

1. fejezet

HUMÁN EGÉSZSÉGGOKKÁZAT BECSLÉSE

Tartalomjegyzék

1. Általános bevezető.....	25
1.1. Előzmények	25
1.2. Általános alapelvek.....	27
2. Expozícióbecslés	29
2.1. Bevezető	29
2.1.1. A mért expozíciós adatok.....	30
2.1.2. Modellszámítások	31
2.1.3. Döntés a kockázatok jellemzéséhez használt expozíciós szintről.....	31
2.2. A munkahelyi expozíció vizsgálata.....	32
2.2.1. Bevezető.....	32
2.2.2. A munkahelyi expozíció becslésének általános alapelvei.....	33
2.2.3. Mért expozíciós adatok	33
2.2.4. Modellszámítások	34
2.3. A fogyasztói (lakossági) expozíció becslése	43
2.3.1. Bevezető.....	43
2.3.2. Az adatok	45
2.3.3. Kezdeti szűrés	47
2.3.4. Kvalitatív becslés	47
2.3.5. Kvantitatív becslés	48
2.4. A környezeten keresztüli közvetett expozíció becslése.....	49
2.4.1. Bevezető.....	49
2.4.2. A környezeti elemeken keresztüli expozíció	53
2.4.3. A vízfogyasztásból eredő expozíció.....	53
2.4.4. Az élelmiszerek fogyasztásából eredő expozíció	54
2.4.5. Az emberekre kiszámított napi teljes felvett mennyiség.....	55
3. A vegyi anyagok hatásának vizsgálata	55
3.1. Bevezető	55
3.2. Az adatok értékelése.....	57
3.2.1. Az adatok hiánytalansága.....	57
3.2.2. Az adatok megfelelősége.....	57
3.3. Expozíciós kapuk és az expozíció időtartama	62
3.3.1. Bevezető.....	62
3.3.2. Expozíciós kapuk	63
3.3.3. Expozíciós kapuk közötti extrapoláció.....	63
3.3.4. Az expozíció időtartama.....	64
3.4. Dózis-válasz összefüggés elemzése	64
3.5. Toxikokinetika	66
3.5.1. Bevezető.....	66
3.5.2. A kockázatbecslés során felhasználandó adatok	67
3.5.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	68
3.5.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése	69
3.6. Heveny (akut) toxicitás.....	69
3.6.1. Bevezető.....	69
3.6.2. Az akut hatás értékeléséhez felhasználandó adatok	70
3.6.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	71

3.6.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	72
3.6.5. Az akut toxicitási vizsgálatok bizonytalansága.....	73
3.7. Irritáció és maró hatás.....	73
3.7.1. Bevezető.....	73
3.7.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok.....	74
3.7.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	75
3.7.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	76
3.7.5. Az irritáció és a maró hatás vizsgálatának bizonytalansága.....	76
3.8. Szenzibilizáció.....	77
3.8.1. Bevezető.....	77
3.8.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok.....	78
3.8.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	79
3.8.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	81
3.8.5. A szenzibilizációs vizsgálatok bizonytalansága.....	81
3.9. Ismételt dózissú toxicitás.....	81
3.9.1. Bevezető.....	81
3.9.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok.....	82
3.9.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	83
3.9.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	83
3.9.5. Az ismételt dózissú toxicitási vizsgálatok bizonytalansága.....	84
3.9.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános elvek.....	84
3.9.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához.....	85
3.9.8. A vizsgálati stratégia.....	87
3.10. Mutagenitás.....	96
3.10.1. Bevezető.....	96
3.10.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok.....	97
3.10.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	99
3.10.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	100
3.10.5. A mutagenitási és genotoxicitási vizsgálatok bizonytalansága, útmutató a további vizsgálatokhoz.....	100
3.10.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek.....	101
3.10.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához.....	102
3.10.8. A vizsgálati stratégia.....	106
3.10.9. További genotoxicitási vizsgálatok az in vivo kromoszóma alaptesztek után.....	111
3.11. Karcinogenitás.....	111
3.11.1. Bevezető.....	111
3.11.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok.....	112
3.11.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	113
3.11.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	114
3.11.5. A karcinogenitási vizsgálatok bizonytalansága.....	115
3.11.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek.....	115
3.11.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához.....	115
3.11.8. A vizsgálati stratégia.....	117
3.12. Reprodukív toxicitás.....	121
3.12.1. Bevezető.....	121
3.12.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése.....	124
3.12.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése.....	125
3.12.5. A reprodukív hatásvizsgálatok bizonytalansága.....	126
3.12.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek.....	126
3.12.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához.....	127
3.12.8. A vizsgálati stratégia.....	128
3.12.9. A 67/548/EGK számú Irányelv alapján érvényes követelmények az új anyagok reprodukív toxicitási vizsgálataival kapcsolatban.....	136
4. A kockázatok jellemzése.....	137

4.1. Általános szempontok.....	137
4.2. Akut toxicitás.....	140
4.3. Irritáció.....	141
4.4. Maró hatás.....	142
4.5. Szenzibilizáció.....	142
4.6. Ismételt dózisú toxicitás.....	143
4.7. Mutagenitás.....	144
4.8. Karcinogenitás.....	145
4.9. Reprodukív toxicitás.....	145
4.10. Egyéb szempontok.....	146
4.11. Fizikai-kémiai tulajdonságok.....	146
4.12. Az emberi egészségkockázat jellemzésének átfogó integrálása.....	147
5. Szójegyzék és definíciók a “Humán egészségi kockázatbecslés” című fejezethez.....	148
6. A humán egészségkockázat becslése fejezet irodalmi hivatkozásai.....	150
A humán egészségkockázat becslés fejezet mellékletei.....	153
I. A munkahelyi expozíciós modell bemutatása.....	155
II. Az új és meglévő anyagok munkahelyi expozíciójának becslése - az inhalációs helyszínnek megfelelő kijelölése a modellben.....	170
III. Tudásalapú (szakértői) rendszer az új és meglévő anyagok munkahelyi expozíciójának becslésére.....	171
IV. Egyszerű algoritmus a fogyasztói expozíció becslésére.....	172
V. Számítógépes modellek a fogyasztói expozíció becslésére.....	181
VI. Különböző paraméterek ajánlott előválasztott (default) értékei a fogyasztói expozíció becslésére használt modellekhez.....	187
VII. A környezeten keresztüli közvetett expozícióra vonatkozó modellszámítások.....	195
VIII. Kőolajszármazékok humán egészségkockázatának becslése.....	206
IX. A megfelelő expozíciós kapu megválasztásának stratégiája a toxicitási vizsgálatokhoz.....	213

1. Általános bevezető

1.1. Előzmények

A 93/67/EGK számú Bizottsági Irányelv és a 1488/94 számú Bizottsági Rendelet előírja, hogy az újonnan bejelentett anyagok (új anyagok) és az elsőbbségi (prioritási) listán szereplő meglévő anyagok esetében humán egészségügyi kockázatbecslést kell végezni.

A kockázatbecslés lépései a következők:

- a veszély azonosítása;
- dózis (koncentráció) - válasz (hatás) összefüggés elemzése;
- expozíció becslése;
- a kockázat jellemzése.

A kockázatbecslés során az alábbi toxikus hatásokat illetve embercsoportokat (humán populációkat) kell vizsgálni, és minden csoport esetében figyelembe kell venni az inhalációs expozíciót, továbbá a szájon keresztüli illetve a dermális expozíciós kapukat:

Hatások:

- akut toxicitás;
- irritáció;
- maró hatás;
- ismételt dózisú toxicitás;
- szenzibilizáció;
- karcinogenitás;
- reprodukív toxicitás.

Embercsoportok:

- dolgozók;
- fogyasztók;
- a környezeten keresztül közvetett módon kitett populációk.

Az útmutató célja, hogy segítse azokat, akik az új és a meglévő anyagok humán egészség-kockázat becslését végzik, továbbá hogy tanáccsal szolgáljon az alábbi kérdésekkel kapcsolatban:

- hogyan kell meghatározni az expozíciós szinteket és a dózis-válasz összefüggéseket (2. és 3. alfejezet), továbbá hogyan kell kvalitatív értékelést végezni a kitettség és a hatások tekintetében olyan esetekben, ahol a számszerűsítés nem szükséges vagy nem lehetséges;
- hogyan döntsük el, hogy a kockázatbecsléssel kapcsolatban a 93/67/EGK számú Irányelv 3(4). cikkelye vagy 793/93 számú Európa Tanácsi Rendelet 10. cikkelye és az 1488/94 számú Rendelet V. melléklete alapján melyik lehetséges adminisztratív döntésre van szükség (4. alfejezet);
- amennyiben további vizsgálatokra van szükség, hogyan döntsük el, hogy milyen vizsgálati stratégiát alkalmazzunk (3. alfejezet);

A 793/93 számú Rendelet 9(2). cikkelye szerint a meglévő anyagok esetében a benyújtandó minimális adatsor megegyezik a 67/548/EGK számú Európa Tanácsi Irányelv VII/A mellékletében megadott, az új anyagokra vonatkozó alapszintű műszaki dosszié tartalmával. Ez biztosítja, hogy mind az új, mind a meglévő anyagok esetében a karcinogenitási, illetve a reprodukciós toxicitási vizsgálatok kivételével a fentebb felsorolt hatások mindegyike, illetve a toxikokinetikai viselkedés tekintetében rendelkezésre álljanak vizsgálati adatok.

Új anyagok esetében további adatokra az 1. és 2. szinteken van szükség (67/548/EGK számú Irányelv, VIII. melléklet). Meglévő anyagok esetében az alapszintű adatok mellett további információk is rendelkezésre állhatnak, ezen adatok mennyisége és minősége azonban tág határok között változhat. A hatásvizsgálatok tekintetében előfordulhat, hogy számos azonos célú vizsgálat adatai állnak rendelkezésre, ezek végeredménye azonban különbözik egymástól. Emellett létezhetnek olyan vizsgálatok is - különösen a régebbi vizsgálatok között -, amelyeket nem a jelenlegi vizsgálati irányelveknek és minőségi követelményeknek megfelelően végeztek. Az ilyen adatok megfelelőségének megítéléséhez szakértői véleményre van szükség.

A humán expozíció becslését reprezentatív mérési adatokra és/vagy modellszámításokra kell alapozni. Ha lehet, érdemes figyelembe venni a hasonló célra használt és hasonló expozíciós helyzeteket előidéző, vagy hasonló tulajdonságú anyagokkal kapcsolatos adatokat is. A reális expozíciós szintek modellezéses meghatározásához szükséges reprezentatív és megbízható mérési adatok és/vagy információ mennyisége és részletei, különösen a kérdéses anyag életciklusának későbbi szakaszára vonatkozóan (pl. a készítményekben és árucikkekben a használat során, illetve azt követően) ugyancsak igen változatos lehet, úgyhogy ebben az esetben is szakértői véleményre van szükség.

A kockázatbecslést a rendelkezésre álló adatok alapján kell elvégezni a következő alfejezetekben részletezett módszerek felhasználásával. A kockázatbecslések esetében általános szabály, hogy a legjobb és legrealisabb adatokat kell figyelembe venni. Gyakran az is hasznos lehet azonban, ha először egy olyan kockázatbecslést készítünk, amelyben legrosszabb esetre alapozott expozíciós becslések adatait használjuk fel. Amennyiben egy ilyen vizsgálat végeredménye azt mutatja, hogy az anyag "aggodalomra nem ad okot", akkor az adott embercsoportra (humán populációra) vonatkozó kockázatbecslést itt abba lehet hagyni. Ha azonban azt kapjuk, hogy az anyag "aggodalomra ad okot", akkor a kockázatbecslést lehetőség szerint tovább kell finomítani.

Ezt az útmutatót nagyrészt az egyes anyagoknál nyert tapasztalatok felhasználásával készítettük el. Ez azt jelenti, hogy az ismert kockázatbecslési eljárások bizonyos anyagkeverékek esetében csak módosításokkal alkalmazhatók. A VII. mellékletben külön kiemeltük a kőolaj származékokkal kapcsolatos kockázatbecsléshez használható módszereket.

A meglévő anyagokra vonatkozó 793/93 Irányelv és 1488/94 számú Rendelet, illetve az új anyagokra vonatkozó 67/548/EGK és 93/67/EGK számú Irányelvek az Európai Közösség minden országában elsődleges érvényűek. Az útmutatóban tehát az expozíciós vizsgálatokra általános érvényű forgatókönyvek (szcenáriók) vonatkoznak. Tekintetbe kell azonban azt is venni, hogy az expozíciós viszonyok az egyes országokban a helyi gyártási gyakorlattól, a fogyasztói szokásoktól és a környezeti viszonyoktól függően eltérőek lehetnek. Ez utóbbival a 2. fejezetben foglalkozunk részletesebben. Ha specifikus információk is rendelkezésre állnak, akkor ezeket is fel lehet használni az általános kockázatbecslés finomításához.

Az összes meglévő anyag, illetve a toxikológiai vagy egyes fizikai-kémiai tulajdonságai (robbanékonyság, gyúlékonyság vagy oxidáló képesség) alapján osztályozott és az emberekkel potenciálisan kapcsolatba kerülő új anyag esetében teljes körű humán egészségkockázat becslést kell végezni.

Az osztályba nem sorolt anyagok esetében is szükség lehet erre, ha okunk van feltételezni, hogy a kérdéses anyag az emberi egészségre veszélyes. Teljes körű kockázatbecslésre van szükség, például az alábbi esetekben:

- a mutagenitási teszt pozitív az alapszintű műszaki dossziében;
- a 28 napos vizsgálatban tisztán jelentkezik egy toxikus hatás, amely még nem elég súlyos ahhoz, hogy az anyag osztályba sorolását eredményezze, mindazonáltal hosszabb vagy specializáltabb vizsgálatokban súlyosabb hatás jelentkezhet;
- molekulaszervezet-aktivitás összefüggések vagy egyéb vizsgálatok (pl. egy másik toxicitási vizsgálat eredményei, mint a fenti példában) alapján a jelek olyan mellékhatásra utalnak, amely mellékhatás esetében még nem végezték el a megfelelő vizsgálatokat;
- egyéb, nem világos vagy kétséges eredményeket kapunk humán vonatkozású vizsgálatokban;
- a humán expozíciós helyzet vagy expozíciós szintek potenciálisan veszélyesek, például széleskörű kitétség jelentkezik egy fogyasztói terméken keresztül, vagy jelentős kitétséget kapunk egy olyan expozíciós kapun keresztül, amelyet az eddig elvégzett toxicitási vizsgálatokban nem alkalmaztak.

Az olyan új anyagok, amelyek nem kerülnek osztályba sorolásra és egyéb indokok alapján sem tűnnek aggodalomra okot adónak, azonnali veszélyt nem jelentő anyagoknak minősülnek, ilyen módon a kockázatbecslést félre lehet tenni, ameddig a bejelentési tervvel összefüggésben újabb információ nem áll rendelkezésre.

1.2. Általános alapelvek

Egy anyag humán egészségkockázata becslésének lényege tulajdonképpen a következő: össze kell hasonlítani a humán expozíció valós vagy várható szintjét (vagy szintjeit) azzal az expozíciós szinttel (vagy szintekkel), amelynél semmilyen toxikus hatás nem várható.

Ha lehet, az expozíciós vizsgálat eredményeként kapott expozíciós szintet a dózis-válasz vizsgálat eredményeként kapott NOAEL-lel (no observed adverse effect level = az a szint, amelynél semmilyen káros hatás nem figyelhető meg) kell összehasonlítani. Ha a NOAEL-t nem lehet meghatározni, de a LOAEL-t (lowest observed adverse effect level = az a legalacsonyabb szint, ahol a káros hatások megfigyelhetők) igen, akkor ezt kell összehasonlítani az expozíciós szinttel.

Az expozíciós szintek a rendelkezésre álló mérési adatok és/vagy modell számítások alapján határozhatók meg. A NOAEL vagy LOAEL értékek állatkísérletek eredményeiből vagy a rendelkezésre álló humán adatokból határozhatók meg. Bizonyos hatások esetében NOAEL vagy LOAEL adatok általában nem állnak rendelkezésre. Genotoxikus anyagok és szenzibilizációt okozó anyagok esetében általában helytálló az a feltételezés, hogy az expozíciós küszöbértékeket nem lehet meghatározni.

NOAEL és LOAEL értékek általában a maró hatású anyagok, továbbá a bőr- vagy szemirritációt okozó anyagok esetében sem állnak rendelkezésre.

A dózis-válasz összefüggések meghatározását és használatát az egyes hatások tekintetében a 2.4. alfejezetben ismertetjük részletesebben.

Mind az expozíció becslése, mind a hatásbecslés esetében szükség lehet a fizikai-kémiai tulajdonságok, ezen belül a kémiai reakcióképességre vonatkozó adatok ismeretére is. A fizikai-kémiai tulajdonságokra például ahhoz lehet szükség, hogy becslést adhassunk a kibocsátásokból a humán expozíciós forgatókönyvekhez (szcenáriókhoz), hogy tervezhessük a toxicitási vizsgálatokat, továbbá a különböző expozíciós kapukon történő abszorpcióval kapcsolatosan is szolgáltatathat adatokat. A kémiai reakcióképesség ugyancsak fontos lehet az expozícióbecsléseknél, továbbá befolyásolhatja az anyag toxikokinetikáját és anyagcseréjét is. Az expozíciós szintek és a NOAEL vagy LOAEL értékek arányától függően kell meghatározni, hogy egy anyag jelent-e az emberi egészségre kockázatot. Amennyiben a NOAEL vagy LOAEL értékeket nem lehet meghatározni, akkor kvalitatív vizsgálatot kell végezni a káros hatások valószínűségének meghatározására.

A kitettség és a potenciális hatások összehasonlítását minden egyes ténylegesen vagy feltételezhetően kitett embercsoportra, illetve hatásra külön-külön kell elvégezni. Meg kell jegyezni, hogy bármely embercsoportot fel tudunk bontani további alcsoportokra (pl. a különböző expozíciós forgatókönyvek (szcenáriók) és/vagy különböző érzékenységek alapján), amelyeket a kockázatok jellemzésekor esetleg majd külön-külön kell kezelni. Így tehát minden fontosabb csoport vagy alcsoport esetében külön-külön kell meghatározni az expozíciós szinteket, illetve - ahol lehet - különböző NOAEL vagy LOAEL értékeket kell meghatározni a különböző célokhoz, továbbá meg kell határozni az egyes expozíciós szintek/NOAEL(LOAEL) arányokat is.

A kockázatbecslési eljárás nagymértékben függ az expozíció és a hatások értelmezése tekintetében készített szakértői véleményektől. A kockázatbecslőnek a vizsgálatokat azokra a humán toxikológiai hatásokra kell összpontosítania, amelyek a becsült expozíciós szintnél jelentkezhetnek.

A hatások és az expozíció tekintetében a további adatok iránti igények összefüggésben állnak egymással, és a toxicitási vizsgálati stratégiák tárgyalása során majd bőven foglalkozunk ezekkel. Mindazonáltal, ha az összes hatást és az összes várható humán expozíció helyzetet vizsgálni kívánjuk, számos vizsgálatra lehet szükség, és lehetőleg több expozíciós kaput is figyelembe kell venni. Különösen akkor, ha korai és/vagy kiterjedt további vizsgálatokra van szó fontos, hogy vagy jó minőségű és megfelelő expozíciós mérések vagy a lehető legjobb humán expozícióbecslések álljanak rendelkezésre, és így megalapozottan dönthessünk arról, hogy szükség van-e tesztelésre vagy nincs. Ezen túlmenően azt is meg kell nézni, hogy az esetleges toxikokinetikai, anyagcsere vagy hatásmechanizmusra vonatkozó adatok és információk milyen mértékben segíthetnek a megfelelő vizsgálati módszerek és expozíciós kapuk meghatározásában, illetve önmagukban mennyire használhatók a humán egészségügyi kockázatbecslés során.

