

BIOASSAYS

FOWA-PROJEKT 006-12: WIRKUNGSBASIERTE TESTSYSTEME FÜR TRINKWASSER

Durch die Verbesserungen in der chemischen Analytik sind wir heute in der Lage, eine immer grösser werdende Anzahl neuer Substanzen in immer niedrigeren Konzentrationen im Trinkwasser nachzuweisen. Aufgrund der enorm hohen Anzahl möglicher Verunreinigungen ist die traditionelle chemische Analyse des Trinkwassers ungeeignet für eine umfassende Bewertung der Wasserqualität. Effektbasierte Bioassays stellen eine mögliche Alternative dar und könnten zukünftig Bestandteil eines mehrstufigen Prozesses zur Trinkwasserbeurteilung werden. Allerdings eignen sich derzeit nur wenige Bioassays für Routineuntersuchungen.

Lothar Aicher, Schweizerisches Zentrum für Angewandte Humantoxikologie (SCAHT)*

RÉSUMÉ

PROJET FOWA N° 006-12: BIOASSAYS – NOUVELLE ÉVALUATION DES RISQUES POUR LES IMPURETÉS PERTINENTES POUR L'EAU POTABLE

Les techniques de mesure modernes permettent de détecter la présence d'un nombre croissant de nouvelles substances dans des concentrations de plus en plus faibles dans l'eau potable. Ces déclarations donnent la fausse impression que notre eau potable n'a jamais été aussi polluée. En outre, les inquiétudes concernant la mise en danger de notre santé par ces «micropolluants» que nous buvons pendant l'ensemble de notre vie dans l'eau potable prennent également de l'importance. Nous nous posons notamment la question de savoir si l'association de petites quantités presque négligeables de produits chimiques différents ne finit pas par représenter un danger pour la santé.

Les analyses chimiques généralement utilisées pour déterminer la qualité de l'eau pour des substances individuelles connues ne peuvent pas répondre à cette question. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles techniques d'essai. De grands espoirs sont fondés sur les tests biologiques basés sur l'effet afin d'analyser des mélanges de matière complexes avec une composition indéterminée. Les tests biologiques permettent en effet de détecter la présence de polluants chimiques en se basant sur leurs effets sur les systèmes cellulaires biologiques. L'identité des polluants ne doit pas être connue à l'avance pour ces tests

EINLEITUNG

Die Belastung des Menschen mit Chemikalien wird mit dem Auftreten zahlreicher Erkrankungen in Verbindung gebracht. Trinkwasser ist ein lebensnotwendiges Nahrungsmittel, das mit Chemikalien verunreinigt sein kann. Je nach Herkunft des Rohwassers, aus dem das Trinkwasser gewonnen wird, können die Belastungen mit Chemikalien geogener Natur und/oder auf Schadstoffeinträge des Menschen durch Industrie, Landwirtschaft und private Haushalte zurückzuführen sein. Auch im Verlauf der Wasseraufbereitung und -verteilung können chemische Stoffe ins Trinkwasser gelangen. Deshalb ist es notwendig, das Trinkwasser auf seine toxikologische Unbedenklichkeit hin zu untersuchen.

Ein mögliches Gesundheitsrisiko für den Menschen ausgehend von Chemikalien wird hauptsächlich aufgrund tierexperimenteller Studien abgeschätzt. Diese Toxizitätsstudien sind sehr zeitaufwendig, teuer und liegen nicht für alle Chemikalien vor. Organspezifische Zellkulturen und das wachsende Verständnis von biochemischen Vorgängen eröffnen neue Möglichkeiten, um mit vertretbarem Aufwand trinkwasserrelevante Chemikalien auf ihre toxischen Wirkungen zu testen. Im FOWA-geförderten Projekt «Mikrotox: Wirkungs-basierte Testsysteme für Trinkwas-

* Kontakt: lothar.aicher@unibas.ch

ser» wurden verschiedene solcher Testsysteme im Hinblick auf ihre Eignung für die Beurteilung der Trinkwasserqualität angeschaut und bewertet. So sollte ein Set toxikologischer Tests zusammengestellt werden, die als Frühwarnsysteme in der Überwachung der Trinkwasserqualität eingesetzt werden können. Die Ergebnisse dieser Studie sind im folgenden Artikel zusammengefasst.

NEUE HERAUSFORDERUNGEN – MIKROVERUNREINIGUNGEN

Wasserversorger überwachen regelmässig das abgegebene Trinkwasser, um sicherzustellen, dass seine Qualität den in der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (FIV, SR 817.021.23) festgelegten Anforderungen entspricht. Allerdings führte die kontinuierliche Verbesserung in der Messtechnik dazu, dass heute immer mehr Chemikalien im Trinkwasser in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden können. Die Messmethoden sind zum Teil so empfindlich, dass man ein Stück Zucker in einem Swimmingpool nachweisen kann. Wegen dieser extrem geringen Konzentrationen spricht man auch von «Mikroverunreinigungen».

