 24 and 48 h	Negative	No GLP, no reference to TG	% MNPCE (mean±SD): 24h, Control: 0.27±0.11 24h, 100 mg/kg: 0.20±0.13 24h, 150 mg/kg: 0.2±0.13 24h, 200 mg/kg: 0.25±0.10 24h, PosControl: 2.53±0.59 48h, 150 mg/kg: 0.13±0.09 48h, 200 mg/kg: 0.12±0.09	Consistent with OECD 474 (1983): Mostly 5 animals per sex and dose and sampling time. 1000 PCE scored/animal. Slides were scored randomly. PCE/NCE: no effect.
5.1.2.e Wood et al., 1997, Z59299	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 99.9% i.p., 2 x 150 mg/kg bw (24 h interval), sampled 6 or 24 h after second dose	Positive	No GLP, no reference to TG	MN/1000 PCE (mean±SD): Control: 0.75±0.46 6h, 2x 150 mg/kg: 1.4±0.9 24h, 2x 150 mg/kg: 2.4±1.5* 24h, PosControl: 80.0±8.5* * p < 0.05	6 males in Control and PosControl group. 3000 PCE scored/animal. PCE/NCE: 0.73±0.06 in Control, 0.6±0.05 at 6h, 0.5±0.2 at 24h. <u>Deviations from OECD 474 (1997):</u> Only 3(4) males examined per sampling time. Sampling time of Control not stated. Independent coding of slides not stated.
5.1.2.e Wood et al., 2009a, ASB2012-11892	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 96% i.p., 2 x 50, 100 or 200 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Positive	No GLP, OECD 474 (1997)	MN/1000 Erythrocytes (mean±SD): Control: 3.8 ±0.8 2x 50 mg/kg: 3.7±0.5 2x 100 mg/kg: 4.2±0.5 2x 200 mg/kg: 13.0±3.5* PosControl: 19.2±3.9* * P < 0.01	5 animals per dose. PCE/NCE no effect. <u>Deviations from OECD 474 (1997):</u> Sex of animals not reported. 1000 erythrocytes (not PCE) scored/animal. Independent coding of slides not stated.
5.1.2.e Wood et al., 1999, ASB2012-11482	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 95% i.p., 2 x 0, 187.5, 375 or 562.5 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Negative	GLP, internal SOP	MN/1000 PCE [mean (range)], male/female: Control: 0.4 (0-1)/0.8 (0-2) 188 mg/kg: 0.0 (0)/0.6 (0-3) 375 mg/kg: 0.6 (0-3)/0.6 (0-2) 563 mg/kg: 0.4 (0-2)/0.6 (0-1) PosControl: 4.8* (4-7)/4.8* (2-12)	5 animals per sex and dose. 1000 PCE and 1000 NCE scored per animal. PCE/NCE: no effect (but PosControl). MN/1000 NCE: no effect (but

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, application route, dose levels, sampling time	Results	GLP, Test guideline	Result details	Comments
					*p<0.05	PosControl. LD50 _p =750 mg/kg
5.1.2.e Wood 2006, ASB2012-11478	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 95.7% i.p., 1 x 0, 150, 300 or 600 mg/kg bw, sampled after 24 and 48 h	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	% MNPCE [mean±SD, (range)]: 24h, Control: 0.06±0.06 (0.0-0.15) 24h, 150 mg/kg: 0.07±0.04 (0.0-0.10) 24h, 300 mg/kg: 0.06±0.05 (0.0-0.15) 24h, 600 mg/kg: 0.19±0.07* (0.05-0.25) 24h, PosControl: 3.03±0.49*** (2.20-3.35) 48h, Control: 0.1±0.12 (0.0-0.35) 48h, 600 mg/kg: 0.09±0.11 (0.0-0.30) *p<0.05, ***p<0.001	7 males per group and sampling time. 2000 PCE scored/animal. Pre-test: Mortality at 800-1000 mg/kg, clinical signs at 150 mg/kg and above. PCE/NCE: reduced at 600 mg/kg (not in PosControl). Stat. sign. increase in MNPCE at 600 mg/kg (24 h), within historical control. <u>Control data from 60 groups (24h):</u> 0.0-0.9 MN/1000 PCE: 40x (67%) 1.0-1.4 MN/1000 PCE: 14x (23%) 1.5-2.0 MN/1000 PCE: 3x (5%) 2.1-2.5 MN/1000 PCE: 3x (5%)
5.1.2.e Wood 2008, ASB2012-11481	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 98% i.p., 2 x 0, 15.6, 31.3 or 62.5 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	MN/2000 PCE [mean (range)], male/female: Control: 0.0 (0)/0.0 (0) 15.6 mg/kg: 0.0 (0)/0.0 (0) 31.3 mg/kg: 0.0 (0-1)/0.0 (0) 62.5 mg/kg: 0.6 (0-3)/0.0 (0) PosControl: 23.0* (8-30)/12.2* (7-26) *p<0.01	5 animals per sex and dose. 2000 PCE scored/animal. Pre-test: Mortality at 500-1000 mg/kg, decreased PCE/NCE at 250 mg/kg and above. PCE/NCE no effect. Historical control: ca. 3 MN/1000 PCE
5.1.2.e Wood 2010, ASB2014-9284	Mouse, Micronucleus test, bone marrow	Glyphosate, 98% i.p., 2 x 0, 125, 250 or 375 mg/kg bw (24 h interval), sampled 24 h after second dose	Negative	GLP, OECD 474 (1997)	MN/2000 PCE [mean (range)], male/female: Control: 0.4 (0-2)/0.4 (0-1) 125 mg/kg: 0.2 (0-1)/0.0 (0-1) 250 mg/kg: 0.0 (0)/0.0 (0) 375 mg/kg: 0.2 (0-1)/0.0 (0-1) PosControl: 8.0* (5-11)/6.4* (5-9) *p<0.01	5 animals per sex and dose. 2000 PCE scored/animal. Clinical signs at 125 mg/kg and above. PCE/NCE: slight increase at 250 and 375 mg/kg and in PosControl. Historical control: ca. 3 MN/1000 PCE