A folyamat minden egyes fázisában a szakértői vélemények alapján integrálni kell a további vizsgálatok iránti igényeket, hogy a szükséges információk megszerzéséhez minél kevesebb állatkísérletre legyen szükség.

2. Expozícióbecslés

2.1. Bevezető

A humán expozíció létrejöhet a munkahelyen (munkahelyi expozíció), fogyasztói termékek használatán keresztül (fogyasztói expozíció), illetve közvetett módon a környezeten keresztül. Egy adott anyaggal kapcsolatos expozícióbecslés első szűrési lépése során meg kell határozni egy embercsoport expozíciójának valószínűségét a fent említett esetben. Az expozíciós szinteket vagy koncentrációkat a humán expozícióra vonatkozó három potenciális expozíciós kapu esetében mért adatokra és/vagy modell számításokra kell alapozni. Ennek eredményeképpen a különböző alcsoportokra és forgatókönyvekre (szcenáriókra) több különböző expozíciós értéket kaphatunk. Bizonyos esetekben mindhárom expozícióbecslés hozzájárulhat egy, a kockázatok jellemzésében felhasználandó átfogó expozíciós érték kialakításához.

Az itt ismertetésre kerülő alapelvek az új és meglévő anyagokra egyaránt vonatkoznak. Az új anyagok esetében azonban kevesebb információ áll rendelkezésre, úgyhogy általában nem lehet olyan részletes expozíciós vizsgálatot végezni, mint a meglévő anyagok esetében.

Expozíció alatt általában olyan külső kitettséget értünk, amely megadható úgy is, mint az anyag lenyelt mennyisége, vagy a bőrrel érintkezésbe kerülő összes mennyiség (amelyet a mgcm^{-2} vagy mgcm^{-3} egységben kifejezett kitettség becslésekből lehet kiszámolni), vagy a belélegzett (inhalált) mennyiség, vagy a levegőben lévő koncentráció. Azokban az esetekben azonban, ahol az expozíciónak több kapuja is van, az emberi szervezetre gyakorolt (szisztémás) hatásokra vonatkozó adatokkal történő összehasonlítás érdekében a teljes terhelés meghatározására is szükség lehet. Az expozíció lehet egy egyszeri esemény, vagy ismétlődő események sorozata, vagy akár jelentkezhet folyamatosan is.

Minden egyes meghatározott expozíciós szintnek reprezentatívnak kell lennie az adott expozíciós szituáció tekintetében. Vizsgálni kell a kitettség időtartamát és gyakoriságát, az expozíciós kapukat, az emberi szokásokat és termelési gyakorlatot, továbbá a gyártási folyamatokat is. Ezen túlmenően az expozíció térbeli kiterjedését (pl. személyes, lokális vagy regionális szintű) is figyelembe kell venni.

Embercsoportok expozíciójának vizsgálatánál jelentkező bizonytalanságok miatt az expozíciós szintek meghatározásakor lehetőleg mind a mérési adatokat, mind a modellszámítások eredményeit fel kell használni. A modellszámítások alkalmazásakor lehetőség szerint figyelembe kell venni a hasonló felhasználási és expozíciós mintát, mintázatot [lektori megjegyzés: mintázat = tipikus példák] mutató vagy hasonló tulajdonságú anyagokkal kapcsolatos mérési adatokat is. Amennyiben megfelelően megmért és reprezentatív adatok is rendelkezésre állnak, akkor ezeket kell előnyben részesíteni.

Az expozíciós szintek előrejelzésének egy ésszerűen feltételezett legrosszabb szituációt kell leírnia, azaz figyelembe kell vennie a normális felhasználási mintázatokat, ideértve azokat az eseteket is, amikor ugyanarra az anyagra több expozíciós forgatókönyv is létezik: pl. a dolgozók, illetve a fogyasztók számos terméket használhatnak, amiben ugyanaz az anyag van, továbbá közvetett expozíció is felléphet a környezeten keresztül (pl. a levegőn, vagy a táplálékláncon, stb. keresztül). Az ésszerűen feltételezett legrosszabb szituáció esetében figyelemmel kell lenni a szélsőséges használatokra, illetve az ésszerűen feltételezhető nem rendeltetészerű használatokra.

A expozícióbecslések során azonban nem szabad túlzásokba esni amiatt, hogy egymással korreláló maximális értékeket használunk. A balesetek vagy visszaélések miatt fellépő expozíciós helyzeteket itt nem vesszük figyelembe.

Ahhoz, hogy reális előrejelzéseket kapjunk, a kérdéses anyaggal kapcsolatos összes expozícióra vonatkozó adatot és információt figyelembe kell venni. Az expozícióbecslés akkor lesz reális, ha részletes információk állnak rendelkezésre a felhasználási formával és az expozícióval kapcsolatban, különösen a kérdéses anyag további használatával kapcsolatban. A expozícióbecsléseknél általános szabály, hogy a legjobb és leginkább reális információkat kell előnyben részesíteni.

Legtöbbször azonban az is hasznos lehet, ha először elvégzünk egy "legrosszabb eseti" feltételezésekre alapuló expozícióbecslést és az előválasztott (default) értékeket a modellszámítások alkalmazásakor használjuk fel. Ez különösen a fogyasztói kitétségek vizsgálatokor lehet nagyon hasznos. Ezt a fajta megközelítést akkor is alkalmazhatjuk, ha nem állnak rendelkezésre eléggé részletes adatok. Amennyiben a legrosszabb expozíciós esetre alapozott kockázat jellemzés eredménye azt mutatja, hogy a kérdéses anyag "nem veszélyes, nem ad okot aggodalomra", akkor az adott hatás vagy embercsoport tekintetében le lehet zárni a kockázatbecslést. Ha azonban az eredmények szerint az anyag "veszélyes, aggodalomra ad okot", akkor a becslési folyamatot lehetőség szerint reálisabb expozíciós előrejelzések segítségével tovább kell finomítani.

Ha az derül ki, hogy a kérdéses anyag "nem ad okot aggodalomra", és ez az eredmény arra a feltételezésre épül, hogy humán expozíció egyáltalán nem jelentkezik, akkor ezt egy adott populáció tekintetében igen nagy körültekintéssel kell megindokolni. Egyszerű lehet a bizonyítás fogyasztói expozíciók esetében (ahol pl. egyértelmű, hogy a kérdéses anyagot fogyasztói termékekben vagy termékeként nem használják), de sokkal nehezebb lehet egy olyan a munkahelyi kitétség esetében, ahol a kérdéses anyagot nagy mennyiségben gyártják vagy használják.

Az expozícióbecslés elvégzése során figyelembe kell venni az alkalmazott kockázatcsökkentő intézkedéseket is. Továbbá annak a lehetőségét is figyelembe kell venni, hogy az egyes embercsoportok esetében egy adott használati körben alkalmazott kockázatcsökkentő intézkedés egy másik esetben esetleg szükségtelen, vagy nem megfelelő (azaz létezhetnek például olyan alcsoportok, amelyek előírás-szerűen használnak különböző kontroll-rendszereket és ez különböző expozíciós szintekhez vezethet). Ilyen esetekben szükség lehet arra is, hogy az összes különböző expozíciós helyzetet vagy szintet külön-külön vizsgáljuk a kockázatok jellemzése során.

2.1.1. A mért expozíciós adatok

A kockázatok jellemzése során, ahol csak lehet, jó minőségű és megfelelően mért expozíció értékeket kell felhasználni. Különösen a meglévő anyagok esetében lehetnek ilyen expozíciós adatok, de az új anyagok esetében ez kevésbé valószínű. Az ilyen jellegű adatok származhatnak egyrésztől ipari mérési programokból, különös tekintettel a munkahelyi expozícióra, vagy más monitoring vizsgálatokból. Az adatok mennyisége, reprezentativitása és minősége azonban tág határok között mozoghat, úgyhogy a rendelkezésre álló mérési adatokat alaposan meg kell vizsgálni. Az expozíciós szintek becsléséhez helyettesítő vagy analóg anyagokkal kapcsolatos mérési adatok is hasznosak lehetnek.

A rendelkezésre álló adatokat első lépésben a megbízhatóság szempontjából kell megvizsgálni. A mért expozíciós koncentrációk megbízhatóságát a használt technológia, a mérési stratégiák, illetve a mintavételezésnél, az elemzéseknél és a vizsgálati protokolloknál alkalmazott minőségi követelmények alapján kell megítélni. Általánosságban elmondható, hogy azokat az expozíciós adatokat kell előnyben részesíteni, amelyeket általánosan elfogadott módszerek és jó minőségű stratégiák felhasználásával határoztak meg, azaz ha megfelelő munkahelyi higiénés eljárásokat alkalmaznak, akkor a munkahelyi expozíciós vizsgálatok eredményei általában jó minőségűek lesznek. Mindazonáltal egyedi megítélés alapján a kockázatbecslés szempontjából olyan munkahelyi expozícióra vonatkozó mérési adatok is elfogadhatóak lehetnek, amelyek nem felelnek meg a fenti követelményeknek. Második lépésként meg kell vizsgálni az adatok reprezentativitását. Ennek során meg kell vizsgálni a mintavételezések típusát, helyét, időtartamát és gyakoriságát. A kiválasztott reprezentatív mérési adatokat meg kell feleltetni az egyes expozíciós forgatókönyveknek ahhoz, hogy jelentéssel bíró expozícióbecslést készíthessünk, illetve összehasonlíthassuk ezeket a modellszámítások megfelelő eredményeivel.

2.1.2. Modellszámítások

Figyelembe kell venni annak a lehetőségét is, hogy egy anyag esetében számos munkahelyi és/vagy fogyasztói expozíciós forgatókönyv létezhet: a legtöbb esetben az egyik scenáriót fel lehet használni a többiek modellezésére.

Az itt ismertetésre kerülő modellek vagy az expozíciós forgatókönyvekhez használt matematikai számítások az expozíciós szintek meghatározásának eszközei. Használatukhoz azonban szükség van bizonyos input paraméterekre. Az expozíciós forgatókönyvekkel kapcsolatos adatok elégtelensége esetén ezekhez a paraméterekhez előválasztott értékeket szoktak használni, aminek következtében az előrejelzések kevésbé lesznek megbízhatóak, mint ha részletes információk állnának rendelkezésre.

Világossá kell tenni, hogy a modell számítások alkalmazásával hogyan történik az expozíciós szintek meghatározása. Dokumentálni kell továbbá a számításokhoz felhasznált input adatokat vagy előválasztott értékeket is. Ha egy expozíciós szituáció leírására több modell is felhasználható, akkor a kérdéses anyagnak és expozíciós forgatókönyvnek (scenáriónak) leginkább megfelelő módszert kell kiválasztani, illetve megfelelő érvekkel alá kell támasztani, hogy miért az adott modellt választottuk. Olyan modell használata esetén, amely nem szerepel az útmutatóban, ismertetni kell magát a modellt, illetve indokolni kell azt is, hogy miért ezt a modellt választottuk.

Egy modell alkalmazásával nyert expozíciós érték esetén szakértői véleményt kell kérni az eredmények valószerűségének ellenőrzéséhez, különösen akkor, ha előválasztott értékeket vagy egy "ésszerűen feltételezhető legrosszabb esetet" alkalmaztunk.

2.1.3. Döntés a kockázatok jellemzéséhez használt expozíciós szintről

Ha az expozíciós szinteket mért értékek és modell számítások alapján is meghatároztuk, akkor a kétféle módon kapott értékeket össze kell hasonlítani. Ha a különbözőképpen kapott értékek nem egyeznek, akkor az eltérés okának meghatározásához ki kell elemezni és kritikusan meg kell vizsgálni a felhasznált módszereket.

Egy vagy több előrejelzést esetleg felül is lehet vizsgálni annak érdekében, hogy kiválaszthassuk a kockázatok jellemzéséhez használandó reprezentatív értéket vagy értékeket. Az előrejelzések korrigálását megfelelően indokolni, ill. megmagyarázni kell. A mérési adatokon, illetve a modelleken alapuló expozíciós szinteket akkor lehet egyezőnek tekinteni, ha egy nagyságrendbe esnek. A kockázatok jellemzéséhez a legmagasabb konfidenciájú értéket, azaz általában a mért adatokon alapuló expozíciós szintet kell alkalmazni. Ha a modellszámítások magasabb (azaz legalább 10-szeres) expozíciós szinteket mutatnak, akkor ellenőrizni kell a mérési adatok feldolgozását, a modelleket, illetve az alkalmazott input paramétereket, továbbá alaposan át kell nézni a mért adatokat minőség és reprezentativitás szempontjából is. Előfordulhat pl., hogy a mért adatok inkább a környezeten keresztüli közvetett expozíciót tükrözik, és nem az anyag közvetlen használatából eredő kitettséget. Ha viszont a modellekből számított érték az alacsonyabb, akkor az arra utalhat, hogy változások történtek a kérdéses anyag alkalmazásában vagy használatában, illetve az alkalmazott kockázatcsökkentő intézkedésekben. Az is előfordulhat, hogy a mérési adatok a különböző alkalmazásokból és forrásokból származó összesített expozíciót tükrözik. Amennyiben a modellszámításokkal és a mért adatok összevetése során eltérő expozíciós szinteket kapunk, akkor a kritikai felülvizsgálatot követően, illetve ha a reprezentativitás bizonyítást nyert, a mért adatokon alapuló értékeket kell megbízhatóbbnak tekinteni.

2.2. A munkahelyi expozíció vizsgálata

2.2.1. Bevezető

Mind az ismert, mind új anyagok esetében a dolgozók munkahelyi expozíciójának vizsgálatát a mérés és modellezés során leszűrt és kombinált adatokból kell elvégezni. E két adatsort relatív jelentősége a rendelkezésre álló adatok, különösen a mérési adatok minőségétől függően változhat. Akkor kapjuk a legmegbízhatóbb expozícióbecsléseket, ha jó minőségű mérési adataink vannak az olyan gyártási folyamatokkal kapcsolatban, amelyekben a kérdéses anyagot felhasználják. Egyes meglévő anyagok esetében a becslést végző hatóság általában könnyen hozzájuthat mért munkahelyi adatokhoz, azonban előfordulhat, hogy ezek nem teljeseek, és igen kevésbé valószínű, hogy az összes különböző anyaghasználatra kiterjedjenek, különösen, ha a kérdéses anyag igen széles körben használatos. Az új anyagok esetében értelemszerűen kevés mérési adat áll rendelkezésre, a meglévők pedig esetleg kísérleti üzemi vagy egyéb fejlesztési munkákból, vagy esetleg nagymértékben hasonló anyagokkal végzett vizsgálatokból származhatnak.

A felhasznált modell lehet vagy az útmutatóban ismertetett, általános jellegű munkahelyi expozícióbecslési előrejelzésre alkalmas modell, vagy más megfelelően bevizsgált modellek, amelyek bizonyos esetekben vagy önmagukban vagy az általános jellegű modellel összekombinálva alkalmasabbak lehetnek egy szituáció modellezésére. Az általános jellegű modell neve EASE (Estimation and Assessment of Substance Exposure = Vegyi Expozíció Becslése és Értékelése) és az itt leírtakból illetve tudásalapú elektronikus szakértő rendszerből áll. A modell használata igen egyszerű és különböző munkahelyi viszonyok esetén is alkalmazható. Az expozícióbecslések során igen kevésbé valószínű, hogy a mért vagy a modellezett adatok minősége minden további nélkül megfeleljen. A rendelkezésre álló mérési adatok illetve a modellezett expozíciós helyzet áttekintését követően a becslést végző hatóságnak el kell tudni végezni az expozícióbecslést.

Az expozíciós szintek becslésén túlmenően a munkahelyi expozíció teljes körű vizsgálata során egyéb paramétereket is meg kell vizsgálni, így például az expozíció időtartamát, gyakoriságát, továbbá az érintett munkaerő nagyságát és összetételét is. E paraméterek némelyike nem feltétlenül határozható meg közvetlenül a mért adatokból vagy a modellekből, hanem esetleg a gyártó által szolgáltatott gyártási, forgalmazási és felhasználási információkból lehet meghatározni. Egy adott anyag használatára vonatkozóan további információk nyerhetők különböző termék jegyzékekből vagy hasonló jellegű nyilvántartásokból, amelyeknél az adott anyagot tartalmazó készítmények alapján jól tudunk következtetni a felhasználási formáira.

2.2.2. A munkahelyi expozíció becslésének általános alapelvei

A munkahelyeken a különböző anyagok a következő kapukon kerülhetnek be az emberi testbe (és károsíthatják azt): belégzéssel (inhaláció), vagy az ép bőrön való átjutással, vagy szájon keresztül (lenyeléssel). Ezek az anyagok a kontaktus helyén, azaz például a bőrön, vagy a légutakban, stb., lokális hatásokat is előidézhettek. Az inhalációs expozíció a légzési zónában jelenlévő koncentrációval egyenlő, és általában egy megadott referencia időtartamra vonatkozó átlagos koncentrációban adják meg. A referencia időszak hosszú időn át tartó (esetleg több éves) expozícióbecslés esetén 8 óra, rövid idejű kitettségek esetén pedig 15 perc. Jelen útmutató céljára a dermális (bőrön keresztüli) expozíciót elsősorban a kézfejre és az alkarra vonatkozó potenciális dózis rátában kell megadni, és valószínűleg csakis modell számításokkal lehet meghatározni. Habár az expozíciós helyzeteket általában így adjuk meg, a modellek nem veszik figyelembe a védőruházat és a respirációs védőeszközök használatát. Az ilyen eszközök az expozíciót attól függően tudják csökkenteni, hogy alapvetően mennyire hatékony a kérdéses eszköz illetve, hogy a dolgozók az adott használati viszonyok között milyen mértékben tudják ezt a hatékonyságot elérni. A szájon keresztüli expozíciót általában nem szokták számszerűsíteni. Jelen útmutató céljára a kitettség nem foglalja magában az abszorpciót.

2.2.3. Mért expozíciós adatok

A mért expozíciós adatoknak megfelelően kell reprezentálniuk a mintavételi időszak során jelentkező kitettséget. Ezen túlmenően az adatoknak az idő súlyozott átlag referencia időszak (általában 8 óra) teljes egészére vonatkozóan is megfelelő reprezentativitást kell biztosítaniuk. Az adatok mellett további információkat is be kell gyűjteni, hogy a kitettségeket a felhasználási és expozíciós kontroll mintázatok, továbbá az egyéb fontosabb gyártási paraméterek kontextusában is elhelyezhessük.

E paramétereket illetően az adatoknak le kell írniuk az expozíció gyakoriságát és időtartamát is. Az adatokat a megfelelő munkahelyi higiénés gyakorlatnak megfelelően és lehetőleg standard eljárásokkal - az Európai Szabványosítási Szervezet, a CEN által kibocsátott, vagy más nemzetközi szabványok szerint - kell begyűjteni, különösen a mintavételi stratégia és a mérési módszerek tekintetében. Be kell tudni azonosítani - legalább kvalitatívan - az adatok jelentősebb torzításait is, és szükség szerint kezelni kell ezeket. Az ilyen torzítások önmagukban azonban nem zárják ki az adatok felhasználását.

A mért expozíciós adatok és a kapcsolódó információk munkahelyi felmérésekből vagy rutin ipari mérési programokból származhatnak. Ezen kívül speciális vizsgálatok, kísérleti üzemi vagy más fejlesztési munkák, illetve kémiai vagy fizikailag hasonló anyagokkal végzett mérések is szolgáltathatnak ilyen jellegű adatokat, sőt a szakirodalomban is találhatunk

ilyeneket. Mielőtt az ilyen adatokat az expozícióbecslésbe beillesztenénk, gondosan ellenőrizni kell azok minőségét, illetve a vizsgálathoz való alkalmazhatóságukat.

