



.....  
Pestizid Aktions-Netzwerk e.V. (PAN Germany), Nernstweg 32, D-22765 Hamburg  
Tel. +40-399 19 10-0, Fax -390 75 20, [info@pan-germany.org](mailto:info@pan-germany.org), [www.pan-germany.org](http://www.pan-germany.org)

# Warum Risikobeurteilungen auch für Mischungen von Stoffen notwendig sind

Stellungnahme  
des Pestizid Aktions-Netzwerk e.V. (PAN Germany)  
zu Kombinationswirkungen von Pestiziden

Langfassung

---

Hamburg, Oktober 2005



## Kombinationswirkungen von Pestiziden

---

### **Warum Risikobeurteilungen auch für Mischungen von Stoffen notwendig sind.**

*Seit über 20 Jahren engagiert sich das deutsche Pestizid Aktions-Netzwerk – PAN Germany – national und international für eine nachhaltige Landwirtschaft, in der auf den Einsatz gefährlicher Pestizide verzichtet wird. Zu diesem Engagement gehört auch, auf die von Pestiziden ausgehenden Gefahren für Mensch und Umwelt und auf Möglichkeiten der Gefahrenreduktion hinzuweisen. Pestizide gelten allgemein als gut toxikologisch untersucht und ihr Einsatz ist durch eine Vielzahl von gesetzlichen Regelungen reguliert. Dabei wird aber so vorgegangen, als würden Pestizide nur als Einzelstoffe eingesetzt und als müssten entsprechend nur die Gefahren und Risiken durch diese Einzelstoffe abgeschätzt werden. Dass aber aus dem gleichzeitigen Vorkommen mehrerer Schadstoffe Wirkungen resultieren, die sich von den Wirkungen der Einzelsubstanzen unterscheiden, wird seit mehr als 100 Jahren in nahezu allen biowissenschaftlichen Disziplinen untersucht und berichtet.*

*Der aktuelle Stand der wissenschaftlichen Veröffentlichungen zum Thema wie auch die Vielzahl experimenteller Arbeiten sind synoptisch aufgearbeitet und münden in Empfehlungen, wie Kombinationswirkungen in Risikobewertung und im Risikomanagement einbezogen werden sollten. Die regulative Praxis macht davon aber bisher kaum Gebrauch. Auch bei der Festlegung von Grenzwerten für Lebensmittel werden diese Erkenntnisse bisher nicht berücksichtigt*

*PAN Germany will mit diesem Bericht den Wissensstand zu Kombinationswirkungen zusammenfassen und die Regulierungsbehörden auffordern, zu einer methodisch begründeten und regelmäßigen Berücksichtigung von Kombinationswirkungen bei der Risikobewertung von Pestiziden zu kommen. Konkreten Anlass hierfür bietet zum Beispiel die neue EU-Verordnung zur Setzung von Rückstands-Höchstmengen für Pestizide in Lebensmitteln. Die Probleme durch Mehrfachexpositionen müssen aber auch bei der Ausgestaltung des deutschen Pestizidreduktionsprogramm berücksichtigt werden und zu besonderen Schutzmaßnahmen im Sinne des Vorsorgeprinzips führen.*

## Ausgangslage 1

---

**Pestizide und andere Chemikalien treten in der Umwelt des Menschen nicht einzeln auf. Hingegen sind Mehrfachbelastungen die Regel.**

*Beispiel Lebensmittel:* Der aktuelle Bericht der Europäischen Kommission zur Überwachung von Pestizidrückständen in Erzeugnissen pflanzlichen Ursprungs für das Jahr 2002 zeigt, dass die Entwicklung hinsichtlich des gleichzeitigen Auftretens von Rückständen mehrerer Pestizide in der selben Probe (Mehrfachrückstände) besonders bedenklich ist. Seit 1999 steigen die Mehrfachbelastungen mit Pestiziden rapide an und liegen mit 20,7% fast wieder auf dem höchsten gemessenen Niveau von rund 22% des Jahres 1996. Deutschland und die Niederlande nehmen hier den Spitzenrang mit jeweils 31,1% nachgewiesenen Mehrfachrückständen ein. Der Anteil von Proben mit acht oder mehr Pestiziden liegt bei rund 1,9% in Deutschland.<sup>1</sup> Es scheint im Trend, Überschreitungen von Rückstandshöchstmengen eines einzelnen Wirkstoffes durch den Einsatz von mehreren Pestiziden in geringerer Einsatzmenge vermeiden zu wollen.

*Beispiel Umwelt:* Im Rhein traten bei Bad Honnef zwischen 1990 und 1999 im Jahresmittel von 9 analysierten Pestiziden 3 immer gemeinsam in nachweisbaren Konzentrationen auf, einzelne Messungen detektierten sogar 7 von 9 Stoffen.<sup>2</sup>

*Beispiel Arbeitswelt:* Der Arbeitsplatz gilt lehrbuchmäßig als ein Ort multipler Expositionen. Die möglichen Konsequenzen des gleichzeitigen Einwirkens etwa von physikalischen Faktoren (z.B. Lärm), psychischen Faktoren (z.B. Stress) und chemischen Faktoren (z.B. Gefahrstoffe) wurden sogar explizit in der neuen Betriebsicherheitsverordnung berücksichtigt. Hierin werden die Arbeitgeber verpflichtet, bei der erforderlichen Gefährdungsbeurteilung „die Gefährdungen zu berücksichtigen, die mit der Benutzung des Arbeitsmittels selbst verbunden sind und die am Arbeitsplatz durch Wechselwirkungen der Arbeitsmittel untereinander oder mit Arbeitsstoffen oder der Arbeitsumgebung hervorgerufen werden.“<sup>3</sup>

*Beispiel Belastung des menschlichen Körpers:* Im Rahmen einer Kampagne des World Wildlife Fund wurden freiwillige Blutproben von EU-Parlamentariern auf 101 ausgewählte Schadstoffe untersucht. Die Stichprobe umfasste 47 Personen aus 17 europäischen Ländern. In den Proben wurden im Mittel 41 der 101 analysierten Verbindungen nachgewiesen, maximal waren es 54.<sup>4</sup>



## Ausgangslage 2

---

**Das gemeinsame Auftreten mehrerer Stoffe in der Umwelt ist nicht nur Folge ungewollten Zusammentreffens, sondern auch Konsequenz des gezielten Einsatzes von Stoffgemischen. So werden in der landwirtschaftlichen Produktion Pestizide mit mehreren Wirkstoffen direkt in die Umwelt eingebracht. Die Verwendung mehrerer der biologisch hoch potenten Wirkstoffe auf ein und derselben Ackerfläche ist zudem übliche Praxis.**

*Beispiel Kombinationspräparate:* Handelsprodukte werden oftmals mit mehreren Wirkstoffen formuliert, insbesondere wenn es sich um Herbizidpräparate handelt. Eine Recherche im Verzeichnis zugelassener Pflanzenschutzmittel<sup>5</sup> etwa zeigt, dass wirtschaftliche Spitzenreiter wie Diflufenican mit anderen Stoffen wie Mecoprop, Isoproturon, Furtamone, Flufenacit oder Ioxynil als 2- oder 3-Stoffpräparat vermarktet werden.

