

BfR- Stellungnahme zu „Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles“ von Robin Mesnage, Nicolas Defarge, Joël Spiroux de Vendômois und Gilles-Eric Séralini

Stellungnahme Nr. 011/2014 des BfR vom 06. März 2014

1 Anlass

Das BfR wurde um Stellungnahme zu der Publikation „Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles“ aus der französischen Arbeitsgruppe um Prof. Gilles-Eric Séralini gebeten.

Auf der Basis von Zytotoxizitäts-Befunden an insgesamt neun Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen (einschließlich Glyphosat) und jeweils einer ihrer Formulierungen wird die These aufgestellt, dass viele Pflanzenschutzmittel durch die zugefügten Beistoffe letztlich für Mensch und Tier um ein Vielfaches toxischer wären als die eigentlichen geprüften und genehmigten Wirkstoffe.

2 Ergebnis

Die Veröffentlichung erbringt keine neuen Erkenntnisse für die toxikologische Bewertung von Glyphosat, die nicht schon in den Bewertungsbericht des BfR für die EU- Wirkstoffprüfung eingeflossen sind. Dort wird dargestellt, dass die Toxizität von glyphosathaltigen Pflanzenschutzmitteln (PSM) höher sein kann als die Toxizität von Glyphosat selbst. Für die laufende Re-Evaluierung von Glyphosat in der EU ist die Publikation ohne Belang.

Die in vitro-Daten erscheinen trotz einiger Kritikpunkte plausibel und können als ein weiterer Hinweis gewertet werden, dass bestimmte PSM aufgrund der zugefügten Beistoffe toxischer sein können als der Wirkstoff. Die verwendeten Methoden sind für Untersuchungen zur Zytotoxizität der Wirkstoffe und ihrer Formulierungen zwar geeignet, aber für eine umfassende Bewertung der PSM hinsichtlich regulatorischer Entscheidungen nicht hinreichend. Auch kann nicht beurteilt werden, ob und gegebenenfalls mit welcher Unsicherheit die Ergebnisse auf intakte Organismen einschließlich des Menschen übertragen werden können.

Insofern unterstreicht die Veröffentlichung von Mesnage et al. (2014) einmal mehr den Forschungsbedarf auf dem Gebiet der Mischungstoxizität, zu dem auch das BfR einen Beitrag leisten wird. Allgemeingültige regulatorische Konsequenzen lassen sich aus der Veröffentlichung nicht ableiten.

3 Begründung

Die Bewertung der kumulativen Toxizität von PSM zur Beurteilung des Risikos für die menschliche Gesundheit ist in den einschlägigen EU-Verordnungen fixiert und stellt eine große Herausforderung für die experimentelle und regulatorische Toxikologie dar. Dabei können kumulative Effekte einerseits aus der Wechselwirkung zwischen den Wirkstoffen in verschiedenen PSM und andererseits aus der Wechselwirkung zwischen Wirk- und Beistoffen in demselben PSM resultieren. Die o. a. Veröffentlichung von Mesnage et al. (2014) bezieht sich auf den letzteren Fall. Aufgrund der großen Anzahl von zugelassenen PSM ist es jedoch nicht möglich, alle theoretisch möglichen Kombinationswirkungen bei wiederholter Exposition im klassischen Tierversuch zu prüfen. Der Entwicklung und Validierung von geeigneten Modellsystemen als dem Tierversuch vorgeschaltete Screeningverfahren kommt daher große Bedeutung zu.

In ihrer vorab im Internet unter <http://www.hindawi.com/journals/bmri/aip/179691/> veröffentlichten, in gedruckter Form noch nicht vorliegenden Publikation "Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles" von Mesnage et al. (2014) berichten die französischen Forscher um Prof. Séralini über in vitro-Versuche, in denen sie die Zytotoxizität von 9 PSM-Wirkstoffen und jeweils eine Formulierung, also eines handelsüblichen PSM, verglichen haben. Als Testsysteme verwendeten sie dafür drei gut charakterisierte Zelllinien humanen Ursprungs: HepG2 (Leber), JEG-3 (Plazenta) und HEK293 (embryonale Niere), die häufig und z.B. auch vom BfR zur Untersuchung von Kombinationswirkungen von Pestiziden in vitro eingesetzt werden. Die Methoden umfassten

- den MTT-Test, in dem anhand der Messung der Succinatdehydrogenase-Aktivität in den Mitochondrien nach 24stündiger Exposition eine Schädigung dieser Zellorganellen und damit indirekt der Zellatmung untersucht wird,
- die Messung der Adenylatkinase-Freisetzung als Hinweis auf eine Membranschädigung (Nekrosemarker) und
- die Bestimmung der Apoptoserate im "Caspase-Glo 3/7-Assay".