Az ellenőrzés folyamán a legjobb, ha munkahelyi higiénés szakértő segítségét vesszük igénybe ahelyett, hogy mereven ragaszkodnánk a statisztikai módszerekhez. Az is előfordulhat, hogy a referencia időszakok a mintavételi időtartamhoz igazodnak, nem pedig például a 8 órás időszakhoz, úgyhogy ezt is figyelembe kell venni. Külön figyelmet kell szentelni, továbbá az adatgyűjtés körülményeinek is, és ez alapján meg kell határozni, hogy a mintavételi időszak és a kérdéses gyártási folyamat, illetve az expozícióbecslésen képviselt súlyuk szempontjából mennyire reprezentatívak az adatok. Az olyan adatok, amelyeket üzemhiba alatt gyűjtöttek, esetleg nem igazán reprezentatívnak a rutin gyártás tekintetében, mindazonáltal az ilyen adatokból is számos körülményre vonatkozóan levonhatók következtetések. Alacsony szintű kitétség elleni védelem esetén vett adatok a rutin üzem tekintetében lehetnek reprezentatívak, vagy sem, ezért ilyen esetben esetleg szakértői megítélés tárgyává kell tenni az adatokat. Majdnem biztos viszont, hogy rutin üzemi körülmények között felvett nagy mennyiségű adatból sem következtethetünk az anyag sokféle további használatára.

2.2.4. Modellszámítások

2.2.4.1. A modellek

A mért adatoktól függő modelleket analóg modelleknek nevezzük. Azok a modellek viszont, amelyek az ismert változók alapján kívánják szintetizálni az eredményeket, determinisztikus modellek. A modellek lehetnek általános jellegűek, vagy specifikusabbak, sőt szélsőséges esetben mindössze egyetlen megismételhetetlen folyamatot írnak le. Az erősen specifikus modellek speciális expozíciós eredményeket adnak, de használatuk köre erősen korlátozott. Az általános modellek ezzel szemben széles körben használhatók, de csak általános eredményeket, esetleg csak expozíciós tartományokat adnak meg. Minden ilyen modellnek megvan a maga alkalmazási köre, de az EASE típusú általános modellek igen elterjedten alkalmazhatók az expozíció általános becslésére. Ezen túlmenően azt sem szabad elfelejteni, hogy az összes modell feltételezéseken alapszik, így eredményük legjobb esetben egy jó közelítés, de az is előfordulhat, hogy téves.

2.2.4.2. A modellek szerepe

Az EASE modell segíti a munkahelyi expozíció megalapozott becslésének gyors, logikus és következetes elvégzését. Közvetlenül lehet alkalmazni az inhalációs, vagy a dermális expozíció becslésére. A dermális expozíció esetében a modell felépítése igen egyszerű, és egy hozzávetőleges becslést lehet adni vele. Az EASE modell azért is nagyon hasznos, mert egy logikus expozícióbecslési munkamódszert állít fel, és így a rendelkezésre álló mérési adatok értelmezését is segítheti. Habár a modell akkor adja a legjobb eredményeket, ha a foglalkozás-egészségügyi szakemberek alkalmazzák, e területen kevésbé képzett szakemberek is produkálhatnak vele elfogadható eredményeket. Ez a fajta rugalmasság a modellbe beépített kiterjedt közegészségügyi logika eredménye, továbbá a kapott eredményeknek is köszönhető, mivel ezek inkább tartományok, mint egy-egy meghatározott érték.

Ahogy azt már korábban említettük, a munkahelyi expozíció esetében a modellekből számított adatokkal szemben a csak "megfelelő" minőségű mérési adatok is előnyt élveznek, mindazonáltal a rendelkezésre álló információk hiányosságai miatt a fenti típusú adatok

együttes figyelembe vétele teljesebb és relevánsabb expozícióbecslést fog eredményezni. Előfordulhat, hogy egyes mérési adatok hiányosak vagy rossz minőségűek. A kétféle adat arányát esetileg kell meghatározni, de az expozícióbecslést meg kell támogatni az EASE, vagy egyéb, egy adott anyaghoz, vagy szituációhoz speciálisan kiválasztott modellek eredményeivel. Alkalmazás előtt a modelleket alaposan meg kell vizsgálni. Egy ésszerű alapokra támaszkodó prediktív modell minden esetben nagymértékben javíthat a szubjektív becsléseken.

2.2.4.3. Modell a munkahelyi inhalációs expozíció becslésére

.1 2.2.4.3.1. A modell korlátai

Az EASE modell mind a meglévő, mind az új anyagok esetében segíti az expozícióbecslést. A modell megalkotása során az volt a cél, hogy elterjedten alkalmazható legyen mindenféle munkahelyi körülmények között. Ez a modell csak azokat a körülményeket veszi figyelembe, amelyek expozícióhoz vezetnek. A tartományok meghatározásához felhasznált adatok (III. melléklet) mind 8 órás időszűlyozott átlagok és a modell által generált számok csak abban az esetben érvényesek, ha a vizsgálandó kitétségek összefüggésbe hozhatók ezekkel az átlagokkal. Így például a modell nem alkalmas rövid idejű vagy akut expozíciók előrejelzésére, hacsak a becslést végző hatóság nem tudja ezeket a 8 órás időszűlyozott átlagokkal összefüggésbe hozni. Ilyen előrejelzések azonban elvben lehetségesek, ha a modellt egy "legrosszabb eseti" forgatókönyvre (szcenárióra) futtatjuk le. A modell nem ad előrejelzést szokatlan vagy speciális körülmények - például nagyobb volumenű termelés vagy megnövekedett inhalációs ráta - esetében fellépő expozíciókra sem, hacsak valamilyen megfelelő információ nem hozható összefüggésbe a 8 órás időszűlyozott átlaggal.

Meg kell említeni, hogy a modell a feltételezésekben megfogalmazottakon túlmenően nem ad számot az időváltozóról és a használat intenzitásáról. Ezeket a paramétereket szükség szerint külön kell megvizsgálni. A modellben használt aeroszol kifejezés a levegőben diszpergált apró folyadékszemcsékre utal.

A levegőben diszpergált apró szilárdanyag szemcsék a feltételezés szerint pornak minősülnek, de ez a feltételezés nem minden esetben helytálló, úgyhogy a reális eredmények érdekében esetleg szakértői véleményre van szükség. Tanácsadók és mások által elvégzett vizsgálatok alapján a modell gyakran ad olyan eredményeket, amelyek számszerűleg magasabbak, mint a látszólag analóg munkahelyi szituációkban kapott értékek. Ez származhat egyrészt a modellhez alapul használt adatokból, vagy utalhat arra tényre is, hogy a vizsgált munkahelyek nagy része gyártóüzem és nem reprezentálja a további vagy egyéb használatokat, ahol sok anyag esetében nagyobb mértékűek az expozíciók.

Nagy hangsúlyt kell fektetni annak biztosítására, hogy az expozícióbecslés eredményeként kapott expozíciós tartományok megfeleljenek egy megbízható kockázatbecslés elkészítéséhez. Ahogy azt már a korábbiakban elmagyaráztuk, a munkahelyi inhalációs expozíciót általában nyolc órás vagy tizenöt perces időszakra vonatkozó időszűlyozott átlagos koncentrációban szokták megadni. A valóságban a pillanatnyi vagy rövid idejű koncentrációk széles határok között változhatnak az átlag értékekhez képest, habár az világos, hogy a tizenöt perces időszűlyozott átlagok valószínűleg jobban tükrözik ezeket a változásokat, mint a nyolc órás átlagok. Előfordulhat, hogy az ilyen jellegű változások a gyártási folyamatok inherens részét képezik, de az is lehet, hogy ésszerűen előre látható véletlen-, vagy balesetszerű események

idézik elő. A kockázatbecslés szempontjából akkor válhatnak fontossá, ha elég nagyok és elég hosszú ideig tartanak ahhoz, hogy önmagukban káros hatásokat idézzenek elő. Különösen akkor lesznek jelentősek, ha akut módon jelentkeznek és életet veszélyeztetik, vagy visszafordíthatatlanok. A modell nem szolgáltat közvetlen információkat az ilyen rövid idejű kitettségekről, úgyhogy ilyen esetekben mindenképpen a mért adatokat kell előnyben részesíteni.

.2 2.2.4.3.2. A modell alapjai

A munkahelyi inhalációs expozíció becslésének modellezésére használt módszer adott anyagnak a gyártás/feldolgozás során jelentkező fizikai tulajdonságai (az anyag hajlama, hogy a levegőbe kerüljön), a felhasználás jellege és az expozíció ellenőrzése alapján az alábbiak szerint logikus kritériumokat határoz meg a lehetséges expozíciós típusok leírására:

A. Fizikai tulajdonságok a gyártás/feldolgozás során (technológiai hőmérséklet és nyomás, hajlam a levegőbe kerülésre)

Gáz

Folyadék, magas gőznyomással

Folyadék, közepes gőznyomással (ld. I. melléklet)

Folyadék, alacsony gőznyomással

Szilárd, respirálható por

Szilárd, inhalálható por

Szilárd, granulált

Aeroszol

B. A felhasználás jellege, használati minták

Zárt rendszerben

Hordozóra vitellel/Mátrixon belül

Nem elterjedt; (kontrollált ipari felhasználás)

Széles körben (elterjedt)

C. Expozíció ellenőrzési minták

Teljes körű visszatartás (izolálás)

Lokális elszívó rendszer

Elkülönítés (szegregáció)

Hígító szellőzés

Közvetlen kezelés

Ez a módszer nagy számú expozíciós helyszínhez vagy forgatókönyvhöz vezet (elvben 160 komplementer modell felel meg az A, B és C kritériumok 160 lehetséges kombinációjának). Az Angol Nemzeti Expozíció Adatbázisban (NEDB) található mérési adatok alapján minden ilyen helyszínnek megfeleltettek egy-egy numerikus tartományt (II. melléklet). Ez a módszer lehetővé teszi, hogy a későbbi szakaszokban más adatbázisok vagy új információk alapján módosítsuk a tartományokat. Szándékosan törekedtek a modell egyszerűségére, hogy a leginkább használható eredményeket adja, azonban a modellben használt logika, amellyel a helyszínek meghatározása történik már bonyolultabb, mint azt a fenti kritériumok egyszerű kombinálása alapján gondolnánk. Ezt a logikát az I. melléklet folyamatábrái írják le.

2.2.4.4. A dermális (bőrön keresztüli) expozíció becslése

.3 2.2.4.4.1. A modell korlátai

Feltételezzük, hogy a dermális expozíció egyenletes és úgy vizsgáljuk és adjuk meg, mint elsősorban a kézfejet és az alkart (körülbelül 2000 cm²) érintő potenciális expozíció mértékét. Azt is feltételezzük, hogy a gázok és gőzök esetében a dermális expozíció igen alacsony szintű. További feltételezés, hogy a dolgozók semmilyen típusú védőruházatot nem viselnek és hogy az expozíció csak a kézzel való érintkezéstől függ. A védőruházat hatását külön lehet vizsgálni, és a megfelelő konklúziókat a logika és a szakértői vélemények alapján kell levonni. A modell nem veszi figyelembe sem a személyes higiéné - például kézmosás -, sem a párolgás, vagy a bőrön történő egyéb jellegű folyamat - például izzadás, vagy felhorzsolts bőr - hatását.

.4 2.2.4.4.2. A modell alapjai

A dermális expozíciós modell felépítésében hasonlít az inhalációs modellhez (ld. I. melléklet). A modell alapját a "dermális expozíciós potenciál" koncepciója adja. A fent megadott inhalációs kritériumok tekintetében feltételezzük, hogy a dermális expozíciónak csak a szilárd anyagok vagy folyadékok esetében van jelentősége, továbbá az egyetlen használati és expozíció ellenőrzési minta, amely jelentős dermális expozícióval jár, az a nem elterjedt (ipari) és a széles körben elterjedt ipari használat, illetve a közvetlen kezelés. (A mátrix rendszer feltételezhetően azonos a nem elterjedt használattal). Az inhalációs expozícióra vonatkozó forgatókönyvek meghatározásához használt kritériumok a kontaktus szinthez használt kritériumokkal lettek kombinálva.

.5 2.2.4.4.3. Az érintkezési szintre vonatkozó kritériumok

- nincs;
- véletlenszerű (előre nem látható);
- szakaszos (intermittáló)
- kiterjedt.

"Véletlenszerű, előre nem látható" expozíció körülbelül napi egy eseményt jelent, a "szakaszos" expozíció napi 2-10 eseményre utal, "kiterjedt" expozícióról pedig napi 10 esemény felett beszélünk. Az expozíciós tartományok számos különböző forrásból, főleg az Amerikai Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatalától (US EPA), az Angol Egészségügyi és Balesetvédelmi Hivaltól (HSE), illetve a szakirodalomból vett adatok alapján készített becslések. A porokra vonatkozó tartományokat a folyadékokra vonatkozó adatok extrapolációjával kapták. A módszer logikáját, illetve a kapott expozíciós tartományokat az I. mellékletben a dermális expozíció meghatározásával kapcsolatos folyamatábrákon mutatjuk be. Az értékek milligramm/négyzetcentiméter/nap egységekben vannak megadva. Meg kell jegyezni, hogy a dermális expozíció becslése a fentiekben ismertetett inhalációs expozíció becsléséhez hasonlóan nem veszi figyelembe a szervezetbe való bejutás semmilyen formáját (azaz például a dermális felvételt a dermális expozíció esetében). Az ilyen fajta felvétellel a kockázatbecslési folyamat egy másik részében foglalkozunk.

2.2.4.5. A lenyeléssel történő (szájon keresztüli) expozíció becslése

Habár a lenyeléssel történő expozíciót esetleg modellezni lehet az ebben az útmutatóban ismertetett modellel, erről az útvonalról azt tartják, hogy sokkal inkább a személyes tényezőktől, illetve a hatékony kontrolltól és a higiénés körülmények biztosításától függ a másik két útvonalhoz képest. Porok esetében a lenyeléssel történő expozíció becslését esetleg jobban lehet modellezni, ha a belélegzett (inhalált) port használjuk kiindulópontként, és a közvetlenül vagy a mukociliáris úton lenyelt frakciókat becsüljük. Ezeket a feltételezéseket felhasználva, amennyiben a lenyelés a szervezetbe kerülés útja, hozzávetőleges becsléssel megkaphatjuk a lenyeléssel történő expozíciót.

2.2.4.6. Tudásalapú (szakértői) rendszer az expozícióbecslés modellezéséhez

Az inhalációs és dermális expozíciók előrejelzéséhez használt logikai kritériumok egy tudásalapú elektronikus adatrendszerbe (TAR) (III. melléklet) vannak beépítve, amelynek feladata, hogy elősegítse a munkahelyi expozíció becslését. A rendszer fokozatosan alakult ki, és növekedésével párhuzamosan "szakmailag" is egyre inkább javult. A modellt valószínűleg sokszor le kell futtatni ahhoz, hogy figyelembe tudjuk venni a különböző expozíciós forgatókönyveket. Az egyes forgatókönyvekhez tartozó expozíciós tartományokat azután a képernyőn láthatjuk.

Az expozícióbecslést végző hatóságnak a használati minta és az ellenőrzési minta (ld. a B. és C. pontokat a 1.2.4.3.2 alfejezetben) tekintetében hozott döntéseit a gyártók vagy importőrök által szolgáltatott adatokra, illetve saját szakmai tapasztalataira kell alapoznia.

A modell futtatásakor a döntés meghozatalához segítségként azonnal vagy az elektronikus szakértő rendszeren keresztül lekérve hozzá lehet férni definíciókhoz és egyéb segédletekhez. A modell kiömlések, balesetszerű kiáramlások, vagy a normális esetben megbízható ellenőrző rendszerek elromlása esetén fellépő kibocsátások esetét nem vizsgálja, csak a kérdéses anyag szokásos használatából származó expozíciókkal foglalkozik. A modell használatára az alábbi, a szakértői rendszer futtatásakor és az expozíció becslésekor általában is hasznos konvenciók, leírások és definíciók vonatkoznak:

Az anyag halmazállapota és gőznyomása

A modellben feltételezzük, hogy az összes folyamat, amely nem teljesen zárt, légköri nyomáson történik. Az anyag halmazállapota és gőznyomása a technológiai hőmérséklettől függ; a halmazállapot és a gőznyomás pedig befolyásolja az expozíció mértékét és típusát. A legoptimálisabb az az eset, ha ismert, hogy milyen az anyag halmazállapota és gőznyomása a technológiai hőmérsékleten. Az anyag olvadáspontjának, forráspontjának illetve a technológiai hőmérsékletnek az ismeretében a halmazállapot egyszerűen meghatározható. Ha ismert az is, hogy egy eltérő hőmérsékleten mennyi a gőznyomás, akkor megfelelő számítási módszer segítségével meg lehet becsülni a gőznyomást a technológiai hőmérsékleten. Amennyiben szükséges és lehetséges, az elektronikus rendszer az Antoine egyenletet használja a gőznyomás kiszámítására (ld. Handbook of Chemical Property Estimation Methods, szerkesztő: WJ Lyman, WF Reehl és DH Rosenblatt, kiadó: American Chemical Society, Washington DC, 1990, 14. fejezet, írta: CF Grain).

Az expozíció forrása

A modell megkérdezi, hogy mi az expozíció forrása. Szilárd anyagok esetében azért jöhet létre kitettség, mert a gyártási/feldolgozási lépésben por keletkezik. Egyes szilárd anyagok esetében a gőznyomás is jelentős lehet a technológiai hőmérsékleten, ilyenkor a gőz az expozíció forrása. Az egyik típusú expozíció ellen hatékony ellenőrzés nem feltétlenül ugyanolyan hatékony a másik típusú expozíció esetében.

Teljes körű visszatartás (Zárt rendszer)

Meg kell határozni, hogy a technológia során milyen szintű kontrollt alkalmaznak. Ha az ellenőrzési szint teljes körű visszatartást eredményez, akkor gyakorlatilag zárt rendszerről van szó.

Lokális elszívás

A hatékony lokális elszívó rendszerek jelenléte nagymértékben befolyásolja az expozíció szintjét. A hatékony lokális elszívás eltávolítja a szennyezőket azok származási vagy keletkezési helyéről, így megakadályozza, hogy azok a helyiség légterébe jutva potenciálisan belélegezhetővé (inhalálhatóvá) váljanak. A modell megkérdezi, hogy van-e hatékony lokális elszívás, vagy nincs; ez azt jelenti, hogy ha azt írjuk be, hogy van lokális elszívás, akkor egyben azt is feltételezzük, hogy az a célnak megfelelően illetve az előírt, vagy akörüli hatékonysággal üzemel.

Elkülönítés (vagy folyamatellenőrzés)

Egyéb ellenőrző intézkedések (pl. lokális elszívás) hiányában az expozíciót úgy is lehet csökkenteni, ha a dolgozókat térben vagy időben vagy egyéb folyamat ellenőrző intézkedések segítségével elválasztjuk a kérdéses anyagtól. Tipikus esetben az operátor néhány méterre van az expozíció forrásától. Az ilyen fajta elkülönítést inkább felügyelet, mint fizikai gátak révén szokták fenntartani.

Hígító szellőzés

Vannak olyan technológiák, ahol a lokális elszívás, vagy a folyamatellenőrzés nem jelent jó megoldást. Előfordulhat, hogy az anyagot olyan körülmények között használják, ahol a természetes szellőzés hatékonyan csökkenti a kitettséget.