*Beispiel Tankmischungen:* Das Zusammenmischen unterschiedlicher Pestizidpräparate mit dem Ziel einer gemeinsamen Ausbringung auf die landwirtschaftliche Fläche ist in der Agrarpraxis derartig etabliert, dass spezielle Internetseiten Erfahrungen über die Mischbarkeit und Verträglichkeit von Handelspräparaten bereitstellen.<sup>6</sup>

*Beispiel Spritzfolgen in der Pestizidanwendung:* Landwirtschaftliche Kulturen werden im Laufe einer Saison oftmals mehrfach mit verschiedenen Pestiziden in so genannten Spritzfolgen behandelt<sup>7</sup>. Schon der Eintrag von Rückständen in Gewässer durch ein Regenereignis kann daher Organismen gleichzeitig mit mehreren Stoffen belasten.



## Ausgangslage 4

---

**Die wissenschaftliche Bearbeitung der Analyse von Kombinationswirkungen hat bereits eine 100 jährige Tradition und führte zu einer geradezu unübersehbaren Vielzahl an theoretischen und experimentellen Monographien aus nahezu allen biomedizinischen Wissenschaftsdisziplinen, zu Publikationen mit Lehrbuchcharakter, zur Gründung von wissenschaftlichen Fachgesellschaften und Arbeitskreisen. Der gegenwärtige Stand der Kombinationswirkungs-Analyse kann wie folgt zusammengefasst werden.**

### Feststellung 1

**Die Vorhersage von Kombinationswirkungen kann in der Regel aufgrund von zwei pharmakologisch/toxikologischen Konzepten, nämlich der „Konzentrations-Additivität“ und der „Unabhängigen Wirkung“ erfolgen.**

In der Kombinationswirkungs-Analyse hat sich die Auffassung durchgesetzt, dass Kombinationswirkungen im Wesentlichen durch zwei Konzepte zu beschreiben sind, die jeweils auf einfachen pharmakologischen bzw. biometrischen Überlegungen basieren (siehe Hintergrundpapier 1). Die Konzepte gestatten - auf der Basis von Informationen zur Wirksamkeit einzelner Stoffe - hinsichtlich desselben biologischen Effektes eine quantitative Vorhersage über die Kombinationswirkung bei Vorliegen einer Mischung aus diesen Stoffen. Beide Konzepte sind vor annähernd 100 Jahren entwickelt worden und unterscheiden sich in erster Linie durch die zugrunde liegenden Annahmen zu Wirkungsorten und zu Wirkungsweisen der Substanzen. Das Konzept der „Konzentrations-Additivität“ geht von der Annahme aus, dass die Substanzen ähnlichen Wirkungsmechanismen unterliegen. Das Konzept der „Unabhängigen Wirkung“ wurde dagegen aus der Überlegung unterschiedlicher Wirkungsweisen entwickelt. Entsprechend dieser Entwicklungspfade wird, verkürzt gesagt, „Konzentrations-Additivität“ als das Konzept mit guter Eignung für die Prognose der Kombinationswirkungen für ähnliche Stoffe und „Unabhängige Wirkung“ als das Konzept für unähnliche Stoffe betrachtet. Beide Konzepte wurden in zahllosen Experimenten verschiedener Wissenschaftsgebiete erprobt, wobei ihre Vorhersagekraft für Kombinationswirkungen von Stoffmischungen belegt wurde.

## Feststellung 2

**Begriffe wie „Synergismus“ oder „Antagonismus“ sind nur in Bezug auf eine Wirkungserwartung sinnvoll.**

Die Diskussion um Kombinationswirkungen ist durch die Verwendung von Begriffen wie „Synergismus“, „Additivität“ oder „Potenzierung“ geprägt. In der Regel ohne klare Definition soll hierdurch z.B. ausgedrückt werden, dass durch die Kombination von Stoffen Wirkungsverstärkungen oder -abschwächungen auftreten. Bedauerlicherweise hat sich bis heute keine einheitliche Terminologie durchgesetzt, so dass eine Verständigung schwierig ist und mit denselben Begriffen teilweise konträre Vorstellungen verbunden werden. Dies führt mitunter dazu, dass gleiche Ergebnisse verschieden beurteilt werden können (vgl. Hintergrundpapier 2). Alle Begriffe haben indes für sich genommen keine eindeutige Aussage, da z.B. von einer Wirkungsverstärkung nur gesprochen werden kann, wenn bekannt ist, was durch die Kombination von Stoffen zu erwarten ist. Diese Erwartungswerte können aus verschiedenen pharmakologisch/toxikologischen Überlegungen abgeleitet werden. Eine synergistische Wirkung in Bezug auf das Konzept der Unabhängigen Wirkung drückt etwa aus, dass die beobachteten Effekte größer sind als sich aufgrund der Annahme unabhängigen Zusammenwirkens erwarten ließe. Gleichzeitig könnten sie aber antagonistisch in Bezug auf das Konzept der Konzentrations-Additivität sein. Ohne Referenz auf eine Erwartung haben die Begriffe daher keine wissenschaftliche Aussagekraft.

## Feststellung 3

**Der Normalfall des Zusammenwirkens mehrerer Stoffe besteht in deren additiver bzw. unabhängiger Wirkung.**

In einer geradezu unübersehbaren Fülle an experimentellen Ergebnissen aus fast allen biologisch-medizinischen Wissenschaften hat sich gezeigt, dass Kombinationswirkungen von Stoffen durch die o.g. Konzepte beschreibbar sind (vgl. Hintergrundpapier 3). Das Konzept der Konzentrations-Additivität hat in manchen Disziplinen wie der Ökotoxikologie eine deutlich stärkere Verbreitung gefunden, und es wurde zeitweilig darüber diskutiert, ob es überhaupt eines weiteren Konzeptes bedarf oder ob in Konzentrations-Additivität nicht etwa als universelle Referenz für Kombinationswirkungsbeurteilungen tauglich ist. Inzwischen liegen aber experimentelle Ergebnisse vor, die zeigen, dass das Konzept der Unabhängigen Wirkung unter Umständen eine bessere Vorhersagekraft hat. Auch wenn a priori nicht entschieden werden kann, welches Konzept das „richtige“ ist, ergeben sich für die regulative Berücksichtigung von Kombinationswirkungen erhebliche Konsequenzen. Es bedeutet nämlich, dass die Effekte des Zusammenwirkens mehrerer Stoffe überwiegend durch einfache Formeln beschrieben werden können und damit prospektiv abschätzbar sind. Hinweise auf synergistische Kombinationswirkungen (in Bezug auf diese Konzepte), d.h. nicht vorhersagbare, da unerwartete Effekte, sind dagegen in der Literatur nur vereinzelt zu finden.



## Feststellung 4

**Additive als auch unabhängige Wirkungen mehrerer Stoffe sind stärker als die der Einzelstoffe.**

Der Kombinationseffekt der für eine Mischung von Stoffen zu erwarten ist, fällt immer stärker aus als die Effekte, die von den einzelnen Komponenten zu erwarten sind, wenn sie alleine vorliegen. Diese Aussage ist zutreffend unabhängig davon, ob die Stoffe ähnlich oder unähnlich wirken. Sie gilt auch wenn Stoffe in Mischungen vorkommen, wobei die Komponenten in den Mischungen für sich betrachtet um Größenordnungen verschiedene Wirksamkeiten aufweisen (vgl. Hintergrundpapier 4).

