

# Sicherheit der Extrapolation von Wachstumsdaten aus Standardtests auf die NOEC von Fish Full Life Cycle Tests bei der Risikobewertung von DMI-Fungiziden



Figure 1: Zebrafish

## Hintergrund

Pflanzenschutzmittelwirkstoffe aus der Gruppe der DMI-Fungizide besitzen aufgrund ihres Wirkmechanismus (Hemmung der Ergosterol-Biosynthese in Pilzen) das Potenzial zur endokrinen Disruption, da das gehemmte Zielenzym strukturell u. a. der Aromatase ähnelt. Die Aromatase ist ein zentrales Enzym der Steroid-Biosynthese von Wirbeltieren und Mollusken, das Testosteron in 17- $\beta$ -Östradiol umwandelt und damit über die Geschlechtsbestimmung und Ausprägung sexueller physiologischer Leistungen mit entscheidet. Der Verdacht auf sexualendokrine Auswirkungen dieser Fungizide wurde anhand von Langzeitstudien an Säugern, Vögeln und Fischen bestätigt. Damit sind alle Vertreter der Stoffklasse als potenzielle endokrine Disruptoren anzusehen. Bis dieser Anfangsverdacht für den erwarteten Umweltkonzentrationsbereich nicht mit Hilfe geeigneter Studien ausgeräumt ist, wurden Zulassungsanträge in Deutschland gehemmt. Zwischen Behörden und Industrie wurde vereinbart, dass unter bestimmten Bedingungen ein nachgeforderter Fish-Full-Life-Cycle Test (FLCT) zulassungsbegleitend durchgeführt werden kann. Hierzu ist die Festsetzung eines Extrapolationsfaktors von der NOEC einer vorliegenden chronischen Fischstudie auf die NOEC im FLCT not-

wendig, so dass eine vorläufige Risikobewertung unter Einbeziehung Risikominimierender Maßnahmen ermöglicht wird.

## Ziele

Die Aussagesicherheit des vorgeschlagenen Extrapolationsfaktors von 1/5 sollte vom Fraunhofer IME als neutraler Stelle anhand aller verfügbaren Daten geprüft werden.

## Projektbeschreibung

Bereits durch das Umweltbundesamt bewertete Studienberichte zu FLCTs und vertrauliche Firmeninformationen über akute und chronische Standardtests (OECD 203, 204, 210, 215) und FLCTs wurden analysiert, um durch vergleichende Endpunkt Betrachtung für eine möglichst große Zahl von DMI-Fungiziden mit möglichst unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften und Wirkempfindlichkeiten den diskutierten Extrapolationsfaktor abzusichern.

## Ergebnisse

Die Empfindlichkeit der populationsrelevanten Endpunkte Geschlechterverhältnis, Wachstum und Reproduktion war im Wesentlichen vergleichbar; die Unterschiede der NOEC bewegten sich für alle drei Endpunkte im FLCT zumeist im Rahmen einer Konzentrationsstufe. Einzelne Tests zeigten Schwächen in der Bestimmung von Wachstumsparametern. Das Geschlechterverhältnis wurde häufig nicht erfasst. Die akuten Toxizitäten der untersuchten Substanzen liegen in einem deutlich engeren Intervall als die chronischen Wirkungen (Fig. 2). Damit sind die „Acute: Chronic-Ratios“

(ACR) sehr unterschiedlich. Bei den 10 toxischsten Substanzen beträgt die ACR 25 bis 760 und weist auf eine klare spezifische Wirkung in Fischen hin. Bei den weniger wirksamen Substanzen 11–16 liegt die ACR zumeist unter 10, chronische Wirkungen beruhen hier möglicherweise auf unspezifischer systemischer Toxizität. Der Vergleich zwischen der empfindlichsten Wachstums-NOEC aus einem OECD 210 (Early Life Stage) oder 215 (Juvenile Growth) Test und dem empfindlichsten bewertungsrelevanten Endpunkt eines FLCT zeigt für die sieben verfügbaren Paare, dass der Unterschied sich immer im Bereich eines Faktors von  $\leq 5$  bewegt, wobei bei den sechs wirksameren Substanzen die Early Life Stage-NOEC mit der Regenbogenforelle eher empfindlicher als der FLCT mit den kleinen Testfischarten war (Fig. 1). Gleichzeitig hat bei der für Fische weniger wirksamen Gruppe die endokrine Wirkung auf Fische keine Relevanz für die Risikobewertung, da sich andere Organismen, etwa *Daphnia* oder *Lemna*, deutlich empfindlicher zeigen und daher die Risikobewertung bestimmen.

## Fazit

Nach den vorgelegten Daten wird eine Extrapolation mit Hilfe des Faktors 1/5 auf NOECs aus JG- oder ELS-Daten für eine vorläufige Risikobeurteilung als ausreichend sicher angesehen, um die NOEC eines FLCT bezüglich Aromatasehemmung vermittelter Wirkungen vorläufig abschätzen zu können. Insbesondere bei Substanzen mit einer klaren Dominanz der endokrin vermittelten Wirkung besteht hier hohe Sicherheit. In Zukunft sollten keine Tests nach OECD 204 einbezogen werden, da sich einige der Tests als zu unempfindlich erwiesen haben.

