

Mischungstoxizität: Bedürfnisse der Praxis

Workshop über Auswirkungen von Chemikalienmischungen und ihre Beurteilung

Toxicité des mélanges: besoins concrets

L'évaluation de la toxicité des mélanges de substances chimiques représente un grand défi pour les autorités, la recherche et l'industrie. En novembre 2010, le Centre Ecotox, en collaboration avec le SCAHT a réalisé un atelier de travail destiné à initier les participants aux problèmes que posent les mélanges de substances chimiques pour l'environnement et pour l'homme, et à donner un aperçu des méthodes d'évaluation de la toxicité des mélanges. Au delà du problème de cocktail de substances chimiques le cours a abordé également la question des interactions de ces mélanges avec les facteurs de stress abiotiques. Les participants ont discuté des défis réglementaires que cette situation implique, ils ont aussi formulé les besoins des différents secteurs et les actions à mettre en place.

Mixture toxicity: Practice Requirements

The evaluation of the toxicity of chemical agent mixtures poses important challenges for authorities, research and industry. In November 2010, the Ecotoxicology Centre, in collaboration with the SCAHT held a workshop with the aim of introducing the issue of chemical agent mixtures in the environment and in people and of providing an overview of the assessment of mixture toxicity based on various models. For this purpose, not only mixtures of various chemicals were examined, but also the interactions of chemicals with other abiotic stressors. The participants discussed the resulting regulatory challenges, the requirements for different sectors and formulated the need for action for the future.

Petra Kunz



Die Beurteilung der Toxizität von Chemikalienmischungen stellt Behörden, Forschung und Industrie vor grosse Herausforderungen. Im November 2010 führte das Oekotoxzentrum in Zusammenarbeit mit dem SCAHT einen Workshop durch mit dem Ziel, in die Problematik von Chemikalienmischungen in der Umwelt und beim Menschen einzuführen und einen Überblick über die Beurteilung der Mischungstoxizität anhand verschiedener Modelle zu geben. Hierbei wurden nicht nur Mischungen verschiedener Chemikalien betrachtet, sondern auch die Interaktionen von Chemikalien mit anderen abiotischen Stressoren. Die Teilnehmer diskutierten die resultierenden regulatorischen Herausforderungen, die Bedürfnisse der verschiedenen Sektoren und formulierten den Handlungsbedarf für die Zukunft.

1 Einleitung

Die Frage nach möglichen negativen Auswirkungen durch die Kombination verschiedener Substanzen, ob für Umweltorganismen oder den Menschen, wird in der Risikoabschätzung immer häufiger gestellt und ist für Toxikologen, Ökotoxikologen, Industrie- und Behördenvertreter gleichermaßen von grosser Relevanz. Traditionell werden jedoch Effekte von Chemikalien auf die Umwelt oder den Menschen anhand der *Einzelsubstanzen* evaluiert und reguliert. In Anbetracht der Tatsache, dass die Toxizität einer Mischung üblicherweise grösser ist als diejenige jeder Einzelsubstanz, ist dieser Ansatz jedoch unzureichend. Diese Ansicht spiegelt sich auch in internationalen Bestrebungen wider, die

Beurteilung von *Mischungseffekten* voranzutreiben. So haben die Umweltminister der EU Mitgliedstaaten die Europäische Kommission gebeten, ihre Aktivitäten bezüglich des Risikomanagements von Chemikalienmischungen zu intensivieren und auch die WHO sowie die *Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit* (EFSA) beschäftigen sich mit dem Thema. Im Hinblick auf die Regulatorik von Chemikalienmischungen sind Ansätze zur Bewertung im so genannten US-amerikanischen Superfund-Gesetz oder im CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*) verankert.

Vor dem Hintergrund des zunehmenden internationalen wie auch nationalen Interesses an der Mischungstoxizität führte das Schweizerische Zentrum für Angewandte Oekotoxikologie (*Oekotoxzentrum*) in Zusammenarbeit mit dem Schweizerischen Zentrum für Angewandte Humantoxikologie (*SCAHT*) im November 2010 einen Workshop über die Auswirkungen von Chemikalienmischungen auf Umwelt und Mensch und ihre Beurteilung durch. Die zweitägige Veranstaltung richtete sich an interessierte Fachleute aus Industrie, Behörden und der Wissenschaft.

Ziele des Workshops

- Definition der Teilnehmerbedürfnisse in Bezug auf den Umgang mit Mischungstoxizität;
- Anhand von Projektbeispielen einen Überblick über die Mischungsproblematik in der Umwelt und beim Menschen geben;
- Beurteilungsmöglichkeiten von Mischungen anhand verschiedener Modelle aufzeigen;
- Vorstellung von Nachweismethoden zur Erfassung von Kombinationswirkungen in der Umwelt und beim Menschen;

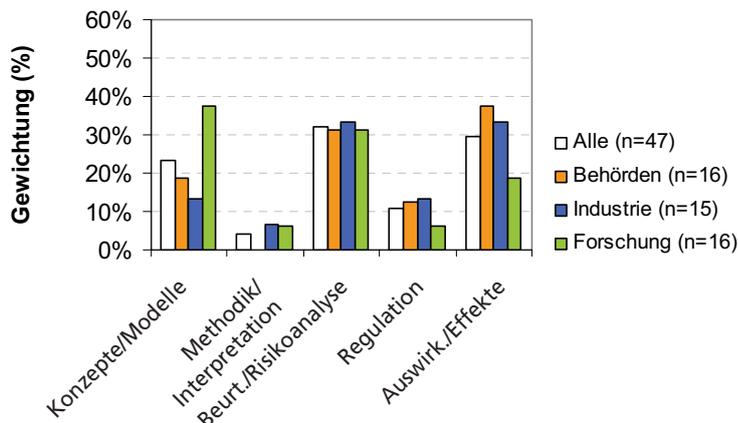


Abb. 1 Prozentuale Verteilung der Teilnehmer-Antworten zu Frage I der ersten Gruppendiskussion, aufgeschlüsselt nach Interessengruppen. Die Vertreter der Wasserversorger sind bei der Industrie miteinbezogen.

- Industrie
- Forschung
- Behörden

Welcher Aspekt der Mischungstoxizität ist für Ihre tägliche Arbeit am wichtigsten?