Az expozíció hatékony csökkentését az is befolyásolhatja, hogy az anyag a természetes vagy mechanikai (de nem lokális) szellőzés segítségével kihígul. Ehhez azt a feltételezést kell alkalmazni, hogy az anyagot közvetlenül kezelik és a hígító szellőzés jelentős mértékben csökkenti a kitettséget. A természetes szellőzést elősegítik a megfelelően elhelyezett, a levegő ki- és beengedését szolgáló nyílásokkal ellátott nagy, tágas és magas épületek. E kategória extrém esete, ha a szabad levegőn dolgoznak. Az olyan munkahelyek, ahol az általános mechanikai szellőzés biztosítja a levegő óránként többszöri átcserélődését, ugyancsak ebbe a kontroll kategóriába esik.

Közvetlen kezelés

Egyéb folyamatellenőrző intézkedések hiányában feltételezzük, hogy a dolgozók közvetlenül kezelik az anyagot, és az esetleges védőruházattól, vagy légúti védő felszereléstől eltekintve más óvintézkedés nem történik.

Védőruházat és védőfelszerelések

A modell a becsült expozíciót a dolgozók légzési zónájában jelenlévő, konvencionális munkahelyi higiénés módszerekkel mérhető szennyezőanyag koncentrációban adja meg. Az értékek megfeleltetéséhez alapként felhasznált mért adatok 8 órás időszűzött átlagok voltak. Sem ezek az adatok, sem pedig a becsült expozíciós értékek nem veszik figyelembe a védőruházat vagy védőfelszerelések használatát. Fel lehet azonban tételteni, hogy a gyakorlatban, a magas becsült expozíció értékekhez esetleg figyelembe kell venni védőeszközök használatát.

Használati minta

Az a mód, ahogy az anyagot használják (a használati minta) is egy olyan tényező, amelyet figyelembe kell venni az expozíció becslésekor. Négy fő használati kategóriát különböztetünk meg, ezek a következők:

- zárt rendszerben történő használat
- olyan használat, amely az anyagnak egy hordozó (mátrix) belsejébe vagy felületére történő bezáródását eredményezi
- nem elterjedt használat (non dispersive use)
- széles körben elterjedt használat

Ezek a kategóriák a 793/93 számú Rendelet előírásai alapján a meglévő anyagokra vonatkozó adatok gyűjtését célzó HEDSET-ben (Harmonised Electronic Data Set) is benne vannak. Világosan látni kell azonban, hogy a HEDSET-ben használt környezeti kockázatokra vonatkozó kategóriák jelentése nem egészen azonos az ebben a modellben használt, a munkahelyi szituációkra vonatkozó kifejezésekkel. Az itt megadott definíciókat tehát nem szabad általánosan használni, különösen nem a HEDSET-ben.

Zárt rendszer

Egy technológia akkor tartozik ebbe a kategóriába, ha az anyag a reakciótérben marad, vagy zárt csőrendszeren át kerül egyik tartályból a másikba. A technológia során keletkező közbenső termékek (intermedierek) a reakciótartályra és a hozzátartozó berendezésre kell korlátozódnak. Az elválasztott termékeket vagy a helyszínen kell tárolni, vagy megfelelő kontroll mellett lehet elszállítani. Amennyiben a technológia zárt rendszerű, de ezt követően az anyag kikerülhet a környezetbe, vagy már a gyártás során sem lehet megakadályozni, hogy szignifikáns emisszió történjen, akkor ez vagy a "nem elterjedt" vagy az "széles körben elterjedt" használati minta kategóriába tartozik. Mivel például mintavétel vagy karbantartás céljára időnként be kell lépni a zárt rendszerbe, meg van a lehetőség arra, hogy ezeket a rendszereket más használati kategóriákba soroljuk.

Egy hordozó (mátrix) belsejébe vagy felületére történő beépülés

Az ilyen használat esetén a technológia során az anyag olyan termékekbe épül be, amelyekből a környezetbe történő kibocsátás jelentős mértékben korlátozott. Munkahelyeken ilyen megoldás például a szilárd anyagok vizes diszpergálása (így kevesebb por képződik), pellet formájú nyersanyagok, vagy elasztomer előkeverékek használata. A hordozó előkészítése során - például egy por alakú festék vízbe történő bekeverésekor - nagy mennyiségű szennyezés kerülhet a munkahelyi környezetbe. Az ilyen folyamatokat a "nem szétterjedő" használati kategóriába kell besorolni.

Nem elterjedt használat

A "nem elterjedt" használatba tartozó technológiák során a kérdéses anyag felhasználása úgy történik, hogy a dolgozóknak csak egy meghatározott, kiképzett csoportja kerül érintkezésbe vele. Ilyen esetekben általában megfelelő óvintézkedéseket dolgoznak ki az expozíció kockázat-arányos csökkentése érdekében. Ez a kategória a legtöbb olyan munkahelyi szituációra alkalmazható, amelyek más kategóriákba nem sorolhatók be.

Széles körben elterjedt használat

A "széles körben szétterjedt" használat azt jelenti, hogy a tevékenység során, az adott technológiánál dolgozókon kívül a többi dolgozót, sőt egyes esetekben a lakosságot is érintő kontrollálatlan expozíció jön létre. Tipikus példák a különböző festési eljárások vagy a növényvédő szerek permetezése.

Aeroszol képződés

Előfordulhat, hogy egy folyadék alapvetően nem nagyon illékony, de a felhasználás során a levegőbe kerülhet, mivel a technológia folyamat során aeroszol vagy finom köd képződik. Azok a technológiák, amelyek során valamilyen folyadékot mozgatnak vagy kevernek, mind aeroszol képződéshez vezethetnek. Tipikus aeroszol képződést generáló tevékenységek például a porlasztás, az öntés és a keverés.

Részecske méret

A szilárd részecskék méretüktől függően hajlamosak a levegőbe kerülni. A modellben a részecskéket aszerint osztályozzák, hogy belélegezhetőek (inhalálhatók), vagy granuláltak. A porok képződése a technológia jellegétől illetve az energia betáplálástól függ. A finoman feldarabolt anyagok kezelése, illetve az olyan tevékenységek, mint például a zúzás, az őrlés vagy a fúrás, továbbá a füst generáló technológiák és a porlasztás lebegő részecskék képződéséhez vezet. Tipikus porok példák az azbesztszerű porok, a forró fémfüst, továbbá a finomszemcsés kristályos szilika. A respirábilis por azt a frakciót jelenti, amely áthatol a tüdő gázcsere felületein.

A Nemzetközi Szabványosítási Szervezet (ISO) és az Európai Szabványosítási Szervezet (CEN) által elfogadott, a respirálható frakció mintavételezésére szolgáló berendezések előírányzott specifikációja egy görbe, amely az alábbi pontokon halad át:

d(μm)	0	2	3	4	5	7	9
Belélegezhető %	100	96,8	80,5	55,9	34,4	10,9	3,2

ahol d egyenlő a részecske aerodinamikusan átmérőjével.

Az összes inhalálható por azzal a frakcióval egyenlő, amely légzés során az orrba és a szájba kerülve a légutakban lerakódhat. Az ISO és a CEN terminológiája szerint ez az inhalálható frakció. Az inhalálható frakció függ a kitett személy körüli aktuális légmozgásoktól (szél sebesség és szélirány), továbbá attól is, hogy a kérdéses személy orron vagy szájon át lélegzik. A mintavevő berendezésekre előírányzott specifikáció az inhalálható frakciót reprezentatív légzési sebesség értékekre és minden szélirányból egyenlő mértékben érintett személyre írja le. Az ISO és a CEN által előírányzott specifikáció az alábbi ajánlott értékeket tartalmazza:

d(μm)	0	10	30	60	100
Belélegezhető %	100	77,4	58,3	51,4	50,1

ahol d egyenlő a részecske aerodinamikusan átmérőjével.

Az olyan részecskék esetében, ahol $d > 100 \mu\text{m}$, nincs ajánlás.

A granulált kategória ebben a szöveggörnyezetben azt jelenti, hogy a részecskék mérete olyan nagy, hogy hosszú távon nem maradnak a levegőben, így nem jelentkezik inhalációs probléma sem.

A por típusa

Az expozíciót a keletkező por természete, vagyis hogy szálás vagy nem szálás, is befolyásolja. A modell megkérdezi, hogy a technológia során milyen jellegű por keletkezik. A modell céljára a szálakat a szokásos módon definiáljuk, azaz megfelelő fénymikroszkóppal látható $5 \mu\text{m}$ -nél hosszabb és $3 \mu\text{m}$ -nél vékonyabb képződmények, amelyek hossz-vastagság aránya nagyobb mint 3:1.

A szálás porok levegőbe kerülési képessége

A para-aramid szálak azon szálak közé tartoznak, amelyek levegőbe kerülési képessége alacsony. Közepes levegőbe kerülési képesség jellemzi többek között a krizotil azbesztet, az üvegyapotot és a kerámia rostokat. Magas a levegőbe kerülési hajlama például a krokidolitnak és az amozit azbesztnek.

Porképződéssel járó technológiák

A keletkező por mennyisége az alkalmazott technológia jellegétől függ. Az alábbiakban megadjuk azt a három kategóriát, amelybe a technológiákat be lehet sorolni. A modell megkérdezi, hogy melyik csoport írja le legjobban az adott technológiát.

Száraz zúzás és őrlés

Ide tartozik a kompresszoros tisztítás, a kézi és gépi homokszórás, továbbá a száraz zúzás és őrlés.

Száraz kezelés

Ide tartozik az összes száraz anyagokkal végzett technológia. Az anyagok száraz kefélése is ide tartozik.

Pormentes technológiák

Ide tartoznak a vizes technológiák, továbbá az összes olyan technológiai folyamat, amelynek során a potenciális expozíciót különböző óvintézkedésekkel jelentős mértékben csökkentik.

Könnyen aggregálódó szilárd anyagok

A viaszos textúrájú, vagy más módon ragacsos anyagok részecskéi könnyebben összeállnak, így ezek használata során kevesebb por keletkezik, mint más anyagok esetében.

Dermális (bőrön keresztüli) expozíció

A dermális expozíciós tartományait az Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatala (US EPA) által kidolgozott koncepció alapján határozták meg. Ezek a legjobb közelítések a rendelkezésre álló adatok alapján. A porokra vonatkozó értékeket a folyadékokra vonatkozó

adatok extrapolálásával kapták. Az EPA "bőrkontaktusra vonatkozó potenciál" koncepciója adja a dermális expozíciós modell alapját. A modell az alábbi feltételezésekre épül:

- az expozíció főleg a kézfej és az alkar esetében jelentős;
- nincs speciális védőruházat; és
- az expozíció a kézzel való érintkezéstől függ.

A dermális expozíciót úgy adjuk meg, mint elsősorban a kézfejet és az alkart (összes felület: körülbelül 2000 cm^2) érintő potenciális dózis mértékét. A dermális expozíció alkalmazott egysége: $\text{mg.bőr-cm}^{-2}.\text{nap}^{-1}$.

A dermális expozíciós szintek

Nulla: Nincsen lehetőség dermális expozícióra.

Véletlenszerű: Véletlenszerű expozícióról napi egy eseménynél beszélhetünk. Tipikusan bizonyos technológiák - például festékkeverés - elvégzésének módjából adódó kilocsantások és kiömlések tartoznak ide.

Szakaszos: Napi 2-10 eseményt szakaszos expozíciónak tekintünk. Az expozíció itt a technológia inherens része; például az anyagok szállítása valamilyen mérést is végző eszközzel, pl. egy mérőüzemben.

Kiterjedt: Napi tíz esemény felett kiterjedt expozícióról beszélünk, amely kézi munkavégzést is igénylő technológiák esetében jelentkeznek, például "nedves" tárgyak kiemelése valamilyen fürdőből és átrakása valamilyen szárító állványra.

2.2.4.7. Keverékek és egyéb speciális körülmények

A modellben a tartományok meghatározásához felhasznált mérési adatokat olyan munkahelyeken gyűjtötték be, amelyeknél nem valószínű, hogy a mért anyag volt az egyetlen jelenlévő anyag. Egyes anyagokat valójában keverékek, például olajköd vagy öntödei por formájában mérjük. Mindazonáltal a modell céljára úgy vettük, mint a mérési adatok tiszta anyagra vonatkoznának. Ahol ezt a feltételezést nem lehetett alkalmazni, ott a mérési adatokat nem fogadtuk el. Amennyiben a kérdéses anyagot mindig valamilyen keverékben használják, és nincs adat arra vonatkozólag, hogy a keverékből az anyag hogyan kerül a levegőbe, akkor egy egyszerű közelítést alkalmazhatunk. Ennek lényege, hogy az anyagnak a keverékben jelenlévő koncentrációjával megegyező faktorral csökkentjük a becsült expozíciót. Egyéb speciális körülmények (például nagyon hosszú vagy nagyon rövid technológiai idő) esetén hasonló korrekciókra van szükség.

2.3. A fogyasztói (lakossági) expozíció becslése

2.3.1. Bevezető

Ebben a részben ismertetjük a fogyasztói expozíció becsléséhez használandó módszert. A módszer hatékony, fokozatos és iteratív, és alkalmazható mind a meglévő, mind az új anyagok esetében.

Valamely fogyasztói termék használata során a fogyasztók (lakosság) korra, nemre és egészségi állapotra való tekintet nélkül érintkezésbe léphetnek valamilyen új vagy meglévő anyaggal. Fogyasztói termékek alatt itt olyan termékeket értünk, amelyeket a lakosság bármely tagja a kiskereskedelmi hálózaton keresztül megvehet, és amely vagy a kérdéses anyag maga, vagy valamilyen a kérdéses anyagot tartalmazó készítmény vagy egyéb termék. A fogyasztói kitettség nagyon fontos kérdés, mivel erősen korlátozottak az expozíció ellenőrzésének lehetőségei, és rendes körülmények között az eladóhely után már nincs lehetőség az óvintézkedések nyomon követésére, vagy betartatására. Új anyagok esetében az anyag fogyasztói termékként, vagy annak alkotórészeként történő felhasználása "egyéb potenciális veszélyforrás"-nak minősül, ezért akkor is el kell végezni a kockázatbecslést, ha az anyag nem került osztályba sorolásra.

A fogyasztói expozíció becslése új és meglévő anyagok esetében is ésszerű gondolkodáson alapuló, iteratív folyamat, amelynek első lépése a "kezdeti szűrés". E szűrés során meg kell határozni, hogy az anyagot használják-e fogyasztói termékként, vagy annak alkotórészeként, mert ha igen, abban az esetben további vizsgálatokra és az expozíció esetleges számszerűsítésére is szükség lehet. A fogyasztói expozíció becslését az új és a meglévő anyagok esetében némileg eltérő módon kell elvégezni. Az eltéréseket és a vizsgálatok menetét az alábbiakban ismertetjük.

Számos fogyasztói termékre egyéb EU és/vagy törvényi szabályozás is vonatkozik (ilyen termékek például a kozmetikai cikkek, a játékok, az élelmiszerekkel érintkező anyagok és a gyógyszerek).

Az új anyagok esetében ki kell emelni, hogy a 67/548/EGK számú Irányelv 1(2). cikkelye kizárja a bejelentésből azokat az anyagokat, amelyekre már lefolytatták az EU bejelentési és jóváhagyási eljárást, és amelyeknél a vonatkozó követelmények megegyeznek a 67/548/EGK számú Irányelvben foglaltakkal.

Nem kell tehát bejelenteni, például azokat az anyagokat, amelyeket csak valamely kozmetikai cikk alkotórészeként forgalmazzák és az anyag bekerült a Kozmetikai Irányelv (76/768/EGK) valamelyik "engedélyezési listájára". Az ilyen anyagok esetében a Kozmetikai Irányelv alapján forgalomba hozatali engedélyre van szükség. Mivel a bejelentés a forgalomba hozatal előtt történik, az illetékes hatóságoknak kell megvizsgálniuk, hogy a kozmetikai cikk javasolt összetétele következtében a fogyasztóknak milyen kockázatokkal kell számolniuk. Az illetékes hatóságokat minél gyorsabban értesíteni kell, hogy a forrásokat a leghatékonyabb és legmegfelelőbb módon tudják kihasználni.

Amennyiben a kérdéses anyagot több fogyasztói termékben is fel kívánják használni, vagy ha többféle használati mód is létezik (például festékeknél ecsettel való felvitel illetve fűjás), vagy ha a termékről feltételezhető, hogy a tipikustól eltérő módon is használhatják (például gépi mosószer használata kézi mosáshoz), akkor előfordulhat, hogy mindegyik esetre külön-külön kell az expozíciós vizsgálatot elvégezni.

El kell mondani azt is, hogy ha az anyagot több különböző termékben is felhasználják és több különböző használati mód is létezik, akkor a expozícióbecslést azokra a használatokra kell összpontosítani, amelyeknél rendszeresen a legnagyobb expozíció várható. Meg kell vizsgálni a kérdéses anyag többféle termékben való használatából eredő kumulált expozíciót is.

Szükség és lehetőség szerint a hasonló jellegű és hasonló használati mintát mutató termékek adatait is fel lehet használni.

2.3.2. Az adatok

2.3.2.1. A reális expozícióbecsléshez szükséges adatok

A fogyasztói termékekben jelenlévő anyagok esetében az expozícióbecsléshez két különböző típusú adat szükséges: 1) az érintkezésre vonatkozó paraméterek és 2) a koncentráció paraméterek. Az érintkezésre vonatkozó paraméterek azt jelzik, hogy hol, mennyi ideig és milyen gyakran kerül kontaktusba a fogyasztó a kérdéses anyaggal. A koncentráció paraméterek ahhoz kellene, hogy megbecsülhessük a kérdéses anyag koncentrációját valamilyen, az ember testtel esetlegesen érintkezésbe lépő közegben, azaz megbecsülhessük a potenciális expozíciót. Ez a koncentráció nem feltétlenül azonos az anyag termékbeli koncentrációjával, mivel előfordulhat, hogy a termék felhígul, keveredik valamivel, vagy párolog, stb., még mielőtt a kérdéses anyag az emberi testtel ténylegesen érintkezésbe lép.

Az érintkezésre vonatkozó paraméterek és a potenciális expozíció kombinációjával meghatározhatjuk a tényleges expozíciót, vagyis az anyag koncentrációját az emberi testtel ténylegesen érintkezésbe lépő közegben. A expozícióbecsléshez egy harmadik tényezőt is figyelembe kell venni, nevezetesen a keringésbe jutó anyag mennyisége. Ezt a komponens szükség szerint a kockázatok jellemzésénél kell figyelembe venni.

Ahhoz, hogy előválasztott (default) értékek használata nélkül reális felmérést készítsünk, ideális esetben a következő adatoknak kell meglenni:

1. Érintkezésre vonatkozó adatok
 - a termék használatának gyakorisága,
 - a termékhasználat időtartama az egyes alkalmakkor,
 - a termékhasználat helye, ideértve a helyiség méretét és a légcsere sebességét.
2. Koncentráció adatok
 - az anyag súlyaránya a termékben,
 - ha lehet, az anyag termékbeli koncentrációja, ahogy a termék felhasználásra kerül, azaz pl. hígítás/hígulás vagy párolgás után
- 3 Termékhasználat
 - a termék fizikai megjelenési formája (aeroszol, száraz por, nagyobb kristályok, folyadék, gáz, stb.),
 - az alkalmanként felhasznált mennyiség,
 - az érintkezési felület nagysága (ha lehet),
 - a termék javasolt használata.

2.3.2.2. A rendelkezésre álló adatok

A fogyasztói termékek sokfélesége miatt nem lehet meghatározni olyan információforrást, kézikönyvet vagy adatbankot, ahonnan a szükséges adatokat be lehet szerezni. Sőt inkább

nekünk magunknak kell megkeresni a megfelelő információ forrásokat. Az alábbiakban összefoglaljuk a potenciálisan használható adatforrásokat:

1. Egyes országok rendelkeznek termék jegyzékekkel, amelyek alapján információt kaphatunk arról, hogy a kérdéses anyag jelen van-e valamely forgalomban lévő fogyasztói termékben.