Es handelt sich dabei um Standardmethoden im Bereich der Zytotoxizitätsprüfung, die offenbar auch adäquat angewandt worden sind und für die entsprechende Erfahrungen teilweise auch im BfR vorliegen. Mit den gleichen Methoden hatten Mesnage et al. (2013) an denselben Zelllinien bereits eine erhöhte Toxizität von glyphosathaltigen Formulierungen bzw. darin enthaltener Adjuvantien im Vergleich zum Wirkstoff Glyphosat zeigen können und damit Ergebnisse anderer Gruppen bestätigt. Diese Daten sind bereits im deutschen Entwurf für den RAR zu Glyphosat berücksichtigt, so dass die neue Veröffentlichung für die laufende EU-Bewertung von Glyphosat keine neuen Erkenntnisse geliefert hat.

Die Experimente deckten einen weiten Konzentrationsbereich ab, wobei anzunehmen ist, dass die nach Exposition gegenüber dem Wirkstoff oder seiner Formulierung in menschlichen Geweben und Organen tatsächlich auftretenden Konzentrationen aufgrund der Kinetik (Verteilung, Ausscheidung) eher niedriger liegen und auch nicht dauerhaft über 24 Stunden einwirken dürften. (Zur Umgehung dieser Unsicherheit müssten die Wirk- oder Beistoffgehalte etwa in der Leber oder anderen Organen von Versuchstieren nach wiederholter oraler oder dermalen Verbreitung gemessen und die Zellkulturen dann mit diesen Konzentrationen behandelt werden. Solche Daten liegen aber bislang nur im Einzelfall vor, sind aber am BfR 2012 im Rahmen von Tierversuchen mit einigen Fungizid-Wirkstoffen erhoben worden. Danach sind zumindest die Wirkstoffe Epoxiconazol und Prochloraz von Mesnage und Mitarbeitern in einem für die Leber annähernd realistischen Bereich geprüft worden.)

In acht von neun Fällen waren die geprüften Wirkstoffe (Fungizide: Epoxiconazol, Prochloraz, Tebuconazol; Herbizide: Fluroxypyr als sein Methylheptylester, Glyphosat; Insektizide: Azetamiprid, Imidacloprid, Pirimicarb) in diesen Tests weniger toxisch als ihre jeweils im Vergleich geprüfte Formulierung. Die einzige Ausnahme stellte das Herbizid Isoproturon dar, das aber, ebenso wie seine Formulierung Matin, schlecht löslich war. Am deutlichsten ausgeprägt war der Unterschied in der Toxizität zwischen Wirkstoff und Formulierung in nahezu allen Tests und Zellkulturen mit Glyphosat und seiner Formulierung Roundup GT+ mit einem ethoxylierten Etheralkylamin als deklariertem Adjuvans. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass der Wirkstoff Glyphosat im Vergleich zu allen anderen Wirkstoffen eine besonders niedrige Zytotoxizität im MTT-Test aufwies. Mit den anderen Testverfahren waren die Unterschiede, gerade für die Fungizide, nicht so eindeutig und auch von der Zelllinie abhängig.