Beurteilung, Risikoanalyse	Auswirkungen/Effekte	Regulation
<ul style="list-style-type: none"> • Beurteilung von Einzelstoffen (Festlegung von Einleitungsgrenzwerten etc.) ohne Kenntnis möglicher Mischungstoxizitäten • Risk Assessment von Mischungen mit unbekanntenen Komponenten, z.B. <i>endocrine Disruptors</i> (Humantox) • Einstufungen von Chemikalienmischungen • Risikobewertung, Erstellung von Dossiers zu besonders besorgniserregenden Stoffen (Betrachtung v. Stoffgruppen)? Regulatorik • Revision von REACH, Mischungstoxizität einbringen • Risikobewertung von Mischungen im Rahmen der PSM-Zulassung • Interpretation von Mikroverunreinigungen in Gewässern 	<ul style="list-style-type: none"> • Weitere Neben- und Abbauprodukte → Gefährlichkeit • Interaktion zwischen verschiedenen Chemikalien in Gewässern • Beurteilung von Expositionen von Mischungen im Niedrigdosisbereich (meist via Atemwege) • Phytotoxizität bei Biozidmischungen, v.a. Herbizide-Wachstumsregulatoren-Fungizide (Landwirtschaft) • Auswirkungen von Mischungen auf Abwässer • Auswirkungen von Mischungen auf ARA und Oberflächengewässer • Alterung der Bevölkerung/hoher Konsum von Medikamenten → Wirkung auf aquatische und terrestrische Ökologie 	<ul style="list-style-type: none"> • Bedeutung v. Interaktionen bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln auf Lebensmittel • Regulatorische Handhabung
<ul style="list-style-type: none"> • Bewertung von Mischungstoxizität (Umwelt/Chemikalien) • Bewertung bezüglich Festlegung von Höchstwerten • Risikoanalyse von Mischungen: <ul style="list-style-type: none"> • Additiv oder <i>worst case</i> • Schadstoffe im Grundwasser aus belasteten Standorten • Welche Folgen kann eine Mischung verschiedener Stoffe haben? • Einschätzung von Abwässern aus der Pharmaproduktion 	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité des produits de dégradation sortant des STEP (ARA). • TOC (COT) Résiduel ecotoxique? • Chronische Humantoxizität • Analyse und Identifikation von Abbauprodukten und deren Einfluss auf Gesamttoxizität • Toxische Wirkung von VOC in der Luft auf den Menschen • Auswirkungen sehr heterogener Substanzgemische auf Ökosystem (Vorfluter) 	<ul style="list-style-type: none"> • Relevanz der Mischungstoxizität im regulatorischen Bereich • Optionen regulatorischer Umsetzung
<ul style="list-style-type: none"> • Inwieweit sollte die Mischungstoxizität berücksichtigt werden bei einer Risikobewertung? • Risikobewertung von Mischungen mit unklarer Datenlage • Gemischtoxizität und EQS • Abschätzung der Wirkung v. Substanzgemischen auf insbesondere aquatische Organismen • Common hazard prioritisation 	<ul style="list-style-type: none"> • Wirkung von Niedrigdosen in Mischungen, z.B. in Konzentrationsbereichen, wo Einzelsubstanzen keine Wirkung zeigen • Wirkung chemischer Mischungen in Kombination mit biologischen Stressfaktoren auf das menschliche Immunsystem • Mischungen von Effekten durch <ul style="list-style-type: none"> - Chemikalien-Stress - physikalischen Stress 	<p>Was tut sich im regulatorischen Umfeld?</p> <p>Methodik/Interpretation</p> <p>Aquatische Toxizitätstest mit komplex zusammengesetzten natürlichen Ölen. Wie durchführen und wie interpretieren?</p> <p>Nachweismethoden</p>
		<p>Konzepte/Modelle</p> <ul style="list-style-type: none"> • Beurteilung von Mischungen und ihren Effekten in Oberflächengewässern <ul style="list-style-type: none"> - Konzepte - Umsetzung in die Praxis • Relevanz von Mischungstoxizität und (Grenzen der) Vorhersagbarkeit von Mischungstoxizität.
		<ul style="list-style-type: none"> • Neue Beurteilung von Mischungseffekten • Link zw. Biomarker und Ecosystem-Effekt • Berechnung der Toxizität von Gemischen <ul style="list-style-type: none"> • Welche Konzepte gibt es zur Beurteilung der Mischungstoxizität, die auch regulatorisch einsetzbar sind? • Identifikation von Wechselwirkungen zwischen den Chemikalien • Modellierung von Mischungseffekten • Additivität • Ungleichförmige Konzentrationskurve • Bioverfügbarkeit + Aufnahmeverlauf • Multiple Stressoren → Konzepte

Kasten 1 Detaillierte Antworten auf die Frage I in der ersten Gruppendiskussion.

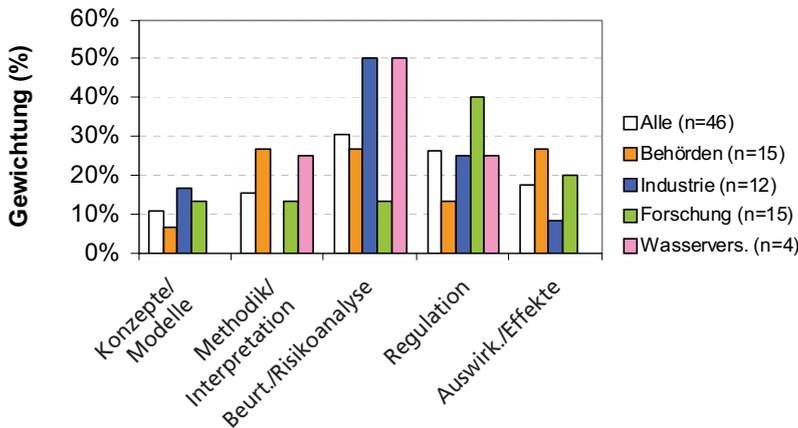


Abb. 2 Prozentuale Verteilung der Teilnehmer-Antworten zu Frage II der ersten Gruppendiskussion, aufgeschlüsselt nach Interessengruppen.

- Einblick in die Risikoanalyse von Mischungen geben;
- Übersicht über aktuelle nationale und internationale Entwicklungen im Bereich der Regulatorik von Mischungen geben;
- Anwendung der vorgestellten Konzepte in praktischen Übungen;
- Erarbeitung des bedürfnisorientierten Handlungsbedarfs für eine praxistaugliche Beurteilung von Gemischen mit Teilnehmern und Referenten.

Am Workshop nahmen insgesamt 62 Personen teil: 20 Behördenvertreter, 11 Vertreter der chemisch-pharmazeutischen Industrie und Auftragslabors, 5 aus der Forschung und 4 aus dem Trinkwasserbereich. 22 Experten aus dem In- und Ausland hielten Vorträge zu mischungsrelevanten Themen und beteiligten sich an Podiums- und Gruppendiskussionen.

2 Bestandesaufnahme – Mischungstoxizität in der Praxis

Der Workshop begann mit einer Gruppendiskussion. Ziel war es, den mischungsrelevanten Hintergrund sowie die Bedürfnisse und Erwartungen der Teilnehmer bezüglich Mischungstoxizität zu erfahren, um Themen, die nicht behandelt wurden, noch in den Workshop zu integrieren. Es wurden die Angaben der Teilnehmer und Referenten zu folgenden zwei Fragen diskutiert:

Frage I

Welcher Aspekt der Mischungstoxizität ist für Ihre tägliche Arbeit am wichtigsten?

Die Antworten der Teilnehmer liessen sich folgenden Überbegriffen zuordnen: Beurteilung/

Risikoanalyse, Regulation, Auswirkungen/Effekte, Konzepte/Modelle und Methodik/Interpretation.

Als wichtigster Aspekt in der täglichen Arbeit wurde von je einem Drittel der Teilnehmer die *Risikoanalyse* und *Auswirkungen/Effekte* von Mischungen genannt, gefolgt von der Anwendung unterschiedlicher *Konzepte/Modelle*, wobei es jedoch zwischen den einzelnen Interessengruppen erwartungsgemäss Unterschiede in der Gewichtung gab (Abb. 1). So waren für die meisten Behördenvertreter neben Beurteilung/Risikoanalyse, Auswirkungen/Effekte von noch grösserer Bedeutung, während Industrievertreter diese beiden Gebiete als gleich gewichteten.

Bei der *Risikobewertung* zeigte sich vor allem Unsicherheit darüber, wie relevant die derzeit gültigen Methoden der Einzelstoffbeurteilung für die Risikoabschätzung von Mischungen sind. Dies ist ein generelles Problem, das sich in den verschiedensten Teilbereichen wiederfindet, z.B. bei der Risikobewertung von Pestiziden (Biozid-Zulassung und Pflanzenschutzmittelverordnung) und Industriechemikalien (REACH), aber auch bei der Bewertung der (Öko-)Toxizität von Abwässern, der Beurteilung von Schadstoffen im Grundwasser sowie bei der Beurteilung der Toxizität von flüchtigen organischen Sub-

stanzen in der Luft. Industrie, Behörden und Forschung waren sich einig, dass die Beurteilung von Mikroverunreinigungen eine besondere Herausforderung darstellt.

Folgende *Fragestellungen* zeigten sich als besonders wichtig bei der täglichen Arbeit (die detaillierten Beiträge sind in *Kasten 1* aufgeführt):

- Wie beurteilt man Gemische, bei denen die Konzentrationen der Einzelkomponenten keine Effekte erwarten lassen?
- Wann sollen Mischungen in der Risikobewertung berücksichtigt werden (es fehlen Richtlinien zur Identifizierung und Priorisierung von Problemen)?
- Wie sieht eine allgemeine Strategie der Risikobewertung aus?
- Wie kann die Problematik der oft unzureichenden Datenlage und Kenntnisse über mögliche Effekte einer Mischung berücksichtigt werden?
- Wie ist möglichen Interaktionen von Chemikalien in heterogenen Substanzgemischen am besten Rechnung zu tragen?
- Wie geht man mit chronischen Expositionen bei niedrigen Konzentrationen um?
- Wie können schon bestehende Ansätze zur Beurteilung von Mischungen schnell in verbindliche Richtlinien für die Regulatorik umgewandelt werden?

