

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU,  
BILTHOVEN

Rapport nr. 620110 004

**Mengseltoxiciteit: een algemeen overzicht en evaluatie  
van de veiligheidsfactor van 100 toegepast in het  
stoffenbeleid**

M.N. Pieters en W.H. Könemann

Maart 1997

Deze studie werd verricht in opdracht van het Directoraat-Generaal Milieubeheer, directie SVS in het kader van project nummer 620110, Effect assessment mens I: Verbeteren effectvoorspellingen stoffen.

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven,  
tel: 030-2749111, fax: 030-2742971

## VERZENDLIJST

- 1 Directie SVS/S
- 2 Plv. Directeur-Generaal Milieubeheer, Dr. Ir. B.C.J. Zoeteman
- 3 Dr. J.A. van Zorge, DGM, SVS/S
- 4 D.W.G. Jung, DGM, SVS/S
- 5 Dr. K. Krijgsheld, DGM, LE
- 6 Drs D. Jonker, DGM/DWL
- 7 Drs. C. Denneman, DGM/Bo
- 8 Dr. J. van Wensem, DGM/TCB
- 9 Dr. ir. P.C. Bragt, HIGB
- 10 Dr H. Roelfzema, VWS, Gezondheidsbeleid/Consumentenveiligheid en  
omgevingsrisico's
- 11 Drs P.R.M. Kerklaan, SoZaWe, ARBO/AMIL
- 12 Dr P.C. Noordam, SoZaWe, ARBO/AMIL
- 13 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
- 14 Drs. M.M.H.E. van den Berg, Gezondheidsraad
- 15 Ir C. Hoeksema, Gezondheidsraad
- 16 Dr. J. Deneer, Staring Centrum, Postbus 125, 6700 AA Wageningen
- 17 Drs. A. Hassoldt, RIZA, Postbus 17, 8200 AA Lelystad
- 18 Drs. M. Beek, RIZA, Postbus 17, 8200 AA Lelystad
- 19 Drs. C. v.d. Guchte, RIZA, Postbus 17, 8200 AA Lelystad
- 20 Dr. W. Ma/Dr. J. Faber, IBN-DLO, Postbus 23, 6700 AA Wageningen
- 21 Drs. M. Klein, IKC-NBLF, Postbus 30, 6700 AA Wageningen
- 22 Dr. A.P. van Wezel, RIKZ, Postbus 20907, 2500 EX Den Haag
- 23 Drs. J. Schobben, RIKZ, Postbus 20907, 2500 EX Den Haag
- 24 Dr. M.E.J. van der Weiden, DGM/SVS
- 25 Drs. M. van der Gaag, VROM/DWL/IPC
- 26 Drs. H. van de Baan, VROM/DWL/IPC
- 27 Dr. V.J. Feron, TNO-Voeding, Zeist
- 28 Dr. ir. J.P. Groten, TNO-Voeding, Zeist
- 29 Drs D. Jonker, TNO-Voeding, Zeist
- 30 Prof. Dr. W. Seinen, RITOX, Utrecht
- 31 Dr F.X.R. van Leeuwen, WHO
- 32 Directie RIVM
- 33 SBD/Voorlichting & Public Relations
- 34 Dr. Ir. G. de Mik, Directeur Sector 4
- 35 Dr. A. Opperhuizen, Hoofd LEO
- 36 Dr. ir. E.H.J.M. Jansen, LEO
- 37 Dr. W. Slob, LEO
- 38 Dr. ir. M.J. Zeilmaker, LEO
- 39 Dr. F. Cassee, LEO
- 40 Dr. ir. E. Buringh, LEO
- 41 Dr. G.J.A. Speijers, CSR
- 42 Drs T. Vermeire, CSR
- 43 Dr J. de Bruijn, CSR
- 44 Dr C. van Leeuwen, CSR

45	Dr W.C. Mennes, CSR
46	Drs A.G.A.C. Knaap, CSR
47	Ing P.J.C.M. Janssen, CSR
48	Dr. T. Crommentuijn, CSR
49	Drs. E. van de Plassche, CSR
50	Dr. M. Janssen, LSO
51	Dr. J. Struijs, ECO
52	Drs H. Canton, ECO
53	Dr L. Posthuma, ECO
54	Dr F. Swartjes, LBG
55	Dr E. Lebret, CCM
56	Drs A.E.M. den Hollander, CCM
57-58	Auteurs
59	Bureau Rapportenregistratie
60	Bibliotheek RIVM
61-70	Bureau Rapportenbeheer

## INHOUDSOPGAVE

VERZENDLIJST .....	1
SAMENVATTING .....	5
SUMMARY .....	6
1. INLEIDING.....	7
2. DE NORMSTELLINGSPROCEDURE VOOR STOFFEN (HUMAAN).....	9
3. TOXICOLOGIE VAN MENGSELS.....	13
3.1 Alles is een mengsel .....	13
3.2 Simpele en complexe mengsels.....	13
3.3 Factoren die de toxiciteit van mengsels beïnvloeden .....	15
4. ALGEMENE THEORIEËN EN BEGRIPPEN IN DE COMBINATIE- TOXICOLOGIE .....	17
4.1. Dosis-additie.....	19
4.1.1 Het concept dosis-additie.....	19
4.1.2 Isobologram: grafische weergave van dosis-additie .....	20
4.2. Respons-additie .....	22
4.2.1 Het concept respons-additie.....	22
4.2.2 Effect-multiplicatie (respons-additie, $r = 0$ ) .....	23
4.2.3 Een algemene formule voor geen-interactie (respons-additie) .....	23
4.3 Additiviteits-envelop .....	24
4.4 Interactie .....	26
5. COMBINATIE-TOXICOLOGIE IN HET LAGE-DOSISGEBIED.....	28
6. STRATEGIEËN VOOR HET OMGAAN MET MENGSELS.....	31
6.1. Actuele risicoschatting .....	31
6.1.1 Risicoschatting op basis van dosis-additiviteit.....	31
6.1.2 Het mengsel als een ‘case’ studie .....	32
6.1.3 Schatten van mengseltoxiciteit aan de hand van vergelijkbare mengsels... 32	
6.1.4 ‘Weight of evidence’ approach.....	33
6.2. Preventieve risicoschatting.....	33
6.2.1. Normstelling op basis van dosis-additiviteit.....	34
6.2.2 Gebruik van een veiligheidsfactor .....	35
7. EVALUATIE VAN DE VEILIGHEIDSFACOR 100 VOOR COMBINATIETOXICITEIT .....	37

7.1 Fractionele opvullingen van het MTR.....	37
7.2 'Worst case' aannames bij de berekening van de totale fMTR.....	37
7.3 Resultaten .....	40
6. DISCUSSIE EN CONCLUSIES .....	43
REFERENTIES .....	46
APPENDIX SAMENSTELLING VAN STOFGROEPEN VOOR DOSIS- ADDITIVITEIT .....	51

## SAMENVATTING

De bandbreedte tussen het maximaal toelaatbare risico (MTR) en het verwaarloosbare risico (VR) van 100, wordt beschouwd als een veiligheidsfactor voor het optreden van combinatiewerkingen tussen stoffen. Over de grootte van deze factor en over mogelijke differentiatie hiervan is al enige tijd discussie. Het huidige rapport (i) geeft een overzicht van de normstellingsprocedure in het algemeen, (ii) geeft een overzicht van algemene begrippen binnen de mengseltoxicologie, (iii) verkent de aannemelijkheid van het optreden van combinatie-effecten in het lage dosisgebied, (iv) geeft een overzicht van strategieën die gevolgd kunnen worden in de risico-evaluatie van mengsels en (v) bevat een evaluatie van de veiligheidsfactor van 100 die wordt gebruikt voor combinatietoxicologie.

Er wordt geconcludeerd dat bij lage blootstellingsniveaus, dat wil zeggen blootstellingsniveaus op of onder de norm, interacties tussen stoffen zoals synergisme en antagonisme onwaarschijnlijk zullen zijn. Bij deze lage doseringen kan verwacht worden dat respons-additie ook niet aan de orde zal zijn als wordt aangenomen dat de respons op de afzonderlijke stoffen nul is. Dosis-additie daarentegen is een fenomeen dat bij lage doseringen niet kan worden uitgesloten, dus ook niet bij blootstellingen onder de norm. Er zal dus bij de risico-evaluatie van mengsels van stoffen altijd rekening moeten worden gehouden met het mogelijk optreden van (partiële) dosis-additie.

De veiligheidsfactor van 100 kan worden beschouwd als een beleidsmatige 'tool' om te corrigeren voor combinatietoxiciteit in normstellingsprocedures. De hoogte van een dergelijke generieke veiligheidsfactor en een mogelijke differentiatie daarvan zijn echter niet op wetenschappelijke gronden te onderbouwen. Het is echter wel mogelijk om enigszins inzicht te krijgen in de "veiligheidsmarge" die het gebruik van een factor 100 met zich meebrengt. Hiertoe is in dit rapport gekozen voor een pragmatische aanpak. Op grond van geschatte of 'worst case' berekende blootstellingsniveaus en uitgaande van de huidige normen (MTR, ADI, TDI), is voor elke stof de fractionele opvulling van de norm berekend. Door de stoffen te groeperen en binnen een stofgroep volledige dosis-additiviteit te veronderstellen, kon de mate van overschrijding van de MTR worden berekend. Deze mate van overschrijding geeft een indicatie van opvulling van de veiligheidsfactor. In totaal werden 318 drempelwaarde-stoffen in 14 stofgroepen ondergebracht. In alle gevallen bleek de veiligheidsfactor van 100 ruim voldoende. Voor bijna alle groepen zou een factor 10 al toereikend kunnen zijn.

## SUMMARY

In the Netherlands, the maximum tolerable risk (MTR) and the negligible risk (NR) are spaced by a factor of 100, which can be considered as a safety factor for the combined action of chemicals. The size of such a safety factor and its possible differentiation has been a matter of debate. This report gives (i) an overview of Dutch standard setting procedures in general, (ii) an overview of common concepts in toxicology of mixtures, (iii) the plausibility of combined effects of compounds at low doses, (iv) an overview of strategies which can be followed in the risk evaluation of chemical mixtures and (v) an evaluation of the safety factor of 100 used for the combined action of chemicals.

It is concluded that at low doses, i.e. at exposure levels at or below current standards, interactions between chemicals such as synergy and antagonism are not likely to occur. At these low doses, response addition is expected to be also absent when it is assumed that the response to each individual chemical is zero. On the contrary, dose addition is a phenomenon that can not be excluded at low doses, even not at doses below current standards. Therefore, in the risk evaluation of mixtures, (partial) dose addition will have to be taken into account.

The safety factor of 100 can be regarded as a policy tool to correct for combination toxicology in standard setting procedures. This factor should thus cover possible dose addition. However, the size of such a factor and its possible differentiation can not be based on scientific arguments. Therefore, we had to follow a pragmatic approach to gain some insight in the value of such a factor. Based on estimated or worst case calculated exposure levels and current standards (MTR, ADI, TDI), we calculated for each individual chemical its fractional contribution to the MTR. By classifying chemicals in groups and assuming full dose addition within a group of chemicals, the degree by which the MTR was exceeded could be calculated. This gave us an indication of the size of the safety factor for dose addition to be used for each group. We evaluated 318 individual chemicals divided into 14 groups. For all groups of chemicals a safety factor of 100 was found to be more than sufficient. In most cases a factor of 10 would have been sufficient.

## 1. INLEIDING

In het Indicatief Meerjaren Programma Milieubeheer 1986-1990 (1) werd het risicobeleid van het Ministerie van VROM geïntroduceerd. In 1988-1989 verscheen de beleidsnotitie Omgaan met Risico's (OmR) (2). Deze notitie beoogde een algemeen beleidskader te bieden voor prioriteitsstelling en normstelling. Hierbij werd uitgegaan van risicolimieten; namelijk het maximaal toelaatbaar risico en het verwaarloosbaar risico. Deze risicolimieten vormden algemene risicomaten die werden gedefinieerd voor verschillende beleidsterreinen: externe veiligheid, blootstelling aan stoffen en blootstelling aan straling. Het maximaal toelaatbare risico (MTR) was voor alle beleid de bovengrens. Risicobeperkende maatregelen waren noodzakelijk om risico's boven het MTR terug te brengen naar MTR-niveau. Als gevolg van de "voortschrijdende normstelling" dienden ook onder het MTR risicoreducerende maatregelen genomen te worden, tot het niveau van het verwaarloosbare risico werd bereikt. In de notitie OmR werd het verwaarloosbare risiconiveau een factor 100 lager gesteld dan het maximaal toelaatbare risiconiveau. Later werd dit principe van voortschrijdende normstelling verlaten om plaats te maken voor het 'as low as reasonably achievable' (ALARA) principe. Het verwaarloosbaar risico werd hierbij beschouwd als de ondergrens van overheidsbemoeienis en van ALARA.

Binnen de Tweede Kamer is sinds de notitie OmR flink gediscussieerd over de vaste bandbreedte van 100 tussen het maximaal toelaatbare risiconiveau en het verwaarloosbare risiconiveau. In een motie van Esselink en Feenstra (3) werd benadrukt dat de prioriteit lag op het formuleren en handhaven van het maximaal toelaatbare risico en dat, uitgaande van het ALARA-principe, het formuleren en toepassen van vaste getalswaarden voor het verwaarloosbare risico niet meer zinvol was. De minister bevestigde dat de prioriteit inderdaad lag bij het terugdringen van risico's ten minste tot het niveau van het maximaal toelaatbare. Het definiëren van een ondergrens voor ALARA achtte hij echter zinvol en wees erop dat het verwaarloosbare risiconiveau als zodanig kan fungeren (4). Het VR als zodanig heeft dus een normatieve functie, namelijk die van *streefwaarde*.

In 1993 is het verwaarloosbaar risico voor 'externe veiligheid' en 'straling' afgeschaft (5). Voor blootstelling aan stoffen wordt het verwaarloosbaar risico nog als zodanig gehandhaafd. De bandbreedte tussen het maximaal toelaatbare en het verwaarloosbare risiconiveau wordt hierbij beschouwd als 'buffer' voor de gecombineerde werking van stoffen. De notitie OmR (2) zegt hierover:

*'Bij blootstelling aan een groot aantal stoffen is het niet uitgesloten, zeker wanneer blootstelling plaatsvindt op het niveau van het maximaal toelaatbare, dat een aantal stoffen een combinatiewerking vertonen, waardoor de kans op een effect toeneemt. In het beleid wordt hiermee rekening gehouden door de introductie van een extra veiligheidsfactor in de vaststelling van het verwaarloosbaar niveau van waar mogelijk in principe 1% van het maximaal toelaatbaar niveau'.*

Door het streven naar een verwaarloosbaar risico wordt als het ware een extra veiligheidsfactor voor combinatiewerkingen geïntroduceerd: de combi-factor van 100.



Bij brief (6) heeft de minister van VROM aangegeven te zullen bezien in hoeverre de factor 100 tussen het maximaal toelaatbare en het verwaarloosbare risiconiveau kan worden gedifferentieerd. Hierbij werd vermeld dat rekening gehouden zou worden met de natuurlijke achtergrondconcentraties. Een voorstel tot differentiatie is voor de ecotoxicologie nader uitgewerkt (7). Met name in het bodembeleid leidt het strak hanteren van de factor 100 tussen MTR en VR tot dusdanig lage streefwaarden, dat een groot gedeelte van de Nederlandse bodem als verontreinigd beschouwd zou moeten worden. Het voorstel voor differentiatie van de factor 100 in de ecotoxicologie behelst onder andere het toepassen van variabele extrapolatie-/onzekerheids-/veiligheidsfactoren, waarbij de beschikbaarheid en de betrouwbaarheid van gegevens een belangrijke rol in speelt. Voor stoffen waarvoor onvoldoende kennis voorhanden is, en voor narcotiserende stoffen vormde een factor 100 het uitgangspunt. Voor specifiek werkende stoffen alsmede voor groepen stoffen waarvoor de combinatiewerking al in de risicolimiet is opgenomen, werd een factor 10 tussen MTR en VR voorgesteld. Voor zware metalen werd vooralsnog uitgegaan van het achtergrondgehalte.

Het voorstel voor differentiatie van de factor 100 voor de ecotoxicologie werd voorgelegd aan de Gezondheidsraad. In een adviesrapport betreffende Integrale Normstelling Stoffen (8) merkte de Raad op dat de keuze van de veiligheidsfactor tussen MTR en VR geheel beleidsmatig is en veelal niet empirisch kan worden onderbouwd. Op wetenschappelijke gronden is deze beleidsmatige factor dan ook niet te differentiëren. De GR verwachtte dat door het gebrek aan kennis over werkingsmechanismen een groepsgewijze benadering alleen voor een zeer beperkt aantal stoffen mogelijk zal zijn. Bovendien wees de commissie erop dat in een dergelijke benadering de combinatiewerking tussen verschillende groepen nog niet verdisconteerd was.

Vanwege de grote onzekerheden over combinatiewerkingen van stoffen en de reactie van de Gezondheidsraad op het voorgelegde voorstel zijn vooralsnog geen wijzigingen aangebracht in de bandbreedte tussen MTR en VR voor de ecotoxicologie.

