



# Ersatz des Hundes bei der Zulassungsprüfung für Pflanzenschutzmittel

Rainer J. Box

Berlin, Deutschland

## Zusammenfassung

Die Abschaffung des Hundes als Versuchstier bei der Zulassungsprüfung für Pflanzenschutzmittel erfordert längerfristiges schrittweises Vorgehen. Zunächst ist eine internationale Einigung auf nur eine vorgeschriebene Studie am Hund anzustreben, um die Verwendung von Hunden deutlich zu reduzieren. Dies ist bereits erklärtes Ziel sowohl der zuständigen EU-Gremien als auch der U.S. EPA. Dabei ist die 90-Tage-Studie unter wissenschaftlichen und tierschützerischen Aspekten zu bevorzugen. Es wird vorgeschlagen, innerhalb der nächsten 12 Monate auf ein internationales Expertentreffen hinzuarbeiten. Dabei sollte – in Anlehnung zum Vorgehen der ICH-Konferenz zu Arzneimitteln (International Conference of Harmonisation of Technical Requirements for Medical Products) – ein Harmonisierungsprozess der Prüfanforderungen begonnen werden, um die Einigung auf eine einzige Hundestudie innerhalb der nächsten 2 bis 3 Jahre zu erreichen. Außerdem sollte hierbei die Anwendbarkeit anderer wissenschaftlicher Verfahren zur Reduzierung von Versuchstieren im Einzelnen geprüft werden. Später könnte es gelingen, den Hund als Versuchstier bei der Prüfung von Pflanzenschutzmitteln zu ersetzen: indem Sicherheits-Grenzwerte abgeleitet werden entweder anhand der an der Ratte bestimmten NOAEL-Werte unter gleichzeitiger Anwendung eines Sicherheitsfaktors oder durch Kombination der Ratten-Studie mit anderen vorgeschriebenen Studien.

Summary: Replacement of animal testing using dogs for the registration of plant protection products

The replacement of animal testing using dogs for the registration of plant protection products requires a long-term step-by-step procedure. The first goal should be to achieve international agreement on using only one single study in dogs. This would result in a significant short-term reduction of the use of dogs for this purpose. The competent working groups both in the EU and the United States EPA have declared this to be their intended aim. In this context, the 90-day study is to be the preferred study from the scientific as well as the animal welfare points of view. It is proposed to set up an international expert task force within the next 12 months, which should seek to initiate a process of international harmonisation of the testing requirements following the example of the International Conference of Harmonisation of Technical Requirements for Medical Products, ICH. The goal should be to achieve international agreement on only one single study with dogs within the next 2 to 3 years. In addition, other valid scientific procedures, with which the use of dogs for testing can be reduced, should be critically assessed. A complete replacement of the use of dogs for plant protection product testing is suggested to take place at a later stage. This may be achieved by either deriving safety threshold values by applying a safety factor to chronic NOAEL values obtained in studies using rats for those groups of substances, for which there is evidence that the dog is the more sensitive species, or by combining the chronic rat study with other animal tests stipulated for the registration of pesticides.

Keywords: pesticides, replacement, chronic toxicity testing, study duration dog

## 1 Einleitung

Es gibt eine Vielzahl von sicherheitstoxikologischen Untersuchungen, die für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln behördlich vorgeschrieben sind. Ein Teil dieser Untersuchungen zielt darauf ab, Sicherheits-Grenzwerte (z.B. ADI-Werte, Referenzdosen) für die Exposition des Menschen festzusetzen, die auf

der Bestimmung von sogenannten "No-Observed-Adverse-Effect Levels" (NOAEL, d.h. Konzentrationen ohne erkennliche schädigende Wirkung) basieren. Die bestehenden Vorschriften verlangen Tests mit zwei Versuchstierspezies, einem Nagetier (Maus oder Ratte) und einem Nicht-Nagetier (in der Regel dem Hund). An Hunden müssen routinemäßig subchronische Fütterungs-Studien über 90

Tage und chronische Fütterungs-Studien über 12 Monate durchgeführt werden.

Die Notwendigkeit mehrerer Hundestudien von unterschiedlicher Dauer wird seit langem von den Tierschutzverbänden hinterfragt und von Behörden und der Industrie diskutiert. Es gibt zur Zeit keine internationale Übereinkunft über die Dauer dieser Studien. So wird beispielsweise in der EU in jedem Fall eine 90-Tage-Studie verlangt und eine 12-Monats-Studie nur dann, wenn der Hund im Vergleich zu den parallel an Ratten

durchgeführten Studien empfindlicher reagiert. In anderen Ländern sind beide Studien vorgeschrieben.