Aus den Antworten wird deutlich, dass eine verbesserte Kommunikation zwischen den Behörden, der Forschung und der Industrie gewünscht wird, um gemeinsam Lösungswege zu erarbeiten.

Frage II

Welche Aspekte der Mischungstoxizität sollten diskutiert werden?

Die meisten Teilnehmer erwarteten, dass Themen aus den Bereichen Beurteilung/Risikoanalyse (~30%) und Regulation (~26%) während

des Workshops angesprochen würden. Auch hier zeigten sich Unterschiede zwischen den einzelnen Interessengruppen in der Gewichtung (Abb. 2). Behördenvertreter erhofften sich eine verstärkte Behandlung der *Nachweismethoden* und der *Interpretation* von Daten und Mischungseffekte, während die Forschungsvertreter an *regulatorischen Fragestellungen* ein grösseres Interesse zeigten.

Das dominierende Thema war der Wunsch nach praktikablen und verbindlichen *Richtlinien* zur Risikobeurteilung von Substanzgemischen unter Berücksichtigung der bereits vorliegenden Konzepte zur Vorhersage der Gemischtoxizität. Es zeigte sich, dass das gegenseitige Verständnis für die Probleme und Herausforderungen der unterschiedlichen Interessensgruppen gestärkt werden muss.

Die technische Umsetzung der Konzepte in die Regulation ist ein Thema, das besonders häufig von Teilnehmern aus Forschung und Behörden genannt wurde. Dabei wünschten sich die Teilnehmer aus der Wissenschaft etwas über die Umsetzung der Forschungsergebnisse in Ämtern und Behörden zu hören, während die Vertreter der Behörden sich Ideen und konkrete Vorgehensweisen zur Umsetzung erhofften sowie eine Einschätzung über die Relevanz der Gemischtoxizität gemäss den einschlägigen Schweizer Gesetzen.

Die Industrie ist ebenfalls vorrangig an praktikablen Lösungen und verbindlichen Testrichtlinien interessiert, jedoch mit Fokus auf die zukünftige Verankerung der Mischungstoxizität im EU-Recht.

Die Teilnehmer aus dem Bereich Wasserversorgung haben ein besonderes Interesse an der humantoxikologischen Bewertung von ökotoxikologischen Effekten

und der Identifizierung toxischer Endpunkte mittels chemischer Analytik.

3 Forschung und Regulatorik

Insgesamt 22 Experten aus dem In- und Ausland stellten in ihren Vorträgen die neusten Erkenntnisse aus der Forschung und den Stand der Regulatorik vor.

Bestehende und abgeschlossene Projekte

In fünf methodologisch aneinander anknüpfenden EU-Projekten – ACE [1], EDEN [2], PREDICT [3, 4], BEAM [5], CONTAMED [6] – wurden seit mehr als zehn Jahren experimentelle Untersuchungen zu der Toxizität multipler Chemikaliengemische durchgeführt.

Die Untersuchungen kommen zu den folgenden *drei Erkenntnissen*:

- I Unerwünschte Kombinationseffekte können auch dann auftreten, wenn die einzelnen Mischungskomponenten jeweils in Konzentrationen vorliegen, die alleine keinen statistisch signifikanten Effekt hervorrufen, also unterhalb der *No Observed Effect Concentration* (NOEC) oder des *No Observed Effect Level* (NOEL) liegen.
- II Diese Effekte sind in den meisten Fällen mit Modellen vorhersagbar.
- III Es wurden allerdings auch Effekte beobachtet, die deutlich grösser waren als vorhergesagt (Synergismus).

Neben Projekten, die ausschliesslich die Wechselwirkungen zwischen Chemikalien untersuchten, befasste sich das EU-Projekt *No-Miracle* [7] zusätzlich mit dem Einfluss abiotischer und biotischer Stressoren wie Hitze, Infektionen,

Hunger [8, 9] und deren Risikoanalyse. So können beispielsweise für Boden- oder aquatische Organismen die chemischen und physikalischen Vorgänge im jeweiligen Umweltmedium die Stärke der Exposition gegenüber einem Chemikaliengemisch beeinflussen [9, 10], oder Interaktionen zwischen dem menschlichen Immunsystem und den Auswirkungen von Substanzgemischen bestehen [11]. Auch ein Einfluss der Lichtstärke auf die Algentoxizität von Herbiziden wurde beschrieben [12].

Mischungskonzepte und -modelle

Basierend auf den Dosis-Wirkungs-Beziehungen der Einzelstoffe in einer Mischung kann anhand von Mischungskonzepten die erwartete Mischungstoxizität vorhergesagt werden [13]. Zur Berechnung dieser Erwartungswerte werden, basierend auf den Wirkweisen der Mischungskomponenten, in der Regel *zwei Konzepte* verwendet:

CA Konzentrationsadditivität (*Concentration Addition* [14]) für Mischungen aus ähnlich wirkenden Stoffen

IA Unabhängige Wirkung (*Independent Action* [15]) für Mischungen, in denen die Mischungskomponenten unähnliche Wirkweisen haben (*Kasten 2*).

Für Mischungen aus organischen Stoffen konnte die gute Vorhersagequalität von beiden Konzepten in mehreren Untersuchungen experimentell bestätigt werden (z.B. [3, 4]), wenn die Mischungskomponenten entweder alle dieselbe oder alle eine unterschiedliche Wirkweise hatten. Allerdings wurde in einigen Untersuchungen auch eine Mischungstoxizität beobachtet, die signifikant höher war als die vorhergesagte (Synergismus, z.B. [16, 17, 18]). Abweichungen der beobachteten von der vorhergesagten Mischungstoxizität (Synergismus bzw. Antagonismus) können mit dem MixTox-Modell analysiert und quantifiziert werden [19, 20]. Die beiden Konzepte können auch in der Umweltrisikobewertung von Mischungen genutzt werden (z.B. [21]). Dabei stellt sich jedoch das Problem, dass reale Mischungen aus Stoffen bestehen, bei denen die Wirkweisen der Mischungskomponenten weder strikt ähnlich noch strikt unähnlich sind. Für solche realistischen Gemische wurde CA als angemessene «*worst case estimation*» vorgeschlagen [22]. Um das CA-Konzept für die Risikobewertung von Mischungseffekten in der Praxis anzuwenden, gibt es verschiedene

Methoden [23]. Beispielsweise wird der TEF-Ansatz (*Toxic Equivalent Factor*) häufig bei der Beurteilung von Dioxin-Mischungen eingesetzt. Andere Methoden sind die *Toxic Unit Summation* (TUS) [24] (Kasten 2), der *Hazard Index* (HI) [25] sowie der *Point of Departure Index* (PODI) [26]. Die Anwendung der genannten Indizes verlangt idealerweise komplette Datensätze. In der Praxis ist man jedoch relativ oft mit unvollständigen Datensätzen konfrontiert (d.h. entweder ist die komplette Zusammensetzung der Mischung unbekannt oder es fehlen für einige Stoffe die nötigen Angaben zur Toxizität, Kasten 2) wie auch mit Unterschieden in der Datenqualität. Um dem Rechnung zu tragen, wurden zur Risikobewertung von Mischungen verschiedene Vorgehen vorgeschlagen, die der vorhandenen Datendichte und -qualität Rechnung tragen [27, 28, 29].

Mischungsrelevante Nachweismethoden

Die Erfassung von Mischungswirkungen stellt eine grosse Herausforderung dar. Analytische Screeningmethoden ermöglichen zwar die gleichzeitige Messung einer Vielzahl von (auch unbekannt) Substanzen, allerdings lassen sich allein damit keine Aussagen über Kombinationswirkungen der gemessenen Substanzen auf Organismen machen.

Hierfür ist die integrative Erfassung von Effekten mit *Biotests* notwendig.