Het huidige rapport geeft een overzicht van de normstellingsprocedure, algemene principes rond de combinatiewerkingen van stoffen en de mogelijkheden om beleidsmatig met de problematiek rond mengseltoxicologie om te kunnen gaan. Vervolgens wordt de veiligheidsfactor van 100 voor drempelwaarde stoffen in de humane toxicologie geëvalueerd.

## 2. DE NORMSTELLINGSPROCEDURE VOOR STOFFEN (HUMAAN)

In de risicobeoordeling van stoffen wordt een onderscheid gemaakt in stoffen met en stoffen zonder een drempelwaarde. Bij stoffen zonder een drempelwaarde wordt uitgegaan dat het effect dat wordt bewerkstelligd het gevolg is van een stochastisch proces. Het betreft in dit geval genotoxisch carcinogenen, waarbij het uiteindelijke effect (kanker) wordt gelijkgesteld aan sterfte. In OmR wordt het maximaal toelaatbare risiconiveau (MTR) gelijkgesteld aan  $10^{-6}$ /jaar. Het verwaarloosbare risiconiveau ligt een factor 100 lager en is  $10^{-8}$ /jaar (2).

Voor drempelwaarde-stoffen is het MTR gelijkgesteld aan advieswaarden zoals die voor een chronische blootstelling worden afgeleid. Kort gezegd komt het erop neer dat uit dierexperimenteel onderzoek een No-observed-adverse-effect-level (NOAEL) voor chronische blootstelling wordt afgeleid. Vervolgens worden onzekerheidsfactoren voor inter- en intraspecies extrapolatie toegepast. Door vermenigvuldiging van de default factoren van 10 voor de afzonderlijke extrapolaties, wordt in het algemeen een factor 100 toegepast om de chronische dierexperimenteel bepaalde NOAEL te extrapoleren naar de NAEL voor de meest gevoelige mens. De normstellingsprocedure wordt schematisch weergegeven in Fig. 1. Is geen chronische NOAEL voorhanden, dan kan een subchronische NOAEL of een chronische LOAEL (lowest-observed-adverse-effect-level) worden geëxtrapoleerd naar een chronische NOAEL. Fig. 2 geeft de onzekerheidsfactoren weer zoals deze voor drempelwaarde-stoffen in het algemeen worden toegepast. De met behulp van onzekerheidsfactoren geschatte NAEL<sub>humanaan</sub> is de advieswaarde (bv. ADI, TDI) c.q. het MTR. Het Ministerie van VROM definieert vervolgens het VR als 1% van het MTR.

Voor het totaal aan niet-drempelwaarde-stoffen wordt uitgegaan van een MTR dat een factor 10 hoger ligt dan het MTR van de individuele stof. Het bijbehorende VR ligt een factor 100 onder dit 'overall' MTR. Deze gedachtengang past in het 'bron-gerichte' denken, dat een onderscheid maakt in het risico per bron en in het risico voor alle bronnen tezamen. In OmR strekt een dergelijke benadering voor 'cumulatielimieten' zich uit over verschillende beleidsterreinen. De cumulatielimiet van  $10^{-5}$ /jaar is gelijk aan die voor grote ongevallen en voor de blootstelling aan straling.

Voor drempelwaarde-stoffen wordt echter een dergelijke methode niet gehanteerd. De notitie OmR zegt hierover: *'Gelet op de grote verscheidenheid aan effecten is het nog niet mogelijk een risicogrens voor de cumulatie van alle stoffen met een drempelwaarde aan te geven. In de beleidsvoering wordt waar mogelijk met deze cumulatie rekening gehouden.'*

Het beleidsdocument OmR hanteert dus twee soorten 'cumulaties', namelijk die van drempelwaarde-stoffen en van niet-drempelwaarde-stoffen. In geval van niet-drempelwaarde-stoffen is er altijd sprake van een effect. Er kan daarom beleidsmatig een bovengrens (zijnde  $10^{-5}$ /jaar) worden aangegeven voor het totaaleffect dat optreedt door blootstelling aan een groot aantal stoffen. Voor drempelwaarde-stoffen geldt op het niveau van de MTR er geen effecten aanwezig zijn. Het stellen van een bovengrens aan het totaaleffect bij blootstelling aan meerdere stoffen is dus onmogelijk. In geval van drempelwaarde-stoffen is mogelijk daarom de beleidskeuze gemaakt om combinatie-toxiciteit te reguleren op het niveau van de afzonderlijke stof.

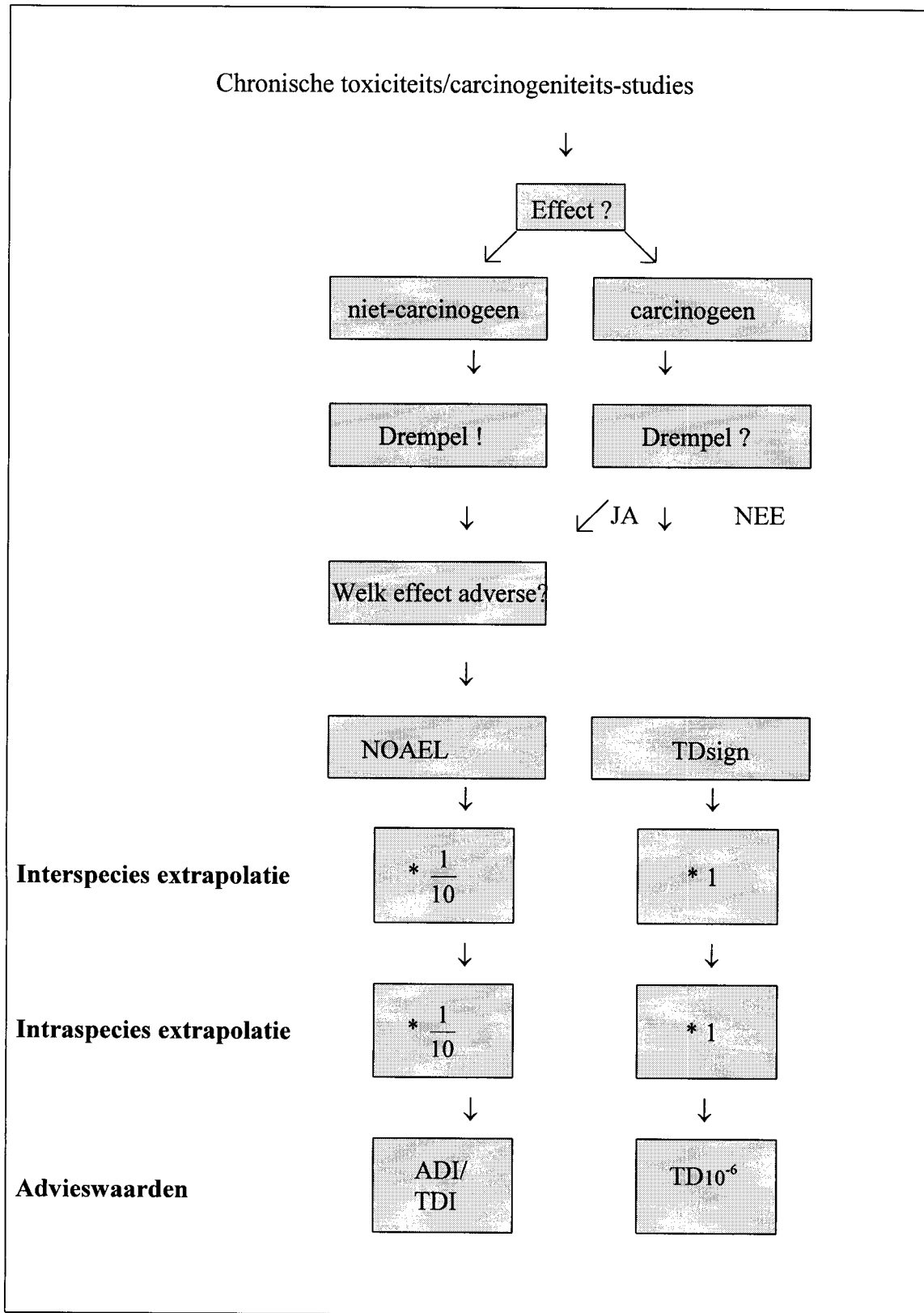


Fig. 1 Normstellingsprocedures voor drempelwaarde en niet-drempelwaarde-stoffen

$$ADI / TDI = \frac{\text{chronische NOAEL}}{UF_1 * UF_2} = \frac{\text{semichronische NOAEL}}{UF_1 * UF_2 * UF_3} = \frac{\text{chronische LOAEL}}{UF_1 * UF_2 * UF_4}$$

waarbij:

	extrapolatiestap	default
UF <sub>1</sub>	interspecies (van dier naar mens)	10
UF <sub>2</sub>	intraspecies (binnen de humane populatie)	10
UF <sub>3</sub>	van subchronisch naar chronisch	10
UF <sub>4</sub>	van LOAEL naar NOAEL	10

Fig. 2 Toepassing van onzekerheidsfactoren (uncertainty factors, UF) bij de afleiding van advieswaarden (ADI/TDI).

De factor 100 tussen MTR en VR wordt bij drempelwaarde-stoffen aangewend als buffer voor de combinatiewerkingen. De gedachtengang hierbij is dat voor drempelwaarde-stoffen de dosis-effect curve in het algemeen niet-lineair is. Een verhoging van de dosis zal vaak leiden tot een meer dan evenredige verhoging van het effect, en dus van het risico. De beleidsbeslissingen die zijn genomen ten aanzien van drempelwaarde en niet-drempelwaarde-stoffen leiden echter tot een duidelijke tweespalt in risico-acceptatieniveaus.

Behalve de verschillen in de benadering van drempelwaarde-stoffen en niet-drempelwaarde-stoffen met betrekking tot risico-acceptatie van cumulaties binnen het milieubeleid, verdienen ook de verschillen tussen de Ministeries VWS en VROM ten aanzien van de risicolimieten de aandacht.

Voor niet-drempelwaarde-stoffen (genotoxische carcinogenen) gaat het Ministerie van VROM uit van een MTR van  $10^{-6}$ /jaar, oftewel van 1 sterfgeval ten gevolge van blootstelling aan een stof per 1,000,000 inwoners per jaar. Uitgaande van een levensduur van 100 jaar is dit vergelijkbaar met een risico van '10<sup>-4</sup> per leven'. Het VR is gelijk aan  $10^{-8}$ /jaar, oftewel '10<sup>-6</sup> per leven'. Dit VR komt overeen met het  $10^{-6}$  risico bij levenslange blootstelling dat door het Ministerie van VWS wordt gehanteerd. Ook internationaal wordt het risico van  $10^{-6}$  per leven veelvuldig gehanteerd; in de VS wordt het  $10^{-6}$  per leven risico aangeduid als de 'virtually safe dose'. Dus terwijl VWS de risicolimiet van het  $10^{-6}$  per leven hanteert, is dit de risicolimiet waarnaar VROM streeft.

Daarentegen is het beleid van VROM voor drempelwaarde-stoffen en dus ook drempelwaarde carcinogenen weer strenger dan VWS, aangezien hier, in principe, wordt gestreefd naar een verwaarloosbaar risico, dat een factor 100 onder de VWS norm ligt. Een mogelijke verklaring hiervoor zou zijn dat de risicobenadering bij VWS vooral wordt toegepast voor stoffen die bewust aan de voeding worden toegevoegd, zodat hogere concentraties vermeden kunnen worden.

In Tabel 1 zijn de verschillen in risico-acceptatie tussen VWS en VROM op een rijtje gezet.

*Tabel 1. Overzicht advieswaarden VWS en VROM bij levenslange blootstelling:*

	DREMPEL		GEEN DREMPEL	
<b>VWS</b>				
ENKELE STOF	ADI/TDI			$10^{-6}$ per leven
STOFFEN TOTAAL	-			-
<b>VROM</b>	MTR	VR	MTR	VR
ENKELE STOF	TDI	TDI/100	$10^{-4}$ per leven	$10^{-6}$ per leven
STOFFEN TOTAAL	-	-	$10^{-3}$ per leven	$10^{-5}$ per leven

MTR = Maximaal toelaatbaar risico; VR = Verwaarloosbaar risico;  
 ADI = Aanvaardbare dagelijkse inname; TDI = Toelaatbare dagelijkse inname

### 3. TOXICOLOGIE VAN MENGSELS

#### 3.1 Alles is een mengsel

Hoewel de normering van stoffen geschiedt op basis van informatie van de effecten van afzonderlijke stoffen, is er altijd sprake van blootstelling aan mengsels. De voeding bevat behalve een grote variëteit aan nutriënten ook verschillende andere stoffen zoals additieven, residuen en natuurlijke toxines. Ook de lucht en het (drink)water zijn te beschouwen als zeer complexe mengsels waarvan de samenstellende componenten variëren in aantal, identiteit en absolute en relatieve concentraties. Goed beschouwd zijn ook toxiciteitsproeven waarbij de effecten van een enkele stof in een proefdier worden bestudeerd, in wezen experimenten met mengsels van stoffen waarbij de 'basismengsels' zoveel mogelijk worden gestandaardiseerd.

Behalve externe factoren (blootstelling aan verschillende stoffen) spelen ook interne factoren een belangrijke rol in de toxiciteit van een stof. Te denken valt hierbij aan hormonale factoren, deficiënties aan vitaminen en mineralen of metabolische deficiënties. Er is dus op alle niveaus sprake van mengsels en mengseleffecten.

#### 3.2 Simpele en complexe mengsels

In de mengseltoxicologie zijn verschillende aspecten van belang. Bepalend voor de toxiciteit is als eerste de samenstelling van het mengsel. Als de precieze samenstelling van het mengsel bekend is, dan spreekt men van gedefiniëerde mengsels. Vaak zijn dit relatief simpele mengsels, dat wil zeggen dat het aantal mengselcomponenten beperkt is. Studies in de toxicologie die worden uitgevoerd met simpele, gedefiniëerde mengsels hebben in het algemeen als doel een uitspraak te doen over de mengseltoxiciteit en (vermeende) interacties tussen de stoffen. De complexiteit van de proeven neemt echter exponentieel toe met het aantal stoffen. Uitgaande van slechts 1 dosisniveau en alle mogelijke combinaties, omvat een experiment met 2 stoffen 3 testgroepen ( $2^2-1$ ), met 3 stoffen 7 testgroepen ( $2^3-1$ ) en met 4 stoffen 15 testgroepen ( $2^4-1$ ). Om een uitspraak te kunnen doen over vermeende interacties in een mengsel, worden de afzonderlijke stoffen op meerdere dosisniveaus getest. Een experiment met 2 stoffen, 3 doseringen per stof en 1 combinatie-dosering omvat al 7 testgroepen, in geval van 3 stoffen zijn dit er 13. Bovenstaande voorbeelden houden nog geen rekening met eventuele variaties in doseringen van het mengsel of met variaties in de relatieve verhoudingen van de mengselcomponenten.

De sterke toename in complexiteit en de hiermee samenhangende praktische, economische en ethische bezwaren hebben ertoe geleid dat in het verleden de meeste mengselexperimenten zijn uitgevoerd met 2 stoffen (binaire mengsels). Het gebruik van statistische 'designs' (factoriële designs, ray designs) waarbij niet alle mogelijke combinaties van stoffen worden getest, maakt het uitvoeren van meer complexere mengselexperimenten mogelijk.

In tegenstelling tot gedefiniëerde mengsels, is van complexe mengsels de precieze samenstelling niet bekend. Complexe mengsels kunnen uit tientallen of honderden

stoffen bestaan en kunnen afkomstig zijn uit eenzelfde bron of van verschillende bronnen. De componenten van mengsels afkomstig uit eenzelfde bron zijn vaak chemisch en toxicologisch aan elkaar verwant. Soms zijn de bestudeerde complexe mengsels vanuit epidemiologisch onderzoek al aangemerkt vanwege effecten op de volksgezondheid, zoals mengsels van polycyclische koolwaterstoffen (PAKs) en diesel emissies.

Toxiciteitsstudies met complexe mengsels richten zich op het karakteriseren van de toxiciteit van het mengsel als geheel. Dergelijke experimenten die als case-studies kunnen worden beschouwd, hebben echter de beperking dat door de slechte reproduceerbaarheid van de mengsels geen mengsel hetzelfde is, zelfs niet als ze van dezelfde bron afkomstig zijn. Elke studie wordt per definitie met een, weliswaar vergelijkbaar, maar verschillend mengsel uitgevoerd. Bovendien zijn door een bron geëmitteerde mengsels slechts relevant voor de toxiciteitsbeoordeling indien directe blootstelling van de mens plaatsvindt. Bij indirecte blootstelling, bv. via de voedselketen, vindt zowel biotische als abiotische filtering plaats die de samenstelling van het mengsel ingrijpend kunnen veranderen.

Door de slechte mengselkarakterisatie zijn toxiciteitsstudies met complexe mengsels ongeschikt om de toxiciteit van het mengsel te verklaren of te voorspellen op grond van de bekende mengselcomponenten. De mogelijkheid bestaat dat in de onbekende fractie toxische componenten aanwezig zijn die zeer toxisch zijn bij lage concentraties.