2. Gyakran nem állnak rendelkezésre a használat időtartamára és a kontaktus gyakoriságára vonatkozó speciális információk. Ezeket a paramétereket, ha vannak időbeosztási adatok, akkor azokból lehet meghatározni. Az időbeosztások valamely embercsoport napi, heti vagy éves tevékenységéről, viselkedéséről szolgáltatnak információkat. Ha feltesszük, hogy bizonyos termékeket egy vagy több, az időbeosztásban szereplő tevékenység során használnak, akkor az ilyen tevékenységek tipikus időtartamára és gyakoriságára vonatkozó adatok alapján megbecsülhetjük az adott termék használatának időtartamát és gyakoriságát is. Az időbeosztási adatok legfőbb hátránya, hogy a tevékenység kategóriák legtöbb esetben nem specifikusak (pl. "zárt helyen tartózkodás", "autóvezetés", "bicikli mosás", stb.). Úgyhogy direkt összefüggések megfogalmazása valamilyen, az időbeosztásban szereplő tevékenység és egy adott termék használata között igencsak problematikus lehet. Időbeosztási adatokat ezen kívül számos különféle csoport gyűjt, ezek az információk azonban legtöbbször belső kiadványokban jelennek csak meg. Mivel az időbeosztások az eltérő földrajzi területeken erősen különbözhetnek, érdemes ellenőrizni, hogy az országos statisztikai hivataloknak vannak-e regionális adatai.

3. A tényleges termékhasználattal kapcsolatban általában nem sok adat áll rendelkezésre. A gyártói utasításból csak a javasolt használati módot ismerhetjük meg és nem kapunk információt arról, hogy használat előtt és után milyen módon bántak a termékkel, illetve hogy milyen helytelen használatok léteznek. A Méregellenőrző Központoktól és a szakirodalomban található esettanulmányokból is nyerhetünk adatokat, de az ilyen adatok általában a termék használatok extrém eseteit mutatják be, úgyhogy a szokásos használatok tekintetében nem túl informatívak. Egyes szakmai szervezetek gyűjtöttek adatokat bizonyos típusú termék használatára vonatkozóan (mennyiség, gyakoriság, időtartam), amelyek jól használhatók expozícióbecslésekhez. Ezeket az adatokat a VI. melléklet tartalmazza.

4. A expozícióbecslési programokhoz kapcsolódó adatbázisok, például a THERdbASE, is hasznos információ források lehetnek (ld. V. melléklet).

5. Bizonyos fogyasztói termékek (pl. élelmiszerekkel érintkező termékek) esetében jogszabályok írják elő a mért expozícióval kapcsolatos adatszolgáltatást az illetékes hatóságok felé. Az értékelést végző hatóságnak az expozícióbecslés során szükség és lehetőség szerint fel kell használnia ezeket az adatokat.

2.3.2.3. A rendelkezésre álló mért expozíciós adatok értékelésének kritériumai

Számos anyag esetében állnak rendelkezésre externális (külső) expozíciókra vonatkozó mérési adatok bizonyos expozíciós szituációkra (pl. valamely oldószert tartalmazó fogyasztói termék használatakor, vagy a termékből való kipárolgásuk következtében a helyiség levegőjében kialakuló oldószert koncentráció; élelmiszerekkel érintkező termékekből, gyermekjátékokból, vagy egyéb termékekből felszabaduló polimer lágyítók és egyéb adalékok).

A mérési adatok megbízhatóságát és reprezentativitását is ellenőrizni kell. Az adatok reprezentativitásának ellenőrzésekor az expozícióbecslést végző hatóságnak az alábbi szempontokat kell figyelembe vennie:

- reprezentálja-e egyetlen mérés a fogyasztók egész csoportjának expozícióját;
- az adatok jól illeszthetők-e egy adott expozíciós forgatókönybe (szcenárióba);
- az adatok jól reprezentálják-e a várható használati módot (definíció: ld. a szójegyzékben);
vagy
- az adatok expozíciós tartományt adnak-e meg, vagy csak egyetlen expozíciós értéket a tartományon belül.

2.3.3. Kezdeti szűrés

Első lépésben meg kell vizsgálni, hogy a kérdéses anyagnál milyen valószínűséggel léphet fel fogyasztói expozíció. Ha a kezdeti szűrés (screening) eredményei azt mutatják, hogy a kérdéses anyagot nem használják fogyasztói termékként, vagy annak alkotórészeként, akkor a fogyasztói expozícióbecslést nem kell tovább folytatni.

Egy ilyen döntés meghozatalához a hatóságnak át kell tekintenie (meglévő anyagok esetében) a gyártó vagy az importőr által a 793/93 számú Rendelet 9(2). cikkelye alapján, illetve (új anyagok esetében) a bejelentő által a bejelentési dokumentációban megadott összes expozíciós és használati módra vonatkozó adatot.

Meglévő anyagok esetében az is hasznos lehet, ha a hatóság a döntés meghozatala előtt az ipar által szolgáltatott információkat kiegészíti a fenti forrásokból összeszedett adatokkal is. Ha úgy tűnik, hogy a kérdéses anyag esetében lehetséges a fogyasztói expozíció, akkor ezeket a kiegészítő adatokat az ipartól kell bekérni.

Ha a hatóság felé bejelentés érkezik arról, hogy valamely új anyagot valamilyen fogyasztói termékként vagy annak alkotórészeként új célra kívánnak felhasználni, akkor az anyagot fogyasztói expozícióbecslésnek kell alávetni.

2.3.4. Kvalitatív becslés

A kvalitatív expozícióbecslés célja annak megítélése, hogy a fogyasztói kitettség a termékekben lévő anyagok tekintetében elhanyagolható-e. Ha az expozíció elhanyagolható, akkor nem kell tovább folytatni a fogyasztói expozícióbecslést; ha azonban nem tekinthető elhanyagolhatónak, akkor a kvantitatív expozícióbecslést is el kell végezni. A kockázatbecslési jelentésben világosan indokolni kell egy olyan döntést, mely szerint az expozíció elhanyagolható.

Ha például egy fogyasztói termékként forgalomba hozott árucikk tartalmazza a kérdéses anyagot, akkor a használók potenciális expozíciójának mértékét a termékben lévő anyag mennyisége, illetve az anyagnak a termékből való felszabadulása és ilyen módon a fogyasztói expozíciónak a rendeltetésszerű használat során (pl. egy ruha viselése) vagy az előrelátható helytelen használatok (pl. a gyerek szopogatja vagy rágcsálja a terméket) során kialakuló mértéke határozza meg.

2.3.5. Kvantitatív becslés

Az expozíció időtartamának és gyakoriságának megismeréséhez meg kell vizsgálni a kérdéses anyag és/vagy termék/árucikk használatának kategóriáit és a használati scénáriókat. A IV. mellékletben közreadunk egy egyszerű algoritmust, amelynek használata a fogyasztói expozícióbecslésben számos közönséges használati scénárió esetében ajánlott. Ezeket megfelelő gondossággal kell megválasztani és használni. A legtöbb eseményenként (egyszeri használat) egy expozíciós értéket ad meg, de könnyen adaptálható eltérő szituációkhoz is. Ezek képezik a fogyasztói expozícióbecslések számítógépes modelljeinek alapját. Az V. mellékletben számos különböző, a háztartási cikkekkel kapcsolatos, fogyasztói expozícióbecsléséhez használható számítógépes modellt mutatunk be, és ismertetjük a modellek korlátait is. Egyik számítógépes modell sem kevésbé ajánlott, mint a többi. Nagyon fontos, hogy referens ismerje a kiválasztott modellt, és tisztában legyen a modell nyújtotta lehetőségekkel illetve a modell korlátaival.

A fogyasztói expozícióbecslésben a modelleknek csak a külső (external) expozíciókra vonatkozó részét szabad használni; a belső (internál) expozíciókra vonatkozó becsléseket a kockázat jellemzéskor lehet majd felhasználni. A VI. mellékletben ismertetjük az európai országokra jellemzően az egyes tipikus fogyasztói termékek használatára (mennyiség és gyakoriság) vonatkozó becsléseket.

Olyan hatások esetében, amelyek egyszeri expozíciót követően is kialakulnak (pl. irritáció; akut toxicitás; fejlődési toxicitás), a kockázat jellemzéshez szükség van az eseményenkénti közepes illetve maximális expozíciós szintekre is. Ismételt dózisu toxicitás esetében az évenként átlagolt napi expozíciós szintekre van szükség. Ilyen esetekben mind a felső becsült felső értékeket mind az átlagokat figyelembe kell venni.

Ahol lehet, a mért vagy becsült értékeket kell használni minden numerikus paraméternél, de ha ez nem megoldható, akkor a rendelkezésre álló adatforrásokból használni lehet előválasztott értékeket (pl. a helyiség térfogatára vonatkozóan) is. A fogyasztói expozícióbecsléshez szükséges humán fiziológiai paraméterekre reprezentatív értékeket (pl. a kézfej, az alkar vagy a fej, stb. bőr felületének nagysága; légzési sebesség, légzéstérfogat) a szakirodalomból vehetünk (a forrásokat ld. a hivatkozásoknál). A VI. mellékletben is megadtunk néhány előválasztott és reprezentatív értéket. Feltételezéseket is kell alkalmazni, és ezeket össze kell hasonlítani az esetlegesen rendelkezésre álló adatokkal.

Az irreális vagy túlbecsült expozíciós értékek elkerülése végett ajánlatos kiszámítani a csoport átlagot és tartományokat (pl. minimum és maximum értékek), így megismerhetjük az input paraméterek ingadozását. Előfordulhatnak olyan esetek, ahol az expozíció csak alcsoportokat érint, ami miatt a csoportátlag igen alacsony. A kitettség végleges becslésének kialakítása érdekében sem szabad kombinálni a csoport szélsőségeket.

A VI. mellékletben közreadunk néhány átlagértéket és tartományt a termékek alkalmi vagy napi használati mennyiségére, illetve a súlyarányokra vonatkozólag.

Ha egyenleteket vagy modelleket alkalmazunk, és különösen ha ehhez előválasztott vagy "a legrosszabb esetre" vonatkozó értékeket használunk, ellenőrizni kell az előrejelzések realitását. A kezdeti szűrés céljaira például az is ésszerű lehet, ha elfogadjuk, hogy egy felnőtt a szokásos használat során alkalmanként adott mennyiségű fogkrém 10%-át nyeli le; ha viszont a számítások szerint a tubus tartalmának 50%-át vagy 500%-át nyeli le, akkor meg kell vizsgálni és megfelelő módon korrigálni kell az input paramétereket. A paraméterek finomítása és korrekciója akkor hagyható el, ha már kiderült, hogy a fogyasztói expozíció "aggodalomra nem ad okot" kategóriába sorolható, és ha finomítás csak még alacsonyabb expozícióbecslésekhez vezetne.

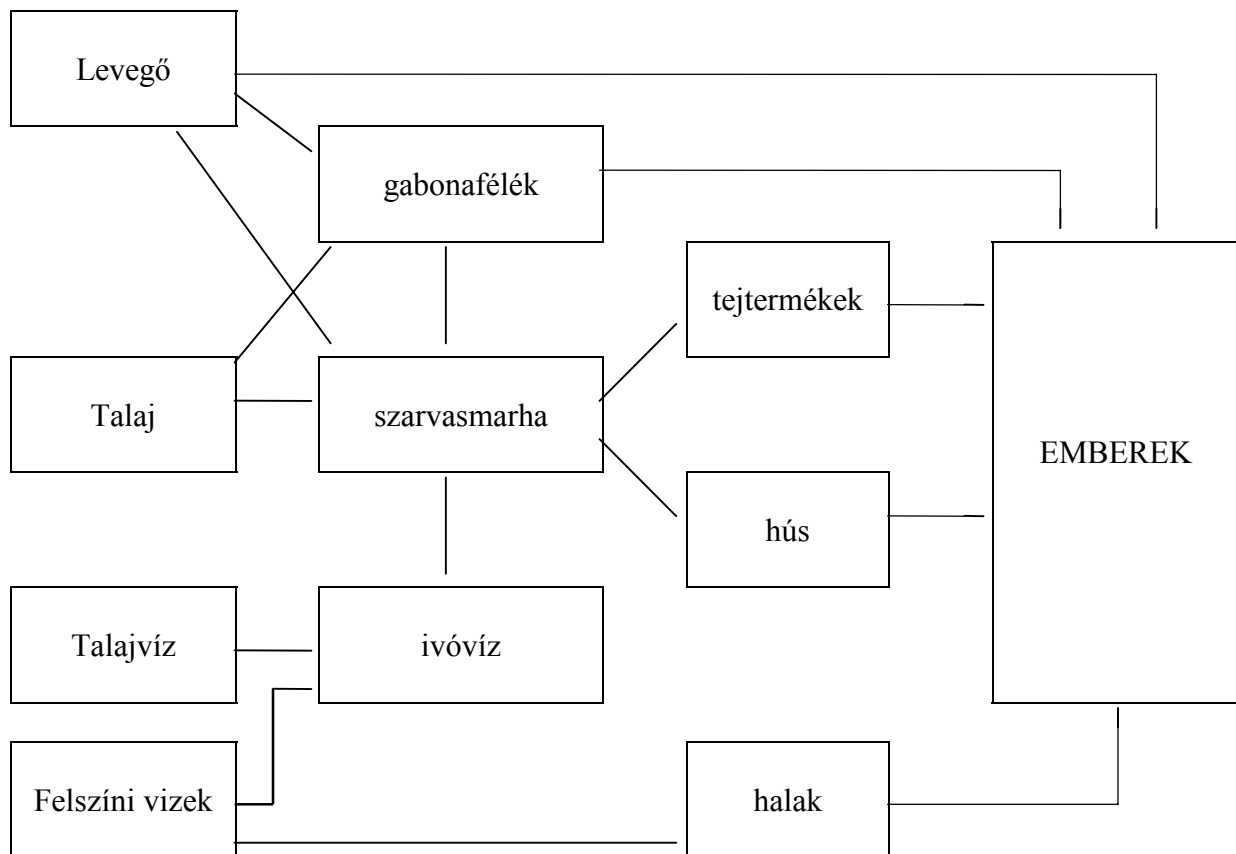
Habár első közelítésben indokoltnak látszik a fogyasztói expozíció konzervatívabb módon történő megbecslése, kerülni kell a túlzó becsléseket is (pl. kumulált legrosszabb eseti becslések). Természetesen annak érdekében is mindent el kell követni, hogy nehogy alulbecsüljük az expozíciót. Érdeemes meghatározni az expozíciós tartományokat adott körülmények között használt kulcstermékekre, hogy a becslt értékeket azután összehasonlíthassuk a várható tartományokkal.

2.4. A környezeten keresztüli közvetett expozíció becslése

2.4.1. Bevezető

Az embereknek a környezeten keresztüli közvetett kitétsége élelmiszerek (hal, gabonafélék, hús és tej) illetve víz fogyasztásával, továbbá a levegő belélegzésével (inhaláció) és kis mennyiségű talaj lenyelésével valósulhat meg. A különböző expozíciós útvonalakat ábrán mutatjuk be.

(A talaj lenyelésén keresztül illetve a bőrkontaktuson át megvalósuló expozícióval jelen útmutatóban nem foglalkozunk, mivel csak nagyon speciális talajszennyezési esetekben jelentenek fontos expozíciós útvonalat.). A közvetett expozíció becslése során a (felszíni) vizekben, a talajvízben, a talajban és a levegőben előrejelzett környezeti koncentrációk alapján meg kell becsülni a napi teljes felvételt.



1. ábra. A humán expozíció esetében figyelembe vett expozíciós útvonalak sémája

Az indirekt környezeti expozíció becslésének menete a következő:

- a koncentrációk meghatározása a felvételben releváns környezeti közegben (élelmiszer, víz, levegő és talaj);
- a felvétel mértékének meghatározása az egyes közegekből;
- a közegekben lévő koncentrációk és a felvétel kombinációja (és ha szükséges, az adott útvonalra jellemző biológiai hozzáférhetőségi faktor figyelembe vétele).

A használat, beszerzés, elterjedés korlátozott mértéke miatt az új anyagok esetében általában nem alakul ki olyan magas környezeti koncentráció, ami miatt a közvetett expozíciótól tartani kellene. Az új anyagok esetében az előre jelzett környezeti koncentrációk alapján történt napi teljes felvételszámítások azt mutatták, hogy azoknál az anyagoknál, ahol a piacra dobott mennyiség nem éri el az évi 1000 tonnát (tonnes per annum = t/év), a kialakuló környezeti koncentrációk általában nem okoznak egészségügyi veszélyeket.

Ha azonban egy anyag toxikus, vagyis nagyon veszélyes, akkor már 100 t/év forgalmazási szintnél is nagyobb a közvetett kitettségből eredő káros egészségügyi hatások kockázata. Egy anyag nagyon veszélyes:

- ha osztályba sorolása "Toxikus (mérgező)", "R48" a kockázati mondata; vagy
- ha osztályba sorolása alapján (bármely kategóriába tartozóan) karcinogén vagy mutagén ; vagy
- ha osztályba sorolása alapján reprodukcióra toxikus (1. és 2. kategória).

A közvetett expozíció becslésére, és ezen belül a teljes napi felvétel kiszámítására tehát új anyagok esetében rendszerint az 1000 t/év forgalmazási szint elérésekor vagy felette szokott sor kerülni. Ennél alacsonyabb forgalmazási szinteknél csak akkor kell expozícióbecslést végezni, ha az anyag toxikus tulajdonsága miatt - ahogy az feljebb ismertettük - nagyon veszélyes. Ha új anyag esetében kell a kockázatbecslést elvégezni, akkor ehhez az alábbiakban ismertetésre kerülő, a meglévő anyagokhoz megadott módszert kell használni.

A megadott számítási módszerek egyszerűek, rugalmasak és a környezeten keresztüli közvetett kitettségek előrejelzése területén a legmodernebb módszereknek számítanak. Elsősorban szűrési céllal használandók. A különböző expozíciós útvonalaknál jelentkező teljes napi felvétel kiszámításához a modellekbe input adatként be kell vinni az egyes környezeti elemekben jelenlévő koncentrációkat, amelyeket a 2. fejezetben (Környezeti kockázatbecslés) ismertetett módszerek felhasználásával adatokból, illetve modell számítások alapján kell meghatározni. Az, hogy egy anyag milyen koncentrációban van jelen egy élelmiszerben összefügg azzal, hogy milyen koncentrációban van jelen a vízben, a talajban és a levegőben, továbbá függ az anyag biológiai akkumulációjától, vagy biológiai transzfer tulajdonságaitól. A napi felvétel becslésére kidolgozott modellek lokális vagy regionális koncentrációk használatát is lehetővé teszik. A módszerekhez néhány input paraméterre is szükség van, és ha kell, akkor olyan speciális csoportok esetére is adaptálni lehet, ahol külön kell az expozícióbecsléseket elvégezni. Az input paraméterekhez tartozó standard előválasztott értékeket is megadjuk.

Az EU különböző tagországaiban az emberek tevékenysége, viselkedésmódja meglehetősen különböző. De az egyes országokon belül is nagy eltéréseket találhatunk ez egyének között. Így tehát, a megvédendő embercsoporton belül erősen változhat a közvetett kitettség mértéke. Nagyban befolyásolhatja a expozícióbecslés kimenetelét, hogy melyik expozíciós

forгатókönyvet választjuk. A választás természetesen mindig egyfajta kompromisszum, mivel különlegesen nehéz tudományosan megalapozott megoldáshoz jutni (ehhez részletes statisztikai adatokat kellene gyűjteni az emberek vásárlási és mozgási viselkedéséről, továbbá az összes lokális forrás eloszlásáról és erősségéről).