Eine Reihe von biologischen und chemischen Methoden können zur Messung der Wirkung von Gemischen in der Umwelt [30, 31, 32] und zur Expositionsbestimmung beim Menschen genutzt werden, beispielsweise die Anwendung des Dioxin-Biomarkers in der Human-toxikologie [33].

Eine Erfassung der Toxizität von definierten Mischungen aus Chemikalien in Biotests erfolgt in der Regel unter Ermittlung der Wirkung der einzelnen Substanzen und der Kombinationswirkungen dieser

Konzentrationsadditivität

$$\frac{c_1}{ECx_1} + \frac{c_2}{ECx_2} = 1$$

oder

$$TU_1 + TU_2 = 1$$

wenn *TU* die *Toxic Unit* («wirksame Einheit») des jeweiligen Einzelstoffes ist

Idee

Stoffe mit derselben Wirkweise verhalten sich wie Verdünnungen derselben Substanz.

Beispiel

$$\frac{c_1}{\frac{1}{2} EC50_1} + \frac{c_2}{\frac{1}{2} EC50_2} = EC50_{Mischung}$$

$$0,5 + 0,5 = 1 = EC50_{Mischung}$$

Erforderliche Daten

Wenn man den *EC50* der Mischung für ein gegebenes Testsystem vorhersagen möchte, muss man von jedem Stoff in der Mischung den *EC50* wissen, der für das gegebene Testsystem ermittelt wurde. Wenn man den *EC10* der Mischung vorhersagen möchte, braucht man entsprechend von allen Stoffen den *EC10* usw.

Unabhängige Wirkung

$$E_{Mischung} = E_1 + E_2 - (E_1 \times E_2)$$

wenn *E* ein Effekt von 0-1 ist

Idee

Stoffe mit unterschiedlichen Wirkweisen können nur auf den Anteil der Testpopulation wirken, auf den die anderen Stoffe in der Mischung noch nicht gewirkt haben. Anders als bei einer simplen Addition der Effekte können daher keine Effekte >100% resultieren.

Beispiel

$$E_{Mischung} = 0,5_1 + 0,5_2 - (0,5_1 \times 0,5_2) = 0,75$$

$$E_{Mischung} = 75\%$$

wenn 0,51 der 50%ige Effekt von Substanz 1 und 0,52 der 50%ige Effekt von Substanz 2 ist.

Erforderliche Daten

Wenn man den Effekt der Mischung vorhersagen möchte, braucht man die Effekte, die die einzelnen Stoffe bei der jeweiligen Mischungskonzentration bewirken würden. Wenn man daher den *EC50* der Mischung für ein gegebenes Testsystem vorhersagen möchte, muss man von jedem Stoff in der Mischung Angaben über die komplette Konzentrationswirkungskurve haben, um die Effekte der Einzelstoffe bei der jeweiligen Mischungskonzentration ableiten zu können.

Kasten 2 Die beiden gängigsten Konzepte zur Vorhersage von Mischungstoxizität.

Substanzen. Anhand dieser Effektdaten kann die Mischungswirkung mit Hilfe verschiedener Modelle (z.B. Konzentrationsadditivität, unabhängige Wirkung) berechnet werden. So konnte z.B. gezeigt werden, dass eine Anwendung von acht schwach östrogen aktiven Substanzen unterhalb ihrer NOEC bzw. der EC01 in der Mischung einen signifikanten Effekt bewirkt [34].

Wenn komplexe Umweltproben untersucht werden sollen, kann mit effektbasierten *in vitro*-Tests die Mischungswirkung von Substanzgruppen mit einem gemeinsamen Wirkmechanismus erfasst werden. So können z.B. im YES-Test [35] oder im ER-CALUX [36] Substanzen erfasst werden, die an den menschlichen *Östrogenrezeptor* α binden. Die relative Wirkung dieser Substanzen wird bezogen auf eine Referenzsubstanz, in diesem Fall 17 β -Estradiol und als sogenannte *Toxizitätsäquivalenzkonzentration* (TEQ) angegeben (z.B. [37]), um so ein standardisiertes Mass für die Toxizität bzw. Östrogenität einer Umweltprobe oder Chemikalienmischung zu erhalten. Eine analytische Erfassung der für diesen Effekt verantwortlichen Chemikalien ist schwierig und z.B. im Fall von östrogenaktiven Substanzen aufgrund von niedrigen Wirkungsbereichen (teilweise schon unter 1 ng/l) nur schwer möglich [38]. Daher sind effektbasierte *in vitro*-Tests eine gute und praktikable Methode, um Wirkungen bestimmter Substanzklassen in komplexen Umweltproben nachzuweisen (z.B. [32]).

Sollen neben dieser *integrativen Erfassung* der Toxizität in Biotests auch die für die Toxizität verantwortlichen Substanzen ermittelt werden, ist die *wirkungsorientierte Analyse* als Kombination aus biologischer Wirkungstestung, Fraktio-

nierung und chemischer Analytik eine gute Möglichkeit [30, 39], beispielsweise für die Identifizierung der Inhaltsstoffe eines mutagen wirksamen Oberflächengewässers.

Wege zur Risikoanalyse von Mischungen

Da die Risikoabschätzung von Mischungen sich wesentlich von der Risikoabschätzung von Einzelchemikalien unterscheidet, wurde anhand von konkreten Fallbeispielen ein Einblick in die mögliche Risikoanalyse von Mischungen in der Umwelt und beim Menschen gegeben. *Vier Ansätze* wurden vorgestellt:

- I Der «*Whole Mixture Approach for Unique or Common Mixtures*» zur Risikoanalyse von Mischungen unbekannter Zusammensetzung (z.B. geklärtes Abwasser) oder von komplexen Mischungen mit konstanter Zusammensetzung (z.B. Emissionen eines Dieselmotors).
- II Der «*Component-based Approach*» für Mischungen, deren Zusammensetzung analytisch bestimmt werden kann [40].
- III Der mechanistische «*Biology Based Approach*», basierend auf der *Dynamic Energy Budget* (DEB)-Theorie, in der auch die Veränderungen der Toxizität über die Zeit und die Biologie der Organismen miteinbezogen werden [41].
- IV Das Konzept des «*Maximum Cumulative Ratio*» zur Identifikation von kritischen Chemikalien einer Mischung. Hier wird zudem evaluiert, ob der Effekt der Mischung durch eine oder mehrere Substanzen bestimmt wird, um eine wissenschaftliche und regulatorische Priorisierung von Mischungen zu ermöglichen [42].

Regulatorische Herausforderungen

Die unendliche Anzahl möglicher Mischungen, die unzureichende Qualität vieler Daten, das mangelnde Verständnis für die Relevanz einzelner Daten oder Tests und die damit einhergehende Unsicherheit, die sich in fehlenden Richtlinien widerspiegelt, stellen die grössten Herausforderungen dar.

Die regulatorische Toxikologie von Stoffgemischen hat ihren Ursprung in den USA, wo bereits 1980 erste Ansätze zur Bewertung von Stoffgemischen gesetzlich verankert wurden. Durch das Superfund-Gesetz oder CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*) zur Sanierung von Sondermülldeponien sollten erstmals Risiken von Chemikalienmischungen berücksichtigt werden. Die Ziele waren hochgesteckt. Man wollte nicht nur alle möglichen Expositionswege gleichzeitig berücksichtigen, sondern auch der Tatsache Rechnung tragen, dass sich die Zusammensetzung der Stoffgemische im Laufe der Zeit verändern kann. Das Verhältnis der einzelnen Komponenten zueinander kann also ändern, oder einzelne Stoffe des Gemisches können gegen andere ausgetauscht werden. Ausserdem sollten alle möglichen toxischen Effekte der Substanzen berücksichtigt werden. Die Umsetzung einer solchen komplexen Risikobeurteilung in die Praxis gestaltet sich jedoch bis heute noch schwierig, unter anderem deshalb, weil es am Verständnis der Mechanismen zur Toxizität der einzelnen Stoffe oder Stoffgemische mangelt. Ein weiterer grosser Schritt im Hinblick auf die Beurteilung von Mischungen ist die amerikanische *Pflanzenschutzrichtlinie*. Hier werden Pflanzenschutzmittel nach ihrem Wirkmechanismus in Klassen eingeteilt und gemeinsam beurteilt. Es wird allerdings nicht berücksichtigt, dass gleiche toxische Effekte durch verschiedene Mechanismen verursacht werden können. Pestizide, die den gleichen toxischen Effekt über verschiedene Mechanismen verursachen, werden weiterhin separat behandelt.