*Tabel 2 Definities van mengsels*

Mengsel:	elke combinatie van twee of meer stoffen.
Simpel, gedefinieerd mengsel:	een mengsel van twee of meer stoffen, maar dusdanig beperkt in aantal dat de mengseltoxiciteit kan worden geschat op basis van het combineren van de afzonderlijke stoffen. In het algemeen bestaat een simpel mengsel uit 2-10 stoffen.
Complex mengsel:	Een mengsel van een ongedefinieerd aantal stoffen die kunnen variëren in samenstelling en concentratie.
Vergelijkbare mengsels:	mengsels met een vergelijkbare samenstelling van individuele componenten maar met iets verschillende ratio's of mengsels met een iets afwijkend aantal stoffen maar wel met de individuele stoffen in vergelijkbare ratio's.

### 3.3 Factoren die de toxiciteit van mengsels beïnvloeden

Behalve de samenstelling van het mengsel, zijn ook de blootstellingsroute (oraal, inhalatoir, dermaal etc.), de manier van doseren (intubatie, dieet) en het dragermateriaal (olie, water) bepalend voor de toxiciteit van een mengsel. Verder speelt het tijdsaspect een belangrijke rol. De toxiciteit bij gelijktijdige (simultane) dosering kan verschillen van de toxiciteit optredend als de stoffen na elkaar worden gedoseerd (sequentiële dosering). De volgorde van dosering, de tijd tussen doseringen, het dosistempo en de duur van de dosering hebben alle invloed op de uiteindelijke toxiciteit.

In het mengsel kunnen stoffen onderling chemische interacties vertonen. Deze interacties die de chemische en fysische eigenschappen van een mengsel veranderen, kunnen zowel voor als na blootstelling optreden. Een voorbeeld van interactie voor de blootstelling, is de vorming van fotochemische smog door de interactie van stikstofoxiden met zonlicht, zuurstof en vluchtige koolwaterstoffen. De toxiciteit van het gevormde produkt bepaalt in zo'n geval de toxiciteit van het mengsel. Ook in het lichaam kunnen (niet-metabole) chemische interacties tussen stoffen optreden. Voorbeelden hiervan zijn de chelatie van metalen, de adsorptie van deeltjes aan actieve kool en de vorming van nitrosoaminen uit nitriet en secundaire amines in de maag.

Behalve dergelijke chemische interacties, kan een stof ook door biologische interacties de toxiciteit van een andere stof beïnvloeden. Dit kan doordat de ene stof de *toxicokinetiek* (absorptie, distributie, metabolisme of excretie) van de andere stof verandert. Hierbij wordt ingegrepen op de biobeschikbaarheid van een stof, terwijl de toxische potentie van deze stof niet verandert. Veranderde absorptie kan bijvoorbeeld het gevolg zijn van een verhoogde of verlaagde permeabiliteit of een veranderde motiliteit van het maagdarmkanaal. De competitie voor binding aan plasma-eiwitten kan de distributie van een stof beïnvloeden. Door de activiteit van metabole processen te verhogen of te verlagen of door competitie voor enzymen, kan de toxiciteit worden veranderd. Veranderingen in de excretiesnelheid door bijvoorbeeld verandering van de zuurgraad van urine, heeft invloed op de plasmahalfwaardetijd en dus op de toxiciteit.

Behalve de toxicokinetiek kan een stof ook ingrijpen op *toxicodynamie* van een andere stof en hiermee de toxische potentie van een stof veranderen. In geval van carcinogenen is de toxiciteit sterk afhankelijk van promotoren en cocarcinogenen. Is de toxiciteit van een stof sterk afhankelijk van de vorming van een bepaald toxisch metaboliet, dan kan inductie of remming van bepaalde enzymen leiden tot een veranderde toxiciteit. In geval van een tegengestelde functionele actie zal de binding van de ene stof agonistisch werken op het effect van de andere stof. Behalve door het vormen van reversibele of irreversibele complexen van de stof of zijn metaboliet met verschillende celcomponenten (zoals membraaneiwitten, enzymen, nucleïnezuren), kunnen ook veranderingen in bijvoorbeeld de redox potentiaal of de pH bijdragen aan veranderde toxiciteit. Verder is het mogelijk dat stoffen via radicaalvorming de oxydatie van andere stoffen beïnvloeden. Ook kan de combinatietoxiciteit van stoffen het gevolg zijn van een depletie van co-factoren.



Het moge duidelijk zijn dat het grote aantal stoffen en werkingsmechanismen en de grote verscheidenheid aan 'soorten' interacties een ernstige beperking vormen voor het opstellen van algemene stelregels voor de combinatiewerking van stoffen. Het feit dat een stof altijd meerdere toxische eindpunten heeft, maakt het moeilijk om zelfs voor dezelfde stoffen een algemene uitspraak over de combinatiewerking te doen. Zo kan het combineren van twee stoffen leiden tot een toename van toxiciteit in het ene orgaansysteem en een afname van toxiciteit in een ander orgaansysteem.

#### 4. ALGEMENE THEORIEËN EN BEGRIPPEN IN DE COMBINATIE-TOXICOLOGIE

Voor het beschrijven van de gecombineerde werking van stoffen wordt een groot aantal begrippen gehanteerd. Hierbij worden enerzijds soms meerdere aanduidingen voor hetzelfde fenomeen gebruikt en anderzijds meerdere fenomenen door dezelfde aanduiding beschreven. Een en ander is terug te voeren op het feit dat vanuit verschillende disciplines (farmacologie, toxicologie, statistiek, epidemiologie, radiobiologie) en vanuit verschillende theorieën wordt getracht de effecten van combinaties van stoffen te beschrijven (9). De niet eenduidig gehanteerde terminologie bemoeilijkt een onderlinge vergelijking van studies en studieresultaten. De laatste tijd wordt dan ook de roep om een harmonisatie van terminologie steeds sterker. Tijdens de in 1995 gehouden 'European Conference on Combination Toxicology' te Veldhoven, werd aangedrongen op de formatie van een internationaal panel dat zich hierover zou buigen.

De wisselende terminologie maakt het al moeilijk om verschillende studies op een kwalitatieve manier met elkaar te vergelijken. Het bepalen van de kwantitatieve relevantie van toxicologische interacties is zelfs nog moeilijker. Een kwantitatieve uitspraak over de mate van interactie is alleen mogelijk als de dosis-effect relaties van de afzonderlijke stoffen en het mengsel bekend zijn en worden getoetst met behulp van een mathematisch model waarin interactie op een bepaalde manier kwantitatief gedefinieerd is. Het merendeel van de studies is echter niet ontworpen voor een kwantitatieve evaluatie van combinatie-toxiciteit.

Van groot belang is of een mengsel van stoffen een interactie vertoont, dat wil zeggen dat het gecombineerde effect van de stoffen groter of kleiner is dan op grond van de toxiciteit van de afzonderlijke stoffen verwacht zou worden. Studies uitgevoerd met mengsels van stoffen - veelal betreffen dit binaire mengsels - hebben bijna altijd een uitspraak over wel of niet vermeende interactie tussen de stoffen tot gevolg. Óf de gecombineerde werking van stoffen wordt gekenmerkt als een interactie, hangt echter altijd af van het referentiepunt, dat wil zeggen de definitie van 'geen-interactie' (de nulhypothese). Er is sprake van interactie als het effect van het mengsel significant afwijkend is van hetgeen op basis van de gemiddelde effecten van de afzonderlijke stoffen kan worden voorspeld. Bij een grote positieve afwijking van de nulhypothese wordt in de toxicologie vaak gesproken van 'synergisme'. Een negatieve afwijking van geen-interactie wordt in het algemeen betiteld als 'antagonisme'. Afhankelijk van de definitie van geen-interactie (bijvoorbeeld dosis- of effect-additie) kunnen dezelfde studieresultaten tot verschillende uitspraken leiden.

Duidelijke begrippenkaders voor de combinatiewerkingen tussen stoffen werden gegeven door Bliss (10) en in navolging hiervan, later door Hewlett en Plackett (11-15). Het onderstaande overzicht van mogelijke combinatiewerkingen gaat uit van het begrippenkader gehanteerd door Plackett & Hewlett (1952, (11)).

Plackett & Hewlett (11) hanteerden de volgende begrippen:

*Selectieve werking van een stof*

Een stof veroorzaakt een respons in een bepaald fysiologisch systeem van een organisme. Dit is de 'site of action'.

*Interactie:*

A en B vertonen een interactie als de aanwezigheid van A de hoeveelheid B op de B's site of action beïnvloedt of de effecten van B op B's site of action beïnvloedt, en/of vice versa.

*Gelijke werking:*

A en B hebben een gelijke werking als beiden eenzelfde fysiologisch systeem op vergelijkbare wijze beïnvloeden.

De gecombineerde werking van stoffen werd door Plackett & Hewlett onderscheiden in vier typen combinatiewerkingen. Deze zijn in Tabel 1 aangegeven.

*Tabel 3 Typering van combinatiewerkingen (naar Plackett & Hewlett, (11))*

	Interactie	Geen-interactie
Gelijke werking	Complex vergelijkbaar (Complex similar)	Simpel vergelijkbaar (Simple similar)
Niet-gelijke werking	Afhankelijk (Dependent)	Onafhankelijk (Independent)

Hoewel het schema van Hewlett en Plackett ogenschijnlijk helder is, is het een weergave van uitersten. Vaak zullen mechanismen gedeeltelijk vergelijkbaar zijn en ook interactie kan in verschillende gradaties optreden.

Bovendien is het schema beperkt in de verdere uitwerking. Alleen de situaties waarin de stoffen geen-interactie vertonen, zijn theoretisch verder uitgewerkt. "Simple similar action" wordt in H4.1 beschreven als het meer algemeen gehanteerde *dosis-additie (concentratie-additie)*, terwijl "simple independent action" wordt beschreven als *respons-additie (effect-additie, H4.2)*. Respons-additiviteit wordt gekarakteriseerd door een nul-correlatie ( $r = 0$ ) tussen twee toxicanten (10,16,17).

## 4.1. Dosis-additie

### 4.1.1 Het concept dosis-additie

*Dosis-additie* of, bij sommige blootstellingsroutes, *concentratie-additie* is het fenomeen dat de verschillende stoffen in een mengsel zich gedragen als ware het verdunningen van eenzelfde stof. Dosis-additie komt overeen met 'simple, similar action' zoals gehanteerd wordt door Finney (16), en Hewlett en Plackett (11-15). De aanname die aan dosis-additie ten grondslag ligt is dat de stoffen op vergelijkbare wijze op eenzelfde biologisch systeem werken. Hieruit volgt dat de variaties voor gevoeligheid voor de toxicanten als compleet positief gecorreleerd wordt verondersteld ( $r = 1$ ). De bijdrage van de stoffen aan de uiteindelijke respons is afhankelijk van de individuele potentie. Een belangrijke aanname hierbij is dat de relatieve potentie van de mengselcomponenten gelijk is bij de verschillende doseringsniveaus. Dosis-additie kan theoretisch gezien dus optreden bij alle dosisniveaus, óók bij dusdanig lage doseringen dat er geen effecten voor de afzonderlijke stoffen waarneembaar zijn. Door het optreden van dosis-additiviteit kunnen stoffen op doseringen die afzonderlijk niet tot effecten leiden, in een mengsel wel toxisch zijn.

Als criterium voor dosis-additie hanteerde Bliss (10) paralleliteit (gelijkvormigheid) van de dosis-effect curven op de log-dosis schaal. Parallele log dosis-effect curven weerspiegelen dosis-additie in zijn zuiverste vorm (simple similar action). Bliss (10), Finney (16) en Hewlett en Plackett (11) definieerden ook het ruimere begrip 'similar action', waarbij ruimte is voor imperfecte positieve correlaties ( $0 < r < 1$ ). Hierbij is het niet van belang of de afzonderlijke curven daadwerkelijk gelijkvormig zijn.

Het begrip dosis-additie wordt hieronder uitgewerkt uitgaande van een mengsel van stoffen 1 en 2. Veronderstel dat de probit respons van stof A ( $Y_1$ ) en stof B ( $Y_2$ ) bij dosis  $d_1$  en  $d_2$  worden weergegeven door:

$$Y(d_1) = 0.3 + 3 \log d_1$$

$$Y(d_2) = 1.2 + 3 \log d_2$$

Bij equitoxische doses, d.w.z.  $Y(D_1) = Y(D_2)$ , kan de relatieve potentie  $p$  van stof 2 t.o.v. stof 1 worden gedefinieerd als:

$$p = D_1/D_2$$

Op basis van dosis-additie wordt de totale respons weergegeven door:

$$Y(d_1, d_2) = 0.3 + 3 \log(d_1 + p d_2)$$

Een algemene formule voor dosis-additie is:

$$Y = a_1 + b \log(f_i + f_i p_i) + b \log Z$$

waarbij:

- $a_1$  = y-intercept van dosis-respons vergelijking stof 1
- $b$  = helling van dosis-respons lijn
- $f_i$  = proportie van  $i$ -de toxicant in het mengsel
- $p_i$  = potentie van  $i$ -de toxicant t.o.v. stof 1
- $Z$  = som van de individuele doses in het mengsel

#### 4.1.2 Isobologram: grafische weergave van dosis-additie

Een farmacologische manier om dosis-additie weer te geven is door het gebruik van lineaire isobolen (18-20). Een isobologram geeft de combinaties van doseringen van twee toxicanten weer die eenzelfde toxicologische respons geven. Door uit te gaan van iso-effect niveaus wordt het aantal variabelen (dosis stof 1, 2 en effect) gereduceerd van drie naar twee (dosis 1 en 2). Hierdoor is een tweedimensionale weergave mogelijk.

Onder de strikte formulering van dosis-additie, dat wil zeggen uitgaande van een complete positieve correlatie van toleranties (simple similar action), zijn deze isobologrammen parallelle rechte lijnen (zie Fig. 3a). Afhankelijk van waar het iso-effect niveau van de combinatie van twee stoffen zich bevindt, dan is er sprake van versterking (synergisme) dan wel verzwakking (antagonisme) van het effect (Fig 3b).

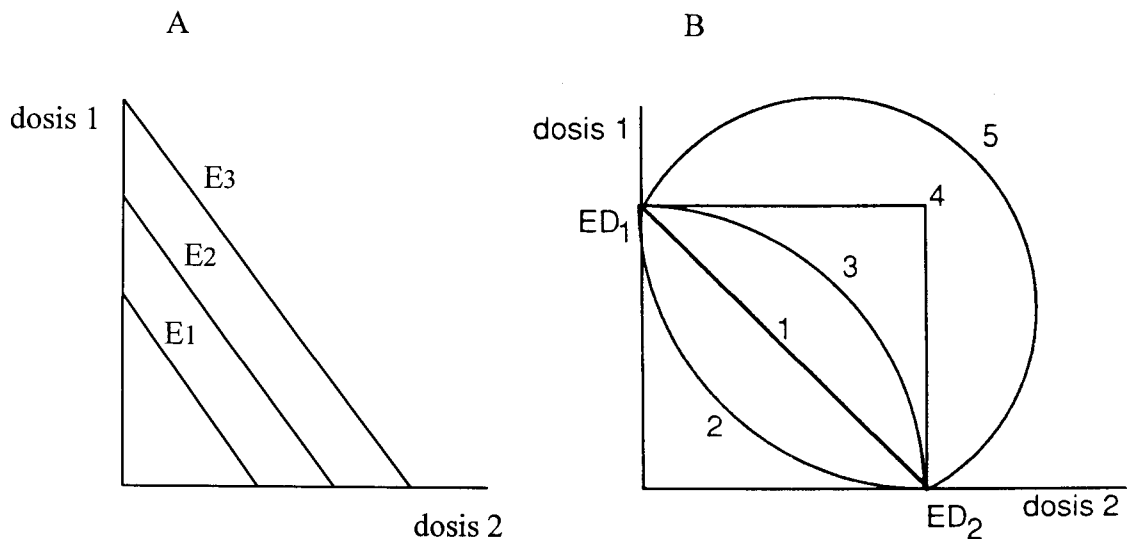


Fig. 3. Isobolen van twee stoffen. Uitgezet is de dosis van stof 1 nodig om een bepaald effect te bewerkstelligen als functie van de dosis van stof 2. Fig. 3A geeft dosis-additie weer bij verschillende effectniveaus (E1-3). De isobolen lopen parallel. Fig. 3B toont verschillende isobologrammen met 1 = dosis-additiviteit, 2 = synergisme, 3 = partiële additie, 4 = geen-additie, 5 = antagonisme.

In geval van een minder strikte hantering, dat wil zeggen  $0 < r < 1$  (similar action), kunnen niet-parallelle lineaire lijnen verkregen worden. Dit laatste is ook het geval bij de definitie van Ashford en Cobby (17) die uitgaan van dezelfde 'site of action' maar niet per se van dezelfde mode of action.