Die Verwendung des Hundes als Versuchstier für diese Studien wird seit über 40 Jahren kritisch diskutiert (z.B. Weil and McCollister, 1963). Seit einiger Zeit gibt es sowohl in der EU als auch in den USA Bestrebungen, die Studien am Hund für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln international auf nur eine Studie zu beschränken. In der EU liegt momentan im Rahmen der Revision der entsprechenden europäischen Richtlinie 91/414/EEC der Antrag Frankreichs vor, die Untersuchungen auf eine 12-Monats-Studie zu beschränken. Die zuständigen Gremien werden voraussichtlich im Frühsommer 2006 über die genauen Datenanforderungen entscheiden.

## 2 Studien zur Abklärung der Notwendigkeit von Hundestudien

### 2.1 BfR/SET-Studie

In Deutschland wurde 1996 die bisher größte retrospektive Analyse von toxikologischen Daten zu 216 Pflanzenschutzmitteln vom Bundesinstitut für Risikobewertung BfR, der für die Pestizidregistrierung zuständigen Behörde, durchgeführt. Dies erfolgte in Zusammenarbeit mit der Stiftung SET (Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen, Mainz) und dem Industrieverband Agrar IVA. Die Studie ergab zwei wesentliche Resultate: Der Hund erwies sich im Vergleich zu Maus und Ratte bei etwa 15 Prozent der untersuchten Pflanzenschutzmittel als die empfindlichere Spezies (Gerbracht and Spielmann, 1998). Die weitere Analyse der Daten zeigte, dass chronische Studien am Hund von relativ geringem Nutzen sind, da nur 5 Prozent der Studien zusätzliche wichtige Informationen im Vergleich zu 90 Tage-Studien erbrachten. Demnach ist eine Studiendauer von 90 Tagen in der Regel völlig ausreichend (Spielmann and Gerbracht, 2001).

Zusätzlich erstellte das BfR im Jahre 2004 in Zusammenarbeit mit der Stiftung SET ein Arbeitspapier (*Extended Background Review*), das den aktuellen wis-

senschaftlichen Stand zur Verwendung des Hundes für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln ausführlich darstellt (Box and Spielmann, 2005). Dieses Arbeitspapier wurde dem Europäischen Zentrum für die Validierung von Alternativmethoden ECVAM, das innerhalb der EU für Verfahren zur Einschränkung von Tierversuchen zuständig ist, zugeleitet und ausserdem publiziert. ESAC, der wissenschaftliche Beirat von ECVAM, hat daraufhin im Herbst 2005 ein *Peer-Review*-Verfahren zur Umsetzung der Ergebnisse eingeleitet.

### 2.2 ILSI-HESI-ACSA Projekt

Im Jahre 2001 wurde vom amerikanischen ILSI-HESI (*International Life Sciences Institute-Health and Environmental Sciences Institute*) ein umfangreiches internationales Projekt zur Erarbeitung eines neuen sicherheitstoxikologischen Prüfrahmens für Agrarchemikalien initiiert (*Agricultural Chemical Safety Assessment*, ACSA). Daran nehmen Experten von Zulassungsbehörden, der Industrie und aus dem Hochschulbereich teil. Eine von drei Arbeitsgruppen befasste sich mit der Notwendigkeit von Hundestudien und untersuchte dazu die Daten von 60 Pflanzenschutzmitteln, die von der U.S.-Umweltbehörde EPA zur Verfügung gestellt wurden. Die Ergebnisse bestätigen die Befunde der BfR/SET-Studie: 1. Der Hund ist für eine signifikante Anzahl von Substanzen empfindlicher als Maus oder Ratte (Moretto, 2004); 2. Chronische Studien am Hund über ein Jahr oder zwei Jahre erbringen keine wesentliche zusätzliche Information zur 90-Tage-Studie in Verbindung mit den an anderen Spezies durchgeführten Studien (Dellarco, 2004). Die ILSI-HESI-ACSA-Arbeitsgruppe entwarf ein Prüfverfahren, bei dem je nachdem, welche Spezies empfindlicher in 90-Tage-Studien ist, ausschließlich am Hund oder an der Ratte eine chronische Studie angeschlossen wird. Dies bedeutet, das gegebenenfalls mehr Hunde eingesetzt werden müssten, dafür aber weniger Ratten.