Viele der neu nachgewiesenen Substanzen sind in den bestehenden gesetzlichen Regelungen zu Trinkwasser nicht berücksichtigt [1]. Ausserdem fehlen für viele der Substanzen ausreichende toxikologische Daten, um eine umfassende Risikobewertung vorzunehmen. Um dennoch gesundheitlich unbedenkliche Höchstkonzentrationen zu definieren, wird in der Schweiz das TTC-Konzept (*Threshold of Toxicological Concern*) angewendet [1–3]. Dieses Konzept beruht auf der Annahme, dass Substanzen, die eine ähnliche chemische Struktur aufweisen, auch ein ähnliches Toxizitätsprofil zeigen. Deshalb kann die Toxizität einer Substanz, für die keine oder nur unzureichende Toxizitätsdaten vorliegen, durch einen Vergleich mit strukturell ähnlichen Substanzen, für die ausreichend Sicherheitsdaten vorliegen, abgeschätzt werden. Allerdings ist das TTC-Konzept nicht auf alle Chemikalien anwendbar. Ausserdem muss sowohl die chemische Struktur der Verunreinigung im Trinkwasser als auch deren Konzentration bekannt sein [4].

In der Realität bedeutet dies, dass das TTC-Konzept zur Risikobeurteilung von Mikroverunreinigungen im Trinkwasser

nur begrenzt verwendet werden kann. In vielen Fällen ist nämlich gar nicht bekannt, ob das Trinkwasser überhaupt verunreinigt ist und, wenn ja, welche Verunreinigungen in welcher Menge vorliegen. Nach vorsichtigen Schätzungen sind wir täglich über 30 000 verschiedenen Chemikalien in unserer Umwelt ausgesetzt [5]. Rein theoretisch können alle diese Chemikalien als Mikroverunreinigungen im Trinkwasser vorkommen. Welche Schadstoffe sich aber tatsächlich in unserem Trinkwasser befinden, ist in vielen Fällen unklar. Wenn die Identität der Verunreinigungen nicht bekannt ist, bedeutet dies zugleich, dass keine Informationen zur Struktur der Verbindung vorliegen und somit das TTC-Konzept nicht angewendet werden kann, um Höchstwerte für die Substanz abzuleiten. Was soll man also tun, um sicherzugehen, dass das Trinkwasser gesundheitlich unbedenklich ist, obwohl weder bekannt ist, welche Chemikalien überhaupt darin vorkommen noch in welcher Konzentration?

NEUE LÖSUNGEN: BIOASSAYS

Hier können Bioassays weiterhelfen. Heute wird bei der Überwachung der Trinkwasserqualität hauptsächlich die gezielte chemische Analyse eingesetzt. Auf diese Weise werden jedoch nur die Verunreinigungen gefunden, nach denen gesucht wurde. Bei der immensen Anzahl an möglichen Verunreinigungen wird schnell klar, dass die chemische Analytik als Methode der Wahl zur umfassenden Überwachung des Trinkwassers ungeeignet ist. Neue Lösungsansätze zielen daher auf die Erfassung chemischer Verunreinigungen mittels biologischer Testsysteme, der sogenannten Bioassays.

Bioassays erfassen die Auswirkungen chemischer Schadstoffe auf biologische Systeme. Hierfür werden *In-vitro*-Tests eingesetzt, also Tests mit Mikroorganismen, mit Zellkultursystemen, die aus verschiedenen Organen stammen, oder mit biologischen Molekülen, so dass Toxizitätsprüfungen ohne Tierversuche durchgeführt werden können. Für Bioassays braucht es kein Vorwissen über die chemische Beschaffenheit der Probe. Weder Struktur noch Konzentration der einzelnen Stoffe noch die Zusammensetzung der Probe müssen bekannt sein und trotzdem kann die Toxizität der gesamten Mischung erfasst werden. Chemische Analytik und Bioassays verfolgen unter-

schiedliche Strategien und ergänzen sich so. Die chemische Analytik zielt darauf ab, Einzelsubstanzen und deren Konzentration im Trinkwasser nachzuweisen. Das bedeutet, dass bereits ein Verdacht zu möglichen Verunreinigungen bestehen muss, der bestätigt oder widerlegt werden soll. Mit Bioassays dagegen wird ein ganzheitlicher Ansatz verfolgt, bei dem die Frage nach einem toxikologischen Effekt – unabhängig von der Zusammensetzung der Probe – im Vordergrund steht. Mit Bioassays lässt sich aber nicht die Identität der Chemikalien bestimmen, die für die Toxizität verantwortlich sind.