De isobolenmethode lijkt dus een eenvoudige, snelle methode voor het weergeven van dosis-additie. Voor de constructie van isobolen zijn echter veel gegevens benodigd. Allereerst dienen de dosis-respons relaties van de afzonderlijke stoffen te worden gekarakteriseerd. Vervolgens dient 'de' dosis-effect relatie van het mengsel te worden bepaald. Hierbij kan worden uitgegaan van een vaste ratio tussen de stoffen en een wisselende dosering van het mengsel. Ook kan voor een wisselende ratio (de ene stof constant en een wisselende concentratie van de andere stof) worden gekozen. Voor het bestuderen van de combinatiewerking van twee stoffen zal het aantal benodigde dieren al snel in de duizenden lopen (21). Dit aantal zal alleen maar stijgen als zowel simultane als sequentiële blootstelling wordt bestudeerd. Het gebruik van de isobolenmethode om additiviteit en interacties visueel te kunnen weergeven, is alleen mogelijk voor maximaal drie stoffen. In dit geval wordt een *vlak* van additiviteit in plaats van een *lijn* van additiviteit geconstrueerd.

Een uitbreiding van het isobolen-concept werd in 1969 gedaan door Hewlett (22). Uitgaande van de isobool probeerde hij de mate van interactie te kwantificeren ( $R = ON/OM$ , zie Fig. 4). Deze interactie-ratio is afhankelijk van de relatieve verhoudingen van de afzonderlijke stoffen in het mengsel.

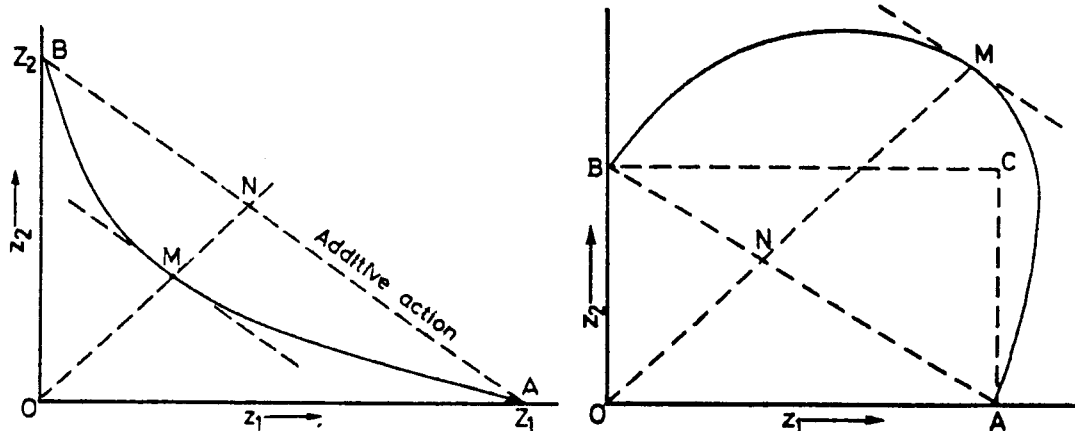


Fig. 4. De 'joint action ratio' volgens Hewlett (22). De joint action ratio is gedefinieerd als  $R = ON/OM$ , waarbij  $O$  de oorsprong is en  $N$  het punt waarbij  $OM$  of het verlengde van  $OM$  de lijn voor dosis-additiviteit snijdt. In geval van additiviteit geldt  $R = 1$ , bij synergisme  $R > 1$  en bij antagonisme  $R < 1$ .

## 4.2. Respons-additie

### 4.2.1 Het concept respons-additie

*Respons-additie* of *effect-additie* zijn termen die vergelijkbaar zijn met “independent action” zoals beschreven door Plackett en Hewlett (11). De gecombineerde werking van stoffen wordt verkregen door de responsen van de afzonderlijke stoffen te sommeren. Respons-additiviteit is gebaseerd op de aanname dat de afzonderlijke stoffen op geheel verschillende fysiologische systemen werken, of op hetzelfde fysiologische systeem werken maar functioneel onafhankelijk zijn. Stoffen zullen echter alleen additief werken als de afzonderlijke stoffen de tolerantie-drempel overschreden hebben. Dit wil zeggen dat de afzonderlijke stoffen alleen respons-additief werken als zij zelf al een effect bewerkstelligen.

Bliss (10) wees erop dat respons op blootstelling aan twee verschillende stoffen niet alleen afhankelijk is van de respons op de afzonderlijke stoffen, maar ook van de correlatie die bestaat tussen de individuele toleranties. Deze kan variëren van compleet positief ( $r = +1$ ) tot compleet negatief ( $r = -1$ ). In geval van een compleet positieve correlatie zal een individu dat het meest gevoelig is voor de ene stof, ook het meest gevoelig zijn voor de andere stof. Omgekeerd zal bij een compleet negatieve correlatie een individu dat het meest gevoelig is voor de ene stof, het minst gevoelig zijn voor de andere stof.

Respons-additie is het makkelijkste uit te werken in geval van dichotome gegevens. Als  $P_A$  de waarschijnlijkheid is van een effect ten gevolge van blootstelling aan A en  $P_B$  de waarschijnlijkheid van een effect ten gevolge van blootstelling aan stof B, dan zal de combinatie van A en B beschreven kunnen worden door:

$$\begin{aligned} P_{A+B} &= P_A + P_B(1 - P_A) & (r = 0) \\ &= P_A + P_B - P_A P_B \end{aligned}$$

Deze formule gaat uit van afwezigheid van correlatie tussen de gevoeligheden voor A en B, met andere woorden als  $r = 0$ .

In geval van een compleet negatieve correlatie geldt:

$$P_{A+B} = P_A + P_B \quad (r = -1)$$

terwijl in geval van een compleet positieve correlatie de respons op een mengsel van A en B zal worden bepaald door het meest toxische bestanddeel volgens:

$$\begin{aligned} P_{A+B} &= P_A \text{ als } P_A > P_B & (r = +1) \\ P_{A+B} &= P_B \text{ als } P_B > P_A \end{aligned}$$

De US-EPA hanteert respons-additie voor dichotome gegevens met een complete negatieve correlatie voor het schatten van kankerrisico's. (23). Aangezien de kankerrisico's worden geschat met behulp van proefdieren en de correlatie tussen

homogene proefdieren rond de nul zal liggen, is de aanname van een compleet negatieve correlatie te beschouwen als een conservatieve aanname.

#### 4.2.2 Effect-multiplicatie (respons-additie, $r = 0$ )

Bij effect-multiplicatie wordt het effect van het mengsel gelijkgesteld aan het produkt van de effecten van de afzonderlijke mengselcomponenten. In de radiobiologie wordt dit model gebruikt om de overlevingscurves te beschrijven. Uitgaande van overleving (survival)  $S(d_1)$  bij blootstelling aan stof 1 en  $S(d_2)$  bij blootstelling aan stof 2, wordt de overleving na blootstelling aan het mengsel beschreven als:

$$S(d_1, d_2) = S(d_1) * S(d_2)$$

Hoewel bovenstaande mogelijk de indruk wekt een ander model voor de gecombineerde werking van stoffen te zijn, is effect-multiplicatie in wezen hetzelfde als respons-additie met  $r = 0$ .

Als  $S$  = survival en  $P$  = de kans op sterfte door blootstelling, dan geldt:

$$S = 1 - P$$

$$\begin{aligned} S(d_1, d_2) &= S(d_1) * S(d_2) \\ &= (1 - P_1) * (1 - P_2) \\ &= 1 - P_1 - P_2 + P_1 P_2 \end{aligned}$$

Aangezien onder respons-additie ( $r = 0$ ) geldt:

$$P_{1+2} = P_1 + P_2 - P_1 P_2$$

is:

$$\begin{aligned} S(d_1, d_2) &= S(d_1) * S(d_2) \\ &= 1 - P_{1+2} \end{aligned}$$

#### 4.2.3 Een algemene formule voor geen-interactie (respons-additie)

Zoals bovenstaand is aangegeven is de effect-multiplicatieregels identiek aan respons-additie voor  $r = 0$ . Hierbij gaat het uitsluitend om een dichotome respons. Een formule voor geen-interactie die voor responsen met  $r = 0$  in het algemeen geldt, is afgeleid door Lam (24). Hierbij is uitgegaan van begrenzings van effect. Hoe deze begrenzings zijn gedefinieerd, is afhankelijk van het bestudeerde testsysteem. Hierdoor is het mogelijk om met behulp van dezelfde basisformule verschillende andere 'bekende' formules af te leiden.

De basisformule is als volgt gedefinieerd:



$$E_{12} = \frac{E_{\infty}(E_1 + E_2 - E_0) - E_1E_2}{E_{\infty} - E_0}$$

waarbij:

$E_{12}$  = het effect ten gevolge van blootstelling aan stof 1 en stof 2, ofwel:

$$E_{12} = E(D_1, D_2)$$

$E_{\infty}$  = het maximale effect

$E_0$  = het effect in afwezigheid van stof 1 en 2

Hoe  $E_{\infty}$  en  $E_0$  zijn gedefinieerd, is afhankelijk van het bestudeerde testsysteem. Als het effect wordt gemeten als fractioneel voorkomen in een populatie (b.v. mutagenese en carcinogenese), dan geldt:  $E_{\infty} = 1$ , en  $E_0 = 0$ . Substitutie in de formule en notatie van  $E_1$ ,  $E_2$  en  $E_{12}$  als respectievelijk  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_{12}$  geeft:

$$P_{12} = \frac{1(P_1 + P_2 - 0) - P_1P_2}{1 - 0} = P_1 + P_2 - P_1P_2$$

In geval van overlevingscurves, is  $E_{\infty} = 0$ , en  $E_0 = 1$ . Notatie van  $E_1$ ,  $E_2$  en  $E_{12}$  als respectievelijk  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_{12}$  geeft:

$$S_{12} = \frac{0 - S_1S_2}{0 - 1} = S_1S_2$$

Als het effect wordt weergegeven als opbrengst van een produkt per eenheid test populatie, met een maximum opbrengst van  $Y_{\max}$ , dan geldt:

$$Y_{12} = \frac{Y_{\max}(Y_1 + Y_2 - 0) - Y_1Y_2}{Y_{\max} - 0} = Y_1 + Y_2 - \frac{Y_1Y_2}{Y_{\max}}$$

waarbij  $E_1$ ,  $E_2$  en  $E_{12}$  als respectievelijk  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_{12}$  zijn genoteerd.

Als  $Y_1$  en  $Y_2$  klein zijn ten opzichte van  $Y_{\max}$ , dan geldt:

$$Y_{12} \approx Y_1 + Y_2$$

Bij hoge doseringen zullen  $Y_1$  en  $Y_2$  echter niet klein zijn t.o.v.  $Y_{\max}$  en zal de combinatiewerking afwijken van additiviteit.

### 4.3 Additiviteits-envelop

De additiviteits-envelop (19,25) wordt begrensd door twee soorten van additiviteit, nl. iso-additiviteit (dosis-additiviteit) en hetero-additiviteit (respons-additiviteit). Als van twee stoffen wordt verwacht dat ze op enige wijze additief werken, maar onzeker is op welke manier, dan zou het effect van de combinatie zich in de additiviteits-envelop

moeten liggen. De relatieve ligging ten opzichte van de dosis-additieve en respons-additieve lijn is indicatief voor het soort additiviteit (Fig. 5).

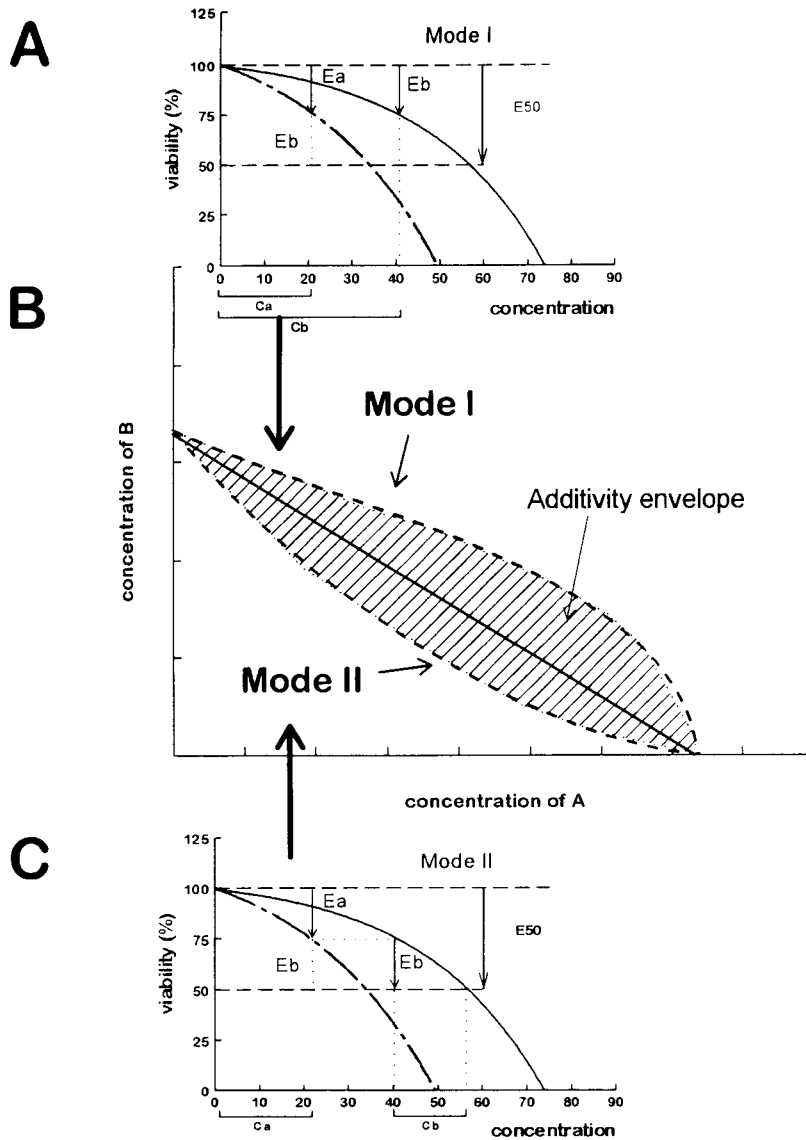


Fig. 5. Opbouw van de additiviteits-envelop (panel B). De additiviteitsenvelop wordt begrensd door respons-additiviteit (panel A) en dosis-additiviteit (panel C). In de additiviteitsenvelop liggen de combinaties van stof A en B waarbij geen-interactie kan worden verondersteld. Naar (26), uit (27).

#### 4.4 Interactie

Voor de begrippen dosis-additie en respons-additie, zijn er dus conceptuele uitwerkingen. Vertoont een combinatie van stoffen een effect dat afwijkt van de nul-hypothese 'geen-interactie', dan spreekt men van een *interactie*. De benoeming van 'interactie' is hierbij afhankelijk van de precieze definitie van de nul-hypothese. Gaat men uit van dosis-additie en respons-additie in hun zuiverste vorm, of staat men ook imperfecte correlaties van toleranties toe?

Het dient duidelijk te zijn welke hypothese wordt getoetst. Als slechts één model van additiviteit wordt getoetst, dan kan dit tot verkeerde conclusies leiden. Stel dat twee stoffen in werkelijkheid dosis-additief werken en de combinatie wordt getest met als hypothese respons-additiviteit. Afhankelijk van de vorm van de curve zal geconcludeerd worden dat er sprake is van synergisme of antagonisme. Dit geldt ook voor het omgekeerde geval: de hypothese dosis-additiviteit op een combinatie van stoffen die respons-additief werken. Het is echter de vraag of de kwaliteit van de gegevens een statistisch onderscheid tussen deze twee vormen van additiviteit toestaat. In geval van lineaire dosis-respons curven is er geen onderscheid tussen dosis-additiviteit en respons-additiviteit.

Het is beter om op grond van biologische overwegingen een duidelijke keus te maken tussen respons- en dosis-additiviteit. Het aanvaarden van het concept dosis-additiviteit impliceert dat doseringen onder het 'geen-adverse-effect-niveau' bij kunnen dragen aan de toxiciteit van het mengsel. In geval van respons-additiviteit is deze mogelijkheid afwezig.

#### Terminologie

De nomenclatuur die rond het begrip interactie wordt gehanteerd is zeer divers. Verschillende auteurs gaan ervan uit dat interactie wordt gekarakteriseerd doordat de ene stof de biologische actie van de andere stof verandert ((10), (12), (28)). Het nader karakteriseren van de interactie leidt tot een scala van mogelijkheden die verschillend kunnen worden benoemd.

Zo reserveert Hewlett (22) de term *synergisme* om het versterkende effect te beschrijven voor de situatie dat één van de mengselcomponenten de toxiciteit veroorzaakt en gebruikt hij de term *potentiering* voor situaties waarbij twee individueel actieve componenten elkaars toxiciteit versterken. Een remmend effect duidt hij in beide situaties aan als *antagonisme*. Andere auteurs hanteren voor dezelfde situaties weer andere termen. Zo kan het zijn dat wat de één aanduidt als synergistisch, door de ander wordt bestempeld als potentiering.

Onderstaand schema geeft een indeling van begrippen weer zoals die door onderzoekers wordt gehanteerd om verschillende vormen van combinatiewerking aan te duiden.

Tabel 4 Termen voor combinatie-werkingen

<i>geen-interactie</i>		
zero-interaction	concentration/dosis addition	response addition
summation	similar action	independence
addition	iso-addition	hetero-addition
		respons multiplication
<i>interactie</i>		
<i>versterkend</i>		<i>verzwakkend</i>
synergism		antagonism
potentiation		inhibition
enhancement		attenuation
supra-addition		infra-addition

## 5. COMBINATIE-TOXICOLOGIE IN HET LAGE-DOSISGEBIED

In hoofdstuk 4 zijn een aantal belangrijke concepten in de combinatie-toxicologie behandeld, nl.: dosis-additiviteit en respons-additiviteit. Elke afwijking van additiviteit is gedefinieerd als zijnde een interactie.