Auch auf *Europäischer Ebene* wird aktiv an der Problematik der Mischungstoxizität gearbeitet. Kürzlich ist der Bericht «*State of the Art Report on Mixture Toxicity*» [29] veröffentlicht worden, der regulatorische Ansätze zur Berücksichtigung der Mischungstoxizität diskutiert. Anders als in den USA, wo der Fokus primär auf der menschlichen Gesundheit liegt, wird in Europa der Schutz von Mensch und

Umwelt gleichermaßen berücksichtigt. Aus der Schweiz wurden mischungsrelevante Projekte der *Bundesämter für Umwelt* (BAFU) und *Gesundheit* (BAG) vorgestellt, die sich mit komplexen Gemischen von Mikroverunreinigungen im kommunalen Abwasser [43] bzw. Gemischen von Azolfungiziden in Lebensmitteln [44] befassen.

4 Handlungsbedarf in der Praxis

Die zweite Gruppendiskussion wurde erst am Ende des Workshops durchgeführt, war aber das eigentliche *Kernstück* des Workshops. Die Teilnehmer hatten in *fünf Kleingruppen* die Gelegenheit, ihre Erkenntnisse aus zwei Tagen Workshop mit ihren Erfahrungen zu Mischungstoxizität aus ihrem Fachgebiet zu kombinieren. Ihre Meinung zum Handlungsbedarf in diesem Bereich aus Sicht der Praxis wurde anhand folgender Frage diskutiert: *Wo sehen sie in der Mischungstoxikologie noch Handlungsbedarf, Vertiefung oder nicht behandelte Themen – auch bezüglich ihrer Arbeit?* (Abb. 3).

Insgesamt bemängelten die Teilnehmer das Fehlen von praxistauglichen Lösungen zur Untersuchung, Analyse, Bewertung und Beurteilung von Mischungen. Die *wichtigsten Punkte*, die in fünf Kleingruppen mehrmals angesprochen wurden, waren folgende:

Punkt 1

Zum jetzigen Zeitpunkt befinden sich die Teilnehmer in einem *«Beurteilungs-Dilemma»*. Die richtige Auswahl von konkurrierenden Konzepten zur Beurteilung und Vorhersage des Gefahrenpotenzials von Stoffgemischen ist schwierig. Die zur Verfügung stehenden

Konzepte (CA/IA) beruhen auf entgegengesetzten Annahmen über die Wirkungsweisen der Mischungskomponenten. Für die überwiegende Anzahl der Umweltchemikalien sind die Informationen über deren Wirkungsmechanismus allerdings mangelhaft oder gar nicht vorhanden. Ebenso fehlen vom Gesetzgeber auf wissenschaftlichen Grundlagen basierende Richtlinien, die Hilfestellung geben, wann beispielsweise welche Modelle angewendet werden sollen. Wünschenswert wäre auch, dass Mischungsmodelle ausgebaut werden, um mehrere Arten ebenso wie auch die Interaktionen zwischen verschiedenen Arten berücksichtigen zu können.

Punkt 2

Ebenso herrscht bezüglich der Anwendung, Umsetzbarkeit und Validierung von *mischungsrelevanten Biotests* ein Informationsmangel. Die enorme Anzahl möglicher Mischungen von Substanzen mit heterogenen Strukturen und grösstenteils unbekanntem Wirkweisen in der Umwelt wirft die Frage nach der Relevanz von *in vitro*-Versuchen und im Labor durchgeführten Biotests für die tatsächliche Exposition ganzer Populationen (*real world situation*) auf.

Aus diesem Grunde muss dringend geklärt werden, ob und wie von kurzzeitig messbaren molekularen Effekten auf eine langfristig auftretende negative Wirkung extrapoliert werden kann. Dies einerseits, da *in vivo*-Tests für Chemikalien beziehungsweise Chemikalien-Gemische wegen des hohen Aufwandes und den damit verbundenen hohen Kosten oft nicht praktikabel sind, andererseits wegen der Bestrebungen, Tierversuche zu reduzieren und zu ersetzen (3R-Strategie: *Refinement, Replacement, Reduction*) [45] und alternative Prüfmethoden zu fördern. Generell wurde beanstandet, dass Informationen zu Aufwand, Ertrag und Nutzen sowie zu Vor- und Nachteilen mischungsrelevanter Nachweismethoden fehlen. Auch wurden Informationen vermisst, ob und wo sie die chemische Analytik ergänzen (beispielsweise bei der effektbezogenen Analytik) bzw. ersetzen können. Es wurde auch deutlich, dass bei einer praxistauglichen Untersuchung und Beurteilung von Mischungstoxizität der *«Teufel im Detail»* steckt. Dies fängt damit an, dass es im Moment keine allgemeinen Richtlinien zur Probennahme und -weiterbehandlung gibt, die gezielt auf Mischungstoxikologische Fragestellungen anwendbar wären. Des Weiteren ist unklar, wie physikalische und chemische Eigenschaften, Persistenz und Bioakkumulation bei der Beurteilung einer Mischung berücksichtigt werden sollen, und ob möglicherweise die Toxizitäts-Vorhersage für eine Einzelsubstanz mittels funktionaler Gruppen oder QSAR (*quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung*) zur Beurteilung der Mischungstoxizität genutzt werden könnte.

Punkt 3

Ein Punkt, der wiederholt erwähnt wurde, war das *Fehlen von Richtli-*

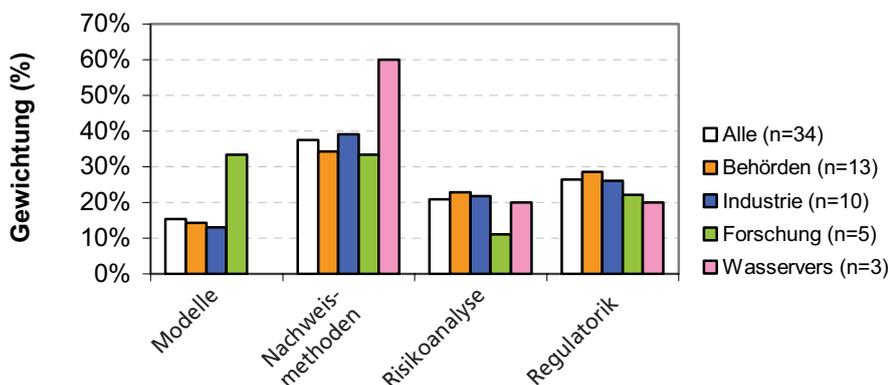


Abb. 3 Mischungstoxikologie: Wo sehen die Workshopteilnehmer noch Handlungsbedarf, Vertiefung oder nicht behandelte Themen – auch bezüglich ihrer Arbeit? Prozentuale Verteilung der Teilnehmer-Antworten der zweiten Gruppendiskussion, aufgeschlüsselt nach Interessengruppen.

nien und praxistauglichen Wegleitungen für die Risikobewertung und Regulatorik von komplexen Mischungen. Im Moment erfolgt die Abschätzung des Gefahrenpotenzials von Chemikalienmischungen nicht prospektiv, sondern häufig empirisch (von Fall zu Fall) basierend auf Expertenmeinungen. Ohne wissenschaftlichen Konsens und rechtsverbindliche Grundlagen ist die Implementierung von Massnahmen zum Risikomanagement schwierig. Experteneinschätzungen sind nicht allgemeinverbindlich und jederzeit anfechtbar. Unterschiedliche Einschätzungen führen zu Unsicherheit bei den Risikomanagern und zu Misstrauen in der Allgemeinheit. Die derzeit zur Verfügung stehenden Bewertungsmethoden sind aus Sicht der Regulatorik oft sehr komplex, was wissenschaftlich zwar gerechtfertigt ist, aber dazu führt, dass sie für die routinemässige Anwendung mit vernünftigem Zeitaufwand bei akzeptablen Kosten oft nicht anwendbar sind. Es stellt sich daher die Frage, welche Modelle zur Risikobewertung von Mischungen genügend validiert und praxistauglich sind, so dass sie bereits jetzt in der Regulatorik eingesetzt werden können, z.B. bei der Gewässerbeurteilung. Es gibt eine Reihe von Ansätzen zur Beurteilung des Gefahrenpotenzials von Chemikalienmischungen, dies ist beispielsweise in den USA bereits gesetzlich festgeschrieben. Das wirft die Frage auf, wie die Schweiz schnell und effizient von bereits bestehenden Richtlinien profitieren, sie anwenden und gegebenenfalls übernehmen könnte. Auch wäre die Erarbeitung mischungsrelevanter Grenzwerte wünschenswert.