A közvetett kitettséget elsősorban a következő két térbeli skálán vizsgáljuk: lokálisan egy pontszerű forrás közelében, illetve regionálisan nagyobb területek kiátlagolt koncentrációit használva. A lokális vizsgálat során az összes élelmiszeripari terméket egy pontszerű forrás közeléből vesszük, a regionális vizsgálat során pedig az összes élelmiszeripari terméket a regionális modell környezetből vesszük. Meg kell jegyezni, hogy a lokális és regionális környezetek nem tényleges helyek vagy régiók, hanem a 2. fejezetben (Környezeti kockázatbecslés) megadott standardizált környezetek.

Világosan látni kell, hogy a lokális skála egy fajta legrosszabb esetet reprezentál. Az emberek által elfogyasztott élelmiszerek ugyanis nem származnak 100%-ban a pontszerű forrás közvetlen közeléből.

A lokális expozícióbecslés tehát olyan szituációt reprezentál, ami a valóságban nem létezik. Legtöbbször azonban a teljes expozíció túlnyomó része egy vagy két útvonalon valósul meg és lehet, hogy a lokális expozíció ezeken az útvonalakon nem irreális. A regionális expozícióbecslés ezzel szemben egy nagymértékben kiátlagolt expozíciós szituációt reprezentál, amely nem biztosíthatja azoknak az embereknek a védelmét, akik a pontszerű források közeléből szerzik be élelmiszereiket. A regionális expozícióbecslés a régió lakosságának átlagos potenciális expozíciójára utal. A fenti korlátok fényében már világos, hogy a jelen keretek között megkívánt általános jellegű közvetett expozícióbecslés csak arra alkalmas, hogy jelezze az esetleges problémákat. Az expozícióbecslést egyfajta segédeszköznek kell tekinteni a döntések meghozatalához, nem pedig az egyes helyeken illetve időkből ténylegesen jelentkező humán kitettség előrejelzésének.

Egy EU-szintű közvetett expozícióbecslésnél meg kell határozni a standard fogyasztási mintákat. Az EU tagállamaiban különbözőek az élelmiszerfogyasztási mértékek és jellegzetességek (minták), úgyhogy nem lehet kiválasztani sem egy átlagos sem pedig egy legrosszabb esetet képviselő EU tagországot. Ahhoz, hogy figyelembe vehessük az egyes országokban minden egyes élelmiszer esetében eltérő felvételi mértéket, a tagállamok legmagasabb országos átlag fogyasztását kell használni. Ez természetesen egy irreális, a legrosszabb esetet reprezentáló fogyasztói kosár kialakításához vezet. A gyakorlatban azonban a közvetett expozíció többnyire egy vagy két útvonal révén valósul meg. Elhanyagolható tehát az a tény, hogy az expozíciós forгатókönyvben más útvonalakon keresztül is megvalósulhat legrosszabb eseti felvétel. Ez teszi alkalmassá a scenáriót arra, hogy a lehetséges veszélyek jelzésére első közelítésként felhasználhassuk. Az expozícióbecslés eredménye összehasonlítható azzal, ha az egyes országokra külön végezzük el a vizsgálatot (átlagos felvételi adatokat használva), és minden ország esetében a legmagasabb expozíciós szintet vesszük.

Meg kell jegyezni azt is, hogy a bizonyos élelmiszereket extrém mértékben fogyasztó személyeket itt nem vesszük figyelembe. Az extrém esetek figyelembe vétele ugyanis súlyosabb, túlértékelt legrosszabb eseti lokális expozíciókat eredményezne, hiszen már a teljes fogyasztói kosár is 100%-ban a lokális standard környezetből jön.

Olyan esetben, ahol a regionális vizsgálatok aggodalomra ad okot, tovább kell finomítani az értékelést. Olyan esetekben viszont, ahol a lokális expozícióbecslés nem jelez potenciális kockázatokat, ott nincs alapja az aggodalomnak. Kevésbé egyértelmű a helyzet a szürke

zónában, azaz akkor, ha a regionális vizsgálat szerint nincs veszély, a lokális szerint viszont van. Meg kell jegyezni, hogy a közvetett expozícióbecslés alapján nincs meghatározott vizsgálati stratégia. Ehelyett csak a lokális expozícióbecslés eredménye utal veszélyekre, akkor további elemzésekre van szükség a főbb expozíciós útvonalakat illetően és meg kell bizonyosodni a lokális expozícióbecslések realitásáról. Mivel a becslés alapján meg lehet határozni a fontosabb útvonalakat, ez világosan megadja a kezdőpontot a további becslések finomításához.

A közvetett humán expozíciós forgatókönyvek jelenleg nem tudják figyelembe venni a halakon kívül más vízi organizmusok okozta expozíciót, mivel ma csak a halakra vonatkozóan van nemzetközileg elfogadott standard biológiai akkumulációs teszt, és a többi vízi szervezet esetében kevés a fogyasztásra utaló adat is.

Az alábbiakban általánosan ismertetjük a különböző legfontosabb útvonalakat és útmutatót adunk az adott útvonalon létrejövő közvetett expozícióbecslésekhez is.

Részletes magyarázat és a számítási módszerek leírása a VII. mellékletben található.

1. táblázat. *Közvetett expozíciós számításokhoz inputként használt környezeti koncentrációk*

Környezeti elem	Lokális expozícióbecslés	Regionális expozícióbecslés
Felszíni vizek	éves átlag koncentráció az STP (szennyvíz-tisztító telep)- effluens teljes összekeveredése után	steady-state koncentráció a felszíni vizekben
Levegő	éves átlag koncentráció a forrástól vagy az STP-től 100 m távolságban (maximum)	steady-state koncentráció a levegőben
Mezőgazdasági (művelt) terület talaja	180 napos átlag koncentráció 10 éves szennyvíziszap kijuttatás és levegőből történő kiülepedés után	steady-state koncentráció a termőtalajban
Pórusvíz	a termőtalaj pórusvizében jelenlévő koncentráció, a fenti definíció szerint	steady-state koncentráció a termőtalajban lévő pórusvízben
Talajvíz	a termőtalaj pórusvizében jelenlévő koncentráció, a fenti definíció szerint	steady-state koncentráció a termőtalajban lévő pórusvízben

Közvetett expozíciós forgatókönyv (szcenárió):

Lokális

A fogyasztói kosár teljes tartalma a táblázatban megadottak szerint a pontszerű forrás közeléből kerül ki. A fogyasztói kosár összetevői: hal, gumós növények, leveles növények, hús, tejtermékek, ivóvíz, belélegzett (inhalált) levegő. A standard vizsgálatokhoz minden egyes élelmiszeripari termékre a legmagasabb országos átlagot kell figyelembe venni.

Regionális

A fogyasztói kosár teljes tartalma a táblázatban megadottak szerint a régióból kerül ki. A fogyasztói kosár összetevői: hal, gumós növények, leveles növények, hús, tejtermékek, ivóvíz, belélegzett (inhalált) levegő. A standard vizsgálatokhoz minden egyes élelmiszeripari termékre a legmagasabb országos átlagot kell figyelembe venni.

2.4.2. A környezeti elemeken keresztüli expozíció

2.4.2.1. Az inhalációs expozíció

Ez az expozíciós útvonal nagymértékben hozzájárulhat az illékony anyagoknak való teljes kitettséghez. A felvétel vonatkozásában a környezeti közegben (a levegőben) jelenlévő koncentrációkat a 2. fejezetben leírt eloszlási modellekkel lehet kiszámítani.

Csak a kiválasztott felvételi scenáriónak vannak fontos következményei a belélegzési útvonalon megvalósuló expozícióra nézve. Ajánlott egy legrosszabb eseti, de átlátható scenáriót követni: a levegőben lévő koncentrációkból eredő folyamatos, krónikus humán expozícióbecslését (amit állandónak feltételezünk). Az inhalációs expozíciót a szájon keresztüli útvonalakon át megvalósuló expozícióval együtt foglaljuk majd össze.

2.4.2.2. Talajból eredő, szájon át és a bőrrel való érintkezés révén bekövetkező expozíció

Ezekről az expozíciós útvonalokról itt nem szólunk, mivel az ilyen útvonalakon keresztül fellépő kitettség nagyon kevésbé valószínű. Ezek az útvonalak csak erősen szennyezett talajok (pl. hulladéklerakóknál, vagy hátrahagyott szennyezés, baleset) esetében járulhatnak jelentősen hozzá a teljes expozícióhoz.

2.4.3. A vízfogyasztásból eredő expozíció

Az ivóvizet felszíni vizekből vagy talajvízből nyerjük. A talajvíz, a felszín alatti vizek szennyezését a talaj felszínén lévő szennyezések kioldódása okozhatja, a felszíni vizek pedig közvetlen vagy közvetett kibocsátások útján szennyeződhetnek. A szerves anyagok sorsának előre jelezhetőségét az ivóvízkezelés során Hrubec és Toet (1992) vizsgálta. Egyik következtetésük az volt, hogy a talajvízkezelés során általában nem cél a szerves szennyezők eltávolítása, a kezelés elhanyagolható. A felszíni vizek kezelésénél viszont a tisztítási hatékonyság előrejelzése meglehetősen pontatlan. Ez főleg a leghatékonyabb tisztítási technológiákkal (például az aktív szén-sűrűsítéses technológia) kapcsolatos bizonytalanságoknak köszönhető.

2.4.4. Az élelmiszerek fogyasztásából eredő expozíció

Az élelmiszerekben (itt: hal, gyökeres és gumós növények, leveles növények, hús és tejtermékek) jelenlévő koncentrációk becslésébe általában beletartozik a kezdeti vagy munkaközi screening értékelése során a biológiai koncentráció (BCF) vagy a biológiai transzfer együtthatók (BTF) kiszámítása is. Az együtthatókat úgy definiáljuk, mint a külső expozíció (koncentráció vagy dózis) osztva a szervezetekben jelenlévő belső koncentrációval. A konstans együtthatók használata azt jelenti, hogy ezek a faktorok egy steady-state állapotot írnak le, amelyben az expozíciós periódust elég hosszúnak feltételezzük a steady-state állapot kialakulásához.

Meg kell jegyezni, hogy a megbízható (és releváns) kísérletes biológiai koncentrációsi együtthatókat mindig előnyben kell részesíteni a becsült együtthatókkal szemben.

2.4.4.1. Biokoncentráció halakban

A szennyezett felszíni vizekben élő halak a kopoltyún keresztül, vagy a felvett tápanyagokkal nagy mennyiségben képesek felvenni a szennyezőket (különösen a lipofil anyagokat). A halakban lévő koncentráció nagyságrendekkel meghaladhatja a vízben jelenlévő koncentrációkat. A halakra vonatkozó biológiai koncentrációsi együttható úgy tűnik jól korrelál az oktanol-víz megoszlási hányadossal (K_{ow}), jelezve, hogy a lipidek vagy zsírok képezik a legfontosabb oldóközeget. A víz-hal biológiai koncentrációsi becslését a 3. fejezetben tárgyaljuk részletesebben.

2.4.4.2. A talajból és levegőből a növényekbe történő átjutási (biotranszfer) folyamatok

Az emberek és a szarvasmarhák táplálkozásában jelentős szerepet töltenek be a növények. A növények szennyezése tehát nagymértékben befolyásolja a humán expozíciót. Ha becslést próbálunk adni a növényi részekben lévő koncentrációkról, azonnal fontos koncepcionális problémákba ütközünk:

- a gabonák és egyéb élelmiszernövények heterogén csoportjába több száz különböző növényfaj tartozik, ezen kívül a fajtabeli különbségek is hozzájárulnak az egyébként is nagy különbségekhez;
- a növényeknek különböző részeit (pl. gyökér, gyökérgumó, gyümölcs, levelek) fogyasztjuk;
- a növények szennyezőanyagoknak való kitettsége különböző, számos növényt például üvegházakban termesztnek;
- a növényi expozíció létrejöhet a talajból történő felvétel, vagy a levegőből történő gázcsere, illetve a levegőből való kiülepedés útján.

A fentiek alapján világosan látszik, hogy modellezéssel csak nagyon durva becslést adhatunk a növényekben várható koncentrációkról. A növényi termékek várható különbözőségének figyelembe vétele érdekében javasoljuk a gumós és leveles növények megkülönböztetését. A növények expozíciójának vizsgálatakor mind a talajon keresztüli, mind pedig a levegőn keresztüli útvonalat figyelembe kell venni.

A talajból történő anyagfelvétel általában passzív folyamat, amelyet (a levelekben történő akkumuláció esetében) a növényi transpirációs áramlás, vagy (a gumók esetében) a fizikai szorpció okoz. A levelekbe gázcseré útján történő felvételt is passzív folyamatnak kell tekinteni, amelynek során a levél összetevői (levegő, víz, lipidek) egyensúlyba kerülnek a levegő koncentrációjával. A rekeszek (compartment) közötti steady-state megoszlás általános képletét Riederer (1990) adta meg. A levegő és a növény közötti megoszlás vizsgálatára a Kow (oktanol-víz megoszlási) és Kaw (levegő-víz megoszlási) hányadosokat használjuk. A talajból és a levegőből való felvétel hatására a levelekben és a gumókban kialakuló szennyezőanyag koncentráció megbecslésére Trapp & Matthies (1995) modelljét ajánljuk.

2.4.4.3. A húsba és tejbe történő átjutási (biotranszfer) folyamatok

Tudjuk, hogy a lipofil anyagok felhalmozódnak a húsban, majd innen átkerülhetnek a tejbe is. A szarvasmarhák expozíciója létrejöhet a fűvön (vagy más takarmányon) és ahhoz tapadó talajszemcséken keresztül, továbbá az ivóvízen és a légcseré útján is. A biológiai transzfer-együtthatót úgy is meghatározhatjuk, mint a húsban jelentkező steady-state koncentráció osztva a napi felvett anyagmennyiséggel. Travis & Arms (1988) a marhahús és a tehéntej biológiai transzfer együtthatóit log-lineáris regressziós technikával számos szennyezőanyagra (a tejnél 28, a marhahúsnál 36) kiszámították.

Habár az elméleti háttér meglehetősen korlátozott, a fenti együtthatók mégis jól használhatóak a kockázatbecslésben. Javasoljuk, hogy a levegőre és a növényekre ugyanazokat az expozícióbecslési eljárásokat használjuk, mint amiket a szarvasmarhákból eredő humán expozíció becslésére használtunk, és ugyanazt a talajkoncentrációt vegyük, mint a növényi transzlokáció számításához használtunk.

Meg kell jegyezni, hogy a különböző tejtermékek, pl. sajt vagy joghurt között nem teszünk különbséget. Az összes tejtermék esetében a tejben lévő koncentrációt használjuk.

2.4.5. Az emberekre kiszámított napi teljes felvett mennyiség

Ha kiszámoljuk a felvétel vonatkozásában a környezeti közegben lévő koncentrációt, és az adott közegekre jellemző napi felvétel mértékét, akkor azok összesítésével, megbecsülhetjük az emberek által naponta felvett teljes anyagmennyiséget. Ezt a 2.4.1 pont alatt részletezett közvetett expozíciós forgatókönyv részeként kell kidolgozni.

3. A vegyi anyagok hatásának vizsgálata

3.1. Bevezető

A vegyi anyagok hatásának vizsgálata a kockázatbecslési folyamat alábbi lépéseit foglalja magába:

- A veszélyek azonosítása: a veszélyek azonosításának az a célja, hogy azonosítsuk a veszélyes hatásokat, illetve (a meglévő anyagok esetében) áttekintsük az érvényben lévő osztályozást (beleértve az osztályba nem sorolást is) vagy, hogy (új anyagok esetében) elvégezzük az osztályba sorolást.

- Dózis (koncentráció) - válasz (hatás) összefüggés elemzés: célja a dózis vagy expozíciós szint és egy hatás gyakorisága vagy súlyossága közötti összefüggés becslése. Ebben a fejezetben erre a "dózis-válasz" kifejezést alkalmazzuk. Ennél a lépésnél kell szükség szerint meghatározni a megfigyelhető hatásokra vonatkozó NOAEL (az a szint, amelynél semmilyen káros hatás nem figyelhető meg), vagy ha ezt nem lehet, LOAEL (az a legalacsonyabb szint, ahol a káros hatások megfigyelhetők) értékeket. Szükség szerint a dózis-válasz görbe alakját is érdemes megvizsgálni.

Mindkét lépés során elsődlegesen fontos az adatok megfelelőségének és hiánytalanságának ellenőrzése. A megfelelőség ellenőrzésekor az adatok minőségét és relevanciáját kell megvizsgálni.

Az olyan hatások esetében, ahol nem lehet meghatározni NOAEL/LOAEL szinteket, általában elegendő annak a vizsgálata, hogy vajon az anyag rendelkezik-e azzal az inherens képességgel, hogy előidézzék a kérdéses hatást. Amennyiben egy ilyen hatás esetében ez lehetséges, meg kell határozni a dózis vagy koncentráció és a hatás súlyossága közötti összefüggést.

Humán adatok általában csak a meglévő anyagok esetében állnak rendelkezésre. Ha állatkísérletes és humán adatok is rendelkezésre állnak, akkor általános szabály, hogy a kockázatbecslés során a megfelelően bejelentett és releváns humán adatokat kell előnyben részesíteni, bármilyen céllal készült is az adatfelvétel. Mindazonáltal minden egyes esetben meg kell vizsgálni és figyelembe kell venni a humán vizsgálatok és az állatkísérletek érzékenységében jelentkező esetleges különbségeket. A veszélyek azonosításával kapcsolatban különösen az okozhat nehézséget, hogy a humán adatok érzékenysége relatíve alacsonyabb: humán vizsgálatokból származó negatív adatok alapján általában nem szokták felülbírálni a 93/21/EGK számú Irányelvben (a 67/548/EGK számú Irányelv VI. melléklete) meghatározott kritériumoknak megfelelő állatkísérletek szerint korábbi osztályba sorolást, hacsak a klasszifikáció nem egy olyan hatás alapján történt, amelynek előfordulása embereknél egyáltalán nem várható.

A 3.5-3.12 alfejezetek egy, az alábbiakban ismertetett általános struktúra szerint épülnek fel, kijelölve az eljárás logikus menetét adott hatás becslésére vonatkozóan.

- *A hatás definíciója*
- *Az útmutató célja az adott hatás tekintetében*
- *Az adatok elérhetősége aszerint levezetve, hogy milyen adatokat igényel a kockázatbecslést végző hatóság, illetve milyen adatok állnak ténylegesen rendelkezésre*
- *A rendelkezésre álló adatok értékelése az adott hatás tekintetében*
- *Útmutatás az adott hatás vizsgálatához*

A következőkben számos hatásra bemutatjuk azokat a vizsgálati stratégiákat, amelyek az új anyagokkal kapcsolatos szisztematikus és fokozatos információgyűjtéshez adnak útmutatást. Meglévő anyagok esetében ezeket a stratégiákat általában szakértői véleményekkel együtt kell felhasználni, és ezek alapján kell meghatározni, hogy szükség van-e további vizsgálatokra. A kiindulási pont az alapszintű műszaki dosszié. Ha azonban a kockázatbecslést végző hatóság úgy dönt, hogy további vizsgálatokra van szükség, akkor ezt követően az új anyagok esetében használt tonna küszöbértékhez tartozó vizsgálatokat érdemes megfontolás tárgyává tenni. A

vizsgálatok minimális mennyiségét a szükséges adatokkal összhangban kell meghatározni. Ennek során minden egyes vizsgálati célt figyelembe véve kell kialakítani egy egységes vizsgálati blokkot. A stratégiai alfejezetekben további útmutatást adunk az egyes stratégiák meglévő anyagoknál való alkalmazhatóságával kapcsolatban is. A kőolajszármazékok kockázatbecslése ezen anyagkeverékek sokfélesége és komplexitása miatt további problémákat is felvet. A VIII. mellékletben bemutatunk egy, a kőolajszármazékok kockázatbecsléséhez javasolt pragmatikus módszert.