Interacties tussen stoffen kunnen de mengseltoxiciteit versterken (potentiëring, synergisme) of verzwakken (antagonisme). Het is echter opvallend dat gerapporteerde interacties tussen stoffen, in het algemeen worden waargenomen in het *hoge-dosisgebied*, dat wil zeggen op doseringsniveaus waarbij de afzonderlijke stoffen al tot effecten leiden. Dit is zeker het geval in de farmacologie, waar elk farmacon al tot toxicologische/farmacologische effecten leidt en waar de combinatie met andere farmaca of andere stoffen vaak tot interacties leiden. Een bekend voorbeeld is de consumptie van alcohol die de toxiciteit en/of de farmacologische werking van farmaca kan modifieren.

Ook in de toxicologie wordt interactie in het algemeen aangetoond bij doseringen die (ver) boven de geen-effect niveaus van de individuele stoffen liggen. In sommige takken van de toxicologie wordt van het combinatie-effect handig gebruik gemaakt, bijvoorbeeld bij de ontwikkeling van effectieve insecticiden ‘cocktails’ zoals het gebruik van pyrethroiden met metabolisme-remmers. In andere takken van de toxicologie vormen interacties echter een bron van zorg. In geval van verontreinigende grond (bodemsanering) kunnen verschillende stoffen in relatief hoge concentraties voorkomen. Een complicerende factor bij ‘bodem-toxicologie’ is bovendien dat de biobeschikbaarheid van de stoffen sterk afhankelijk is van bijvoorbeeld de samenstelling en zuurgraad van de bodem.

Het gros van de milieucontaminanten die de mens bereiken, komt in lage concentraties voor. Het gehanteerde preventieve beleid (normstelling) waarborgt in grote mate dat stoffen slechts in het lage-dosisgebied voorkomen. Immers, als de blootstelling aan een stof boven de norm uitstijgt dan worden maatregelen getroffen om deze blootstelling omlaag te brengen. Voor stoffen die in zulke lage concentraties voorkomen is het de vraag of interacties tussen stoffen te verwachten zijn.

Interacties tussen stoffen treden vaak op doordat toxicokinetische en toxicodynamische processen verzadigd zijn. Zo berust de interactie tussen ethanol en methanol op competitie voor het enzym alcohol dehydrogenase. Door inname van ethanol wordt de omzetting van methanol in de toxische metabooliet formaldehyde geremd en wordt methanol onveranderd uitgedemd en uitgescheiden in de urine. Bij een lage receptorbezetting zal ethanol de toxiciteit van methanol niet voldoende door competitie beïnvloeden. Interacties die optreden in het hoge-dosisgebied zullen dus niet vaak ook optreden in het lage-dosisgebied.

Gezien het feit dat interacties vooral bij hogere doseringen optreden, zouden we kunnen spreken van het bestaan van een ‘interactie-drempel’. Enkele mogelijke uitzonderingen daargelaten, lijkt het onwaarschijnlijk dat deze interactie-drempel al wordt overschreden bij de lage doseringen rond de norm. De norm geeft immers het geschatte geen-effect-niveau bij de gevoelige mens weer (zie hoofdstuk 2). Hoewel door de gevolgde normstellingsprocedure effecten op of onder de norm niet uit te

sluiten zijn, kunnen we aannemen dat op het niveau van de norm als regel geen effecten zullen optreden. Gezien het feit dat voor de meeste stoffen de blootstelling ver onder de norm ligt, zal de fysiologische belasting van de afzonderlijke stoffen op het organisme relatief laag zijn.

De afwezigheid van interacties tussen stoffen bij lage doseringen en het optreden van dosis-additiviteit in zoogdieren, is in enkele studies geïllustreerd. Interacties en dosis-additiviteit werden niet aangetroffen in geval van 8 arbitrair gekozen stoffen werkend op verschillende orgaansystemen (29), en ook niet bij een combinatie van nefrotoxische stoffen met verschillende werkingsmechanismen (30). Combinatie van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme op doseringen op en rond de NOAEL, leidde echter tot een toxiciteit die te verklaren was aan de hand van dosis-additiviteit (31). In twee Japanse studies werden respectievelijk 20 en 40 pesticiden op het niveau van de ADI gecombineerd en toegediend aan ratten die waren voorbehandeld met initiatoren van hepatocarcinomen. Blootstelling aan de pesticiden gedurende respectievelijk 8 en 28 weken versnelde de ontwikkeling van preneoplastische lesies niet. Een verhoging aan preneoplastische lesies werd wel aangetoond bij doseringen 100-voudig hoger dan de ADI ((32), (33)) .

Verder is er een overweldigend aanbod aan studies uit de aquatische toxicologie. Deze wijzen allen op het optreden van concentratie-additie bij lage doseringen (bv. (34), (35), (36), (37), (38), (39)). In 1987 publiceerde de EIFAC (European Inland Fisheries Advisory Commission) een analyse van 85 vissen-experimenten met mengsels van een groot aantal verschillende contaminanten. De stoffen, variërend in aantal van 2-50, werden veelal op equitoxische concentraties met elkaar gecombineerd. Uit de EIFAC-analyse bleek dat in 87% van de gevallen de mengseltoxiciteit kon worden verklaard op grond van concentratie-additie (40). Concentratie-additiviteit en partiële concentratie-additiviteit was aantoonbaar zelfs bij zeer lage concentraties ( $\leq 0.1$  'toxic units', Könemann (41); 0.0025 toxic units, (39)). De totale toxiciteit was echter nooit meer dan op grond van concentratie-additie werd voorspeld, hetgeen aangeeft dat potentiëring niet optreedt. Ook bleek 'overall' antagonisme niet op te treden, aangezien de mengsels nooit minder toxisch waren dan de meest toxische component. Hoewel er grote verschillen bestaan tussen vissen en zoogdieren, zijn de bevindingen in de aquatische toxicologie indicatief.

Interacties tussen stoffen lijken dus onwaarschijnlijk in het lage-dosisgebied. Ook het concept van respons-additie is bij doseringen op of onder de norm niet van belang. Immers, aangezien er op en onder de norm geen respons zal zijn (er zijn immers geen effecten), zal het toepassen van respons-additie ook tot geen-respons leiden ( $0+0=0$ ). Het enige concept in de combinatie-toxicologie dat bij de lage doseringen nog rest is dosis-additie. Theoretisch bestaat er geen 'drempelwaarde' voor dosis-additie aangezien elke dosis, hoe klein ook, bijdraagt aan de totale dosis en dus aan de toxiciteit. Zo zullen 10,000 eenheden TCDD van elk 1 ng bijdragen tot opvulling van de huidige norm van 10 p.g.

De bovenstaande argumenten kunnen dienen als 'circumstantial evidence' voor het ontbreken van potentiëring in het lage-dosisgebied. Het is echter wetenschappelijk

onmogelijk om de afwezigheid van synergisme/potentiëring in het lage-dosisgebied aan te tonen. Met deze beperkingen leidt onze analyse tot de volgende conclusies:

1. Interacties (potentiëring, antagonisme) treden bij doseringen rond de norm niet op.
2. Respons-additiviteit is onder het niveau van de respons niet relevant
3. Dosis-additiviteit en partiële dosis-additiviteit zijn van belang óók of misschien wel juist bij lage doseringen.

## 6. STRATEGIEËN VOOR HET OMGAAN MET MENGSELS

In hoofdstuk 3 is aangegeven dat mengsels kunnen worden onderscheiden in gedefiniëerde (simpele) en ongedefiniëerde (complexe) mengsels. Voor de risico-evaluatie van deze mengsels kunnen verschillende strategieën worden gevolgd. Gezien het verschil in doelstelling is hierbij een onderscheid tussen strategieën ten behoeve van de actuele risicoschatting en preventieve risicoschatting (normstelling) wenselijk. Bij de actuele risicoschatting gaat het om een specifieke blootstellingssituatie. Er is hierbij sprake van normoverschrijdingen (bijvoorbeeld bodemverontreinigingssituaties). Hierbij dient ten eerste de blootstelling aan stoffen gekarakteriseerd te worden. Dit betekent zowel de *identificatie* van de stoffen in het mengsel als het inschatten van de blootstellingsniveaus en het vaststellen van de voor de mens relevante blootstellingsroute. Deze nader gekarakteriseerde blootstelling wordt vervolgens ‘gekoppeld’ aan de bij deze blootstelling te verwachten gezondheidseffecten bij de mens. Dit laatste gebeurt door ‘expert judgement’ aan de hand van kennis van effecten van de afzonderlijke stoffen en mogelijke kennis over bepaalde mengsels van deze stoffen en hun effecten. Dit proces van ‘expert judgement’ zal door de gebrekkige kennis en inzichten echter niet meer dan een voorzichtige uitspraak kunnen voortbrengen over mogelijke gezondheidsrisico's die de blootstelling aan het mengsel met zich meebrengt. Op basis van deze kwalitatieve risicoschatting kan eventueel besloten worden tot risicobeperkende (*curatieve*) maatregelen.

Tegenover de actuele risicoschatting staat de preventieve risicoschatting, de normstelling. In dit geval gaat het niet zozeer om specifieke blootstellingssituaties, maar om de regulatie van blootstelling aan stoffen *in het algemeen*. Het is binnen de normstellingsprocedure gangbaar om gebruik te maken van conservatieve extrapolatiemethodieken teneinde ‘veilige’ blootstellingsniveaus vast te kunnen stellen. Bij de benaderingen die in de normstelling van stoffen worden gehanteerd, ontbreken dan logischerwijs ook de verfijningen die, op basis van inzicht in de samenstelling en de aard van het mengsel en kennis van werkingsmechanismen, in de actuele risicoschatting wel kunnen worden aangebracht.

### 6.1. Actuele risicoschatting

#### 6.1.1 Risicoschatting op basis van dosis-additiviteit

Voor het valide toepassen van het concept van dosis-additiviteit is een gedegen inzicht in de werkingsmechanismen van de afzonderlijke stoffen noodzakelijk. Alleen als samenstellende stoffen een vergelijkbaar werkingsmechanisme hebben, kan worden uitgegaan van dosis-additiviteit. Werkingsmechanismen zijn echter vaak niet helemaal begrepen, zodat het gebruik van dosis-additiviteit op overeenkomsten in toxicologische/farmacologische karakteristieken zal berusten. Het onterecht toepassen van dosis-additiviteit zal tot een overschatting van de voorspelde toxiciteit kunnen leiden. Daarentegen kan het negeren van eventuele (partiële) dosis-additiviteit leiden tot een onderschatting van het toxische effect van het mengsel. Met name het feit dat stoffen meer dan één effect hebben, is hierbij van belang. Hoewel dosis-additiviteit



mogelijk niet verwacht wordt ten aanzien van de primaire effecten, is het niet uit te sluiten dat (partiële) dosis-additiviteit gevolgen kan hebben voor secundaire effecten.

Wordt de mengseltoxiciteit geëvalueerd op basis van dosisadditiviteit, dan zullen eventuele interacties tussen stoffen tot over- of onderschattingen van de werkelijke toxiciteit kunnen leiden. De kans op het optreden van interacties zal toenemen met de dosis. Juist in actuele blootstellingssituaties waar relatief hoge concentraties van de stoffen aanwezig zijn, zal rekening gehouden moeten worden met het optreden van interacties. Dosis-additiviteitsmodellen dienen dus altijd met de nodige voorzichtigheid te worden gebruikt.

### 6.1.2 Het mengsel als een 'case' studie

Het betreffende mengsel kan in verschillende toxiciteitsstudies worden onderzocht en de risico-evaluatie van dit mengsel kan worden uitgevoerd als ware het één stof. Deze benadering van het mengsel als zijnde een 'case studie' kan bijvoorbeeld worden gebruikt voor het inschatten van de effecten van een complex mengsel. Hoewel op deze manier een indicatie wordt verkregen van het 'veilige' blootstellingsniveau, is de grootste aanname dat de mengselcompositie constant is. Zelfs als het complexe mengsel afkomstig is van één bron, zal echter elke bemonstering uniek zijn qua samenstelling, hoewel de vergelijkbaarheid in samenstelling en relatieve verhoudingen redelijk groot kan zijn. Bij teveel variatie in mengselcompositie, bijvoorbeeld in geval van emissies door variaties in grondstoffen of verbrandingsprocessen, verliest een dergelijke methode aan waarde. Dit hoeft geen bezwaar te zijn voor situaties waar de variatie in samenstelling van het mengsel en de toxiciteit van de afzonderlijke stoffen bekend zijn en waarbij de mengseltoxiciteit op basis van additiviteit (of kleiner dan additiviteit) kan worden ingeschat. In hoeverre de variatie in mengselcompositie een bezwaar zal zijn voor de risicoschatting van het mengsel, zal dus per mengsel verschillen.

### 6.1.3 Schatten van mengseltoxiciteit aan de hand van vergelijkbare mengsels

In geval van gedefinieerde mengsels kan bij de risicoschatting van een mengsel rekening worden gehouden met de toxiciteitsgegevens van de afzonderlijke stoffen. Bij een dergelijke benadering zijn toxiciteitsgegevens uit chronische dierstudies of gegevens over humane effecten van vergelijkbare mengsels van grote waarde. Het gebruik van dergelijke gegevens wordt ook in de 'guidelines' van de US-EPA (23) aangeraden. Het is hierbij aan de risico-evaluerende instantie om uit te maken in welke mate de mengsels vergelijkbaar zijn en hoe met deze gegevens dient te worden omgegaan. Als hulpmiddel bij dit proces van 'expert judgement' is de 'comparative potency approach' voorgesteld ((42), (43)) waarbij de relatieve potentie van mengsels in korte *in vitro* en *in vivo* testen wordt bestudeerd. Een aanname hierbij is dat de relatieve potentie van de verschillende mengsels zich laat extrapoleren over verschillende studieduren en dosisniveaus heen.

Hierop voortbordurend hebben Feron et al. (44) voorgesteld om uit het betreffende mengsel stoffen te selecteren met een hoge individuele hazard index (zie 6.2). Deze stoffen zouden dan als een gedefinieerd mengsel nader getest kunnen worden in

verschillende kortdurende toxiciteitsstudies, bij doseringen die bijvoorbeeld een orde hoger liggen dan het uitgangsmengsel. Aannames die echter hierbij worden gedaan zijn: (i) dat *alle* afzonderlijke stoffen in het complexe mengsel bekend zijn en (ii) dat de niet geteste stoffen (namelijk stoffen met een lagere hazard index) niet substantieel bijdragen, ook niet via synergisme of antagonisme, aan de toxiciteit van het totale mengsel.

#### 6.1.4 'Weight of evidence' approach

De 'weight of evidence approach' tracht rekening te houden met de beschikbare toxicologische informatie over combinatiewerkingen tussen stoffen (45). Een eerste klassifikatie wordt gegeven voor het inzicht in werkingsmechanismen en de toxicologische relevantie van geobserveerde combinatiewerkingen (additiviteit, interacties) tussen stoffen. Verdere klassifikaties worden gegeven voor de route en duur van expositie en de beschikbaarheid van *in vitro* en *in vivo* gegevens. Aan elke klassifikatiestap zijn weegfactoren verbonden, zodat op basis van de verschillende klassifikaties een overall weegfactor kan worden afgeleid. Afhankelijk van het type combinatiewerking wordt aan deze weegfactor een teken gekoppeld. Deze is positief (+) in geval van synergisme, negatief (-) in geval van antagonisme, en nul (0) in geval van dosis-additiviteit.

De weegfactor wordt toegepast om de, op dosis-additiviteit berustende 'hazard index' (zie 6.2), te 'corrigeren' volgens:

$$HI_{cor} = HI * UF^{tw}$$

waarbij:

$HI_{cor}$	=	de voor interacties gecorrigeerde hazard index
HI	=	de hazard index (berekend uitgaande van dosis-additiviteit)
UF	=	onzekerheidsfactor, bijvoorbeeld 10
w	=	weegfactor
t	=	teken

t is '+' in geval van synergisme, '-' in geval van antagonisme, '0' in geval van additiviteit.

Bij de 'weight of evidence approach' kan dus zoveel mogelijk gebruik worden gemaakt van beschikbare toxicologische informatie over het betreffende mengsel, vergelijkbare mengsels, de afzonderlijke stoffen en binaire mengsels hiervan. Er bestaat echter geen duidelijkheid hoe de toxicologische informatie gewogen moet worden. Afhankelijk van de situatie en het mengsel, zal de weging en dus de keuze van de onzekerheidsfactor variëren. De onzekerheden waarmee de uitspraak over mengseffecten gepaard gaan, worden dus niet door deze aanpak verkleind. De 'weight of evidence' approach kan dus worden gezien als een documentatie van het 'expert judgement' proces dat bij de risicoschatting van mengsels wordt gebruikt.