## Feststellung 5

**Auch Stoffe, die in Konzentrationen unterhalb ihrer No Observed Effect Concentration (NOEC) vorkommen, ergeben relevante Kombinationswirkungen.**

Vielfach wird in der Diskussion um die Relevanz einer Risikobeurteilung von Stoffen in Mischungen darauf verwiesen, dass Kombinationswirkungen nicht zu erwarten sind, wenn die Einzelkomponenten jeweils in so niedrigen Konzentrationen vorliegen, dass Sie alleine keine beobachtbaren Effekte auszulösen vermögen. Da Chemikalienregulierung dieses Ziel immer verfolge, sei mithin generell nicht vom Auftreten von Kombinationseffekten auszugehen. Beide Konzepte der Kombinationswirkungsforschung (s.o. unter Feststellung 1) und experimentelle Evidenz lassen dagegen erwarten, dass Mischungstoxizitäten auch von Stoffen hervorgerufen werden, die alleine keinen statistisch signifikanten Effekt hervorrufen. Zum einen geht das Konzept der Konzentrations-Additivität schon explizit davon aus, dass nur die Konzentrationen, nicht aber die individuell beobachtbaren Effekte relevant für den Kombinationseffekt sind (egal auf wie viele Einzeldosen ein Gift verteilt wird, die Wirkung kommt zu Stande) - und eine Wirkungsschwellenannahme für alle Mischungen aus ähnlich wirkenden Komponenten daher unsinnig ist. Zum anderen ist die Ermittlung einer Schwelle zur ‚Nicht-Wirkung‘ methodisch schwierig und umstritten und existierende Beobachtungen an Stoffgemischen mit unähnlich wirkenden Komponenten zeigen Kombinationswirkungen auch unterhalb von Konzentrationen, bei denen die Stoffe für sich alleine keine statistisch signifikanten Effekte erkennen lassen (vgl. Hintergrundpapier 5).



## Fazit

---

**Mischungen von Pestiziden treten in der Umwelt regelmäßig als Folge ihres bestimmungsgemäßen Einsatzes auf. Kombinationswirkungen aufgrund von Mischungsbelastungen gelten als wahrscheinlich und können in einer Gefährdungsbeurteilung nach Stand der Wissenschaft berücksichtigt werden. Dies wird in der gegenwärtigen Praxis regulativer Risikobeurteilung allerdings nicht umgesetzt und stellt damit ein gravierendes Sicherheitsrisiko für Gesundheit und Umwelt dar.**

Die Vorschläge von diversen Institutionen für die Berücksichtigung von Mehrfachexpositionen in der Risikobeurteilung basieren übereinstimmend auf der Annahme, dass einfache Konzepte geeignet sind, Kombinationswirkungen auf der Basis der Informationen über Einzelstoffe realistisch vorherzusagen oder zumindest ‚worst case‘-Abschätzungen zu liefern. Für die Umsetzung stehen methodisch einfache Optionen zur Verfügung:

- Begrenzung von Kombinationswirkungen, indem die Grenzwerte der Einzelstoffe durch die Anzahl der Mischungspartner dividiert werden;
- Setzung von Summengrenzwerten für die Gesamtheit von Stoffen (wie z.B. für die Summe aller Pestizidkontaminationen in Trinkwasser, 80/778/EEC);
- Verwendung von expliziten, zusätzlichen Sicherheitsfaktoren für Kombinationswirkungen bei der Risikobewertung von Einzelstoffen.

Nach Auffassung von PAN Germany ist es die Aufgabe der Regulierungsbehörden zu prüfen, welche Option im jeweiligen Rechtsrahmen für das Erreichen der Schutzziele optimal ist. Die Behörden sind aufgefordert, das Auftreten von Pestizidmischungen bei der Risikobeurteilung zu berücksichtigen und in Handlungsanleitungen zu konkretisieren.

Für synergistische Effekte, wie sie mitunter beobachtet werden, ist mit den o.g. Optionen jedoch kein Schutz erreicht, da es für diese bislang kein einfaches Vorhersagemodell gibt. Dies lässt auf eine weitere, wichtige Option verweisen: Die Anwendung des Vorsorgeprinzips. Hier muss die Politik ansetzen, indem u.a. das deutsche Pestizidreduktionsprogramm effektiv weiter entwickelt und umgesetzt wird.

## Quellen

- <sup>1</sup> [http://europa.eu.int/comm/food/fvo/specialreports/pesticides\\_index\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/fvo/specialreports/pesticides_index_en.htm)
- <sup>2</sup> Gewässergütebericht des Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen 2001  
[www.lua.nrw.de/veroeffentlichungen/gewgue01/gewgue01start.htm](http://www.lua.nrw.de/veroeffentlichungen/gewgue01/gewgue01start.htm).
- <sup>3</sup> BetrSichV § 3 (1) von 27.9.2002; [www.juris.de](http://www.juris.de)
- <sup>4</sup> WWF (World Wildlife Fund) (2004) Chemical check up – An analysis of chemicals in the blood of members of the European Parliament. WWF DetoX Campaign, Brussels. (available at <http://www.panda.org/downloads/europe/checkupmain.pdf>)
- <sup>5</sup> [www.bvl.bund.de/pflanzenschutz/psmdbstart.htm](http://www.bvl.bund.de/pflanzenschutz/psmdbstart.htm)
- <sup>6</sup> [www.phosyn.com/cgi-bin/tankmix.exe](http://www.phosyn.com/cgi-bin/tankmix.exe)
- <sup>7</sup> eine Empfehlung hierzu z.B.  
<http://agrarinfo.aspdienste.de/internet/obstbau.nsf/o/5f82d3ffcc49a92c1256b95002ca101?opendocument>
- <sup>8</sup> [www.sd2001.bayer.de/produkte/lipobay\\_baycol\\_de.htm](http://www.sd2001.bayer.de/produkte/lipobay_baycol_de.htm)
- <sup>9</sup> Boese BL, Ozretich RJ, Lamberson JO, Swartz RC, Cole FA, Pelletier J, Jones J. Toxicity and phototoxicity of mixtures of highly lipophilic PAH compounds in marine sediment: can the SigmaPAH model be extrapolated? *Arch Environ Contam Toxicol.* 1999;36(3):270-80
- <sup>10</sup> Urteil des Hessischen Landessozialgerichts L11/3 U 740/02 ZVW
- <sup>11</sup> EIFAC. Water Quality Criteria for European Freshwater Fish. *EIFAC Tech.Pap.* 37:1-49, 1980.
- <sup>12</sup> D. Calamari and M. Vighi. A Proposal to Define Quality Objectives for Aquatic Life for Mixtures of Chemical Substances. *Chemosphere* 25 (4):531-542, 1992.
- <sup>13</sup> Altenburger R, Bödeker W, Faust M, Grimme LH. 1993. Aquatic Toxicology, Analysis of combination effects. In: Corn M (Ed) *Handbook of hazardous materials*. Academic Press. pp. 15-27.
- <sup>14</sup> E. J. Calabrese. Multiple chemical interactions. *Lewis Publishers, Chelsia*, 1991.
- <sup>15</sup> US EPA. Framework for cumulative risk assessment. EPA/630/P-02/001F:vi-109, 2004.
- <sup>16</sup> Committee on Toxicity of Chemicals in Food. Consumer products and the Environment - Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances. 2002.