ERFAHRUNGEN MIT BIOASSAYS

Das Bestreben, die Anzahl der benötigten Versuchstiere für die toxikologische Risikoabschätzung zu reduzieren, hat dazu geführt, dass viele quantitative *In-vitro*-Bioassays zur Analyse zahlreicher Schadstoffklassen entwickelt wurden. Diese Bioassays finden bereits Anwendung im Toxizitätsscreening bei der Entwicklung neuer Produkte, weil sie eine erste Einteilung der Entwicklungssubstanzen in Gefahrenklassen zulassen. Auf die gleiche Art und Weise bieten Bioassays auch eine erste Entscheidungshilfe, wenn es darum geht, innerhalb kurzer Zeit mit begrenzten Mitteln diejenigen Chemikalien zu priorisieren, die als erste toxikologisch abgeklärt werden sollen. Darüber hinaus wurden Bioassays auch schon bei der Beurteilung der Wasserqualität und hier besonders des Abwassers angewendet [6]. Trotz dieser zahlreichen Anwendungsbeispiele müssen viele Bioassays weiter optimiert werden, um ihre Akzeptanz für die Risikobeurteilung im regulatorischen Umfeld zu steigern. Gerade für den routinemässigen Einsatz im Trinkwasserbereich müssen die Bioassays angepasst und verbessert werden, da Trinkwasser vergleichsweise schwach belastet ist.

Einen Grossteil der Erfahrungen im Einsatz von Bioassays zur Wasseranalyse wurde mit stark belasteten Abwässern gesammelt. Dagegen stellt die Analyse von Mikroverunreinigungen im schwach belasteten Trinkwasser grosse Anforderungen an die Sensitivität der Bioassays. Um die Sensitivität zu steigern, müssen Trinkwasserproben stark aufkonzentriert werden. Dabei beeinflusst die Art der Probenaufbereitung die Zusammensetzung des Konzentrats, die von der Originalprobe abweichen kann. So können beim Einsatz thermischer Verfahren leichter

flüchtige Stoffe aus der Probe entweichen. Chemische Extraktionsverfahren erfordern den Einsatz von Lösungsmitteln, die eine unterschiedliche Selektivität für die verschiedenen Chemikalien in der Trinkwasserprobe aufweisen. Eine zu starke Aufkonzentration der Probe kann zudem die Löslichkeit des Konzentrats im späteren Testmedium des Bioassays beeinflussen oder zu unspezifischen toxikologischen Effekten führen. Dadurch wird nicht nur die Vergleichbarkeit verschiedener Studienresultate infrage gestellt, sondern auch die Relevanz der Befunde für die menschliche Risikobeurteilung.

ANFORDERUNGEN AN DEN BIOASSAY

Welche Anforderungen muss ein Bioassay erfüllen, damit er zur wissenschaftlich fundierten Risikobeurteilung trinkwasserrelevanter Verunreinigungen eingesetzt werden kann? Eine umfassende humantoxikologische Bewertung einer Chemikalie, so wie sie z. B. für die Zulassung eines Pflanzenschutzmittels notwendig ist, umfasst sowohl akute Effekte nach einmaliger Verabreichung der Chemikalie – meist in hoher Konzentration –, sub-chronische Effekte nach mehrmaliger Verabreichung über einen begrenzten Zeitraum und chronische Effekte nach le-

benslanger Verabreichung einer Chemikalie. Dabei werden die Auswirkungen auf alle wichtigen Organsysteme untersucht. Die Risikobewertung des Trinkwassers mithilfe von Bioassays fokussiert auf der Charakterisierung von chronischen Effekten, die durch extrem niedrige Chemikalienkonzentrationen verursacht werden können. Akute toxikologische Effekte durch Verunreinigungen im Trinkwasser sind bei den Qualitätsstandards in der Schweiz nicht zu erwarten. Dahingegen ist die Bevölkerung besorgt über die Auswirkungen von Chemikalien, die wir im Niedrigdosisbereich lebenslang zu uns nehmen. Von besonderer Relevanz sind die Endpunkte Gentoxizität (eine Veränderung der menschlichen Erbinformation), Kanzerogenität (Krebsentstehung), Reproduktionstoxizität (Unfruchtbarkeit sowie Entwicklungsstörungen bei Ungeborenen und Kindern) und Neurotoxizität (Schädigung des Nervensystems) [7].