Punkt 4

Für die humantoxikologische Risikobewertung ist die *Expositionsab-*

Provokative Aussage

1. Was ist zu tun wenn die Grenzwerte eingehalten, aber die Toxizitätstests positiv sind?
2. Braucht es in Zukunft keine chemische Analytik mehr sondern nur noch effektbasierte Tests?
3. Wegleitung mit standardisierten Modellen und Bewertungen von Umweltproben. Ist effektbasierte Analytik praxistauglich und bezahlbar?
4. Entwicklung einer „Toolbox“ zur Messung und Bewertung von Mischungen – Jetzt!
5. Alles ist in Ordnung!! Die Kommunikation zwischen Wissenschaft und Regulation funktioniert nicht!

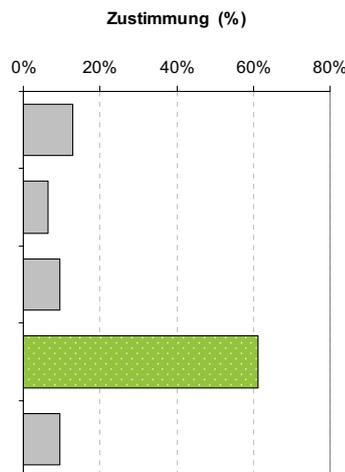


Abb. 4 Prozentuale Zustimmung der Teilnehmer zu den fünf zur Auswahl stehenden provokativen Fragen.

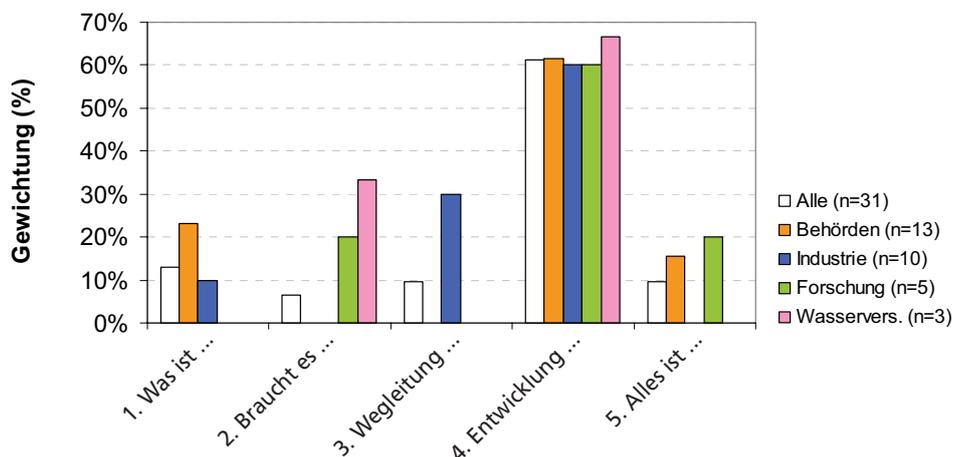


Abb. 5 Prozentuale Zustimmung der Teilnehmer zu den fünf zur Auswahl stehenden provokativen Fragen, aufgeschlüsselt nach Interessengruppen.

schätzung eine grosse Herausforderung. Die gängigen Modelle sind sehr komplex, erlauben es aber nicht, die Exposition durch verschiedene Quellen gesamthaft zu berechnen (beispielsweise bei der Risikoabschätzung von Pestiziden). Da die Ausarbeitung von Testsystemen in der Ökotoxikologie weiter fortgeschritten zu sein scheint, stellt sich die Frage, inwieweit integrative Ansätze die Erkenntnisse aus der Ökotoxikologie für eine humantoxikologische Risikobeurteilung von Mischungen nutzen können. In diesem Zusammenhang wünschen sich denn auch die Ökotoxikologen ein besseres Verständnis für die Konzepte der Risikobewertung beim Menschen.

Punkt 5

Ein Thema, das zwischen den Zeilen immer wieder auftauchte, war die *unzureichende Kommunikation* zwischen Behörden und Forschung. Der Austausch zwischen den verschiedenen Interessengruppen sollte intensiviert und die verschiedenen Aspekte der Mischungsthematik bedürfnisorientiert diskutiert werden. Zum jetzigen Zeitpunkt scheinen sich beispielsweise Forscher wie auch Behörden im Unklaren über die gegenseitigen Bedürfnisse zu sein.

Am Ende der Kleingruppendiskussionen wurden die Teilnehmer jeder Gruppe gebeten, aus den vorgebrachten Punkten eine einzige provokative Aussage bezüglich Mischungstoxizität zu formulieren und dem gesamten Plenum zur Abstimmung vorzustellen (Abb. 4 und 5).

60% der Workshopteilnehmer sprachen sich für die Aussage 4 aus: die «Entwicklung einer <Toolbox> zur Messung und Bewertung von Mischungstoxizität – Jetzt!».

5 Workshop-Synthese

Während des gesamten Workshops wurde deutlich, dass für die Untersuchung und Beurteilung von Substanzgemischen bereits ein breites, wissenschaftlich fundiertes Wissen vorhanden ist, dessen Umsetzung in die Praxis sich aber schwierig gestaltet. Eine umfassende, bedürfnisorientierte Anleitung für Fachleute aus der Praxis, die von der Datenerhebung, über sinnvolle Testsysteme und Analysemethoden, passende Vorhersage-Konzepte und Methoden, bis hin zur Risikobeurteilung einer Mischung Hilfestellung gibt, und Lösungsansätze zum Umgang mit komplexen real-existierenden Mischungen in der Human- wie in der Ökotoxikologie vorschlägt, existiert zum jetzigen Zeitpunkt nicht. Genau eine solche Anleitung forderte jedoch die überwiegende Mehrheit der Workshopteilnehmer die sofortige Entwicklung einer «Toolbox» zur Messung und Bewertung von Mischungstoxizität. Die wiederholten Forderungen der Workshop-Teilnehmer nach konkreten «Gebrauchsanweisungen» für den Umgang mit multiplen Kontaminanten und die Integration einer vermuteten Mischungstoxizität in die Risikoanalyse lässt angesichts der beträchtlichen Menge an mischungsrelevanten Studien und Publikationen aufhorchen. Während des Workshops wurde von Seiten der Forscher klar, dass sie von den Behörden die Umsetzung ihrer Ergebnisse erwarten, während die Behörden noch auf Ideen von den Forschern für die konkrete Umsetzung warten. So beurteilte in einer Diskussionsgruppe ein Behördenvertreter die Lösungen zur Beurteilung von Mischungen aus der Forschung als nicht konkret und praktikabel. Woraufhin ein Forschungsvertreter antwortete: «Um den Behörden solche Lösungen zu präsentieren, müsst ihr uns schon genau sagen, was ihr denn braucht.» Dieser Wortwechsel impliziert, dass noch mehr Kommunikation, Transparenz und Wissenstransfer zwischen Forschung und Behörden, und natürlich auch zwischen der Human- und der Ökotoxikologie, die Umsetzung der Mischungsbeurteilung in die Praxis deutlich vorantreiben könnte.

Dies wurde auf internationaler Ebene bereits erkannt, und im Februar 2011 fanden zwei internationale Workshops statt, die sich mit den jüngsten Entwicklungen in der Risikoanalyse von Umweltgemischen (*3rd Setac Special Science Symposium¹*) und mit der Risikoanalyse von Kombinations-Expositionen gegenüber multiplen Chemikalien (*WHO OECD ILSI/HESI International Workshop²*) beschäftigten. Das Oekotoxzentrum und SCAHT haben an diesen Veranstaltungen teilgenommen und die im vorgestellten Workshop gesammelten Erfahrungen eingebracht.