## Anhang

---

### Hintergrundpapiere

Hintergrundpapier 1: Konzepte der Kombinationswirkungsanalyse .....	14
Hintergrundpapier 2: Terminologie der Kombinationswirkungsanalyse .....	16
Hintergrundpapier 3: Experimentelle Befunde .....	18
Hintergrundpapier 4: Additive als auch unabhängige Wirkungen mehrerer Stoffe sind stärker als die der Einzelstoffe .....	21
Hintergrundpapier 5: Auch Stoffe, die in Konzentrationen unterhalb ihrer NOEC vorkommen, ergeben relevante Kombinationswirkungen.....	23
Literatur zu den Hintergrundpapieren .....	26

## Hintergrundpapier 1

### Konzepte der Kombinationswirkungsanalyse

Die wissenschaftliche Auseinandersetzung mit der Analyse von Kombinationswirkungen geht historisch auf zwei Entwicklungslinien zurück (Unkelbach und Wolf 1984, Bödeker et al. 1990). Eine umfassende Darstellung, die im Folgenden verkürzt zitiert wird, findet sich bei Grimme et al. (1998).

<p><b>Konzentrationsadditivität (LOEWE Additivity)</b></p> <p>Vorstellung: gleicher Wirkort der Einzelsubstanzen; ähnliche Wirkungsweise</p> <p>Modell: <math>c_1/EC_{x,1} + c_2/EC_{x,2} = 1</math></p>	
<p><b>Unabhängige Wirkung, Wirkungsadditivität</b> (BLISS Independence, response addition)</p> <p>Vorstellung: verschiedene Wirkorte der Einzelsubstanzen unähnliche Wirkungsweisen</p> <p>Modell: <math>E(c_{1,2}) = E(c_1) + E(c_2) - E(c_1) E(c_2)</math></p>	
<p><small>Legende: c kennzeichnet die applizierten Konzentrationen und E die bestimmten Effekte; EC, bezeichnet die Konzentration, die einen bestimmten Effekt auslöst. Zu den verwendeten Begrifflichkeiten siehe insbesondere Greco, Bravo und Parsons (1995), und Grimme et al. (1998)</small></p>	

#### KONZENTRATIONS-ADDITIVITÄT

Das Konzept der KONZENTRATIONS-ADDITIVITÄT geht wesentlich auf Arbeiten des Pharmakologen Loewe zurück (Loewe und Muischnek 1926). Dem Konzept liegt die Vorstellung einer ähnlichen Wirkung von Mischungskomponenten zugrunde. Die Überlegungen zur Formulierung dieses Konzeptes gingen von der einfachsten vorstellbaren Mischung, der Kombination einer Substanz mit sich selbst aus (sog. sham combination). In allgemeiner Formulierung bezeichnet Konzentrations-Additivität das Phänomen, daß sich eine Substanz in Bezug auf den untersuchten Wirkparameter wie die Verdünnung einer anderen verhält. Im engeren, wirkmechanistischen Sinne wird Konzentrations-Additivität als gegeben angenommen, wenn sich Substanzen durch einen identischen molekularen Wirkungsmechanismus und eine ähnliche Wirkungsweise auszeichnen. Im Falle von Konzentrations-Additivität bleibt der Effekt eines Stoffgemisches konstant, wenn eine Mischungskomponente ganz oder teilweise durch die entsprechende Fraktion der gleich wirksamen Konzentration einer anderen Substanz ersetzt wird. Die mathematische Formulierung dieses Konzepts ist in obiger Tabelle für ein Zweistoffgemisch angegeben.

**UNABHÄNGIGE WIRKUNG**

Das Konzept der Unabhängigen Wirkung wurde erstmals von Bliss (1939) unter dem Begriff "Independent Joint Action" formuliert. Im Gegensatz zur Konzentrations-Additivität geht es von der Annahme unähnlicher Wirkungen der Substanzen in einem Gemisch aus. Unähnlich meint die primäre Interaktion mit unterschiedlichen Wirkorten und die Auslösung eines gemeinsamen Effektes über unterschiedliche Wirkketten. Es wird postuliert, dass unter diesen Bedingungen der relative Effekt einer Substanz (z.B. 50 % Hemmung gegenüber einer sonst gleich behandelten Kontrolle) in Gegenwart einer zweiten Substanz unverändert bleibt. Die mathematische Formulierung dieses Sachverhalts ist ebenfalls in obiger Tabelle für ein Zweistoffgemisch angegeben. Ihre Bedeutung sei am Beispiel von zwei Mischungskomponenten erläutert, die alleine jeweils den Tod von 50 % der Organismen einer Versuchspopulation hervorrufen: 50 % Sterblichkeit in einer bereits um 50 % dezimierten Population bedeuten eine Erhöhung der Rate um  $0.5 \times 0.5 = 25 \%$  auf 75 %.

**EFFEKT-SUMMATION**

In Zusammenhang mit Kombinationswirkungen wird häufig davon gesprochen, daß Effekte von Kombinationen größer oder geringer seien als die Summe der Einzeleffekte. Ohne nähere Begründung wird damit implizit ausgedrückt, dass die arithmetische Summe der Einzeleffekte eine rationale Erwartung für den Gesamteffekt eines Gemisches darstelle. Die eingängige Formulierung von der Summe der Einzeleffekte mag zwar intuitiv plausibel erscheinen. Bei näherer Betrachtung zeigen sich aber gravierende Mängel dieses Ansatzes. So macht schon die Tatsache stutzig, dass sich für die Kombination von 10 Stoffen, die, bezogen auf einen bestimmten Parameter, beispielsweise jeweils 20 % Hemmung hervorrufen, rechnerisch zusammen 200 % Hemmung ergeben sollen. Auch das Gedankenexperiment einer Kombination von Agenzien, die in Wirklichkeit nur unterschiedliche Verdünnungen ein und desselben Stoffes sind, führt zu dem Schluß, dass Effekt-Summation allenfalls in Spezialfällen zu erwarten wäre.

## Hintergrundpapier 2

### Terminologie der Kombinationswirkungsanalyse

Die uneinheitliche und inkonsistente Verwendung von Begriffen zur Bewertung von Kombinationswirkungen stellt seit jeher eine wesentliche Ursache für Konfusion und Missverständnis in diesem Forschungsfeld dar. Die nachfolgende Tabelle stellt einige der gängigen Begriffe zusammen.

**Tabelle: Gebräuchliche englischsprachige Bezeichnungen für Kombinationseffekte**

<p><b>Begriffe für Mischungstoxizität größer als aufgrund der Einzeleffekte erwartet</b> Augmentation, Enhancement, Potentiation, Sensitation, Superadditivity, Supraadditivism, Synergism, Synergy</p>
<p><b>Begriffe für Mischungstoxizität wie aufgrund der Einzeleffekte erwartet</b> Additivity, Additivism, Independence, Indifference, Non-Interaction, Summation, Zero-Interaction</p>
<p><b>Begriffe für Mischungstoxizität geringer als aufgrund der Einzeleffekte erwartet</b> Antagonism, Antergism, Depotentialion, Desensitiation, Infraadditivity, Negative Synergismus, Non-Interaction, Potentiation, Subadditivity, Zero-Interaction, No Addition</p>

[verändert nach Boedeker et al. 1992]

Das terminologische Chaos stört auch die Kommunikation über Ergebnisse. Re-Analysen derselben Datensätze durch verschiedene Autoren z.B. wurden mit gegensätzlichen Ergebnissen publiziert (Unkelbach und Wolf 1984). Insbesondere das unterschiedliche Verständnis der Begriffe Synergismus, Antagonismus und Potenzierung ist hierbei evident. So finden sich in der Literatur z.B. Definitionen von bis zu 7 verschiedenen Typen von Antagonismen und Synergismen (Fedeli et al. 1972, Golden und Mantel 1957). Entgegen der eher breiten Rezeption, nach der Synergismus stärkere Wirkung als Additivität bezeichnet, gilt ersterer bei manchen Autoren als Spezialfall der Additivität (Unkelbach und Wolf 1984). Auch eine Abgrenzung zwischen Synergismus und Potenzierung ist nicht sicher auszumachen. Während wiederum im allgemeinen davon ausgegangen zu werden scheint, dass eine als Potenzierung bezeichnete Kombinationswirkung stärker ist als eine synergistische, werden diese Begriffe andererseits auch synonym verwendet (Le Blanc 1974). Aus pharmakologischen Überlegungen wurde darüber hinaus vorgeschlagen, Potenzierung als Spezialfall des Antagonismus zu betrachten (Loewe 1927).