Bioassays müssen in der Lage sein, diese toxikologischen Endpunkte zu erfassen. Die Testsysteme müssen sich mit vertretbarem Aufwand durchführen und auswerten lassen, damit sie im Rahmen von Routineüberprüfungen eingesetzt werden können. Sie müssen aussagekräftige Ergebnisse liefern, um tatsäch-

lich Entscheidungshilfen für das Risikomanagement zu liefern. Darüber hinaus müssen die Bioassays besonders sensitiv sein und Effekte im Niedrigdosisbereich detektieren. Die Tests müssen reproduzierbar sein. Kommerziell erhältliche Tests gewährleisten eine maximale Reproduzierbarkeit.

Schliesslich werden aus Gründen der Qualitätssicherung validierte Tests gefordert, für die es formal akzeptierte Testrichtlinien gibt. Eine Sammlung solcher standardisierter und international anerkannter Prüfmethode stellt die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) zur Verfügung (<http://www.oecd.org/env/ehs/testing>). Einen Überblick über eine Auswahl der veröffentlichten und in Entwicklung befindlichen OECD-Testrichtlinien für *In-vitro*-Bioassays gibt *Figur 1*.

BIOASSAYS FÜR TRINKWASSER

Obwohl eine breite Palette von Biotests zur Verfügung steht, sind viele nicht für das routinemässige Screening des Trinkwassers geeignet, weil sie die vorgängig genannten Anforderungen nicht erfüllen, d. h. weil sie schwierig in der Handhabung sind (z. B. Verwendung von

Toxikologischer Endpunkt	Status	Bemerkung / OECD Testrichtliniennummer
Toxikokinetik	Einige Fortschritte	Skin absorption (428)
Hautreizende/-ätzende Wirkung	Grosse Fortschritte/ viele Tests	TER (430); human skin model (431); membrane barrier test (435)
Augenreizende/-ätzende Wirkung	Grosse Fortschritte/ viele Tests	BCOP (437), ICE (438), Cytosensor Microphysiometer (Entwurf)
Hautsensibilisierung	Geringe/keine Fortschritte	Weiterentwicklung: in-vivo LNNA (429)
Akute Toxizität	Geringe/keine Fortschritte	Weiterentwicklung: Fixed dose (420), Acute toxic class (423), Up-and-down (425)
Toxizität bei wiederholter Gabe	Geringe/keine Fortschritte	zu komplex
Karzinogenität	Geringe/keine Fortschritte	SHE (Entwurf), Balb/c 3T3, C3HT
Mutagenität	Grosse Fortschritte/ viele Tests	Ames (471), chromosome aberration (473), Micronucleus (487), mouse lymphoma (476), SCE (479), yeast gene mutation & conversion (480 & 481), UDS (482), Comet (Entwurf)
Reproduktionstoxizität	Einige Fortschritte	Embryotoxizität: EST, WEC, MM (nicht OECD)
Neurotoxizität	Geringe/keine Fortschritte	zu komplex

Grosse Fortschritte/
viele Tests
Einige Fortschritte
Geringe/keine Fortschritte

Fig. 1 Übersicht über eine Auswahl von OECD-Testrichtlinien für *In-vitro*-Bioassays bzw. Einschätzung des Status quo

Vue d'ensemble d'une sélection des directives d'essai publiées par l'OCDE pour des tests biologiques et estimation du statu quo