### 2.3 U.S. EPA-Studie

Die U.S.-Umweltbehörde EPA legte Anfang Mai 2005 bei einem FIFRA *Scientific Advisory Panel Public Meeting*

(Expertenrunde zum U.S.-amerikanischen Pflanzenschutzmittelgesetz FIFRA) eine retrospektive Analyse von Daten am Hund für 78 Pflanzenschutzmittel vor, aus der hervorgeht, dass eine 90-Tage-Studie ausreichend ist, um Sicherheits-Grenzwerte (Referenzdosen) abzuleiten. Eine 12-Monats-Studie ist demnach nicht mehr erforderlich (Baetcke et al., 2005). Diese Schlussfolgerung bestätigt die Ergebnisse der Studien des BfR/SET und des ILSI-HESI-ACSA-Projekts. Die EPA-Expertenrunde forderte jedoch, die Studie zu erweitern. Diese neue Studie, die Daten von 100 Pflanzenschutzmitteln umfasst, wird in Kürze publiziert werden. Die vorläufigen Ergebnisse bestätigen die ursprüngliche Studie an 78 Pflanzenschutzmitteln (Solecki, persönliche Mitteilung).

## 3 Vorschläge zur Reduzierung der Hundestudien bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln

Die Behörden in der EU und in den USA sind heute bestrebt, die Anzahl der Studien am Hund für die Zulassungsprüfung von Pflanzenschutzmitteln international auf nur eine Studie zu reduzieren. Die bisherigen Untersuchungen weisen darauf hin, dass vom wissenschaftlichen Standpunkt aus die 90-Tage-Studie zur Erhebung aller wesentlichen toxikologischen Daten ausreicht und eine 12-Monats-Studie nicht mehr routinemäßig notwendig ist. Es ist sehr wichtig, internationalen Konsens in dieser Frage zu erzielen, damit die Hersteller nicht Studien von verschiedener Dauer für die Zulassung der Pflanzenschutzmittel in verschiedenen Ländern vorlegen müssen. Durch eine Einigung auf nur eine Hundestudie würde die Anzahl der Hundestudien deutlich zurückgehen.

Die Zeichen stehen günstig, dass eine Einigung innerhalb der nächsten 2 bis 3 Jahre zustande kommt. So wird derzeit am Bundesinstitut für Risikobewertung BfR überlegt, die BfR-Daten einer ähnlichen Analyse zu unterziehen wie derjenigen der U.S. EPA, um die internationale Harmonisierung der Vorschriften zugunsten einer 90-Tage-Studie voranzubringen (Spielmann, persönliche Mitteilung).



Solecki, persönliche Mitteilung). Wenn diese Ergebnisse vorliegen und, wie erwartet, diese der Analyse der U.S. EPA entsprechen, könnten beide Studien im Oktober 2006 vom BfR und der U.S. EPA gemeinsam beim *Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues* in Rom vorgestellt und diskutiert werden. In Abstimmung mit diesem Gremium ließe sich dann die Einführung der 90-Tage-Studie als einzig notwendige Studie am Hund bei der *OECD Working Group on Pesticides* vorschlagen.

Unabhängig davon erscheint es in diesem Zusammenhang sinnvoll, von den Tierschutzorganisationen auf ein internationales Expertentreffen zu diesem Thema innerhalb der nächsten 12 Monate hinzuwirken. Bei diesem Workshop sollte ein internationaler Harmonisierungsprozess der Prüfanforderungen von Pflanzenschutzmitteln in Anlehnung zum Vorgehen der ICH-Konferenz zu Arzneimitteln (*International Conference of Harmonisation of Technical Requirements for Medical Products*; ab 1991) initiiert bzw. unterstützt werden. Dieser Vorschlag wurde bereits sowohl beim *FIFRA SAP Public Meeting* im Mai 2005 als auch innerhalb der *ILSI-HESI-ACSA-Arbeitsgruppe* formuliert. Neben der Einigung auf eine einzige Hundestudie sollten weitere Treffen angeregt werden, um die Optionen zur Reduzierung der Verwendung des Hundes im Sinne der „*Best Scientific Practices*“ (Combes et al., 2002; Smith et al., 2002; Weekley et al., 2002) zu erörtern. Dazu gehören die strategische Planung vor der Durchführung von Studien und die sorgfältige Planung des Studien-Design (d.h. bei der Auswahl der Spezies, notwendigen Anzahl und Größe der Gruppen, Geschlecht, Kontrollgruppe, Anzahl der Testdosen und Wahl der Dosierung). Ferner sollten die von Box und Spielmann (2005) ausführlich dargestellten Möglichkeiten geprüft werden, wie z.B. Datenaustausch (*data sharing*) der Industrie bzw. nationaler Behörden untereinander, die Verwendung von *in vitro* Methoden für bestimmte Aspekte, Studien an Probanden, computergestützte Verfahren und substanzspezifische Prüfanforderungen (Fall-zu-Fall-Vorgehensweise).