Auch der Begriff der "Interaktion" wird in einer Vielzahl von Bedeutungen verwendet. Unkelbach (1992) unterzieht den Begriff der Interaktion einer kritischen Betrachtung und kommt zu dem Ergebnis, dass von einer weiteren Verwendung des Begriffes in der Kombinationswirkungsanalyse besser abgesehen wird, da es wegen dessen unterschiedlicher Verwendung



in Pharmakokinetik, Pharmakodynamik und Biometrie wenig aussichtsreich erscheint, zu einer eindeutigen, bedeutungsvollen Anwendung zu kommen.

Als zentrale Begriffe für die zu erwartenden Kombinationswirkungen sind Additivität und Unabhängige Wirkung nebst ihrer Konnotationen etabliert. Diese Bezeichnungen sind also nur bezüglich explizit angegebener pharmakologischer Konzepte bedeutungsvoll. Die Trennung der Termini von ihren pharmakologischen Begründungszusammenhängen ist auch die Ursache für anhaltende Missverständnisse. So wird einerseits Additivität wiederholt als Kombinationswirkung missgedeutet, die sich ausschließlich aus der Addition der Effekte der Einzelsubstanzen ergibt, während andererseits der Begriff Unabhängige Wirkung häufig zu der Fehlinterpretation einer (öko)toxikologischen Unbedeutsamkeit solcher Kombinationswirkungen verleitet (vgl. RSU 1987).

Auch die Bezeichnungen der Konzepte und ihrer mathematischen Modelle ist verwirrend. Das Konzept der Unabhängigen Wirkung z.B. wird in der Literatur als "simple independent action" (Finney 1971), "response addition" (Anderson und Weber 1975), "multiplicative survival model" (Morse 1978), "effect multiplication" (Berenbaum 1981), "response multiplication" (Christensen und Chen 1985) und sogar "effect summation" (Gessner 1988) adressiert.

Zumindest im Fachgebiet der Ökotoxikologie hat diese Situation dazu geführt, dass heute nurmehr über Konzepte und Abweichungen von konzeptabhängigen Erwartungen gesprochen wird (z.B. mehr oder weniger als konzentrations-additiv). Dies entspricht dem so genannten „Saariselkä-Agreement“ (Greco et al. 1993). In den verschiedenen Arbeitsrichtungen der Humantoxikologie ist ein solcher Konsens allerdings noch nicht erreicht.

## Hintergrundpapier 3

---

### **Experimentelle Befunde**

Inzwischen liegen verschiedene systematische Sichtungen der experimentellen Ergebnisse von Kombinationswirkungs-Versuchen vor. Die Zusammenschau stößt grundsätzlich auf die Schwierigkeit, dass aufgrund der in den Originalarbeiten häufig fehlenden Angaben zu den verwendeten Auswertemodellen und Bewertungsreferenzen eine Vergleichbarkeit nicht gegeben ist oder erst durch Nach-Auswertungen hergestellt werden muss. Dennoch sind offenbar in der intuitiven Annahme der (öko)toxikologischen Bedeutung von Kombinationswirkungen zusammenfassende Bewertungen vorgenommen worden und in allgemeine Problemeinschätzungen bedeutender Institutionen z.B. der Forschung (DFG), der Behörden (EPA), supranationaler Einrichtungen der Vereinten Nationen (EIFAC) sowie industrieller Interessensverbände (GIFAP, ECETOC) eingeflossen. Kennzeichnend für diese Einschätzungen, die exemplarisch in der folgenden Übersicht zusammengestellt sind, ist die einhellige Betonung eines additiven Zusammenwirkens kombinierter Wirk- und Schadstoffe. Selbst in den Fällen unklarer experimenteller Evidenz wird die Additivitätsannahme als sichere Näherung zu erwartender Kombinationswirkungen aufgefasst.

Zusammenfassend gilt mithin als wissenschaftlich unstrittig, dass bei Mischungsbelastungen von Kombinationswirkungen auszugehen ist. Weiterhin wird bei Mischungen ähnlich wirkender Stoffe eine konzentrations-additive Kombinationswirkung als plausibel erachtet. Die Kontroversen ergeben sich folglich demnach aus den Fragen:

1. Was sind "unähnlich" wirkende Stoffe und
2. Durch welches Additivitäts-Konzept lassen sich Kombinationswirkungen unähnlicher Stoffe beschreiben?

Die Begriffe der "ähnlichen" und "unähnlichen" Wirkung werden in der Literatur mit unterschiedlicher Schärfe verwandt. So wird einerseits als Voraussetzung für ähnliche Wirkung verschiedener Stoffe streng pharmakologisch ein gleicher molekularer Wirkungsmechanismus an derselben molekularen Akzeptorstruktur und entsprechend unähnliche Wirkung für in diesem Sinne verschiedene Wirkmechanismen genannt (Pösch 1993). Andererseits finden sich Anforderungen an ähnliche Wirkung in der "same site of primary action", wobei die Unterschiedlichkeit der stofflichen Grundstruktur ("parent compounds") als Unterscheidungsmerkmal zur unähnlichen Wirkung dienen soll (Calamari und Vighi 1992). Schließlich findet sich noch als schwächste Anforderung ähnlicher Wirkung eine nicht näher gefasste ähnliche Wirkungsweise (Könemann 1980, Hermens et al. 1984, van Leeuwen 1991)

Dieses unterschiedliche Verständnis zur Abgrenzung ähnlicher Wirkung führte zu unterschiedlichen Regelungsvorschlägen etwa für Wasserqualitätsziele. In der Formulierung der niederländischen Wasserqualitätsziele (van der Gaag et al. 1991) finden die Erkenntnisse der Utrechter Arbeitsgruppe von Joop Hermens Berücksichtigung, nach denen für die groß klassifizierte Gruppe von Stoffen, die als nicht reaktive, organische Verbindungen bezeichnet werden können und die nur eine Basistoxizität aufweisen, das Konzept der Konzentrations-



Additivität einen guten Vorhersagewert aufweist. Calamari und Vighi (1991, 1992) dagegen schlagen für eine mögliche EU-weite Regelung eine Berücksichtigung der Konzentrations-Additivität nur für die Gruppe der chlorierten aliphatischen Kohlenwasserstoffverbindungen mit Hilfe einer Untergliederung in sechs kongenere Untergruppen vor, da nur für Stoffe kongenerer Reihen und ausreichender Wirkungskenntnis vom Vorliegen ähnlicher Wirkung ausgegangen werden könne.