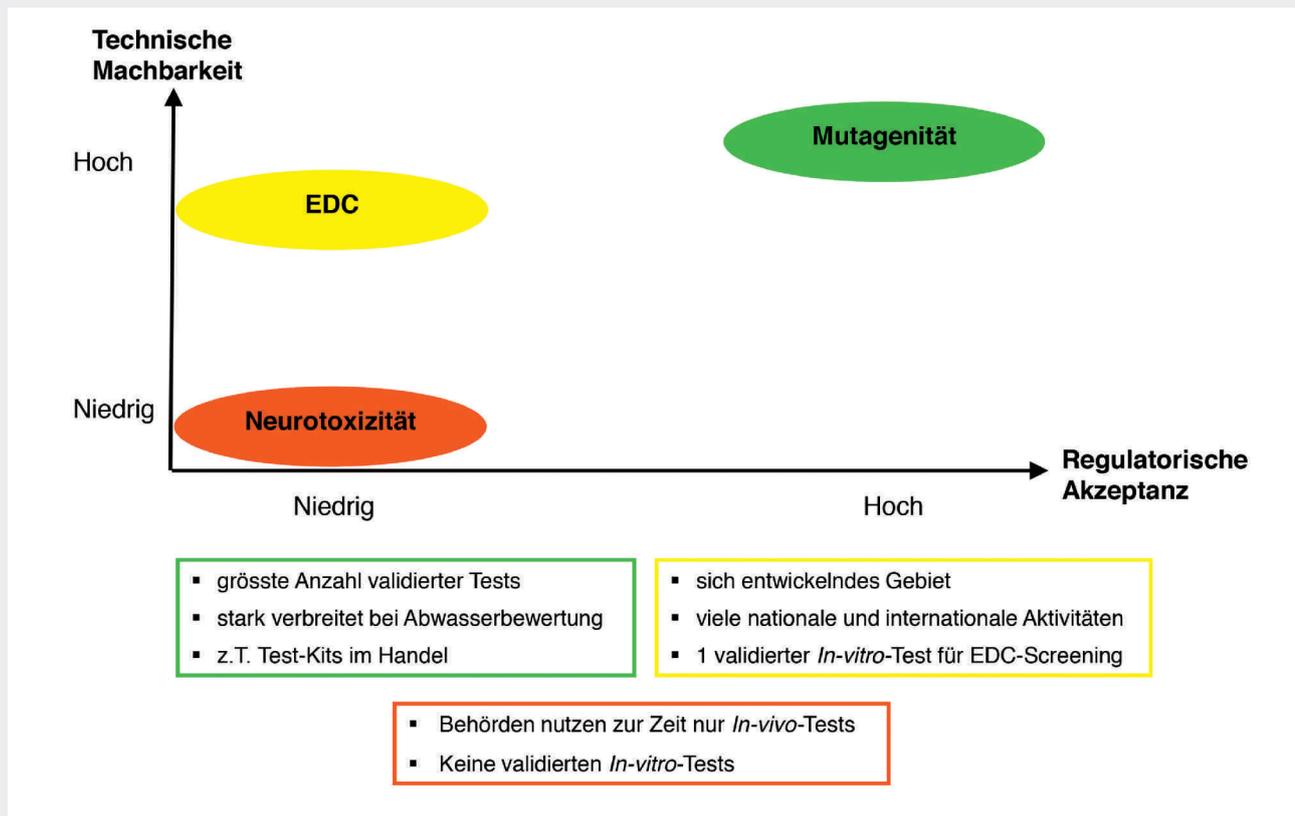


Fig. 2 Bewertung von Testsystemen für drei toxikologische Endpunkte bezüglich technischer Machbarkeit und Akzeptanz durch den Regulator. Insgesamt wurden für die drei Endpunkte 51 Tests identifiziert

Évaluation de systèmes d'essai pour trois points limites toxicologiques eu égard à la faisabilité technique et l'acceptation par le législateur. 51 tests ont été identifiés au total pour les trois points limites

radioaktiven Teilchen), zu viele Ressourcen erfordern (finanzielle Mittel, Bedienerunterstützung, lange Studiendauer) oder nicht validiert sind. Wenn als Selektionskriterien für die Anwendung im Trinkwasser die Machbarkeit und Verfügbarkeit von validierten *In-vitro*-Assays, die schon in einem ähnlichen Umfeld angewendet wurden, herangezogen werden, dann zeigt sich, dass es für Mutagenitätstests die höchste Anzahl von formal validierten und akzeptierten Testrichtlinien gibt (Fig. 2). Einige dieser Tests sind als komplette Test-Kits im Handel erhältlich (z. B. Ames-Test). Auch zur Beurteilung hormonaktiver Chemikalien stehen zahlreiche, bereits häufig angewendete Bioassays zur Verfügung, die zwar noch in der Validierungsphase, aber teilweise bereits kommerziell erhältlich sind (z. B. CALUX-Bioassay). Für die sehr komplexen toxikologischen Endpunkte der Tumorbildung und der Neurotoxizität hingegen gibt es derzeit keine aussagekräftigen *In-vitro*-Bioassays (Fig. 2).

MUTAGENITÄT UND KANZEROGENITÄT

Bei Chemikalien, die Krebs auslösen, werden zwei Klassen unterschieden: mu-

tagene und nicht-mutagene Kanzerogene. Die mutagenen Kanzerogene verändern das Erbgut des Menschen. Nicht-mutagene Kanzerogene greifen in biochemische Vorgänge in der Zelle ein und erzeugen oder begünstigen so die Entwicklung eines Tumors.

Für die Prüfung auf Mutagenität werden drei Typen von Veränderungen im Erbgut von Zellen betrachtet [8], nämlich Mutationen in einzelnen Genen, Veränderungen der Chromosomenstruktur und Veränderungen der Chromosomenanzahl. Diese Tests können an verschiedenen Organismen durchgeführt werden. Tests in Bakterien sind in der Regel einfacher zu handhaben als Tests an höheren Organismen. Allerdings werden Tests, die mit humanen Zellen durchgeführt werden, oft als relevanter für die Risikobeurteilung eingestuft. Da kein einzelner Bioassay in der Lage ist, alle genotoxischen Endpunkte zu untersuchen, besteht eine Teststrategie immer aus der Kombination mehrerer Bioassays. Die genaue Kombination verschiedener Tests im Rahmen einer Mutagenitätsprüfung kann sich je nach Fragestellung unterscheiden. Validierte alternative Testmethoden für die

Bewertung des kanzerogenen Potenzials von nicht-mutagenen Kanzerogenen existieren noch nicht, obwohl das OECD Testrichtlinienprogramm seit Jahren an der Entwicklung von zwei *In-vitro*-Zelltransformationstests arbeitet.