## **6.2. Preventieve risicoschatting**

### 6.2.1. Normstelling op basis van dosis-additiviteit

Dosis-additiviteit is een fenomeen dat zich ook bij lage doseringen kan voordoen. Theoretisch bestaat er geen 'drempel' voor dosis-additiviteit. Het optreden van interacties tussen stoffen daarentegen lijkt wel een dosis-afhankelijk fenomeen te zijn. Dosis-additie kan dus worden beschouwd als een bruikbaar concept voor 'lage-dosis' blootstelling en kan op verschillende manieren worden toegepast.

#### *Dosis-additiviteit als hulpmiddel voor prioritering*

Een voorbeeld van hoe dosis-additie door de jaren heen wordt gebruikt is het 'Toxic Unit' concept (46). In de aquatische toxicologie geeft de toxic unit de verhouding weer tussen de concentratie van de stof in het water en de drempel voor letaliteit (bijvoorbeeld de 96 uurs-LC50):

$$\text{Toxic unit} = \frac{\text{actuele concentratie}}{\text{concentratie waarbij letaliteit optreedt}}$$

Uitgaande van dosis-additiviteit kunnen de toxic units van verschillende stoffen worden gesommeerd om een indicatie te krijgen van de toxiciteit van het mengsel.

Ook in de arbeidstoxicologie wordt het 'toxic unit' concept gebruikt om de toelaatbaarheid van gelijktijdige blootstelling te evalueren. Hetzelfde concept wordt onder de naam 'hazard index' door de US EPA (23) gehanteerd als hulpmiddel voor het snel in kaart brengen van de toxische potentie van een mengsel van stoffen. De hazard index wordt gehanteerd als een relatieve maat voor de opvulling van een bepaald effect- of geen-effectniveau (bijvoorbeeld een norm zoals de TDI) door blootstelling aan één of meerdere stoffen en gaat uit van volledige dosis-additiviteit:

$$HI = \sum_{i=1}^n \frac{E_i}{AL_i}$$

waarbij: HI = hazard index  
 $E_i$  = blootstelling (exposure)  
 $AL_i$  = acceptabel niveau (acceptable level), bijvoorbeeld een regulatoire limietwaarde (ADI, TDI, MAC, ...)

Bij een  $HI > 1$  wordt, uitgaande van dosis-additiviteit, door het mengsel de betreffende limietwaarde overschreden. Het gebruik van dosis-additiviteitsprincipe maakt het dus mogelijk om mengsels te prioriteren voor te nemen beleidsacties.

#### *Dosis-additiviteit voor het vaststellen van groepsnormen*

Dosis-additiviteit kan ook worden toegepast om in geval van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme groepsnormen af te leiden. Vaak betreffen dit stoffen die meestal in combinatie met elkaar voorkomen. Een voorbeeld van het gebruik van dosis-additiviteit voor normstellingsdoeleinden is het TEF (toxische equivalentie factoren)-principe, dat gehanteerd wordt voor mengsels van dioxinen en dibenzofuranen (47). De bijdrage van een stof aan de invulling van de groepsnorm wordt berekend op basis van dosisadditiviteit en is afhankelijk van de relatieve

potentie om een bepaald toxisch effect te kunnen bewerkstelligen. Ook voor verschillende andere stoffen zijn groepsnormen afgeleid, bijvoorbeeld voor ethyleenbisdithiocarbamaten (48), PAKs (49) en chloorfenolen (49).

### 6.2.2 Gebruik van een veiligheidsfactor

Een andere manier om met mengseltoxiciteit om te gaan, is de toepassing van een veiligheidsfactor voor combinatiewerkingen. Zoals in Hoofdstuk 1 aan de orde is gekomen, wordt door het Ministerie van VROM een factor 100 toegepast op de normen van de afzonderlijke stoffen om te corrigeren voor combinatiewerkingen tussen stoffen. Deze veiligheidsfactor is noodzakelijk om de consequenties van dosis-additiviteit te vertalen in de normstelling voor individuele stoffen.

Het Ministerie van VROM is niet de enige die een veiligheidsfactor voor combinatiewerkingen hanteert. Ook de National Academy of Sciences (NAS) heeft in 1989 het gebruik van een extra onzekerheidsfactor voor combinatietoxiciteit aanbevolen (50). Deze factor zou kunnen variëren tussen de 1 en de 100 en wordt vermenigvuldigd met de, op het additiviteitsprincipe berustende, hazard index. De hazard index voor drinkwatercontaminanten wordt berekend volgens:

$$HI_{cor} = UF * HI$$

waarbij:

- $HI_{cor}$  = de voor mogelijke combinatiewerkingen gecorrigeerde hazard index
- $UF$  = onzekerheidsfactor voor combinatiewerkingen, variërend tussen 1 en 100, afhankelijk van beschikbare toxiciteitsgegevens.
- $HI$  = hazard index

Als bij lage doseringen volledige dosisadditie tussen stoffen wordt beschouwd als een 'worst case' aanname van combinatiewerkingen tussen stoffen, dan zal de toepassing van een extra veiligheidsfactor voor interacties tot conservatieve waarden kunnen leiden. Geheel conform de doelstelling van de gehanteerde veiligheidsfactor, namelijk normstelling, zal het gebruik van een veiligheidsfactor leiden tot grotere waarden van de hazard index. Dit laatste is het verschil met de 'weight of evidence approach' (zie H6.1.4) die voor de actuele risicoschatting wordt aangewend en waarbij antagonistische acties de hazard index kunnen verkleinen

De Gezondheidsraad (51) heeft eerder aan de hand van een rekenvoorbeeld geïllustreerd dat partiële dosis-additie van een groot aantal stoffen de veiligheidsmarge in de normstelling kan verkleinen. Toendertijd heeft de Gezondheidsraad er echter van afgezien om een extra veiligheidsfactor voor combinatietoxicologie aan te bevelen. De reden hiervoor was dat voor de grootte van een dergelijke factor geen algemene basis gevonden kon worden.

Al het door de jaren heen uitgevoerde toxiciteitsonderzoek met mengsels ten spijt, is het niet mogelijk om op wetenschappelijke gronden algemene stelregels voor combinatietoxiciteit af te leiden. Ten eerste is voor het wetenschappelijk valide

toepassen van alleen al dosis-additiviteit een gedetailleerde kennis van de werkingsmechanismen van de stoffen noodzakelijk. Dergelijke mechanistische kennis zal echter in de meeste gevallen ontbreken. Ten tweede is kwantificering van combinatiewerkingen in mengselexperimenten in het algemeen onmogelijk. Zowel de gehanteerde studie-opzetten als het gebrek aan goede statistische onderbouwingen van waargenomen interacties zijn hier debet aan. Ten derde is door de grote variatie in mengsamenstellingen (variërend naar plaats en tijd) een algemene, universeel toepasbare, beleidsregel niet te formuleren. Gesteld kan worden dat hoe meer algemeen toepasbaar een vuistregel dient te zijn, des te minder zijn deze door wetenschappelijke argumenten te onderbouwen is.

Ondanks bovenstaande beperkingen zal in dit rapport toch worden getracht een handreiking te doen voor beleidsmatige uitgangspunten voor het omgaan met combinatie-blootstelling. Hierbij wordt uitgegaan van de door het Ministerie van VROM gebruikte veiligheidsfactor. Dosis-additie is een fenomeen dat op kan treden ook bij lage blootstellingsniveaus. Er zal hier dus beleidsmatig op enige wijze rekening mee gehouden dienen te worden. Vanuit het oogpunt van de milieuhygiënische normstelling dient de gehanteerde veiligheidsfactor liefst 'alle' combinatiewerkingen voor 'alle' stoffen bij lage dosis te ondervangen. Gelet op deze brede doelstelling zal een dergelijke factor altijd aan de hoge kant zijn. Alleen door praktijkscenario's door te rekenen kunnen uitspraken worden gedaan over zinvolle niveaus van veiligheidsfactoren. In hoofdstuk 7 wordt hiertoe een 'worst case' scenario doorgerekend.

## 7. EVALUATIE VAN DE VEILIGHEIDSFACITOR 100 VOOR COMBINATIETOXICITEIT

### 7.1 Fractionele opvullingen van het MTR

In het risicobeleid van het Ministerie van VROM wordt uitgegaan van een factor 100 om te corrigeren voor combinatietoxiciteit bij drempelwaarde-stoffen (zie H1 en 2). Eerder is aangegeven dat het hanteren van een veiligheidsfactor voor combinatie-toxiciteit een beleidsmatige keuze is. Dit laatste geldt met name voor de *hoogte* van een dergelijke veiligheidsfactor.

Om toch enige indruk te krijgen van de ‘opvulling’ van een dergelijke factor, wordt in dit hoofdstuk een pragmatische route gevolgd. Op basis van blootstellingsgegevens of, bij gebrek hieraan, ‘worst case’ schattingen van de blootstelling, is voor een groot aantal stoffen een ‘hazard index’ berekening uitgevoerd. Deze berekening is gedaan voor in totaal 327 stoffen, waarvan 318 drempelwaarde stoffen. De keuze van deze stoffen werd voornamelijk bepaald door de beschikbaarheid van blootstellingsgegevens en de beschikbaarheid van gezondheidskundige advieswaarden (o.a. (52)). Als zodanig vormen deze 327 stoffen geen representatieve steekproef voor het totaal aan stoffen waaraan de mens is blootgesteld.

In de gevolgde procedure wordt de blootstelling gedeeld door de voor de stof afgeleide gezondheidskundige norm (ADI, TDI). Aangezien deze normen in de VROM terminologie equivalent zijn aan het maximaal toelaatbaar risico (MTR), wordt op deze wijze de fractionele opvulling van het MTR (fMTR) berekend.

$$f \text{ MTR} = \frac{\text{blootstelling}}{\text{MTR}}$$

De stoffen worden vervolgens in groepen ingedeeld, waarbinnen dosis-additiviteit wordt verondersteld. Hierbij is de groepsindeling zeer ruim genomen. Door sommatie wordt de totale fMTR per groep berekend. De mate van overschrijding is een *indicatie* voor de opvulling van de veiligheidsfactor. Gezien de ‘worst case’ aannames die bij deze procedure worden gedaan, is onderstaande evaluatie zeker niet te beschouwen als een ‘berekening’ van de hoogte van de veiligheidsfactor.

### 7.2 ‘Worst case’ aannames bij de berekening van de totale fMTR

Bij de berekening van de totale fMTR worden verschillende aannames gedaan die als ‘worst case’ en soms zelfs als onrealistisch zijn te beschouwen.

#### 1. volledige dosis-additiviteit binnen een groep van stoffen

De evaluatie is gebaseerd op het principe van dosisadditiviteit. Aangenomen wordt hierbij dat interacties op het niveau van de normen (geschatte geen-effect niveaus in de gevoelige mens), niet of nauwelijks plaatsvinden. Deze aanname lijkt te zijn

gerechtvaardigd op basis van enkele mengselstudies die zijn uitgevoerd bij lage doseringen (zie H4.4). In deze studies werd dosis-additiviteit aangetoond in geval van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme en waren er geen aanwijzingen voor het optreden van synergistische interacties.

Volledige dosis-additiviteit treedt op indien stoffen identieke werkingsmechanisme hebben. Bij vergelijkbare maar niet-identieke werkingsmechanismen zal partiële dosis-additie mogelijk op kunnen treden. Zijn de stoffen geheel niet aan elkaar verwant, dan wordt geen dosis-additiviteit verwacht. Dosis-additiviteit of partiële dosis-additiviteit blijft echter wel mogelijk voor secundaire (a-specifieke) effecten. De aanname van volledige dosis-additiviteit voor een groot aantal verschillende niet-verwante stoffen, kan echter worden beschouwd als een zeer conservatieve 'worst case' aanname.

## 2. Optelbaarheid van fMTRs

Door de blootstelling van een stof te delen door zijn regulatoire limietwaarde (gezondheidskundige norm), wordt een dimensieloze fMTR verkregen, die rekenkundig eenvoudig kan worden gesommeerd. Hierbij wordt aangenomen dat elke fMTR een vergelijkbare betekenis heeft. Normen worden echter niet op hetzelfde eindpunt (effect) vastgesteld en evenmin zijn ze allen met dezelfde nauwkeurigheid afgeleid. Gezien de diversiteit van toxische effecten is het een grote vraag in hoeverre sommatie van fMTRs gerechtvaardigd is, aangezien dit in veel gevallen een optelling van 'appels en peren' zal zijn. De sommatie zou toxicologisch correcter zijn als wordt uitgegaan van dezelfde soort effecten.

## 3. Zeer ruime groepsindelingen

De groepsindeling van de stoffen is zeer ruim gekozen om de formatie van groepen met een redelijk aantal stoffen te kunnen bewerkstelligen. Sommige groepen zijn samengesteld op grond van toxicologische criteria. Een voorbeeld is de groep van organofosfaten, waarbij zoveel mogelijk is gelet op overeenkomsten in toxiciteit en werkingsmechanismen. Ook binnen de organofosfaten zijn echter diverse subgroepen te onderscheiden. Andere groepen zijn samengesteld op basis van chemische eigenschappen en structuurverwantschap. Een voorbeeld van een dergelijke groep is de groep 'metalen', waaronder verschillende zware metaalverbindingen zijn gerangschikt. Op basis van toxiciteitsmechanismen is een dergelijke samenstelling echter zeer discutabel. In geval van additieven is een onderscheid gemaakt aan de hand van toepassingsdoeleinden.

Gezien de ruime groepsindeling en dientengevolge de grote diversiteit binnen een groep, is het optreden van volledige dosis-additiviteit binnen een groep onwaarschijnlijk. Het feit dat binnen een groep is uitgegaan van volledige dosis-additiviteit, kan dus worden beschouwd als een onrealistische 'worst case' benadering.

## 4. Dosis-additiviteit via verschillende blootstellingsroutes

In enkele gevallen geschiedt de blootstelling via meerdere routes. Veelal betreffen dit de orale en de inhalatoire route. Teneinde de totale belasting te kunnen sommeren, is

gebruik gemaakt van route-to-route extrapolatie. Hierbij werd de biobeschikbaarheid via de orale route en de inhalatoire route vastgesteld op respectievelijk 1 en 0.75 en werd uitgegaan van een ademvolume van 20 m<sup>3</sup> per dag. Als blootstelling (ook) via het drinkwater plaatsvond, dan werd uitgegaan van 2L per dag. De berekende opname via de verschillende routes werd gesommeerd.

#### 5. Alle stoffen komen tegelijkertijd voor

Door de fractionele MTRs te sommeren wordt aangenomen dat blootstelling aan alle stoffen ook daadwerkelijk optreedt. Het is echter niet reëel om te veronderstellen dat bijvoorbeeld alle pesticiden in het voedsel zullen voorkomen. Ook zullen stoffen niet allemaal tegelijkertijd worden opgenomen. Terwijl de blootstelling aan sommige stoffen als een piekblootstelling te karakteriseren is (bijvoorbeeld inname met het voedsel, blootstelling aan verkeersemisies in de ochtend- en avondspits), zullen andere stoffen mogelijk een meer continue opname kennen. Het is waarschijnlijk dat in veel gevallen het veronderstellen van simultane blootstelling een 'worst case' aanname zal zijn. In enkele gevallen kan echter sequentiële blootstelling tot ernstigere effecten kan leiden dan simultane blootstelling. Dit laatste kan bijvoorbeeld optreden in geval van initiatoren en promotoren van het carcinogenese proces.

#### 6. Berekening van de blootstelling onder zeer 'worst case' aannames.

In geval van residuen van bestrijdings- en dierbehandelingsmiddelen en additieven waren vaak geen werkelijke blootstellingsgegevens voorhanden. In deze gevallen is de blootstelling 'worst case' geschat.

##### *Residuen*

In geval van residuen van pesticiden en dierbehandelingsmiddelen, waren actuele blootstellingsgegevens vaak niet voorhanden. In zo'n geval werd uitgegaan van de Maximale Residu Limieten (MRLs), zoals die voor verschillende plantaardige en dierlijke producten is vastgesteld. Uitgaande van het WHO-dieet dat het gemiddelde voedingspakket voor de gemiddelde Europeaan beschrijft (53) en van residuconcentraties op de MRL, is een berekening gemaakt van de hoeveelheid residuen die maximaal met het voedsel wordt ingenomen. De werkelijke concentraties van deze residuen liggen echter meestal lager dan de MRL. Vaak is de MRL vastgesteld op de detectielimiet en dus niet op een toxicologisch criterium.

##### *Additieven*

In geval van additieven (54) zijn nog sterkere aannames gedaan om de maximale inname te kunnen berekenen. Levensmiddelen zijn in het algemeen bewerkte land- en tuinbouwproducten. Als gevolg hiervan is er een scala aan levensmiddelen, waarvan de samenstelling niet direct duidelijk is. Bovendien is het onbekend in welke concentratie het additief voorkomt. In de Warenwet (55) staat wel aangegeven wat de *maximaal* toegestane hoeveelheid van een additief in een produkt is. Op basis hiervan kunnen dus 'worst case' schattingen gedaan worden.