### **Übersicht: Bewertung von Kombinationswirkungen durch einschlägige Institutionen**

#### **DFG (1975):**

“Die vorliegenden Ergebnisse von publizierten Untersuchungen der Kombinationswirkungen von Pestiziden berücksichtigen 86 Literaturstellen. Diese Aufstellung umfasst schätzungsweise 90% der bis Ende 1974 publizierten Arbeiten. ... Faßt man die Ergebnisse dieser Bestandsaufnahme zusammen, so läßt sich feststellen: 1. Mehr als additive Effekte fanden sich nur bei Verabreichung hoher Dosen, d.h. Erhöhung der akuten Toxizität. Diese Kombinationen könnten eine Gefährdung für den Anwender darstellen, werden aber durch toxikologische Prüfung solcher Mischpräparate erkannt und in die entsprechende Giftklasse eingestuft. 2. Alle bei mehrmaligen Gaben geprüften Kombinationen ergaben in niedrigen Dosierungen nur additive Effekte.“

#### **EPA (1986):**

“When little or no quantitative information is available on the potential interaction among the components, additive models are recommended for systemic toxicants. Several studies have demonstrated that dose additive models often predict reasonable well the toxicities of mixtures composed of a substantial variety of both similar and dissimilar compounds ... . The problem of multiple toxicant exposure has been addressed by the American Conference of Governmental Industrial Hygienists, the Occupational Safety and Health Administration, the World Health Organization, and the National Research Council. Although the focus and purpose of each group was somewhat different, all groups that recommend an approach elected to adopt some type of dose additive model.“

#### **EIFAC (1987):**

“Meanwhile, the concentration-addition model appears to be adequate to describe the joint effect of commonly-occurring constituents of sewage and industrial wastes, and to be used to make the tentative predictions of the joint effect on fish populations of toxicants present at concentrations higher than the EIFAC recommended values.“

#### **GIFAP (1988):**

“Studies on acute toxicity of combinations can help in the evaluation of combination effects of pesticides. Experience has shown that the great majority of such products display additive toxicity in combination.“

#### **ECETOC (2001):**

„When large numbers of substances are present in mixtures at low concentrations relative to their individual acute toxicities, additivity of acute toxic effects is closely followed. This holds true even when the substances are not related chemically, or exhibit different modes of action when acting as acute toxicants alone.“

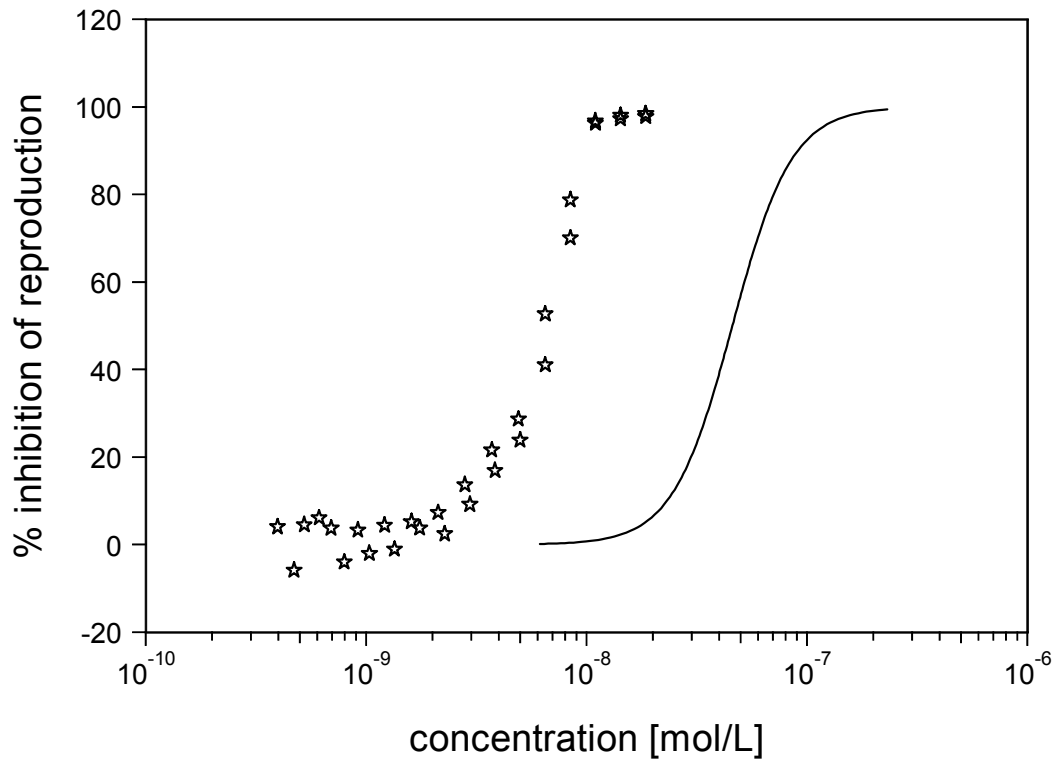


## Hintergrundpapier 4

---

### **Additive als auch unabhängige Wirkungen mehrerer Stoffe sind stärker als die der Einzelstoffe.**

Veranschaulichen lässt sich die Aussage, dass Wirkungen mehrerer Stoffe in der Regel stärker sind als die der Einzelstoffe an dem in der folgenden Abbildung 1 dargestellten Beispiel. Die S-förmige Kurve beschreibt den Zusammenhang zwischen der Konzentration des Herbizids Dinitramin und dessen biologischer Wirkung auf Algen. Die Kurve entspricht einem mathematischen Modell, das die experimentellen Beobachtungen zusammenfasst und die Grundlage für toxikologische Kenngrößen in der Gefährdungsabschätzung für den Stoff, z.B. EC50-Wert, abgibt. Die Sterne geben nun die experimentellen Beobachtungen zur Algentoxizität wieder, wenn Dinitramin in Gegenwart von 13 weiteren, unterschiedlichen nitroaromatischen Verbindungen in demselben Versuchssystem vorliegt. Um denselben Effekt mit Einzelstoffbelastung oder Mischungsbelastung zu erzielen, ist auf der Konzentrationsskala eine Verschiebung um eine Größenordnung hin zu niedrigeren Konzentrationen vorzunehmen. Auf der Effektachse sieht es noch dramatischer aus. Bei einer Konzentration, z.B.  $10^{-8}$  mol/L ist bei Einzelbelastung mit Dinitramin nicht messbar wirksam, während in der Belastungssituation in der Mischung eine nahezu 100% Reproduktionshemmung hervorgerufen wird. Das gleiche Bild ergibt sich für jeden anderen der 13 in der Mischung zusätzlich vorliegenden Komponenten (modifiziert nach Altenburger, Schmitt, Schüürmann ETC 2005).



**Abbildung 1:** Die Sterne geben experimentelle Befunde zur Phytotoxizität des Herbizids Dinitramin bei gleichzeitiger Anwesenheit von 13 Nitrobenzolderivaten an. Die Linie gibt die Konzentrations-Wirkungsfunktion von Dinitramin als Einzelstoff wieder (modifiziert nach Altenburger, Schmitt, Schüürmann 2005).