Für eine der Methoden, den MTT-Test, liegen am BfR experimentelle Erfahrungen mit den drei geprüften Fungizid-Wirkstoffen Epoxiconazol, Prochloraz und Tebuconazol an zwei der von Mesnage et al. (2014) verwendeten Zellkulturen vor, den HepG2- und den JEG-3-Zellen. Die Zytotoxizität für die Plazentazellen lag für Epoxiconazol und Prochloraz im gleichen Konzentrationsbereich wie in der Publikation beschrieben; im Falle von Prochloraz galt das auch für die Leberzellen, während für Epoxiconazol die unterschiedliche Dosiswahl einen echten Vergleich verhindert. Die in der Publikation gezeigten LC50-Werte für Tebuconazol erscheinen dagegen unglaublich hoch, da diese Substanz in einer solchen Konzentration nach den Erfahrungen im BfR nicht mehr löslich sein dürfte und ausfallen müsste. Die tatsächliche Zytotoxizität des Wirkstoffes sollte also viel höher sein. Eventuell liegt hier ein Verdünnungsfehler vor. Daher erscheint auch die Aussage zweifelhaft, wonach die Formulierung Maronee von Tebuconazol 1056mal toxischer als der Wirkstoff wäre.

Insgesamt können aber zumindest die Daten für den MTT-Test aufgrund eigener Erfahrungen als reproduzierbar betrachtet werden. Weniger robust scheinen die Ergebnisse zur Apoptose-Testung, da hier anscheinend vor allem mit den Formulierungen in einem bereits zytotoxischen Dosisbereich gearbeitet worden ist.

Insgesamt liefert die neue Veröffentlichung einen weiteren Hinweis auf eine möglicherweise höhere Toxizität von PSM im Vergleich zu den in ihnen enthaltenen Wirkstoffen. Offen ist die Frage, welche Relevanz diese in vitro-Befunde für die gesundheitliche Beurteilung von PSM haben. Da es aber zumindest aus der Bewertung von Glyphosat und glyphosathaltiger Herbizide ernstzunehmende Hinweise auf eine Erhöhung der Toxizität bestimmter PSM durch Beistoffe bereits gibt, wird hier der notwendige Forschungsbedarf erneut unterstrichen. Unabhängig von dieser neuen Veröffentlichung hatte das BfR geplant, nicht nur der Mischungstoxizität verschiedener Wirkstoffe, sondern auch Kombinationseffekten von Wirk- und Beistoffen nachzugehen. Eine entsprechende Projektskizze ist im Dezember 2013 dem BMEL vorgestellt worden.

Um allgemeingültige regulatorische Konsequenzen ableiten zu können, müsste zunächst geprüft werden, welche in vitro-Tests am besten geeignet sind, eine höhere Toxizität von PSM-Formulierungen im Vergleich zum Wirkstoff anzuzeigen. Die von Mesnage et al. (2013, 2014) benutzten Methoden und Zelllinien sollten dabei berücksichtigt werden, können aber vom gegenwärtigen Wissensstand her auf keinen Fall als ausreichend betrachtet werden. Erforderlich ist vielmehr eine Screening-Testbatterie aus geeigneten in vitro-Tests, auf deren Basis dann entschieden werden wird, welche PSM-Formulierungen eine höhere Toxizität aufweisen, um gezielt weiterführende Versuche mit wiederholter Verabreichung durchführen zu können. Nur so lassen sich unnötige Tierversuche vermeiden und knappe Ressourcen sinnvoll fokussiert einsetzen. Hierfür sind gemeinsame Anstrengungen von Behörden, akademischen Forschungseinrichtungen und der antragstellenden Industrie unumgänglich. Einen Beitrag dazu wird das BfR auch mit dem für das vierte Quartal 2014 geplanten Workshop zur regulatorischen Einordnung von Daten leisten, die mittels neuer molekularbiologischer Methoden an Zellkulturen und tierischen Geweben erhoben worden sind.

Für weiterreichende regulatorische Konsequenzen, etwa in Hinblick auf die erst kürzlich novellierten Datenanforderungen zu Pestiziden und ihren Wirkstoffen, ist die derzeit vorliegende Datenbasis nicht ausreichend. Die neue Veröffentlichung kann als Anregung für weitere Diskussionen verstanden werden.

4 Referenzen

Mesnage, R.; Defarge, N.; Spiroux de Vendômois, J. and Séralini, G.-E. (2014, in press): Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/aip/179691/>

Mesnage, R.; Bemay, B. and Séralini, G.E. (2013): Ethoxylated adjuvants are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*, 313 (2-3), 122-128. Hier steht weiterer Text auf weißem Hintergrund.