#### 4 Abschaffung des Hundes als Versuchstier

Gegenwärtig ist es noch notwendig, ADI-Werte und andere Referenz-Dosen aus den am Tier bestimmten NOEL-Werten abzuleiten. Bislang sind alle tierversuchsfreien Ansätze, wie z.B. das ECITTS Projekt (*ERGATT CFN Integrated Toxicity Testing Scheme*), für diesen Zweck nicht genügend ausgereift (Eisenbrand et al., 2002; Blaauboer, 2003).

Bei dieser Sachlage ist eine Voraussetzung unerlässlich, um die Abschaffung des Hundes als Versuchstier für die Zulassungsprüfung von Pflanzenschutzmitteln zu ermöglichen, nämlich die internationale Harmonisierung der Prüfanforderungen und die Einigung auf eine einzige Hundestudie. Erst wenn diese erreicht ist, können konkret die wissenschaftlich und sicherheitstoxikologisch vertretbaren Möglichkeiten erarbeitet werden, um vollständig auf die Verwendung von Hunden bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln zu verzichten.

Die behördlich vorgeschriebenen Studien werden an zwei Versuchstierspezies durchgeführt, um eine größere Verlässlichkeit bei der Gefahrenabschätzung zu gewährleisten. Nach jahrzehntelanger Praxis von parallelen Studien an Ratte und Hund sollte es möglich sein zu klären, ob nicht eine Versuchstierspezies allein zur Ableitung der Sicherheits-Grenzwerte ausreichen könnte. So schlugen bereits Appelman und Feron (1986) vor, nur eine Versuchstierspezies, d.h. die Ratte, einzusetzen und die an Rattenstudien gewonnenen Sicherheits-Grenzwerte für Pflanzenschutzmittel mit einem zusätzlichen Sicherheitsfaktor zu versehen für den Fall, dass der Hund empfindlicher ist. Box und Spielmann (2005) diskutierten diesen Ansatz und zeigten auf, wie ein verlässlicher Sicherheitsfaktor festgelegt werden könnte. Die Einführung eines zusätzlichen generellen Sicherheitsfaktors wird vielleicht als ein zu pauschales Vorgehen betrachtet werden. Es ist jedoch zu überlegen, einen solchen Sicherheitsfaktor nur auf die Gruppe strukturverwandter Pflanzenschutzmittel anzuwenden, für die der Hund bekanntermaßen empfind-

licher ist als die Ratte. Da die BfR/SET-Studie zeigte, dass der Hund nur bei etwa 15 Prozent der untersuchten Pflanzenschutzmittel die empfindlichere Spezies war, sollte dieses Vorgehen zu einer Einschränkung der Verwendung des Hundes führen. Dagegen entfele ein Sicherheitsfaktor bei Stoffgruppen, für welche die Ratte ohnehin empfindlicher ist als der Hund. Versuche am Hund müssten nur noch bei neuartigen Substanzen durchgeführt werden, für die es bisher noch keine Untersuchungen am Hund gibt.

Des Weiteren sollte geprüft werden, ob es andere Studien, die für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln vorgeschrieben sind, gestatten, einen ADI-Wert vom NOEL-Wert an der Ratte abzuleiten.

Möglicherweise liegen zum Zeitpunkt der internationalen Harmonisierung der Studien bereits genügend Validierungsergebnisse von Verfahren vor, die den Einsatz von Hunden reduzieren oder gar nicht mehr erfordern würden.