## Hintergrundpapier 5

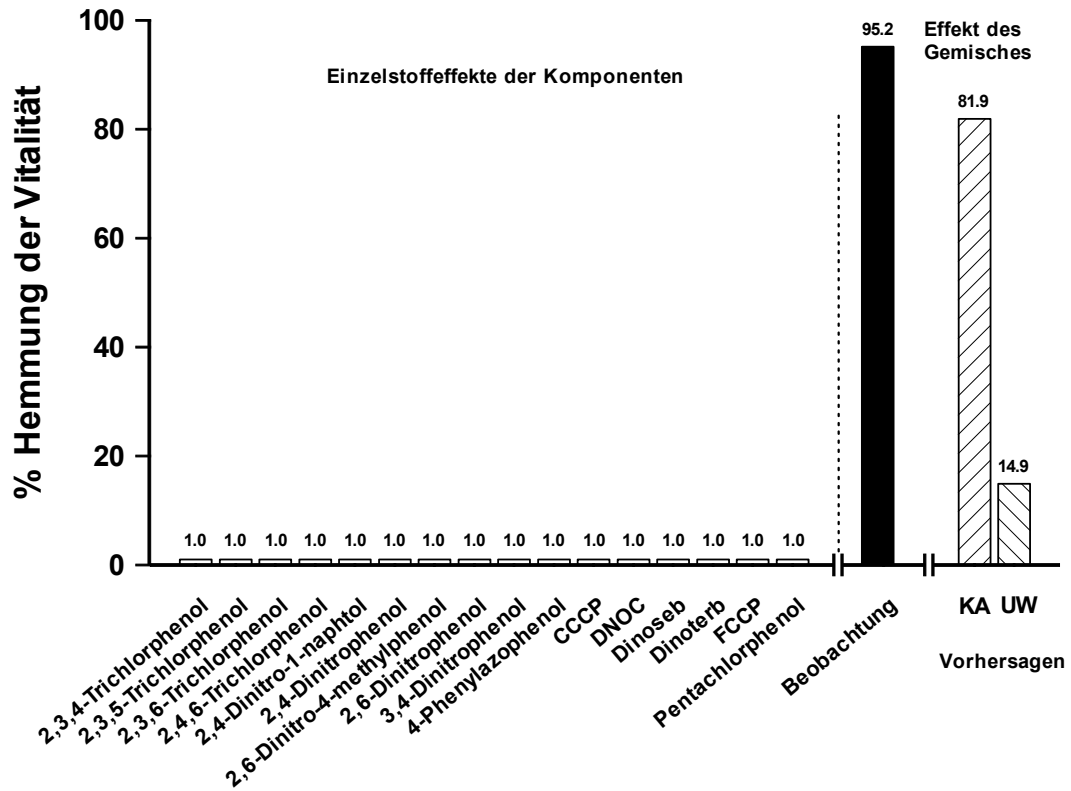
### **Auch Stoffe, die in Konzentrationen unterhalb ihrer No Observed Effect Concentration (NOEC) vorkommen, ergeben relevante Kombinationswirkungen.**

#### *Kombinationswirkungen unterhalb individueller NOECs bei ähnlich wirkenden Stoffen.*

In der Abbildung 2 ist ein Mischungsexperiment mit 16 phenolartigen Komponenten dargestellt. Die 16 mit den jeweiligen Stoffnamen versehenen kleinen Balken stellen den Effekt dar, den die Komponenten der Mischung jeweils einzeln hervorrufen könnten (1 % Hemmung der Vitalität einer Bakterienart). Die Effekte der Einzelstoffe sind experimentell als statistisch nicht signifikant einzustufen. Sie ergeben sich aufgrund der Modellierung einer Dosis-Wirkungsbeziehung. Beobachtbare Effekte, die als signifikant zu werten sind, treten je nach Stoff typischerweise zwischen 5-10 % Effekt (NOEC) auf. Die schraffierten Balken geben die erwartete Mischungstoxizität für die beiden unterschiedlichen Konzepte der Kombinationswirkungsanalyse (vgl. Hintergrundpapier 1) wieder, während der ausgefüllte Balken die tatsächlich beobachtbare Kombinationswirkung zeigt (nach Grimme et al. 1998). Zu sehen ist einerseits, dass der Kombinationseffekt der Mischung deutlich beobachtbar und signifikant ist und andererseits, dass der Kombinationseffekt mit dem Konzept Konzentrations-Additivität gut vorhergesagt werden kann.

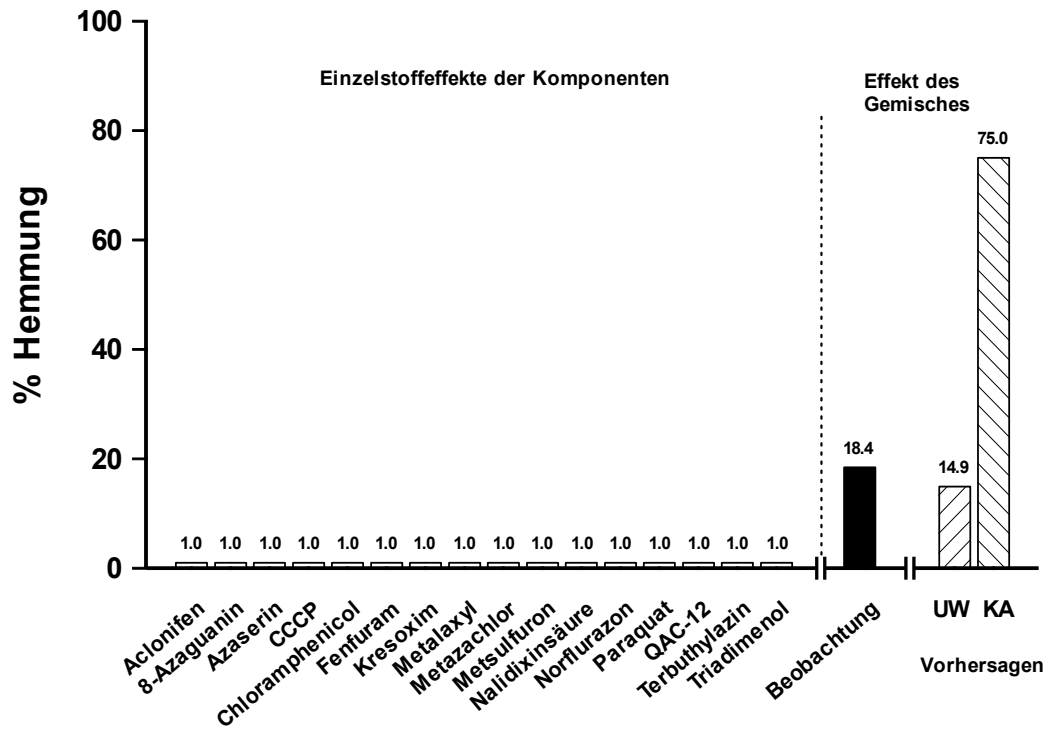
#### *Kombinationswirkungen unterhalb individueller NOECs bei unähnlich wirkenden Stoffen.*

In Abbildung 3 ist ein Mischungsexperiment mit 16 Herbiziden mit unterschiedlichen Wirkmechanismen analog der Abbildung 2 dargestellt (nach Faust et al. 2003). Wie in obigem Falle ist der Kombinationseffekt der Mischung deutlich beobachtbar und signifikant. Der Kombinationseffekt wird für die Mischung aus unähnlich wirkenden Stoffen in diesem Fall durch das Konzept der Unabhängigen Wirkung quantitativ genauer vorhergesagt.



**Abbildung 2:** Kombinationswirkungen unterhalb individueller NOECs bei ähnlich wirkenden Stoffen (nach Grimme et al. 1998).





**Abbildung 3:** Kombinationswirkungen unterhalb individueller NOECs bei unähnlich wirkenden Stoffen (nach Faust et al. 2003).