Die Studie wurde vom IVA (Industrieverband Agrar) finanziert.

# Safe Extrapolation of Growth Data from Standard Tests to the NOEC of Fish Full Life Cycle Tests in the Risk Assessment of DMI-Fungicides

## Background

DMI fungicides work by inhibiting ergosterol synthesis in fungi, and this mode of action has the potential for endocrine disruption because the target is a structural analogue of aromatase, a central enzyme in vertebrate and mollusc steroid biosynthesis. Aromatase catalyzes the transformation of testosterone to 17- $\beta$ -estradiol, influencing sex determination and sexual physiological performance. Representative long-term studies with such fungicides in mammals, birds and fish confirmed the suspicion. Therefore, all DMI fungicides are regarded as potential endocrine disruptors, and unless this *a priori* assumption can be falsified for the predicted environmental concentration by appropriate studies, its registration for use is prohibited in Germany. Competent authorities and the IVA (German Agrochemical Association) have agreed on conditions permitting a preliminary risk assessment based on extrapolation from available chronic fish studies to the no effect concentration (NOEC) of a fish full-life-cycle test (FLCT) prior to the completion of a proper FLCT. This allows preliminary use registration including risk mitigation measures.

## Objective

The objective was to test the safety of the proposed extrapolation factor of five from chronic fish studies to the NOEC of a fish FLCT using available FLCT and all further available data.

## Approach

FLCT reports already evaluated by the authorities and confidential company information on acute and chronic stan-

dard tests (OECD 203, 204, 210, 215) were collected and the endpoint data for as many DMI fungicides as possible with differing physico-chemical properties and efficacies were compared to ascertain the safety of the discussed extrapolation factor.

## Results

The population-relevant endpoints sex ratio, growth and fecundity were comparably sensitive. Sensitivity differences were mostly within one dose level for all three FLCT endpoints. Few tests revealed problems with growth measurements. Sex ratio was often undetermined. The acute toxicity of the tested substances was within a smaller concentration interval than the chronic effects (Fig. 2). Therefore, the acute: chronic ratios (ACRs) differ considerably. For the most effective substances 1–10, the ACR ranges from 25 to 760 indicating a specific effect in fish. In contrast, for the less effective substances 11–16, the ACR is mostly below

10, so chronic effects may be caused by nonspecific systemic toxicity. For this group, effects in fish are not relevant for the risk assessment, as other aquatic organisms such as daphnids or Lemna were more sensitive.

## Conclusion

According to the available data, the extrapolation factor of five from NOECs relating to juvenile growth or early life stage data to the FLCT NOEC is safe for the preliminary risk assessment of aromatase-inhibiting substances. The safety level is particularly high for substances with a dominant endocrine-disrupting effect. OECD 204 tests should no longer be used for that kind of extrapolation, as some of them were shown to be insensitive.

## Contact / Ansprechpartner

Dr. Christoph Schäfers  
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de  
Tel: +49 2972 302-270

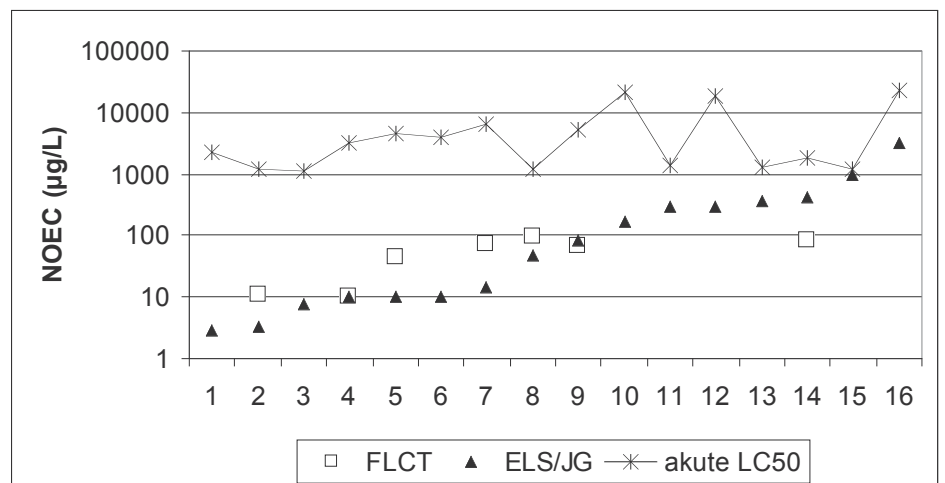


Figure 2: Most sensitive NOECs from Early Life Stage (ELS) and Juvenile Growth (JG) tests compared to the most sensitive endpoints from valid Full Life Cycle Tests and acute toxicity data; ranking of substances (1-16) according to the NOEC of ELS/JG tests.