Om een inschatting te kunnen maken van de dagelijkse inname van de verschillende additieven, is uitgegaan van de voedselconsumptiepeiling 1992, 'Zo eet Nederland' (56). In de VCP 1992 is de voedselconsumptie ingedeeld in zeer grove productcategorieën. De Warenwet geeft echter zeer gedetailleerde



produktomschrijvingen, zoals: piccalilly, slasaus, mayonaise etc. Deze producten worden in de VCP echter onder een noemer geschaard, nl.: 'vetten, olie en hartige sauzen'. De grove produktindeling leidde tot de 'worst case' aanname dat alle volgens de VCP 1992 genuttigde grammen uit een produktcategorie afkomstig waren van het desbetreffende, met additieven 'beladen' produkt.

Ondanks deze zeer conservatieve aannames, waren er slechts enkele additieven die door hun toepassing in verschillende levensmiddelen de ADI zouden kunnen overschrijden. Dit waren sulfiet (9 x ADI), benzoëzuur (2.1 x ADI), BHA (1.4 x ADI), BHT (3.4 x ADI), curcumine (3 x ADI) en tocoferol (2 x ADI). Ook nitraat en nitriet kwamen met deze berekening hoog uit (respectievelijk 1.8 en 1.6 x ADI). In werkelijkheid is de geschatte blootstelling aan nitraat 0.25 x ADI en die van nitriet verwaarloosbaar. Dit laatste illustreert de overschatting van de blootstelling en dus van de 'opvulling' van de MTR die met een dergelijke berekening wordt gemaakt. Gezien de enorme overschatting bij deze berekening en het feit dat voor additieven het onwaarschijnlijk lijkt dat stoffen boven de wettelijk vastgestelde norm (de ADI) uit zullen komen, wordt in geval van voedseladditieven de fMTR ten hoogste op 1 vastgesteld.

### **7.3 Resultaten**

In de Appendix wordt de samenstelling van de verschillende stofgroepen weergegeven. De stoffen waarvan de blootstelling is berekend met behulp van MRLs en het WHO-dieet zijn gemerkt met een \*. In geval van een blootstellingsberekening aan de hand van de Warenwet en de VCP 1992, zijn de stoffen gemerkt met \*\*. Hoewel op voorhand al duidelijk is dat tussen verschillende stoffen binnen een groep volledige dosis-additiviteit of een redelijke mate van dosis-additiviteit niet te verwachten zal zijn, is hier overheen gestapt om tenminste enige stofgroepen van redelijke omvang te kunnen formeren.

Stoffen die niet bij één van de stofgroepen konden worden ondergebracht, zijn gerangschikt onder 'bestrijdingsmiddelen/dierbehandelingsmiddelen divers' of onder 'divers'. Ook op deze groepen is een sommatie uitgevoerd. Als laatste zijn enkele niet-drempelwaarde-stoffen in een groep opgenomen, hoewel de veiligheidsfactor van 100 alleen voor drempelwaardestoffen is gereserveerd.

In Tabel 5 is de som van de fMTRs van de verschillende stofgroepen weergegeven. Duidelijk is dat ondanks alle 'worst case' aannames, de veiligheidsfactor van 100 door geen enkele stofgroep door dosis-additiviteit wordt opgevuld. Voor bijna alle groepen ligt de overschrijding van de MTR onder de factor 10. Alleen de sommatie van de organofosfaten komt boven de 10 uit (som fMTR is 19.6). Een overzicht van de relatieve bijdrage van de verschillende stoffen wordt gegeven in Tabel 6. Uit deze tabel blijkt dat voor een aantal stoffen de berekende fMTR waarde al hoger ligt als 1. Wordt, analoog aan de voedseladditieven, in geval van de organofosfaten uitgegaan van ten hoogste een maximale opvulling van de TDI, dan wordt de som fMTR gereduceerd tot 13.3.

*Tabel 5 Sommatie van de fMTRs binnen een stofgroep*

STOFGROEP	<i>n</i>	SOM fMTR
METALEN	20	6.9
DRINS/TRINS	3	0.3
GEHALOGENEERDE KWS	34	9.1
KOOLWATERSTOFFEN	11	0.6
O-BEVATTENDE KWS	4	0.01
ORGANOFOSFATEN	33	19.6
BENZIMIDAZOLEN/TRIAZOLEN	25	6.7
CARBAMATEN	17	5.1
DITHIOCARBAMATEN	8	4.0
DICARBOXIMIDEN	4	0.4
ACYL-UREUM	14	6.8
ANTI-BACTERICIDE	16	1.5
PYRETROIDEN	11	1.3
IVERMECTINES	5	0.3
Sn-BEVATTEND	6	2.0
ANILIDEN	4	0.0
TRIAZINEN	5	0.0
CAPTAN	3	2.1
BESTRIJDINGS/DIERBEHANDELINGSMIDDELEN DIVERS	37	5.3
SMAAK- EN KLEURSTOFFEN	20	4.8
EMULGATOR/STABILISATORZUURTEREGELAAR/ ANTISCHUIMMIDDEL	13	0.0
VERDIKKINGSMIDDELEN	3	0.0
CONSERVERINGSMIDDELEN/ANTI-OXIDANTEN	12	6.2
DIVERS	10	9.1
<b>TOTAAL</b>	<b>318</b>	<b>92.1</b>
<i>NIET-DREMPEL</i>	9	4.5

Tabel 6 Bijdrage van verschillende organofosfaten aan de totale som van MTRs

ORGANOFOSFATEN	fMTR
acefaat	0.08
azinfos	0.92
bromofos methyl	0.00
bromofos ethyl	0.00
carbofenothion	0.00
chloorpyrifos	0.61
diazinon (pest)	1.94
diazinon (dier)	0.13
dichlofluanide	0.13
dichloorvos	1.66
etrimfos	0.00
fenitrothion	1.10
fonofos	0.06
formothion	0.03
fosalon	1.28
fosfamidon	3.55
fosmet	0.39
foxim	0.00
heptenofos	1.80
isofenfos	0.19
malathion	1.96
methamidofos	0.24
mevinfos	0.98
omethoat	0.45
parathion-methyl	0.09
primifos-methyl	0.42
temefos	0.47
terbufos	0.00
thiometon	0.91
vamidoth	0.05
fosetyl (aluminium)	0.00
pyrazofos	0.04
ethefon	0.13
SOM	19.60

## 6. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Stoffen worden in het algemeen genormeerd op basis van de blootstelling aan de enkele stof. Per definitie worden mens en dier echter blootgesteld aan mengsels van stoffen. Simultane of sequentiële blootstelling aan de ene stof, kan de toxiciteit van de andere stof beïnvloeden. Leidt gemengde blootstelling tot een versterking van de toxiciteit, dan spreekt men in het algemeen van synergisme. Het tegengestelde effect, een reductie van toxiciteit, is ook mogelijk; in dit geval spreekt men in het algemeen van antagonisme. Dergelijke *interacties* worden veelal waargenomen bij relatief hoge doseringen, dat wil zeggen op blootstellingsniveaus waarbij de afzonderlijke stoffen zelf ook al een effect bewerkstelligen. Beleidsmatig gezien is synergisme van groot belang, terwijl antagonisme geen gevolgen zal hebben voor beleidsbeslissingen.

Het is echter de vraag of interacties tussen stoffen en dan met name synergisme ook bij lage doseringen op zal treden. Beschikbare gegevens in de zoogdierentoxicologie met mengsels van stoffen bij lage doseringen wijzen erop dat dit niet het geval is. Ito et al. (33) combineerde 20 pesticiden op het niveau van de ADI en bestudeerde de vorming van preneoplastische lesies geïnitieerd door dimethylnitrosamine. Er werd geen stimulatie van het effect gevonden. Ook een combinatie van 60 verschillende pesticiden, waaronder enkele verdacht carcinogenen, had geen effect op het proces van carcinogenese. De vorming van preneoplastische lesies werd wel gestimuleerd bij doseringen 100-voudig keer de ADI (32). Enkele toxiciteitsstudies zijn uitgevoerd door de groep van Feron (29,30). In deze experimenten werd in geval van stoffen met een verschillend werkingsmechanisme geen combinatiewerking gevonden. Echter, in geval van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme werd dosis-additiviteit aangetoond.

Dosis-additiviteit lijkt dus, ook bij doseringen op of onder de individuele no-effect level, een valide uitgangspunt voor stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme. Deze bevindingen worden gesteund door resultaten behaald in de aquatische toxicologie. Uit een grote verscheidenheid van experimenten is gebleken dat zeer lage concentraties van stoffen bijdroegen aan de mengseltoxiciteit volgens het concept van dosis-additie. Het is dus van belang om bij de risico-evaluatie van mengsels van stoffen altijd rekening te houden met de mogelijkheid tot het optreden van (partiële) dosis-additie.

In het beleid wordt in sommige gevallen daadwerkelijk rekening gehouden met de dosis-additieve werking van stoffen. Voorbeelden zijn groeps-ADIs en de normering van dioxinen en dibenzofuranen op basis van het TEF-principe (47). Voor stoffen met een verschillend werkingsmechanisme zal volledige dosis-additie geen opgang doen, hoewel mogelijk enig partiële dosis-additie niet a priori uit te sluiten zal zijn.

Voor een adequate risicoschatting is het van belang de toxiciteit van een bepaald mengsel zo goed mogelijk in te schatten. Hierbij kan men zich baseren op de toxiciteit van het betreffende mengsel zelf, vergelijkbare mengsels en op toxiciteitsgegevens van de individuele stoffen of combinaties hiervan (H5). Wil men een uitspraak doen over optredende interacties tussen stoffen, zowel op toxicokinetisch als

toxicodynamisch niveau, dan is het van belang om een dosis-traject te bekijken. Immers, het optreden van interacties en de mate hiervan is een dosis-gerelateerd fenomeen.

Als het niet zozeer gaat om een zo goed mogelijke risicoschatting van een stof in combinatie met mogelijke andere stoffen maar om een algemene leidraad, dan zou een meerstaps-procedure gevolgd kunnen worden, waarbij een afweging kan worden gemaakt tussen beoordelingssnelheid en accuratesse. Een 'weight-of-evidence approach' (45) is een voorbeeld van een zo goed mogelijke uitspraak die op basis van bestaande toxiciteitsgegevens wordt gedaan. Eventueel kunnen enkele additionele kortdurende studies worden uitgevoerd.

Het gebruik van een algemene veiligheidsfactor voor combinatietoxiciteit is zonder meer de snelste en eenvoudigste methode waarover een beleidsmaker kan beschikken. De accuratesse waarmee een uitspraak wordt gedaan over mogelijk veilige blootstellingsniveaus is echter evenredig laag. Gezien de enorme variatie in stoffen en de verschillende variabelen die de toxiciteit van mengsels beïnvloeden (bv. dosis, tijdsbestek, expositieroute, simultane of sequentiële dosering), is het onmogelijk om wetenschappelijk de hoogte van een dergelijke veiligheidsfactor vast te kunnen stellen.

Het Ministerie van VROM hanteert voor drempelwaardestoffen een factor 100 (2) tussen MTR en VR als veiligheidsfactor voor combinatiewerkingen tussen stoffen. Door de Gezondheidsraad is aangegeven dat een dergelijke factor een pure beleidsbeslissing is die niet of nauwelijks empirisch kan worden onderbouwd. Als zodanig is het ook niet mogelijk om een dergelijke factor te differentiëren (8). Toch is vanuit VROM gezien enig inzicht in het toepassingsgebied van de veiligheidsfactor gewenst.

Aangezien er op wetenschappelijke basis geen uitspraken kunnen worden gedaan over de hoogte van een dergelijke beleidsmatige factor, en al helemaal niet over een mogelijke differentiatie van een dergelijke factor, is in dit rapport gekozen voor een pragmatische aanpak. Met deze aanpak werd getracht toch enig inzicht te verkrijgen in de waarde van de veiligheidsfactor van 100 voor combinatietoxicologie. Voor een groot aantal stoffen (327 totaal, waarvan 318 drempelwaarde stoffen) werd ingeschat in hoeverre de huidige individuele MTR door de huidige blootstellingsniveaus werd opgevuld. Aangezien in veel gevallen geen blootstellingsgegevens bekend waren, is vaak een 'worst case' berekening uitgevoerd. Deze 'worst case' berekening bevatte zoveel grove aannames dat het te verwachten is dat het realiteitsgehalte bijzonder laag zal zijn. De werkelijke opvulling van de MTR zal daardoor flink lager liggen dan is berekend. Door de stoffen in groepen te verdelen en binnen de groepen uit te gaan van volledige dosis-additiviteit, is per stofgroep een sommatie van de fractionele MTRs uitgevoerd. Ondanks alle grove aannames en 'worst case' berekeningen bleek dat voor bijna alle stofgroepen de MTR met minder dan een factor 10 werd overschreden. Als de mate van overschrijding van de MTR wordt gezien als een *indicatie* voor de veiligheidsfactor, dan zou dus geconcludeerd kunnen worden dat, uitgaande van huidige blootstellingsniveaus, huidige normen en dosis-additiviteit, een factor 10 voldoende kunnen zou zijn als veiligheidsfactor voor combinatiewerkingen.

Een dergelijke factor houdt echter geen rekening met mogelijke interacties tussen verschillende klassen van stoffen (stofgroepen), hoewel bij blootstellingsniveaus op of onder de norm voor de algemene populatie, dergelijke interacties waarschijnlijk te verwaarlozen zullen zijn. Er zijn echter genoeg situaties denkbaar waarbij blootstelling aan stoffen tot flinke effecten leidt. Het betreft hier vooral stoffen die niet van overheidswege gereguleerd worden, maar vrijwillig worden ingenomen, zoals ethanol, farmaca. Echter, ook voor sommige milieuverontreinigende stoffen vindt regelmatig overschrijdingen van de norm plaats (b.v. ozon, benzeen). Ook in geval van beroepsmatige blootstelling, kunnen de heersende concentraties op de werkplek tot effecten leiden. De invloed van blootstellingen aan stoffen, duidelijk op het effect-niveau, voor de toxiciteit van milieucontaminanten, is echter niet aan te geven. De huidige factor 100 zou echter ook voor dit soort 'complicaties' mogelijk voldoende kunnen zijn.

### **Conclusies**

1. In het lage dosisgebied, dat wil zeggen bij doseringen op of onder de norm, lijkt het optreden van interacties (synergisme, antagonisme) tussen stoffen onwaarschijnlijk.
2. Respons-additie zal bij die doseringen dat de individuele stoffen zelf geen respons veroorzaken niet optreden.
3. Dosis-additie is bij lage doseringen niet uit te sluiten, zelfs niet bij doseringen ver onder de norm.
4. De risico-evaluatie van mengsels kan op verschillende wijzen worden uitgevoerd, afhankelijk van de gewenste nauwkeurigheid.
5. Het gebruik van een veiligheidsfactor van 100 kan worden beschouwd als een zeer pragmatische, snelle en generieke methode om in geval van normstelling rekening te houden met combinatie-toxicologie.
6. Een dergelijke veiligheidsfactor is een puur beleidsmatige keuze. De hoogte van de veiligheidsfactor kan niet op grond van wetenschappelijke argumenten worden bepaald of onderbouwd, laat staan dat zo'n factor kan worden gedifferentieerd.
7. Enig inzicht in de waarde van de veiligheidsfactor is verkregen door een 'worst case' berekening uit te voeren van de mogelijke overschrijding van de MTR, uitgaande van dosis-additiviteit. Ondanks alle 'worst case' berekeningen en onrealistische aannames bleek een factor 100 ruim voldoende. In bijna alle gevallen leek zelfs al een factor 10 toereikend.

## REFERENTIES

1. Tweede Kamer de Staten-Generaal, Indicatief Meerjaren Programma Milieubeheer 1986-1990, vergaderjaar 1985-1986, 19204, nrs. 1-2. (Den Haag, SDU, 1986)
2. Ministerie van Volkshuisvesting en ruimtelijke ordening, Omgaan met Risico's; de risicobenadering in het milieubeleid. Bijlage bij het Nationaal Milieubeleidsplan, Handelingen Tweede Kamer, vergaderjaar 1988-1989. (Den Haag, SDU, 1989) 21137, nr. 5,
3. Ministerie van Volkshuisvesting en ruimtelijke ordening, Vaststelling van de begroting van de uitgaven en ontvangsten van hoofdstuk XI voor het jaar 1993. Motie van de leden Esselink en Feenstra. Handelingen Tweede Kamer, vergaderjaar 1992-1993. (Den Haag, SDU, 1993) 22800 XI, nr. 23,
4. Risicobenadering in het milieubeleid, Brief van de minister van VROM. Handelingen Tweede Kamer, vergaderjaar 1992-1993. (Den Haag, SDU, 1992) 22666-4,
5. Ministerie van Volkshuisvesting en ruimtelijke ordening, Handleiding beleidsstandpunten stralingsbescherming. Deel I, Regulier. (Den Haag, Ministerie van VROM, 1993)
6. J. G. M. Alders, Brief van de Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, J.G.M. Alders aan de Voorzitter van de Tweede Kamer der Staten-Generaal op 10 november 1992. DGM/SVS27o92005.
7. D. J. de Bruijn, Normstelling stoffen: mogelijkheden tot differentiatie. Discussiestuk. (Den Haag, 1994)
8. Gezondheidsraad: Commissie Integrale Normstelling Stoffen, Anonymous, Het project Integrale Normstelling Stoffen. (Den Haag, Gezondheidsraad, 1995) GR 1995/07
9. R. L. Kodell, J. G. Pounds, Assessing the toxicity of mixtures of chemicals. In: *Statistics in Toxicology*, D. Krewski and C. Franklin, Eds. (Gordon and Breach, New York, NY, 1991), p. 559.
10. C. I. Bliss, The toxicity of poisons applied jointly. *Annals of Applied Biology* (1939). **26**: 585-615.
11. R. L. Plackett, P. S. Hewlett, Quantal responses to mixtures of poisons. *Journal of the Royal Statistical Society series B***14**, 143 (1952).
12. P. S. Hewlett, R. L. Plackett, A unified theory for quantal responses to mixtures of drugs: non-interactive action. *Biometrics* **15**, 591 (1959).