## Literatur zu den Hintergrundpapieren

- Altenburger, R., H. Schmitt, and G. Schüürmann. Algal toxicity of nitrobenzenes: Combined effect analysis as a pharmacological probe for similar modes of interaction. *Environ.Toxicol.Chem.* 24 (2):324-333, 2005.
- Anderson, P.D., L. J. Weber. The Toxicity to Aquatic Populations of Mixtures Containing Certain Heavy Metals. *Proc.Int.Conf.on Heavy Metals in the Environment* 2:933-953, 1975.
- Backhaus, T., M. Faust, M. Scholze, P. Gramatica, M. Vighi, and L. H. Grimme. Joint algal toxicity of phenylurea herbicides is equally predictable by concentration addition and independent action. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (2):258-264, 2004.
- Berenbaum, M.C. Criteria for Analysing Interactions between Biologically Active Agents. *Adv.Cancer.Res.* 35:269-335, 1981.
- Berenbaum, M.C. The Expected Effect of a Combination of Agents: The General Solution. *J.theor.Biol.* 114:413-431, 1985.
- Bliss C.I.. The Toxicity of Poisons Applied Jointly. *Ann.Appl.Biol.* 26:585-615, 1939.
- Boedeker W, Altenburger R, Faust M, Grimme LH. 1990. Methods for the assessment of mixtures of pesticides: Mathematical analysis of combination effects in phytopharmacology and ecotoxicology. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig)* 42, 70-78.
- Boedeker W, Altenburger R, Faust M, Grimme LH. 1992. Synopsis of concepts and models for the quantitative analysis of combination effects: From biometrics to ecotoxicology. *Archives of Complex Environmental Studies* 4(3). 45-53
- Borgert C.J., T. F. Quill, L. S. McCarty, and A. M. Mason. Can mode of action predict mixture toxicity for risk assessment? *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 201:85-96, 2004.
- Calamari D., Vighi M. 1991. Scientific bases for the assessment of the toxic potential of several chemical substances in combination at low level. Report prepared for the Scientific Advisory Committee on Toxicology and Ecotoxicology of the Commission of the European Community.
- Calamari D., Vighi M. 1992. A proposal to define quality objectives for aquatic life for mixtures of chemical substances. *Chemosphere* 25. 531-542
- Christensen, E.R., Chung-Yuan Chen. A General Noninteractive Multiple Toxicity Model Including Probit, Logit, and Weibull Transformations. *Biometrics* 41:711-725, 1985.
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) Wirkungen von Kombinationen der Pestizide. Kommission für Pflanzenschutz, Pflanzenbehandlungs- und Vorratschutzmittel. Mitteilung IX. *Bold. Boppard* 1975
- Drescher, K., W. Boedeker. Assessment of the combined effect of substances: The relationship between concentration addition and independent action. *Biometrics* 51:716-730, 1995.
- ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) 2001. Aquatic Toxicity of Mixtures. Technical Report No 80. Brussels July 2001
- EIFAC. Water Quality Criteria for European Freshwater Fish. EIFAC Tech.Pap. 37:1-75, 1987.
- EPA. Guidelines for the Health Risk Assessment of Chemical Mixtures. Federal Register 51 (185):34014-34025, 1986.
- Faust, M.,R. Altenburger, T. Backhaus, H. Blanck, W. Boedeker, P. Gramatica, V. Hamer, M. Scholze, M. Vighi, and L. H. Grimme. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquat.Toxicol.* 63 (1):43-63, 2003.
- Fedeli, L., L. Meneghini, M. Sangiovanni, F. Scrollini, and E. Gori. Quantitative Evaluation of Joint Drug Action. In: *Toxicological Problems of Drug Combinations*, edited by S. B. de Baker and G. A. Neuhaus, Excerpta Medica, 1972, p. 231-245.

- Finney D.J.. Probit analysis, London:Cambridge University Press, 1971.
- Gessner, P.K. A Straightforward Method for the Study of Drug Interactions: An Isobolographic Analysis Primer. *J.Am.Coll.Toxicol.* 7 (7):987-1012, 1988.
- GIFAP. GIFAP Position Paper on Toxicology of Crop Protection Products in Combination. Anonymous. Anonymous. International Group of National Associations of Manufacturers of Agrochemical Products. 1-10, 1988. Literaturdatenbestand des UBA-Projektes 1994, Kombi.
- Goldin A., N. Mantel. The Employment of Combinations of Drugs in the Chemotherapy of Neoplasia: A Review. *Cancer Res.* 17 (7):635-654, 1957.
- Greco W, Unkelbach HD, Pösch G, Sühnel J, Kundi M, Boedeker W 1992. Consensus on concepts and terminology for combined action assessment: The Saariselkä agreement. *Archives of Complex Environmental Studies* 4(3). 65-69
- Grimme LH, Altenburger R, Backhaus T, Bödeker W, Faust M, Scholze M. 1998. Vorhersagbarkeit und Beurteilung der aquatischen Toxizität von Stoffgemischen. *UFZ-Bericht Nr. 25/1998*, 319 Seiten.
- Hermens, J., H. Canton, P. Janssen, and R de Jong. Quantitative Structure-Activity Relationships and Toxicity Studies of Mixtures of Chemicals with Anaesthetic Potency: Acute Lethal and Sublethal Toxicity to *Daphnia magna*. *Aquat.Toxicol.* 5:143-154, 1984.
- Könemann, H. Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies Part 1: relationship for 50 industrial pollutants. *Toxicology* 19:209-221, 1980.
- Le Blanc A.E. Drug interactions Some first principles. In: Behavioral toxicology, edited by C. Xintaras, B. L. Johnson, and C. deGroot. US Government. Department of Health, Education and Welfare, 1974,
- Loewe, S. Die Mischarznei Versuch einer allgemeinen Pharmakologie der Arzneikombinationen. *Klin.Wochenschr.* 6 (23):1077-1085, 1927.
- Loewe, S., H. Muischnek. Über Kombinationswirkungen I. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch.Exp.Pathol.u.Pharmakol.* 114:313-326, 1926.
- Morse, P.M. Some Comments on the Assessment of Joint Action in Herbicide Mixtures. *Weed Sci.* 26 (1):58-71, 1978.
- Poehch, G. Combined Effects of Drugs and Toxic Agents. *Modern Evaluation in Theory and Practice.* Springer, Wien, 1993.
- RSU (Rat von Sachverständigen für Umweltfragen). *Umweltgutachten 1987.* Kohlhammer. Stuttgart 1987
- Unkelbach, H-D., T. Wolf. Drug Combinations - Concepts and Terminology. *Arzneim.Forsch.* 34 II (9):935-938, 1984.
- Unkelbach, H-D.. What does the term "non-interactive" mean. *ACES* 4 (3):29-34, 1992.
- US EPA. Proposed Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity. 2000.
- van der Gaag, M.A., P. B. M. Stortelder, L. A. van der Kooy, and W. A. Bruggeman. Setting Environmental Quality Criteria for Water and Sediment in the Netherlands: a Pragmatic Ecotoxicological Approach. *European Water Pollution Control* 1 (3):13-20, 1991.
- van Leeuwen C.J., P. T. J. van der Zandt, T. Aldenberg, H. J. M. Verhaar, and J. L. M. Hermens. The application of QSARs, extrapolation and equilibrium partitioning in aquatic effects assessment for narcotic pollutants. *The Science of the Total Environment* 109/110:681-690, 1991.