3.2. Az adatok értékelése

Nagyon fontos az adatok megfelelőségének és hiánytalanságának ellenőrzése. Ez különösen a sokat tanulmányozott meglévő anyagok esetében nagyon fontos, mert ezeknél minden egyes hatással kapcsolatban számos vizsgálati eredmény állhat rendelkezésre, amelyek közül csak néhány, vagy esetleg egyik sem felel meg a jelenlegi vizsgálati előírásoknak. Ebben az alfejezetben az adatok értékelésének általános szempontjait ismertetjük. Az adatok "megfelelősége" ebben az esetben jelenti mind a megbízhatóságot, mind pedig a humán kockázatbecsléssel kapcsolatos relevanciát.

3.2.1. Az adatok hiánytalansága

Ha egy új anyag esetében a kereskedelmi forgalomba hozott mennyiség meghaladja az évi 1 tonnát, a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében megadott adatokkal (alapszintű műszaki dossziében szereplő adatokkal) egyenértékű adatokat kaphatunk. Meglévő anyagoknál a meglévő adatok mennyisége igen változó lehet és számos anyag esetében találhatunk az alapszintű műszaki dosszién túlmutató információkat is. A 793/93 számú Rendelet előírja, hogy a meglévő anyagoknál az alapszintű műszaki dossziében szereplő összes adatnak meg kell lennie. Ez azt a célt szolgálja, hogy a kockázatbecslési eljárás megkezdése előtt legalább az alapszintű műszaki dosszié adataival egyenértékű információkat biztosítsuk.

Az alapszintű műszaki dossziéval egyenértékű információkra való hivatkozással azt is jelezzük, hogy van lehetőség és igény az alapszintű műszaki dossziében nem szereplő információk áttanulmányozására is. E lehetőség és igény mértékének megállapítására szakértői véleményet kell kérni, és esetenként kell elbírálni.

3.2.2. Az adatok megfelelősége

Egy vizsgálati módszer megfelelőségét alapvetően két tényező határozza meg:

- a megbízhatóság, amelybe beletartozik a vizsgálati módszer saját megbízhatósága továbbá az a mód, ahogy a vizsgálat elvégzését és eredményeit közlik; és
- a relevancia, amely megadja, hogy az adott vizsgálat milyen mértékben felel meg egy adott veszély- vagy kockázatbecsléshez.

A kockázatbecsléseknél megbízható és releváns adatokkal kell dolgozni. Amennyiben az egyes hatások esetében több adatsor is rendelkezésre áll, a legnagyobb jelentőséget a legmegbízhatóbb és leginkább releváns adatoknak kell tulajdonítani.

A vizsgálati adatok megbízhatóságának értékelését az alábbiakban ismertetjük. A további részekben tárgyaljuk a humán, illetve in vitro adatok megbízhatóságát, az emberekre vonatkozó relevanciát, illetve a kvantitatív molekulaszervezet-aktivitási összefüggéseket.

3.2.2.1. A vizsgálati adatok megbízhatósága

Új anyagok esetében az V. mellékletben megadott módszereknek, illetve a GLP előírásainak megfelelően végzett vizsgálatok állnak majd rendelkezésre, ezért az alábbiakban ismertetésre kerülő problémák közül a legtöbbel nem találkozunk majd. A 793/93 számú Rendelet alapján elvégzett új vizsgálatoknak az V. mellékletben megadott vizsgálati módszerekkel is összhangban kell lenni, vagy amennyiben nincs megfelelő vizsgálati módszer, akkor a vizsgálatokat a nemzetközileg elfogadott vizsgálati irányelveknek illetve a GLP előírásainak megfelelően kell elvégezni.

Számos ismert anyag esetében a vizsgálatokat a GLP megfogalmazása, bevezetése vagy a vizsgálati módszerek standardizálása előtt végezték. Az ilyen adatokat még mindig fel lehet használni a kockázatbecsléshez, de mind az adatok, mind a metodológia tekintetében meg kell határozni, hogy azok a kockázatbecslés szempontjából mennyire megbízhatóak. Ennek megállapítása szakértői segítséget igényel, továbbá átláthatóvá kell tenni, így indokolva egy adott adatsor felhasználását. A rendelkezésre álló vizsgálati adatok értékelésekor a standardizált vizsgálati módszerek és a GLP előírásait kell referenciaként venni. Ez azt jelenti, hogy a jelenleg érvényes vizsgálati módszerekkel (pl. EC, OECD vagy EPA) elvégzett és megfelelően dokumentált vizsgálatokat kell a legmegbízhatóbbnak tekinteni a kockázatbecslés céljára.

A vizsgálati jelentések elbírálásakor a kockázatbecslést végző hatóságnak figyelembe kell venni, hogy:

- ◆ rendelkezésre áll-e a teljes vizsgálati jelentés, vagy hogy a vizsgálatokat megfelelő részletességgel ismertették-e és a leírt vizsgálati eljárás megfelel-e az általánosan elfogadott tudományos-szakmai elvárásoknak. Az ilyen vizsgálati jelentésekben lévő információkat megbízhatónak kell tekinteni és fel kell használni a kockázatbecsléshez;
- ◆ az adatok megbízhatóságát nem lehet teljes biztonsággal meghatározni vagy, hogy a megadott vizsgálati módszer egyes pontokon eltér a vizsgálati irányelvekben megfogalmazottaktól és/vagy az általánosan elfogadott tudományos-szakmai elvárásoktól. Ilyen esetben a kockázatbecslést végző hatóságnak kell eldöntenie, hogy figyelembe veszi-e az adatokat a kockázatbecslés során, valamint, hogy milyen módon használja fel őket (pl. mint megerősítő információkat, amennyiben sikerült már egy megbízható vizsgálatot találni) vagy érvénytelennek kell őket tekinteni;
- ◆ többek között az alábbi tényezőket lehet felhasználni annak alátámasztására, hogy valamely adatok elfogadhatók és felhasználhatók-e a kockázatbecslés során:
 - az anyaggal kapcsolatban vannak egyéb vizsgálatok vagy számítások is, és ezek eredményei jól egyeznek a kérdéses adatokkal,
 - vannak egyéb, például hasonló molekulaszervezet-aktivitás profilt mutató izomereken, vagy homológokon, prekursorokon, bomlástermékeken vagy egyéb szerkezetileg analóg anyagokon végzett vizsgálatok, és ezek eredményei jól egyeznek a kérdéses adatokkal,
 - a kockázat jellemzés eredményéről hozandó döntéshez egy közelítő érték is elégséges;

- ◆ amennyiben olyan lényeges megerősítő adatokat nem közölnek mint pl. vizsgált fajok, az anyag azonosítása, az adagolás módja, akkor a vizsgálati adatokat a kockázatbecslés szempontjából nem megbízhatónak kell tekinteni.

Elvben ugyanezek a kritériumok vonatkoznak az irodalomban már megjelentetett adatokra. A vizsgált körülményekről közreadott információ mennyisége szolgáltatja az alapot a közölt adatok megbízhatóságának elbírálására. Általában elmondható, hogy az olyan folyóiratokat kell előnyben részesíteni, ahol a cikkeket lektori vélemény alapján jelentetik meg. Jó minőségű összefoglaló cikkeket is fel lehet használni, sőt rövid áttekintők és kivonatok is megfelelhetnek, mint megerősítő adatok.

Az adatértékelés általános alapelveit az IPCS (International Programme on Chemical Safety) a Publikálás Kritériumainak Nemzetközi Koordinációs konferenciáján fektették le (a konferencia eredményeiről készült összefoglaló a jelentés V. mellékletében található (IPCS, 1993), továbbá a munkahelyi expozícióval kapcsolatban is megfogalmazták (EGK, 1992a).

3.2.2.2. Humán adatok

A humán adatok értékelésekor általában alaposabb értékelést kell végezni az adatok megbízhatóságával kapcsolatosan, mint állatkísérletek esetében (WHO, 1993). Negatív eredménnyel zárult epidemiológiai vizsgálatokkal nem lehet igazolni az anyag veszélytelenségét, de a megfelelően dokumentált és megfelelő minőségű "negatív" vizsgálatok eredményei hasznosak lehetnek a kockázatbecslés szempontjából. Humán adatok esetében négy főbb típusról lehet szó: (1) a kitett populáció analitikus epidemiológiai vizsgálata, (2) leíró vagy korrelációs epidemiológiai vizsgálatok, (3) önkénteseken végzett kontrollált kísérletek és (4) esettanulmányok.

Az analitikus epidemiológiai vizsgálatokat (1) arra lehet felhasználni, hogy meghatározzuk a humán expozíció és valamely hatás, pl. biológiai hatásjelzők, krónikus hatások korai jelei, egy betegség előfordulási gyakorisága vagy halálozási arány közötti összefüggést, és ezek szolgáltatják a legjobb adatokat a kockázatbecsléshez. Az ilyen vizsgálatok három fő típusa:

- eset-kontroll vizsgálatok, amelyek során azonosítanak egy olyan csoportot, akiknél egy adott hatás jelentkezik (eset), illetve a másik csoportban nem jelentkezik (kontroll), és az expozícióban meglévő különbségek szempontjából hasonlítják össze őket;
- "cohors"-vizsgálatok, amelynek során azonosítanak egy "exponált" és egy "nem exponált" csoportot, majd vizsgálják, hogy egy hatás előfordulási gyakoriságában jelentkezik-e különbség;
- keresztmetszeti vizsgálatok, amelyeknél egy adott populációt/népességi kört (pl. dolgozók) vizsgálnak és adott időpontban értékelik egy betegség előfordulását a vele egy időben jelentkező kitettség függvényében.

Az epidemiológiai bizonyítékok ereje egy adott egészségügyi hatás tekintetében többek között a vizsgálatok típusától, továbbá a válasz nagyságától és specifikusságától függ. Az eredmények megbízhatóságát jelentősen növeli, ha azonos ágensnek kitett humán populációkon különböző körülmények között és különböző módszerekkel végzett több egymástól független vizsgálat is hasonló eredményeket produkál.

Az epidemiológiai vizsgálatok megfelelőségének elbírálásakor a következő kritériumokat kell figyelembe venni: az exponált és a kontroll-csoportok megfelelő kiválasztása és jellemzése, az expozíció megfelelő jellemzése, a betegség előfordulási gyakoriságának megfelelően hosszú ideig történő nyomon követése, a hatás megfelelő alátámasztása, a torzítást okozó és zavaró tényezők megfelelő figyelembe vétele, továbbá elégséges statisztikai megbízhatósági szint egy hatás detektálására.

A leíró epidemiológiai vizsgálatok (2) egy adott betegség előfordulási gyakoriságának különbségeit vizsgálják kor, nem, rassz, illetve időbeli vagy környezeti feltételek alapján különböző humán populációk/népességi körök között. Ezek a vizsgálatok arra jók, hogy meghatározzák a további kutatásra szoruló területeket, de a kockázatbecslés szempontjából nem igazán hasznosak. Az ilyen vizsgálatokkal tipikusan csak a betegségek előfordulásának időbeli, vagy földrajzi mintázatait vagy trendjeit lehet meghatározni, de az okozati tényező vagy a humán expozíció mértéke nem állapítható meg belőlük.

Ha rendelkezésre állnak, az önkéntesekkel végzett megfelelően kontrollált humán expozíciós vizsgálatok (3), illetve ezen belül az alacsony expozíciós toxikokinetikai vizsgálatokat is fel lehet használni a kockázatbecsléshez. Az ilyen vizsgálatok különösen az akut hatásokhoz társuló expozíciós szintek meghatározásához nyújthatnak segítséget. Idetartoznak például a bőrpróbás irritációs tesztek is. A szándékosan előidézett humán expozícióval kapcsolatos gyakorlati és etikai megfontolások miatt azonban igen kevés az embereken végzett kísérletes toxikológiai megfigyelés.

A jól tervezett vizsgálat kritériumai a következők: a kettős-vak vizsgálat (double blind study), egy megfelelő kontrollcsoport alkalmazása, illetve a hatás detektálásához elegendő nagyságú mintaszám. A humán kísérletes vizsgálatok sikerét gyakran korlátozza a viszonylag alacsony mintaszám, a rövid expozíciós időtartam, illetve az alacsony dózisszint, amely a hatás kimutatását nehezíti.

Hangsúlyozni kell, hogy az önkénteseken végzett kísérletek nem támogatandók, ha azonban korábban végeztek ilyen vizsgálatokat és ezek jó minőségű adatokat szolgáltatnak, akkor ezeket megfelelőnek kell tekinteni és fel kell őket használni.

Az esettanulmányok (4) egy adott hatást írnak le, amely egy az anyagnak kitett egyénnél vagy csoportnál jelentkezett. Az ilyen vizsgálatoknak különösen nagy lehet a relevanciája, ha állatkísérletekben nem detektálható hatásokat igazolnak.

3.2.2.3. In vitro adatok

Meglévő anyagok esetében várhatóan számos adatot in vitro kísérletekből kapunk - például a genotoxicitási alapkísérletek (vagy esetleg a további kísérletek is) is in vitro vizsgálatok. Például a vegyi anyag anyagcseréjével és/vagy hatásmechanizmusával (ideértve a különböző fajokból származó sejt kultúrákon végzett vizsgálatokat is); dermális felvételével (amelyet ugyancsak lehet több fajon is vizsgálni) és a toxicitás különböző aspektusaival (pl. citotoxicitási tesztek különböző sejt típusokon; makromolekula kötési vizsgálatok, embriókból vett sejttenyészeteken végzett vizsgálatok; spermium mobilitási tesztek) kapcsolatos adatok is származhatnak in vitro vizsgálatokból. Az ilyen típusú vizsgálatok használhatóságát az határozza meg, hogy milyen mértékben felelnek meg a már említett kritériumoknak, azaz pl. mennyire jól dokumentált a vizsgálat, mennyire jól jellemzett a vizsgált anyag, továbbá hogy a kérdéses cél szempontjából mennyire elégíti ki a vizsgálat az V. mellékletben megadott adatokra vonatkozó követelményeket.

Vannak azonban olyan kritériumok is, amelyeknek nagy figyelmet kell szentelni in vitro vizsgálatok megfelelőségének értékelésekor. Ilyenek pl.

- a vizsgálatban használt expozíciós szintek, figyelembe véve az anyag valamely baktériummal/sejttel szembeni toxikusságát, oldhatóságát és szükség szerint a táptalaj pH-jának és ozmolaritásának hatását;
- ha az anyag illékony, megtették-e a megfelelő lépéseket a hatásos koncentráció fenntartására a vizsgálati rendszerben;
- hogy szükség szerint használtak-e megfelelő exogén metabolizáló keverékeket (pl. S9 indukált patkánymájából vagy hörcsögmájából)
- hogy a vizsgálatok során használtak-e megfelelő pozitív és negatív kontrollokat;
- használtak-e kellő mennyiségű párhuzamost (a vizsgálaton belül illetve a vizsgálattal).

3.2.2.4. Az adatok relevanciája

A rendelkezésre álló adatok relevanciájának meghatározásához el kell dönteni többek között azt is, hogy megfelelő fajt vizsgáltak-e, hogy az expozíciós kapu releváns-e a kérdéses humán populáció illetve expozíciós forgatókönyv/helyzet szempontjából, továbbá hogy az az anyag, amelyet vizsgáltak releváns-e a forgalomba hozott anyag tekintetében. Ez utóbbi megítéléséhez elengedhetetlen az anyag megfelelő azonosítása, illetve az anyagban lévő jelentősebb szennyezések ismertetése.

Természetesen előfordulhat, hogy a legjobb rendelkezésre álló adatok megfelelő minőségű és releváns humán adatok, de a gyakoribb eset az, hogy a rendelkezésre álló humán és állatkísérletes adatokat, illetve egyéb adatokat együtt vesznek figyelembe annak érdekében, hogy az állatokon megfigyelt hatások humán relevanciáját meg lehessen ítélni.

Segítik az állatkísérletes adatok humán relevanciájának megítélését a humán vizsgálatokban, illetve a toxicitási vizsgálatokban használt állatfajoknál kapott toxikokinetikai - ezen belül az anyagcserével kapcsolatos - adatok is még akkor is, ha ilyen adatok csak viszonylag korlátozott számban állnak rendelkezésre. Ha tiszta és jól dokumentált bizonyítékokkal rendelkezünk valamilyen fajspecifikus hatásra/válaszra, akkor ezt felhasználhatjuk annak indoklására, hogy a kitettség miatt embereknél egy bizonyos hatás előfordulása nem várható.

Ilyen (magával az anyaggal, -vagy ha ez tudományosan megalapozott-, akkor egy szerkezetileg analóg anyaggal kapcsolatos) információ hiányában normális esetben azt kell feltételezni, hogy egy bizonyos expozíciós szint felett az állatkísérleteknél megfigyelt "küszöb" káros hatások nagy valószínűséggel embereknél is jelentkezhetnek.

Az állatkísérletekben megfigyelt dózis-válasz összefüggéseket (vagy a hatás súlyosságát, amennyiben csak egy dózist vizsgáltak) a kockázatbecslés keretében ugyancsak feltétlenül értékelni kell. Az értékelés eredményét azután a kockázatok jellemzésénél kell figyelembe venni, amikor azt kell megítélni, hogy egy adott expozíciós szintnél milyen valószínűséggel fordul elő egy bizonyos káros hatás humán vonatkozásban.

Az in vitro vizsgálatokból származó adatok relevanciájának értékelésekor figyelembe kell venni azt is, hogy a kapott eredményeket megfigyelték-e már, vagy (pl. az anyag

toxikokinetikájával kapcsolatos ismeretek alapján) várható-e előfordulásuk in vivo is. Az in vitro vizsgálatok eredményei általában kiegészítő információkat adnak, amelyek például elősegíthetik az állatkísérletekből származó adatok humán relevanciájának értékelését, vagy az anyag hatásmechanizmusának megismerését.

Habár az in vitro adatok önmagukban ritkán mutatnak közvetlen humán relevanciát, a nagyon elektrofil és in vitro genotoxicitási vizsgálatokban pozitív eredményeket adó anyagok a kontaktus elsődleges helyén (pl. a bőrön vagy a légutakban) várhatóan embernél is mutagén hatásúak lehetnek. Az in vitro genotoxicitási vizsgálatok értékelésének speciális esetét a 3.10 pont alatt tárgyaljuk.

3.2.2.5. Molekulaszerkezet – aktivitás közötti (kvantitatív) összefüggések ((Q)SAR)

Ha egy adott végpontra nincsenek adatok, vagy ha a rendelkezésre álló adatok nagyon korlátozottak, megfontolás tárgyává kell tenni a molekulaszerkezet-aktivitás közötti összefüggések (SAR) használatát. Meg kell jegyezni, hogy az SAR technikák és módszerek, illetve különösen a kvantitatív molekulaszerkezet-aktivitási összefüggések (QSAR) még nem túl kidolgozottak az emlős toxikológiában. A kockázatbecslési célokra használt SAR-ok inkább egyfajta "szakértői vélemény"-nek tekintendők.

Az SAR leginkább a potenciális veszélyek vagy a toxikokinetikai paraméterek, illetve a további vizsgálatok iránti igény jelzésére alkalmasak. További részletek a 3. fejezetben (A (Q)SAR használata) találhatóak.

A kockázatbecslés szempontjából fontos (Q)SAR módszerek fizikai-kémiai paraméterek használatát igénylik (ld. 3. fejezet).