13. R. L. Plackett, P. S. Hewlett, A unified theory for quantal responses to mixtures of drugs: fitting of data of certain models for two non-interactive drugs with complete positive correlation of tolerances. *Biometrics* **19**, 517 (1963).
14. P. S. Hewlett, R. L. Plackett, A unified theory for quantal responses to mixtures of drugs: competitive action. *Biometrics* **20**, 566 (1964).
15. R. L. Plackett, P. S. Hewlett, A comparison of two approaches to the construction of models for quantal responses to mixtures of drugs. *Biometrics* **23**, 27 (1967).
16. D. J. Finney, *Probit Analysis*.(University Press, Cambridge, 1971),
17. J. R. Ashford, J. M. Cobby, A system of models for the action of drugs applied singly or jointly to biological organisms. *Biometrics*. **30**, 11 (1974).
18. J. H. Gaddum, *Pharmacology*, (Oxford University Press, London, 1949),
19. S. Loewe, The problem of synergism and antagonism of combined drugs. *Arzneim. Forsch.* **3**, 285 (1953).
20. P. K. Gessner, The isobolographic method applied to drug interactions. pp. 349-62. *In: Morselli. P. L. et. al. (eds)* (1974).
21. P. K. Gessner, B. E. Cabana, A study of the interaction of the hypnotic effects and of the toxic effects of chloral hydrate and ethanol. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **174**, 247 (1997).
22. P. S. Hewlett, Measurement of the potencies of drug mixtures. *Biometrics* **22**, 477 (1969).
23. U.S.Environmental Protection Agency, Guidelines for the health risk assessment of chemical mixtures. *Fed. Regist.* **51**, 34014 (1986).
24. G. K. Y. Lam, A general formulation of the concept of independent action for the combined effects of agents. *Bulletin of Mathematical Biology* **56**, 959 (1997).
25. G. G. Steel, M. J. Peckham, Exploitable mechanisms in combined radiotherapy-chemotherapy: The concept of additivity. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* **5**, 85 (1979).
26. E. J. Calabrese, *Multiple Chemical Interactions* ( Lewis Publishers, Chelsea, 1991).
27. F. R. Cassee, Upper respiratory tract toxicity of mixtures of aldehydes. Thesis.(1995). University of Utrecht:



28. J. R. Ashford, General models for the joint action of mixtures of drugs. *Biometrics*. **37**, 457 (1981).
29. D. Jonker, R. A. Woutersen, P. J. van Bladeren, H. P. Til, V. J. Feron, 4-week oral toxicity study of a combination of eight chemicals in rats: comparison with the toxicity of the individual compounds. *Food Chem. Toxicol.* **28**, 623 (1990).
30. D. Jonker, R. A. Woutersen, P. J. van Bladeren, H. P. Til, V. J. Feron, Subacute (4-wk) oral toxicity of a combination of four nephrotoxins in rats: comparison with the toxicity of the individual compounds. *Food Chem. Toxicol.* **31**, 125 (1993).
31. V. J. Feron, *et al*, Toxicity studies in rats of simple mixtures of chemicals with the same or different target organs. *Toxicol. Lett.* **82-83**, 505 (1995).
32. N. Ito, *et al*, Lack of carcinogenicity of pesticide mixtures administered in the diet at acceptable daily intake (ADI) dose levels in rats. *Toxicology Letters* **82/83**, 513 (1995).
33. N. Ito, *et al*, Effects of ingestion of 20 pesticides in combination at acceptable daily intake levels on rat liver carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* **33**, 159 (1995).
34. H. Könemann, Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: a proposal for a quantitative approach and experimental results. *Toxicology* **19**, 229 (1981).
35. J. Hermens, P. Leeuwangh, Joint toxicity of mixtures of 8 and 24 chemicals to the guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicol. Environ. Safety.* **6**, 302 (1982).
36. J. Hermens, J. H. Canton, N. Steyger, R. Wegman, Joint effect of a mixture of 14 chemicals on mortality and inhibition of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* **5**, 315 (1984).
37. J. Hermens, P. Leeuwangh, A. Musch, Quantitative structure activity relationships and mixture toxicity studies of chloro- and alkylalanines at an acute lethal toxicity level to the guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **8**, 388 (1984).
38. J. Hermens, P. Leeuwangh, A. Musch, Joint toxicity of mixtures of groups of organic aquatic pollutants to the guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicol. Environ. Safety.* **9**, 321 (1985).
39. J. W. Deneer, T. L. Sinnige, W. Seinen, J. L. M. Hermens, The joint toxicity to *Daphnia magna* of industrial organic chemicals at low concentrations. *Aquatic Toxicology* **12**, 33 (1988).

40. European Inland Fisheries Advisory Commission (EIFAC). Working party on Water Quality Criteria for European freshwater fish. Anonymous, Water quality criteria for European freshwater fish. Revised report on combined effects on freshwater fish and aquatic life of mixtures of toxicants in water. Technical paper. (Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1987) 37, rev. 1
41. H. Konemann, Structure-activity relationships and additivity in fish toxicities of environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. **4**, 415 (1980).
42. J. Lewtas, Development of a comparative potency method for cancer risk assessment of complex mixtures using short-term in vivo and in vitro bioassays. *Toxicol. Ind. Health* **1**, 193 (1985).
43. R. S. Schoeny, E. Margosches, Evaluating comparative potencies: developing approaches to risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol. Ind. Health* **5**, 825 (1989).
44. V. J. Feron, *et al*, Safety evaluation of the mixture of chemicals at a specific workplace: theoretical considerations and a suggested two-step procedure. *Toxicol. Lett.* **76**, 47 (1995).
45. M. M. Mumtaz, P. R. Durkin, A weight-of-evidence approach for assessing interactions in chemical mixtures. *Toxicol. Ind. Health* **8**, 377 (1992).
46. J. B. Sprague, B. A. Ramsay, Lethal levels for mixed copper-zinc solutions for juvenile salmon. *J. Fish. Res. Board Can.* **22**, 425 (1965).
47. Gezondheidsraad: Commissie Risico-evaluatie stoffen. Dioxinen. Polygechloreerde dibenzo-p-dioxinen, dibenzofuranen en dioxine-achtige polychloorbifenylen. (Den Haag, Gezondheidsraad, 1996) GR 1996/10,
48. JMPR, Pesticide residues in food - 1993. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. (Geneva, FAO, 1993) 133,
49. T. G. Vermeire, M. E. Van Apeldoorn, J. C. de Fouw, P. J. C. M. Janssen, Voorstel voor de humaan-toxicologische onderbouwing van C-toetsingswaarden. (Bilthoven, RIVM, 1991) RIVM 725201 005,
50. NAS (National Academy of Science), Risk assessment of mixtures of systemic toxicants in drinking water. *Drinking Water and Health*, N.R. Safe Drinking Water Committee, Ed. (National Academy Press, Washington, DC, 1989), p. 121.
51. Gezondheidsraad, Advies inzake uitgangspunten voor normstelling; de inzichtelijke opbouw van advieswaarden voor niet-mutagene, niet-carcinogene en niet-immunotoxische stoffen. (Den Haag, Gezondheidsraad, 1985) GR 85/31,

52. J. A. Janus, J. M. Hesse, M. G. J. Rikken, Aandachtstoffen in het Nederlandse milieubeleid - overzicht 1994. (Bilthoven, RIVM, 1994) RIVM 601014 006,
53. FAO/WHO, FAO/WHO cultural and global diets prepared by WHO food safety unit. (Geneva, FAO/WHO, 1994)
54. *Het additievenboekje. Een overzicht van toevoegingen aan eet- en drinkwater 1988* ( SDU, Den Haag, 1988).
55. *Warenwet* ( Koninklijke Vermande BV, Lelystad, 1996).
56. Voorlichtingsbureau voor de Voeding, *Zo eet Nederland, 1992. Resultaten van de Voedselconsumptiepeiling 1992* ( Voorlichtingsbureau voor de Voeding, Den Haag, 1992).

APPENDIX SAMENSTELLING VAN STOFGROEPEN VOOR DOSIS-  
ADDITIVITEIT

(\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
Warenwet en VCP 1992)

METALEN	DRINS	GEHALOGENEERDE KWS
aluminium/verbindingen	aldrin	GEHALOGENEERD, ALIFATISCH
antimoon/verbindingen	dieldrin	dichloromethaan
arseen, anorganisch/verbindingen	endrin	trichloromethaan (chloroform)
arseen, organisch/verbindingen		tetrachloromethaan
barium		trichloroetheen
beryllium/verbindingen		tetrachloroetheen
broom/verbindingen		1,2 dichloroethaan
cadmium/verbindingen		1,1,1 trichloroethaan
chrom/verbindingen		bromoform
cobalt/verbindingen		chlorodibromomethaan
koper/verbindingen		1,2 dibromo 3 chloropropaan
kwik/verbindingen		methylbromide
methylkwik		hexachlorobutadien
lood/verbindingen		
nikkel/verbindingen		CHLOORBENZENEN/TOLUENEN
thallium		monochloorbenzeen
tin		1,2 dichloorbenzeen
vanadium		1,3 dichloorbenzeen
ijzer		1,4 dichloorbenzeen
zink/verbindingen		trichloorbenzeen
		tetrachloorbenzeen
		pentachloorbenzeen
		hexachloorbenzeen
		2 chloortolueen
		4 chloortolueen
		DIVERS
		4 methylchlooraniline
		alpha-hexachloorcyclohexaan
		beta-hexachloorcyclohexaan
		gamma-chloorcyclohexaan
		polychloorbiphenylen
		dioxinen/furanen (TEFs)
		endosulfan
		dicofol*
		methoxychloor*
		DDT/TDE/DDE
		quintozeen*
		chloorthalonil*

**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

KOOLWATERSTOFFEN	O-BEVATTENDE KWS	ORGANOFOSFATEN
ethylbenzeen tolueen xyleen 1,3 butadien styreen combinatie PAKs	cresolen phenol 2 butanon butanol	acefaat* azinfos* bromofos methyl* bromofos ethyl* carbophenothion* chloorpyrifos* diazinon (pest)* diazinon (dier)* dichlofluanide* dichloorvos* etrimfos* fenitrothion* fonofos* formothion* fosalon* fosfamidon* fosmet* foxim* heptenofos* isofenfos* malathion* methamidofos* mevinfos* omethoaat* parathion-methyl* primifos-methyl* temefos* terbufos* thiometon* vamidoth* fosetyl (aluminium)* pyrazofos* ethefon*

**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

BENZIMIDAZOLEN/TRIAZOLEN	CARBAMATEN	DITHIOCARBAMATEN
benomyl*	bendiocarb*	EPTC*
carbendazim*	benfuracarb*	prosulfocarb*
thiabendazool*	carbaryl*	ferbam*
bitertanol*	carbofuran*	mancozeb*
penconazool*	carbosulfan*	maneb*
propiconazool*	ethiofencarb*	metiram*
triadimenol*	methiocarb*	thiram*
imazalil*	primicarb*	ziram*
procloraz*	propoxur*	
thiofanaatmethyl*	thiodicarb*	
cymiazool-HCl*	carbeetamide*	
cyproconazool*	fenmedifam*	
difenconazool*	aldicarb*	
flusilazol*	methomyl*	
hexaconazool*	oxamyl*	
imazamethabenz-methyl*	propamocarb-HCl*	
myclobutanil*	furathiocarb*	
tebuconazool*		
triflumizool*		
albendazole*		
oxfendazol*		
oxybendazol*		
thiabendazol*		
triclabendazol*		
levamisol*		

**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

<p><b>DICARBOXIMIDEN</b></p> <p>iprodition*                      procymidon*                      vinchlozalin*                      hexithiazox*</p>	<p><b>ACYL-UREUM</b></p> <p>diflubenzuron*                      teflubenzuron*                      lenacil*                      dazomet*                      maleine hydrazide*                      chloorbromuron*                      diuron*                      linuron*                      methabenzthiazuron*                      monolinuron*                      pencycuron*                      dimefuron*                      dodine*                      metsulfuron-methyl*</p>	<p><b>ANTI-BACTERICIDE</b></p> <p><b>CEPHALOSPORINES</b></p> <p>cefquinome*                      ceftiofur*</p> <p><b>QUINOLONES</b></p> <p>enrofloxacin*                      sarafloxacin*                      danofloxacin*</p> <p><b>MACROLIDEN</b></p> <p>tilmicosine*                      spiramycine*                      tylosine*                      spectomycine*</p> <p><b>TETRACYCLINES</b></p> <p>oxytetracycline*</p> <p><b>THIAMPHENICOL EN VERWANTE                      VERBINDINGEN</b></p> <p>thiamphenicol*                      florfenicol*</p> <p><b>MORFOLINEVERBINDINGEN</b></p> <p>fenpropimorf*                      dimethomomorf*</p> <p><b>PYRIMIDINEVERBINDINGEN</b></p> <p>bupirimaat*                      fenarimol*</p>
---	--	---

**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

<p><b>PYRETROIDEN</b></p> <p>bifenthrin*  buprofezin*  cyfluthrin*  cypermethrin*  deltamethrin*  fenothrin*  fenpropathrin*  flucythrinaat*  permethrin*  pyrethrinen*</p>	<p><b>IVERMECTINES</b></p> <p>abamectine (dier)*  abamectine (pest)*  doramectine*  ivermectine*  moxidectine*</p>	<p><b>Sn-BEVATTEND</b></p> <p>azocyclotin*  cyhexatin*  fenbutatinoxide*  fentin-acetaat*  fentin-hydroxide*  tinchloride**</p>
<p><b>ANILIDEN</b></p> <p>metolachloor (herb)*  cyprofuran (bact)*  metalaxyl (bact)*  alachloor*  tefluthrin*</p>	<p><b>TRIAZINEN</b></p> <p>cyanazin*  terbutylazin*  metribuzin*  thifensulfuron*methyl  cyromazin*</p>	<p><b>CAPTAN</b></p> <p>captan*  folpet*  tolyfluanide*</p>



**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

SMAAK- EN KLEURSTOFFEN	EMULGATOR/STABILISATOR/ ZUURTEREGELAAR/ ANTISCHUIMMIDDEL	VERDIKKINGSMIDDELEN
annatto** aspartaam** azorubine** briljantblauw** briljantgroen** briljantzwart** carotenoiden**  chlorofylline-kopercomplex** cholinegeel** cochenillrood** curcumine** erytrosine** ethylvanilline** indigotine** oranjegeel** patentblauw V** riboflavine** saccharine** tartrazine** vanilline**	diacetylwijnsteenzuur** fosfaten** fumaarzuur** polydimethylsiloxaan** polyglycerol-ricinolzuuresters** polyglycerolvetzouresters** polyoxyethyleensorbitaan- vetzouresters** propyleenglycolalginat** propyleenglycolvetzouresters** saccharose verbindingen** sorbitaan vetzouresters** stearoylacetylaten** wijnsteenzuur**	alginaten** cellulose verbindingen** karayagom**
CONSERVERINGSMIDDELEN/ ANTIOXIDANT alpha-tocoferol** benzoëzuur** BHA** BHT** bifenyl** gallaten** kopersulfaat** nitraat nitriet ortho-fenylfenol** sorbinezuur** sulfiet**		

**Appendix** Samenstelling van stofgroepen voor dosis-additiviteit (vervolg)  
 (\* berekend aan de hand van MRLs en WHO-dieet; \*\* berekend aan de hand van  
 Warenwet en VCP 1992)

BESTRIJDINGS- EN DIERBEHANDELINGSMIDDELEN DIVERS	DIVERS	NIET-DREMPEL
amitraz* azaperon* bensultap* bentazon* bifenox* broompropylaate* carazolo* chloormequat* cinmethylin* closantel* cyanamid* cycloxydim* daminozide* dexalethason* dichloran* diethaetyl-ethyl* dinoterb* dithianon* fenoxaprop-ethyl* fluazifop-P-butyl* fluroxypyr* flutolanil* glufosin* glyfosfaat* glyfosfaat-trimesium* guazatine* MCPA* nitrothal-isopropyl* piperonylbutoxide* propargiet* pyridaat* pyridaben* quinmerac* quizalofop-ethyl* tetradifon* triapenthenol* triforine*	di-ethylftalaat (DEP) di-(2-ethylhexyl)ftalaat (DEHP) ftaalzuuranhydride EDTA Nitrioltri-azijnzuur (NTA) borium jodium acroleine formaldehyde carbondisulfide	chroom VI BaP vinylchloride 1,2 dibromoethaan benzeen nikkel (inhalatoir) acrylonitril ethyleenoxide propyleenoxide