NCE, normochromatic erythrocytes; MN, micronucleus; MNPCE%, percent of micronucleated polychromatic erythrocytes; PCE, polychromatic erythrocytes; SD, standard deviation

In vivo test DNA adducts

Table 24: Summary of tests on DNA adducts and DNA strand breaks in mammals. *in vivo*

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, route, dose levels, sampling time	Results by authors	GLP, Test guideline	Result details	Comments
5.1.2.e Wood et al., 1997, Z59299	Mouse DNA adduct (8-OHdG by LC/UV), liver	Analytical grade glyphosate (purity 99.9%) i.p.; 1 × 300 mg/kg bw; sampled after 8 and 24 h	-(4 h) +(24 h)	No GLP, no reference to TG	(Estimated from figure in report) Control: approx. 0.6 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG 4 h: approx. 0.9 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG 24 h: approx. 3.6 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG*	3 male animals per group, at least 3 independent repeat experiments
5.1.2.e Wood et al., 1997, Z59299	Mouse DNA adduct (8-OHdG by LC/UV), kidney	Analytical grade glyphosate (purity 99.9%) i.p.; 1 × 300 mg/kg bw; sampled after 8 and 24 h	-(4 & 24 h)	No GLP, no reference to TG	(Estimated from figure in report) Control: approx. 0.6 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG 4 h: approx. 0.5 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG 24 h: approx. 0.4 moles 8-OHdG/10 ⁵ moles dG*	3 male animals per group, at least 3 independent repeat experiments
5.1.2.e Wood et al., 1998, TOX1999-318	Mouse DNA adduct (³² P-DNA post labelling), kidney	Glyphosate isopropylammonium salt i.p.; 1 × 0, 130 or 270 mg/kg bw; sampled after 24 h	-	No GLP, no reference to TG	Not reported	6 animals in control group, 6 in low dose group and 3 in high dose group, sex of animals not clear
5.1.2.e Wood et al., 1998, TOX1999-318	Mouse DNA adduct (³² P-DNA post labelling), liver	Glyphosate isopropylammonium salt i.p.; 1 × 0, 130 or 270 mg/kg bw; sampled after 24 h	-	No GLP, no reference to TG	Not reported	6 animals in control group, 6 in low dose group and 3 in high dose group, sex of animals not clear
5.1.2.e Wood et al., 1997, Z59299	Mouse DNA strand breaks (alkaline elution assay), liver	Analytical grade glyphosate (purity 99.9%) i.p.; 1 × 300 mg/kg bw; sampled after 4 and 24 h	+(4 h) -(24 h)	No GLP, no reference to TG	(Estimated from figure in report) Control: approx. 15 *10 ³ /mL 4 h: approx. 47 *10 ³ /mL* 24 h: approx. 20 *10 ³ /mL	3 male animals per group, at least 4 independent repeat experiments
5.1.2.e Wood et al.,	Mouse	Analytical grade glyphosate (purity	+(4 h)	No GLP,	(Estimated from figure in report)	3 male animals per

Reference	Species, test, tissue	Test substance, purity, route, dose levels, sampling time	Results by authors	GLP, Test guideline	Result details	Comments
1997, Z59299	DNA strand breaks (alkaline elution assay), kidney	99.9%) i.p.; 1 × 300 mg/kg bw; sampled after 4 and 24 h	-(24 h)	no reference to TG	Control: approx. 17 *10 ³ /mL 4 h: approx. 55 *10 ³ /mL* 24 h: approx. 25 *10 ³ /mL	group, at least 4 independent repeat experiments
5.1.2.e Wood et al., 2013, ASB2014-6909	Mouse comet assay, blood cells	Glyphosate (96%) Drinking water, 14 days, 0, 40 or 400 mg/kg bw per day; sampled after treatment period	+	No GLP, no reference to TG	Tail moment (mean ± SEM): Control: 2.98±1.08 40 mg/kg bw per day: 8.54***±7.82 400 mg/kg bw per day: 9.06***±5.15	6 animals per group sex of animals not clear
5.1.2.e Wood et al., 2013, ASB2014-6909	Mouse comet assay, liver cells	Glyphosate (96%) Drinking water, 14 days, 0, 40 or 400 mg/kg bw per day; sampled after treatment period	+	No GLP, no reference to TG	Tail moment (mean ± SEM): Control: 7.14±3.41 40 mg/kg bw per day: 7.92*±3.99 400 mg/kg bw per day: 20.59***±15.47	6 animals per group sex of animals not clear

8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; dG, deoxyguanosine; SEM, standard error of the mean; SCGE, single cell gel electrophoresis