Der Zeitrahmen für die Einführung internationaler gesetzlicher Vereinbarungen zur Abschaffung des Hundes als Versuchstier lässt sich allerdings heute, d.h. vor einem internationalen Expertentreffen, noch nicht ausreichend abschätzen.

#### Literatur

- Appelman, L. M. and Feron, V. J. (1986). Significance of the dog as "second animal species" in toxicity testing for establishing the lowest "no-toxic-effect level". *J. Appl. Toxicol.* 6, 271-279.
- Baetcke, K. P., Phang, W. and Dellarco, V. (2005). A Comparison of the Results of Studies on Pesticides from 12- or 24-Month Dog Studies with Dog Studies of Shorter Duration. Presented at the U.S. EPA FIFRA Scientific Advisory Panel Public Meeting May 5-6, 2005, available at <http://www.epa.gov.edocket/> quoting the Docket ID number OPP-2005-0045.
- Blaauboer, B. J. (2003). The integration of data on physico-chemical properties, *in vitro*-derived toxicity data and physiologically based kinetic and dynamic modelling as a tool in hazard and risk assessment. A commentary. *Toxicol. Lett.* 138, 161-171.



- Box, R. J. and Spielmann, H. (2005). Use of the dog as non-rodent test species in the safety testing schedule associated with the registration of crop and plant protection products (pesticides): present status. *Arch. Toxicol.*, 615-626.
- Combes, R., Schechtman, L., Stokes, W. S. and Blakey, D. (2002). The International Symposium on Regulatory Testing and Animal Welfare: Recommendations on best scientific practices for subchronic/chronic toxicity and carcinogenicity testing. *ILAR Journal 43 (Suppl.)*, S112-S117.
- Dellarco, V. L. (2004). EPA perspective: a new toxicity testing paradigm for agricultural pesticides. Presentation given at the workshop of the ILSI HESI Technical Committee on Agricultural Chemical Safety Assessment (ACSA) at the 2004 SOT Annual Meeting, 21-25 March, Baltimore, MD (available on the link "What's New" at <http://hesi.ilsil.org> - accessed in April, 2004).
- EEC Publishing Office (1991). European Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. *Official Journal of the European Communities L230*, 19.8.1991.
- EEC Publishing Office (1994). European Commission Directive 94/79/EC of 21 December 1994 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. *Official Journal of the European Communities L354/16*.
- Eisenbrand, G., Pool-Zobel, B., Baker, V. et al. (2002). Methods of in vitro toxicology. *Food and Chemical Toxicology 40*, 193-236.
- Gerbracht, U. and Spielmann, H. (1998). The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. I. Interspecies comparison. *Arch. Toxicol. 72*, 319-329.
- Moretto, A. (2004). Systemic Toxicity Task Force. Presentation given at the workshop of the ILSI-HESI Technical Committee on Agricultural Chemical Safety Assessment (ACSA) at the 2004 SOT Annual Meeting, 21-25 March, Baltimore, MD (available on the link "What's New" at <http://hesi.ilsil.org> - accessed in April, 2004).
- Smith, D., Broadhead, C., Descotes, G. et al. (2002). Preclinical safety evaluation using non-rodent species: an industry/welfare project to minimize dog use. *ILAR Journal 43 (Suppl.)*, 39-42.
- Spielmann, H. and Gerbracht, U. (2001). The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. Part II. Subacute, subchronic and chronic studies in the dog. *Arch. Toxicol. 75*, 1-21.
- Weekley, L. B., Guittin, P. and Chamberland, G. (2002). The International Symposium on Regulatory Testing and Animal Welfare: Recommendations on best scientific practices for safety evaluation using non-rodent species. *ILAR Journal 43 (Suppl.)*, 118-122.
- Weil, C. S. and McCollister, D. D. (1963). Safety evaluation of chemicals. Relationship between short- and long-term feeding studies in designing an effective toxicity test. *Agricultural and Food Chemistry 11*, 486-491.

### Danksagung

Der Stiftung SET, dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und dem Industrieverband Agrar (IVA) danke ich für die uneingeschränkte Unterstützung sowie Bernhard Garthoff (Bayer Crop Science) und Horst Spielmann (BfR) für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

### Korrespondenzadresse

Dr. Rainer J. Box  
Wissenschaftsjournalist/  
Wirtschaftsdolmetscher  
Tietzenweg 38  
D-12203 Berlin  
Deutschland