Dank

Die Autoren bedanken sich bei den engagierten Workshop-Teilnehmern und Referenten, ohne deren Motivation und Interesse weder der Workshop noch diese Publikation möglich gewesen wären.

Auch danken die Autoren allen Mitarbeitern des Oekotoxizentrums, insbesondere Isabel Perego und Anke Schäfer, die mit ihrem engagierten Einsatz wesentlich zum Gelingen des Workshops beigetragen haben.

Literaturverzeichnis

- [1] Europäische Union: Das ACE-Projekt. http://ec.europa.eu/research/environment/pdf/env_health_projects/chemicals/c-ace.pdf
- [2] Europäische Union: Das Eden-Projekt. http://ec.europa.eu/research/environment/pdf/env_health_projects/chemicals/c-eden.pdf
- [3] Faust, M.; Altenburger, R.; Backhaus, T.; Blanck, H.; Boedeker, W.; Gramatica, P.; Hamer, V.; Scholze, M.; Vighi, M.; Grimme, L.H. (2001): Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquatic Toxicology* 56, 13–32.
- [4] Faust, M.; Altenburger, R.; Backhaus, T.; Blanck, H.; Boedeker, W.; Gramatica, P.; Hamer, V.; Scholze, M.; Vighi, M.; Grimme, L.H. (2003): Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquatic Toxicology* 63, 43–63 [2] Prediction and Assessment of the Aquatic Toxicity of Mixtures of Chemicals (PRE-DICT) – Executive Summary Report.
- [5] Backhaus, T.; Altenburger, R.; Arrhenius, Å.; Blanck, H.; Faust, M.; Finizio, A.; Gramatica, P.; Grote, M.; Junghans, M.; Meyer, W.; Pavan, M.; Porsbring, T.; Scholze, M.; Todeschini, R.; Vighi, M.; Walter, H.; Grimme, L.H. (2003): The BEAM-project: Prediction and assessment of mixture toxicities in the aquatic environment. *Cont Shelf Res* 23: 1757–1796.
- [6] Contamed: www.contamed.eu
- [7] Europäische Union: Das NoMiracle-Projekt. <http://nomiracle.jrc.ec.europa.eu/default.aspx>
- [8] Van Straalen, N. (2003): Ecotoxicology becomes stress ecology. *Environ. Sci. Technol.*, 37:324a–330a.
- [9] Holmstrup, M.; Bindsbøl, A.-M.; Oostingh, G.J.; Duschl, A.; Scheil, V.; Köhler, H.-R.; Loureiro, S.; Soares, AMVM.; Ferreira, ALG.; Kienle, C.; Gerhardt, A.; Laskowski, R.; Kramarz, P.; Bayley, M.; Svendsen, C.; Spurgeon, D.J. (2010): Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: a review. *Sci. Tot. Environ.* 408, 3746–3762.
- [10] Van Gestel, C.A.M.; Hensbergen, P.J. (1997): Interaction of Cd and Zn toxicity for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae) in relation to bioavailability in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 1177–1186.
- [11] Oostingh, G.J.; Wichmann, G.; Schmittner, M.; Lehmann, I.; Duschl, A. (2009): The cytotoxic effects of the organophosphates chlorpyrifos and diazinon differ from their immunomodulating effects. *J. Immunotox.* 6, 136–145.
- [12] Fischer, B.B.; Rüfenacht, K.; Dannenhauer, K.; Wiesendanger, M.; Eggen, R.I. (2010): Multiple stressor effects of high light irradiance and photosynthetic herbicides on growth and survival of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 2211–2219.
- [13] Bödeker, W. et al. (1990): Methods for the assessment of mixtures of pesticides: mathematical analysis of combination effects in phyto-pharmacology and ecotoxicology. *Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst (Braunschweig)* 42: 70–78.
- [14] Loewe, S.; Muischnek, H. (1926): Über Kombinationswirkungen I. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol* 114: 313–326.
- [15] Bliss, C.I. (1939): The toxicity of poisons applied jointly. *Ann App Biol* 26: 585–615.
- [16] Kunz, P.Y.; Fent, K. (2006): «Estrogenic activities of UV filter mixtures.» *Toxicology and Applied Pharmacology*. 217(1): 86–99.
- [17] Frische, T.; Faust, M.; Meyer, W.; Backhaus, T. (2009): Toxic masking and synergistic modulation of the estrogenic activity of chemical mixtures in a yeast estrogen screen (YES). *Environ Sci Pollut Res* 16:593–603.
- [18] Christiansen, S.; Scholze, M.; Dalgaard, M.; Vinggaard, A.M.; Axelstad, M.; Kortenkamp, A.; Hass, U. (2009): Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environmental Health Perspectives* 117: 1839–1846.
- [19] Jonker, M.J.; Svendsen, C.; Bedeaux, J.J.M.; Bongers, M.; Kammena, J.E. (2005): Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 2701–2713.
- [20] The Centre for Ecology & Hydrology: The MixTox-Model. www.ceh.ac.uk/products/stats/MixtureToxicity-AnalysisTools.html
- [21] Altenburger, R.; Greco, W.R. (2009): Extrapolation concepts for dealing with multiple con-

¹ www.setac.org/globe/2010/october/mixtox.html

² <http://uncsd.iisd.org/events/who-oecd-ilsihesi-worskhop-on-risk-assessment-of-combined-exposures-to-multiple-chemicals/>