HORMONAKTIVE SUBSTANZEN

Endokrin wirksame Substanzen (engl.: *endocrine disrupting compounds*, EDC) sind körperfremde Wirkstoffe, die den Hormonhaushalt des Körpers beeinflussen. Hormone wiederum sind körpereigene Botenstoffe, die in Drüsen gebildet und über die Blutbahn zu den Organen des Körpers transportiert werden, wo sie ihre Wirkungen entfalten. Hormone wirken sehr spezifisch. Sie können nur an den Organen eine Reaktion auslösen, die spezifische Hormonrezeptoren tragen, an welche die Hormonmoleküle binden. Da Hormone bereits in sehr niedrigen Konzentrationen wirken, ist eine mögliche Störung des Hormonhaushalts selbst durch kleinste Mengen endokrin wirksamer Substanzen relevant für die Risikobeurteilung.

Es existieren zahlreiche Möglichkeiten, den Hormonhaushalt zu beeinflussen. Die Hormonsynthese kann direkt stimuliert

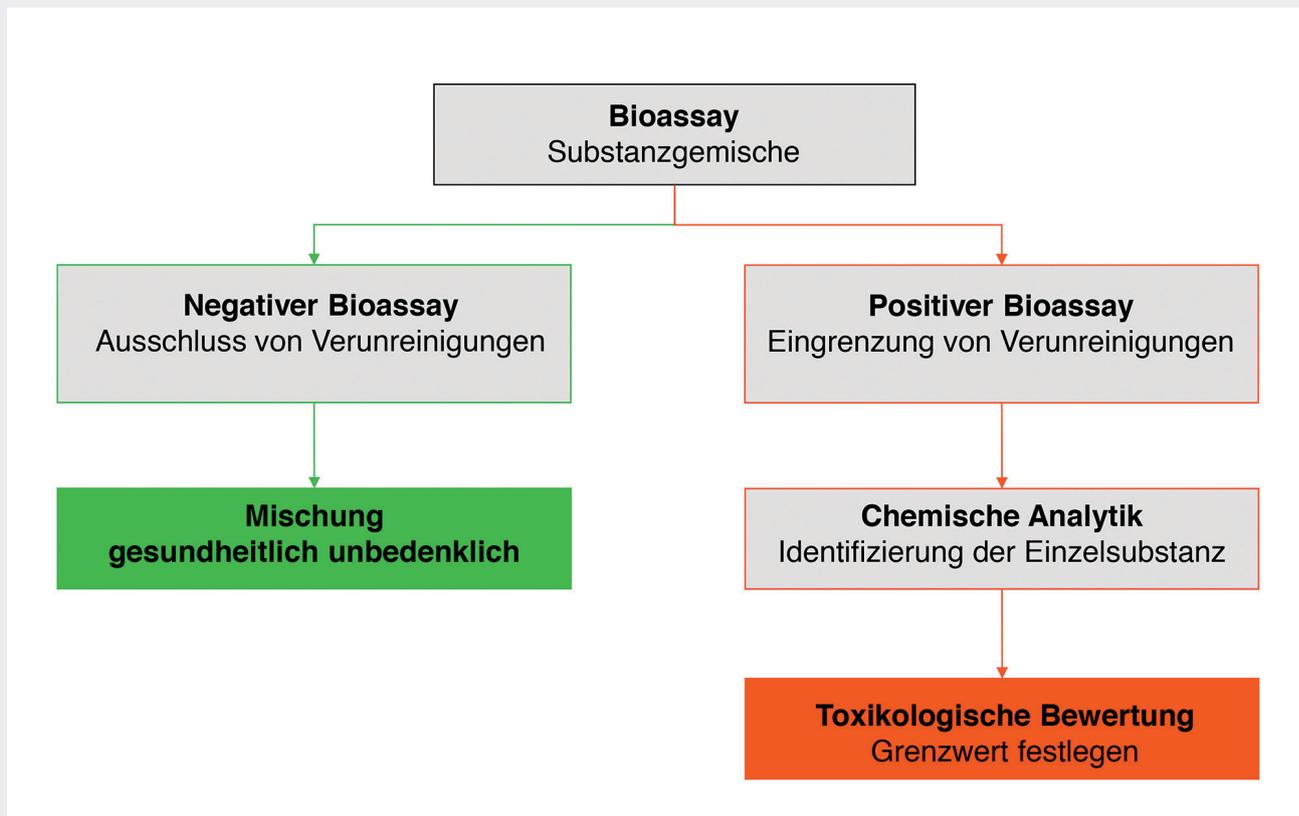


Fig. 3 Vorschlag für eine mehrstufige Trinkwasseranalyse bestehend aus Bioassay und chemischen Untersuchungen