- tamination in environmental risk assessment. *Integr Environ Assess Manag.* 5, 62–68.
- [22] *Junghans, M.; Backhaus, T.; Faust, M.; Scholze, M.; Grimme, L.H.*: Application and validation of approaches for the predictive hazard assessment of realistic pesticide mixtures. *Aquatic Toxicology* 76: 93–110.
- [23] *Kortenkamp, A.; Backhaus, T.; Faust, M.* (2009): State of the art report on mixture toxicity. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf
- [24] *Sprague, J.B.* (1970): Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Research* (4), 3–32.
- [25] *Teuschler, L.K.; Hertzberg, R.C.* (1995): Current and future risk assessment guidelines, policy and methods development for chemical mixtures. *Toxicology* (105), 137–144.
- [26] *Wilkinson, C.F.; Christoph, G.R.; Julien, E.; Kelley, J.M.; Kronenberg, J.; McCarthy, J.; Reiss, R.* (2000): Assessing the risk of exposure to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: How to cumulate? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (31), 30–43.
- [27] *National Research Council* (2008)
- [28] *IPCS* (2009): Assessment of combined exposures to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS international workshop. World Health Organisation. www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/combinedexposure.pdf
- [29] *Kortenkamp, A.; Hass, U.* (2009): Workshop report. Expert workshop on combination effects of chemicals. 28–30 January 2009, Hornbaek, Denmark. www.mim.dk/NR/rdonlyres/C59693B7-2421-4748-89F0-5937496E0A28/0/BI-LAG_2_Expertworkshop.pdf
- [30] *Brack, W.* (2003): Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377: 397–407.
- [31] *Backhaus, T. et al.* (1997): Toxicity testing with *Vibrio fischeri*: a comparison between the long term (24h) and short term (30 min) bioassay. *Chemosphere* 35: 2925–2938.
- [32] *Escher, B.I.; Bramaz, N.; Quayle, P.; Rutishauser, S.; Vermeirssen, E.L.M.* (2008b): Monitoring of the ecotoxicological hazard potential by polar organic micropollutants in sewage treatment plants and surface waters using a mode-of-action based test battery. *Journal of Environmental Monitoring* 10:622–631.
- [33] *Sorg, O.; Zennegg, M.; Schmid, P.; Fedosyuk, R.; Valikhnovskiy, R.; Gaide, O.; Kniazevych, V.; Saurat, J.H.* (2009): 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) poisoning in Victor Yushchenko: identification and measurement of TCDD metabolites. *The Lancet* 374, 1179–1185.
- [34] *Silva, E.; Rajapakse, N.; Kortenkamp, A.* (2002): Something from «nothing»—eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environmental Science and Technology* 36:1751–1756.
- [35] *Routledge, E.J.; Sumpter, J.P.* (1996): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15:241–248.
- [36] *Van der Linden, S.C.; Heringa, M.B.; Man, H.Y.; Sonneveld, E.; Puijker, L.M.; Brouwer, A.; Van der Burg, B.* (2008): Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environmental Science and Technology* 42:5814–5820.
- [37] *Escher, B.I.; Bramaz, N.; Mueller, J.F.; Quayle, P.; Rutishauser, S.; Vermeirssen, E.L.* (2008a): Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. *Journal of Environmental Monitoring* 10(5):612–621.
- [38] *Götz, C.W.; Kase, R.; Kienle, C.; Hollender, J.* (2010): Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser – Kombination von Expositionen- und ökotoxikologischen Effektdaten. *gwa* 7:575–585.
- [39] *Brack, W.; Klamer, H.J.; López de Alda, M.; Barceló, D.* (2007): Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins a review. *Environmental Science and Pollution Research International* 14:30–38.
- [40] *Ragas, A.M.J.; Teuschler, L.K.; Posthuma, L.; Cowan, C.* (2010): Human and ecological risk assessment of chemical mixtures. In: *Van Gestel et al.* (Eds). *Mixture toxicity – Linking approaches from ecological and human toxicology*. SETAC, CRC Press, New York, pp 157–215.
- [41] *Jager, T.; Vandenbrouck, T.; Baas, J.; De Coen, W.; Kooijman, S.* (2010): A biology-based approach for mixture toxicity of multiple endpoints over the life cycle. *Ecotoxicology* 19:351–361.
- [42] *Gilliom, R.J.; Jack, E.; Barbash, Ch.; Crawford, G.; Hamilton, P.A.; Martin, J.D.; Nakagaki, N.; Nowell, L.H.; Scott, J.C.; Stackelberg, P.E.; Thelin, G.P.; Wolock, D.M.* (2006): The Quality of Our Nation's Waters – Pesticides in the Nation's Streams and Ground Water, 1992–2001: U.S. Geological Survey Circular 1291,172 p.
- [43] *Schürer, M.; Sieber, U.; Müller, S.* (2007): Mikroverunreinigungen: Erarbeitung einer Strategie. *gwa* 11 sowie www.bafu.admin.ch/micropoll
- [44] *Zarn, J.A.; Bruscheweiler, B.J.; Schlatter, J.R.* (2003): Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 alpha-demethylase and aromatase. *Environ. Health Perspect*;111:255–261.
- [45] *Mehlman, M.A.; Pfitzer, E.A.; Scala, R.* (1989): A report on methods to reduce, refine and replace animal testing in industrial toxicology laboratories. *Cell Biol Toxicol.* 5(3):349–58.

Keywords

Mischungstoxizität – Chemikaliengemische – abiotische Stressoren – Beurteilung

Autoren

Petra Kunz
petra.kunz@oekotoxzentrum.ch

Cornelia Kienle
cornelia.kienle@oekotoxzentrum.ch

Marion Junghans
marion.junghans@oekotoxzentrum.ch

Inge Werner
inge.werner@oekotoxzentrum.ch

Oekotoxzentrum
Schweizerisches Zentrum für
Angewandte Oekotoxikologie Eawag/EPFL
CH-Dübendorf
Tel. +41 (0)44 823 55 62

Lothar Aicher
lothar.aicher@scaht.org

Martin Wilks
martin.wilks@scaht.org

SCAHT
Schweizerisches Zentrum für
Angewandte Humantoxikologie
CH-Basel
Tel. +41 (0)61 265 32 60

Kasten 2

Behörden
Industrie
Wasserversorger
Forschung

Frage II: Bei welchem Aspekt der Mischungstoxizität wären sie enttäuscht wenn er nicht diskutiert würde?

Beurteilung, Risikoanalyse	Auswirkungen, Effekte, Substanzklassen	Umsetzung, Legislation, Regulation
<ul style="list-style-type: none"> Konkrete Vorgehensweise bei der Risikobewertung (Humantox) Möglichkeiten zur Umsetzung (d.h. adequate Berücksichtigung von Mischungstoxizität in der Risikobewertung) Praktische Konzepte für die Gewässerschutzpraxis (Interpretation von Messdaten) Wasserqualitätsprobleme Auswirkung Mischungstox aus Deponien auf Wasserorganismen. Verschiedene Anzeigerorganismen für verschiedene Probleme 	<ul style="list-style-type: none"> Welche Einzelstoffe könnten in einer Mischung kritisch werden? (Humantox) Reaktion der Δ Moleküle im Fließwasser, Grundwasser. Z. Bsp. Biozide + andere Moleküle im Abwasser... Ökologische Wirkung neuer Stoffe: Nanotechnologie, Schwermetalle (Katalysatoren) Nanotechnologie und Mischungstox 	<ul style="list-style-type: none"> Ideen wie sich Mischungstox in der Regulatorik (Zulassung von Chemikalien, PSM, Bioziden) integrieren lässt Relevanz gemäss: <ul style="list-style-type: none"> StfV Störfallverordnung GSchV Gewässerschutzverordnung ChemRRV Chemikalienrisikoreduktions-
<ul style="list-style-type: none"> Integration des Themas in Risikoanalysen (Darstellung..) Riskassessment von Chemikalienmischungen in der Umwelt Umgang mit multiplen Kontaminanten in der Umwelt Strategie zur Beurteilung von Abwässern aus der Pharmaproduktion (Havarieabfälle) Probleme und Lösungen diskutieren in Zusammenhang mit Risikoanalyse Fallbeispiele: <ul style="list-style-type: none"> → Mischungen von Schadstoffen → entstandenes Problem → Lösungsansätze 	<p>Allergische Wirkungen beim Menschen</p> <ul style="list-style-type: none"> Environmental effects of low concentrations of compounds in mixtures Mixtures in human immunotoxicology Genomics: Effects at molecular level 	<ul style="list-style-type: none"> Zukünftige Verankerung im EU-Recht Möglichkeit zur „praktischen Umsetzung“, d.h. Einfluss der Forschung auf die Praxis Praxis relevante Probleme und Lösungen finden.
<ul style="list-style-type: none"> Humantoxikologische Bewertung von ökotoxikologischen Effekten Bewertung der chronischen Humantox 	<p>Methodik/ Interpretation</p> <ul style="list-style-type: none"> Wirkliche Quantifizierung von Risiken durch Mehrfachexposition Praktische Beispiele/Relevanz, z. Bsp. im Umgang mit Mikroverunreinigungen Beurteilungskriterien, Testmethoden, Vergleichswerte zur Verfügung haben. Bereich Trinkwasser, welche Tests könnten im Trinkwasser angewendet werden für eine erste Beurteilung (Hauptaugenmerk Humantox) 	<ul style="list-style-type: none"> Umsetzung der Konzepte in regulatorische Vorgaben?? Zukünftige Umsetzung aktueller Forschungsergebnisse in Ämtern/ Kontrollbehörden development of regulations to account for mixture effects Validation of mixture algorithms Probleme der Zukunft Wie wird die Erkenntnis aus der Forschung in die Praxis umgesetzt Machbarkeit von Risikobeurteilung. → Wie lange ist der Weg noch? How does legislation deal with mixtures
<ul style="list-style-type: none"> Unsicherheit bei Abschätzung von Mischungstoxizität Beurteilung der Gewässerqualität 	<p>Toxi. Effekte und chemische Analytik</p> <ul style="list-style-type: none"> Wirkungen von Mischungen mit unterschiedlichsten Wirkmechanismen Gemeinsame Wirkmechanismen 	<p>Weiteres vorgehen der beiden Zentren bezüglich Bewertungen von Mischungstox</p>
		<p>Konzepte, Modelle</p> <p>Einordnung: dose addition vs. effect multiplication</p> <ul style="list-style-type: none"> Anwendbarkeit von Additivitätsregeln in der Regulatorik (Chancen und Grenzen) Synergist./antagonist. Wirkungen <ul style="list-style-type: none"> Mischungstoxizität von Chemikalien anhand von Modellen, wenn , wenn wenig Daten vorhanden sind Linearität – Nicht linearität