Proposition d'analyse de l'eau potable en plusieurs étapes composée de tests biologiques et d'analyses chimiques

oder gehemmt werden (Agonisten bzw. Antagonisten). Die Hormonsekretion in den Blutkreislauf oder der Transport des Hormons im Körper kann gestört werden, sodass das Hormon nicht an seinen Wirkungsort gelangt. Am Zielorgan kann es ebenfalls zu Wechselwirkungen des Hormons bzw. des Hormonrezeptors mit Fremdmolekülen kommen, sodass das Hormon seine spezifische Wirkung nicht mehr entfalten kann.

Es gibt keinen Test, aus dem Informationen zu allen wichtigen Wegen der Störung des Hormonsystems gesamthaft herausgelesen werden können. Daher muss eine Probe verschiedenen Tests unterzogen werden, die in menschlichen Krebszelllinien und/oder Hefezellen durchgeführt werden können.

Das OECD-Testrichtlinienprogramm arbeitet an der Validierung alternativer Testmethoden für potenziell endokrin wirksame Substanzen. Viele Tests sind in der Validierungsphase im Rahmen anderer Screening-Initiativen. Der derzeit einzige validierte *In-vitro*-Test zur Prüfung auf hormonaktive Substanzen basiert auf einer Zelllinie, die aus menschlichen Gebärmutterhalskrebszellen gewonnen wurde (hER α -tragende HeLa-Zelllinie 9903). Sehr vielversprechend sind aber

auch der CALUX-Test und der YES-Test, die auf menschlichen Brustkrebszelllinien bzw. Hefezellen basieren.

NEUROTOXISCHE EFFEKTE

Das Hauptproblem bei der Entwicklung von Bioassays zur Prüfung auf Neurotoxizität liegt in der Komplexität des menschlichen Nervensystems. Derzeit verwenden Regulierungsbehörden ausschliesslich Daten aus Tierstudien, um mögliche Auswirkungen von Chemikalien auf das Nervensystem zu beurteilen. Diese Testverfahren fokussieren vor allem auf neurologische Verhaltensstörungen der kognitiven, sensorischen und motorischen Funktionen und neuropathologische Studien. *In-vitro*-Tests können mechanistische Informationen liefern, haben aber nur beschränkte Aussagekraft bei der Beurteilung verzögerter Reaktionen und der Unterscheidung zwischen vorübergehenden und dauerhaften Effekten. Auswirkungen auf sensorische oder kognitive Funktionen können ebenfalls nicht mit *In-vitro*-Tests beurteilt werden.

Die derzeit existierenden Ansätze zur Entwicklung von standardisierten *In-vitro*-Testsystemen zur Untersuchung trinkwasserrelevanter chemischer Stoffe auf

neurotoxische Wirkungen basieren auf eher unspezifischen Befunden. Es gibt also zurzeit keine formell validierten *In-vitro*-Tests für die Beurteilung der neurotoxischen Gefahr von Verbindungen.

ZUKUNFT DER TRINKWASSERANALYSE

GEEIGNETE TESTS

Bioassays sind mit wenigen Ausnahmen (z.B. Genotoxizitätstests) derzeit noch nicht in der Regulatorik etabliert. Es gibt aber momentan viele Bestrebungen, eine Integration voranzutreiben. Auf jeden Fall können Bioassays auch ohne offizielle Testrichtlinien bereits heute einen wertvollen Beitrag zur einer ersten Risikobeurteilung des Trinkwassers leisten. Sie können eingesetzt werden, um besonders kritische Hotspots der Rohwassergewinnung im Hinblick auf einzelne, toxikologisch besonders wichtige Endpunkte genauer zu analysieren. Sie können weiterhin bei der Trinkwasseraufbereitung eingesetzt werden, um die Bildung toxischer Nebenprodukte zu überwachen.

Im Rahmen des FOWA-Projektes Microtox wurde eine Liste der für die Beurteilung der Trinkwasserqualität geeigneten *In-vitro*-Tests zusammengestellt, bestehend aus

je drei Tests für den Endpunkt Genotoxizität und den Endpunkt EDC. Zwei der drei Genotoxizitätstests basieren auf genetisch modifizierten Bakterienstämmen (*Ames-Test* und *umuC-Test*). Für den dritten, den *In-vitro-Micronucleus-Assay*, werden Säugetierzellen verwendet. In den EDC-Tests werden Hefezellen (*YES-Test*), menschliche Zelllinien (*CALUX-Test*) bzw. die menschliche Zelllinie H295R (*H295R Steroidogenesis Assay*) eingesetzt. In einem weiteren FOWA-Projekt (*Oxyscreen*) sollen nun diese Tests in der Praxis eingesetzt und überprüft werden.

EINBETTUNG DER BIOASSAYS

Bioassays sind komplementär zur traditionell eingesetzten chemischen Analytik und sollten im Rahmen eines mehrstufigen Prüfansatzes angewendet werden. Da man beim Trinkwasser in den meisten Fällen nicht weiss, welche Verunreinigungen vorliegen, und es sich in der Regel um ein Gemisch mehrerer Substanzen handelt, erscheint ein Mehrstufenprozess aus Bioassays und nachgeschalteter chemischer Analytik die geeignetste Methode (Fig. 3). In einem ersten Schritt geben Bioassays Hinweise darauf, inwieweit Verunreinigungen des Trinkwassers ein mögliches Gesundheitsrisiko für den Verbraucher darstellen. Bei positiven Bioassays lassen Art und Umfang der gemessenen Toxizität zusammen mit dem Wissen über Ort und Art der Probenahme erste Vermutungen zu bezüglich der Chemikalien, die im Wasser vorliegen können. Positive Bioassays lösen folglich

eine gezielte chemische Analytik aus, um die Substanzen in der Probe zu identifizieren, die für den positiven Testbefund verantwortlich sind.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bucheli, M. (2012): Umgang mit nicht geregelten Fremdstoffen im Trinkwasser. Leitfaden des BAG erstellt in Zusammenarbeit mit dem BAFU
- [2] Studer, P. et al. (2008): Chemische Stoffe im Trinkwasser – Festlegung von Höchstkonzentrationen. *gwa* 1/2008: 7–15
- [3] Bucheli, M. et al. (2012): Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (FIV) – Änderungen im Bereich Trinkwasser. *Aqua & Gas* 3/2012: 16–23
- [4] Brüschiweiler, B. (2010): Das TTC-Konzept – Beurteilungsmethode von Kontaminanten unbekannter Toxizität im Trinkwasser. *gwa* 4/2010: 295–299
- [5] Eawag aquatic research, Kompetenzzentrum Trinkwasser (2014): Effekt-basierte Beurteilung von Transformationsprodukten in der Trinkwasseraufbereitung. http://www.eawag.ch/forschung/cc/ccdw/projects/research/toxicity_transformationproducts/index?print=1, Zugriff Oktober 2014
- [6] DEMEAU EU FP7-Project: Demonstration vielversprechender Technologien zum Umgang mit Spurenstoffen im Wasser und Abwasser. http://demeau-fp7.eu/system/files/results/Leaflet_DEMEAUEU_web_0.pdf Zugriff Oktober 2014
- [7] Empfehlung des Umweltbundesamtes (2003): Bewertung der Anwesenheit teil- oder nicht bewertbarer Stoffe im Trinkwasser aus gesundheitlicher Sicht. *Bundesgesundheitsblatt* 46: 249–251
- [8] OECD Guidelines for the testing of chemicals and related documents. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicalsandrelateddocuments.htm>, Zugriff Oktober 2014.

> SUITE DE RÉSUMÉ

et ils permettent également d'analyser des mélanges complexes. Nous proposons donc qu'un processus en plusieurs étapes composé de tests biologiques, suivis d'analyses chimiques constitue la méthode la plus adaptée afin d'évaluer le risque pour la santé d'éventuelles micropolluants présentes dans l'eau potable. La première étape pourrait utiliser des tests bioanalytiques pour le criblage de la toxicité. La nature et l'étendue de la toxicité mesurée donnent des informations sur la présence potentielle de polluants et limitent donc fortement le nombre de substances chimiques pour l'analyse individuelle chimique consécutive. Un test biologique unique ne peut toutefois pas couvrir tous les points limites toxicologiques pertinents. Il est donc nécessaire de réaliser une association de plusieurs tests de ce genre.

Bien que la toxicologie concentre ses efforts sur l'élaboration de systèmes de test biologique, il n'existe actuellement pas de test pour tous les points limites toxicologiques que les distributeurs d'eau pourraient utiliser de manière routinière. La concentration des échantillons d'eau en sa qualité de première étape pour tous les tests biologiques de détection de micropolluants constitue un défi particulier.



W. FREI AG

CH-5313 Klingnau / AG

www.freiwag.ch

Rechenanlagen