3.3. Expozíciós kapuk és az expozíció időtartama

3.3.1. Bevezető

A veszélyek azonosításával kapcsolatos adatok értékelésekor figyelembe kell venni a rendeltetésszerű használat (és szükség szerint az előrelátható nem rendeltetésszerű használatok) során kialakuló humán expozíció kapuját, időtartamát és gyakoriságát: az olyan veszélyek, amelyeket nem lehet kifejezni az egyik expozíciós forráskönyv keretein belül, egy másiknál láthatóvá válhatnak.

Ha az adatok közül hiányoznak a humán expozíció megfelelő kapui, megfontolás tárgyává kell tenni a kapuk közötti extrapoláció lehetőségét is, habár a kapuk közötti extrapolációt általában a megfelelő expozíciós kapu alkalmazásával kapott toxicitási adatok hiánya esetén használandó meglehetősen gyenge módszernek tartják. A kapuk közötti extrapoláció módszerét a következő részben ismertetjük.

Ehhez hasonlóan az is előfordulhat, hogy az adatok viszonylag rövid időtartamú vizsgálatokból származnak, így nem veszik figyelembe a hosszabb távú humán expozíció hatásait. Az alábbiakban röviden tárgyaljuk ezt a problémát is, részletesebb ismertetés pedig az ismételt dózisz toxicitásról szóló 3.9 Fejezetben található, ahol a szubakut, szubkrónikus és krónikus toxicitás vizsgálati stratégiáit is tárgyaljuk.

3.3.2. Expozíciós kapuk

A toxicitási vizsgálatokhoz használandó expozíciós kapuk megválasztásának stratégiáját a IX. mellékletben ismertetjük.

3.3.3. Expozíciós kapuk közötti extrapoláció

Szisztémás hatású anyagok esetében az expozíciós kapuk közötti extrapoláció lehetősége igen korlátozott. A legfőbb akadályt a különböző expozíciós kapukra jellemző különböző felvételi arány és sebesség, továbbá a biológiai átalakulás különbözősége, különösen az elsődleges anyagcsere esetében (ld. még a 3.5 pontot). A - például a légutakban vagy a tápcsatornában - lokális hatásokat előidéző anyagok esetében az expozíciós kapuk közötti extrapoláció gyakran vezet téves következtetésekhez mind a hatásos dózis mind esetleg a hatás jellege tekintetében. Vannak azonban olyan pragmatikus módszerek is, amelyeknél extrapoláció segítségével közelítő NOAEL-t (vagy LOAEL-t) lehet számolni. Ezeket azután az expozíció ellenőrzésének és megerősítésének esetleges szükségessége vagy egy adott expozíciós kapuval kapcsolatos további adatok iránti igény elbírálásának elősegítésére lehet felhasználni, ha specifikus adatok nem állnak rendelkezésre. A következő részben ismertetésre kerülő módszereket az orális toxicitási adatok extrapolálására lehet felhasználni, mivel ezt a kaput alkalmazzák a legtöbb, állatokon végzett ismételt dózisu toxicitási vizsgálatban (pl. US EPA, 1989; Pepelko & Withey, 1985; Pepelko, 1987; Sharratt, 1988; Vermiere et al., 1993; ECETOC, 1994).

3.3.3.1. Az orális NOAEL-ből származtatott közelítő dermális NOAEL

Hacsak nincsenek ennek ellentmondó adatok (pl. az orális LD₅₀ jóval magasabb, mint a dermális LD₅₀), feltételezzük, hogy az ismételt dózisu toxicitási vizsgálatokra vonatkozó NOAEL mg.kg⁻¹.nap⁻¹ alapon mindkét kapu esetében megegyezik. A dermális felvétel valószínűleg szinte mindig alacsonyabb, vagy nem nagyobb, mint a szájon át történő felvétel és általában a dermális felszívódás is lassabb, mint a tápcsatornából történő felszívódás (különösen gyomorszondán keresztüli kezelés után). Az extrapolációval tehát inkább a túlzott óvatosság irányába tévedhetünk. Ha meghatározzák a dermális felvétel sebességét is, akkor ezzel tovább lehet pontosítani a kapott NOAEL értéket.

3.3.3.2. Az orális NOAEL-ből származtatott közelítő inhalációs NOAEL

Az egyik leggyakrabban felmerülő probléma az expozíciós kapuk közötti extrapolációnál a humán inhalációs expozícióval kapcsolatos, ahol az inhalációs toxicitási adatok hiányoznak. Az erősen illékony illetve a belélegezhető (pl. amelyeknél a legtöbb részecske mérete <5µm) anyagok esetében az LC₅₀-et és az orális LD₅₀-et általában kísérletes vizsgálatokban meghatározzák meg. Az inhalációval felvett dózis az inhalációs koncentrációból a tüdőn keresztüli felvételi százalék becslésével (általában 75-100 %) és a légzési ráta, illetve a testsúly figyelembe vételével számítható ki. Amennyiben az inhalációs felvételi ráta ismert, akkor azt kell alkalmazni. A számított LD₅₀ és a mért orális LD₅₀ arányának felhasználásával az orális NOAEL-ből becsülhető az inhalációs NOAEL értéke.

Ha az LC₅₀ érték hiányzik, akkor alternatív megoldásként az orális ismételt NOAEL értékét a fenti fiziológiai paraméterek alkalmazásával át lehet számítani egy közelítő inhalációs

NOAEL-lé. Ezeket a módszereket csak a testbe való felvételi helytől eltérő helyen szisztémás toxicitást okozó anyagok esetében lehet használni. Közvetlenül és a kontaktus anatómiai helyén lokálisan ható anyagokra (pl. olyan anyagok, amelyek a tüdőt irritálják) nem alkalmazhatók.

3.3.4. Az expozíció időtartama

A kitett népességi kör és a toxikológiai adatok forrásaként felhasznált tanulmány között a kitettség időtartamában jelentkező különbségeket részben akkor lehet figyelembe venni, amikor a kitettség-NOAEL arány (adott szituációban való) elfogadhatóságáról döntünk: általában fel lehet tenni, hogy a toxicitási vizsgálat időtartamának növekedésével csökken a NOAEL értéke. Emellett azt a lehetőséget is figyelembe kell venni, hogy egy hosszabb ideig tartó vizsgálatban olyan célszöveteket, célszerveket vagy célszervrendszereket is találhatnak, amelyek egy rövidebb vizsgálatban nem bizonyultak érintettnek. Releváns toxikokinetikai adatok (pl. szövetek közötti eloszlási vizsgálatok a vizsgált expozíciós kapu alkalmazásával) segítségével kell megállapítani, hogy szükség van-e további vizsgálatokra. (Vermiere et al., 1993; ECETOC, 1994).

3.4. Dózis-válasz összefüggés elemzése

Általánosan elfogadott tény, hogy számos káros egészségi hatás mindaddig nem jelentkezik, amíg az anyag vagy egy abból keletkező aktív anyagcsere termék koncentrációja a vizsgált szervben el nem ér egy küszöbértéket. Hogy az anyag koncentrációja eléri-e ezt a küszöbértéket az attól függ, hogy a szervezet (az ember, vagy a testállat) milyen mértékben volt kitéve az adott anyagnak: egy adott expozíciós kapuhoz tartozik egy expozíciós küszöbszint, amit az anyagnak el kell érni ahhoz, hogy a hatásokat elő tudja idézni. Az expozíciós küszöbdózis vagy küszöbkonzentráció a különböző expozíciós kapukon, illetve a különböző fajok esetében a toxikokinetikai, illetve esetlegesen hatásmechanizmusbeli különbségek miatt nagyban eltérő lehet. Egy toxicitási vizsgálatban a megfigyelt küszöb dózist vagy expozíciós szintet a vizsgálati módszer/rendszer érzékenysége is befolyásolja. Ez legtöbbször egyszerűen az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatban alkalmazott egyik dózis vagy koncentráció, amelyet az alábbiakban leírtak szerint határoznak meg.

Hacsak nem sikerül egyértelműen igazolni egy küszöb hatásmechanizmus létezését, általában ésszerű az a feltételezés, hogy a mutagenitással, a genotoxicitással és a genotoxikus karcinogenitással kapcsolatban nem lehet küszöbértékeket meghatározni, bár kísérletes körülmények között esetleg kimutatható valamilyen dózis-válasz összefüggés.

Egy adott tesztben (új anyagok esetében az V. mellékletben leírt teszt) meghatározott NOAEL egyszerűen az a legmagasabb dózis vagy koncentráció, amelynek adásakor a teszt során semmilyen káros hatást nem lehetett megfigyelni, tehát egy korlátozott érvényű vizsgálatban kapott operatív érték. Ha a vizsgálatban például 200, 50, 10 és 5 mg.kg⁻¹.nap⁻¹ dózisokat használtak és a káros hatások 200 és 50 mg.kg⁻¹.nap⁻¹-nál felléptek, de 10 és 5 mg.kg⁻¹.nap⁻¹-nál nem jelentkeztek, akkor a NOAEL értékét 10 mg.kg⁻¹.nap⁻¹-ban állapítják meg.

Ha több vizsgálatot elvégeztek ugyanazon hatás értékelésére, és ezek különböző NOAEL értékeket határoztak meg, akkor a kockázatok jellemzéséhez általában a legalacsonyabb

értéket kell alkalmazni. Ha egy ismételt dózisú vizsgálatból nem határozható meg NOAEL, akkor a LOAEL (lowest observed adverse effect level = az a legalacsonyabb szint, ahol a káros hatások megfigyelhetők) értéket kell felhasználni a kockázatok jellemzéséhez.

Ha a későbbiekben egy újabb vizsgálatban közölnek NOAEL értéket, akkor a kockázatok jellemzését az új adatok fényében szükség szerint felül kell vizsgálni.

Egy adott vizsgálat érzékenysége (amelyet befolyásol a toxikológiai célkitűzés, az anyag toxikussága, az expozíció időtartama és gyakorisága, a fajon belüli variabilitás, a dóziscsoportok száma, illetve a dóziscsoportok nagysága) korlátozhatja annak lehetőségét, hogy megbízható NOAEL értékeket kapjunk egy-egy teszt alapján. Ilyen esetekben, amikor nem lehet meghatározni a NOAEL értéket, legalább a LOAEL értéket meg kell állapítani.

Ha sikerül felvenni egy megbízható dózis-válasz görbét, akkor meg kell vizsgálni a görbe meredekségét is. Meredekebb görbe esetén a kapott NOAEL-t megbízhatóbbnak kell tekinteni (minél nagyobb a meredekség, annál jobban csökken a válasz egy csökkentett dózis adásakor); ha azonban a görbe lapos, akkor nagyobb lesz a kapott NOAEL bizonytalansága, amit a kockázatok jellemzésekor figyelembe kell venni. Ha a kockázatok jellemzése során LOAEL-t kell alkalmazni, akkor ez az érték csak egy nagyon meredek görbe esetében tekinthető megbízhatónak.

Számos alternatív módszert dolgoztak ki annak érdekében, hogy a NOAEL minél inkább függetlenné váljon a kísérleti körülményektől. Ilyen módszerek pl. az ún. benchmark-dózis megállapítás, illetve a kategorikus regresszió. Az ún. benchmark-dózis (Crump, 1984; Gaylor, 1988) adott dózis statisztikailag megállapított konfidencia-intervallumának az alsó határa, amely megfelel egy kis hatásnövekménynek a háttér szintje felett (tipikusan 1-10%). Az ún. benchmark-dózis becsléséhez sokféle görbeillesztő modell használható. A kategorikus regressziónál (Hertzberg, 1989) a toxikológiai válaszokat rendszerezett, egyre nagyobb hatásoknak megfelelő kategóriákba (pl. nincs hatás, nem káros hatás, enyhe-közepes hatás, súlyos vagy letális hatás) ültetik át. A modell eredményeként egy becslést kapunk arra, hogy adott dózis és időtartam mellett milyen valószínűséggel fordul elő az adott kategóriánál rosszabb hatás. Európában még nincs túl sok tapasztalatunk az ilyen modellekkel és a hatósági gyakorlatban is csak nagyon ritkán kerültek alkalmazásra eddig. Meg kell jegyezni azt is, hogy ezek a modellek több adatot igényelnek, mint amennyi általában rendelkezésre áll.

NOAEL értékeket általában szubakut, szubkrónikus, krónikus és reprodukciós toxicitási vizsgálatokban megfigyelt hatások alapján szoktak megállapítani. Az akut toxicitási, az irritációs és a bőrszenzibilizációs tesztekben az ilyen hatások értékelésére alkalmazott vizsgálatok felépítése miatt nagyon ritkán lehet meghatározni a NOAEL-t, különösen az V. mellékletben megadott tesztek alapján.

Az akut toxicitás esetében a kockázat jellemzésekor vizsgált anyagokat LD₅₀ vagy LC₅₀ értékük (vagy a fix dózisú módszer alkalmazása esetén a diszkriminatív dózis, vagy pedig az Akut Toxicitási Osztály Módszer eredménye) alapján sorolták osztályba. Ezek az értékek az anyag relatív letális hatására utalnak, az esetleges dózis-válasz görbék meredekségei pedig azt jelzik, hogy a kitérés csökkentésével milyen mértékben csökkenthető a pusztulás: minél meredekebb a görbe, annál jobban csökkenthető a letalitás az expozíció egységnyi

csökkentésével. Általában nem lehet jelentőséggel rendelkező NOAEL-értéket kapni akut toxicitási tesztekben.

A bőrirritáció, szemirritáció és légúti irritáció esetében várhatóan léteznek koncentrációküszöbök, amelyek alatt a hatás nem jelentkezik. Az V. mellékletben ismertetett bőr- és szemirritációs vizsgálatok esetében azonban csak egyetlen hígítatlan mennyiséget használnak (a szilárd anyagokat a szemirritációs vizsgálathoz meg kell nedvesíteni), így az V. mellékletben felsorolt tesztek eredményei alapján nem lehet NOAEL vagy LOAEL értékeket számítani. A légúti irritáció esetében az V. melléklet nem ad meg vizsgálati módszert: amennyiben az anyagot humán tapasztalat alapján légúti irritációt okozó anyagként osztályozzák, a mért vagy becsült expozíciós szintekből NOAEL értéket is lehet számítani.

A szokásos bőrszenzibilizációs tesztnél az indukciós fázisban egyetlen (maximális) koncentrációt használnak. Légúti szenzibilizációra az V. melléklet nem ad vizsgálati módszert, ezért nem lehet meghatározni NOAEL vagy LOAEL értékeket. Ha korábban készült bőrszenzibilizációs állatkísérletekben vannak dózis-válasz adatok, akkor ezek a kockázatok ez irányú jellemzésekor hasznosak lehetnek. Jelenleg nincs konszenzus azzal kapcsolatban, hogy meg lehet-e határozni a szenzitizáló anyag egy olyan túlérzékenységet kiváltó dózisát vagy koncentrációját, amely alatt a már szenzitizált populációban a káros hatások jelentkezése igen valószínűtlen.

3.5. Toxikokinetika

3.5.1. Bevezető

A toxikokinetikai (és ezen belül a toxikodinamikai) adatoknak nagy jelentősége van a kockázatbecslés során. Felhasználhatók például expozíciós kapuk közötti, vagy fajok közötti extrapolációkhoz, ilyen módon hozzájárulhatnak a további vizsgálatok szükségességének elbírálásához, valamint az anyag hatásmechanizmusának megismeréséhez is. A toxikokinetikai vizsgálatok szerepével kapcsolatban további részletek az ECETOC-ban (1992) találhatóak.

3.5.1.1. A toxikokinetika definíciója

A toxikokinetika, amelybe beletartozik a toxikodinamika is, az expozíciót követő felvétel, eloszlás, anyagcsere és elimináció, továbbá ezen folyamatok kinetikájának leírására használt, széles körben elterjedt fogalom.

3.5.1.2. Az anyagok toxikokinetikai vizsgálatának célja

Az anyagok toxikokinetikai vizsgálatának célja fajokra, nemekre, expozíciós kapukra és időtartamokra, továbbá dózisokra vagy koncentrációkra vonatkozóan meghatározni:

- a felvétel sebességét és mértékét;
- az anyag testen belüli eloszlásának jellegét és mértékét;
- az anyagcsere sebességét és mértékét, illetve ahol lehet, az anyagcsere útvonalakat és a anyagcsere termékeket;

- a kiválasztással, a kilélegzett levegőn és szükség szerint egyéb utakon (pl. tej, epe, izzadság) történő elimináció (eltávolítás) sebességét és mértékét;
- az anyag biológiai akkumulációs potenciálját;
- a kockázatbecslés alátámasztására a hatásmechanizmust (pl. közvetlen vagy közvetett karcinogenezis, kűszöbhatások).

3.5.1.3. A toxikokinetikai vizsgálatokból nyerhető információk

A 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében ismertetésre kerültek egyes in vivo toxikokinetikai vizsgálati módszerek. A vizsgálatokhoz szükséges megfigyelések adják majd meg a fenti pontban felsorolt adatokat.

3.5.2. A kockázatbecslés során felhasználandó adatok

3.5.2.1. Alapszintű adatigény

A 793/93 számú Rendelet 9(2) cikkelyében megadott alapszintű adatigény szerint a meglévő anyagok esetében biztosítani kell a toxikokinetikai információkat, ahogy az a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében szerepel. A VII. A melléklet előírja, hogy az anyag toxikokinetikai viselkedésével kapcsolatos vizsgálatot olyan mértékben kell elvégezni, amennyire azt az alapszintű műszaki dosszié, illetve az egyéb releváns adatok (azaz az anyag halmazállapota, illetve a rendelkezésre álló fizikai-kémiai és toxikológiai adatok) lehetővé teszik.

Új anyagok esetében a fenti információkra az 1 tonnás forgalmazási szint felett van szükség. A további információk, úgy mint "toxikokinetikai alapadatok" az 1. szintű forgalmazási tonna-kűszöbértéknél, illetve a "biológiai átalakulási és farmakokinetikai" toxikokinetikai vizsgálatok a 2. szintű forgalmazási tonna-kűszöbértéknél, a 67/548/EGK számú Irányelv VIII. mellékletben kerültek meghatározásra. Az ennél magasabb forgalmazási kűszöbértékekre vonatkozó toxikokinetikai adat-igénnyel kapcsolatban nem készült részletes útmutató.

A toxikokinetikai viselkedés értékeléséhez az alábbi információkat kell felhasználni (olyan mértékben, ahogy azt az alapszintű műszaki dosszié, illetve az egyéb rendelkezésre álló és releváns információk lehetővé teszik):

- kémiai szerkezet, molekulatömeg, halmazállapot, részecskeméret, gőznyomás, vízdékonyság, Log P_{ow}, hidrolízis adatok;
- toxicitási tesztekben megfigyelt lokális és szisztémás hatások, a különböző expozíciós kapukat alkalmazó tesztekben adódó toxicitási különbségek;
- in vitro mutagenitási tesztekben annak megfigyelése, hogy az anyag aktivitását befolyásolja valamelyik azonosított anyagcsere rendszer;
- SAR.

3.5.2.2. Egyéb rendelkezésre álló adatok

Előfordulhat, hogy léteznek humán adatok: az adatokat időnként egyes toxikokinetikai paraméterekre (pl. dermális felvétel, vizelettel történő kiválasztás, inhalációs expozíciót

követő felvétel és kiválasztás (exkréció)) specifikus vizsgálatból kapjuk. Előfordulhat, hogy megvannak a toxikokinetikai adatok, de az is lehet, hogy humán vizsgálatok adatai alapján kell meghatároznunk őket.

Az adatok származhatnak állatkísérletekből is:

- az V. melléklet előírásainak megfelelő toxikokinetikai vizsgálatok;
- egyéb tesztelési módszerekkel készült toxikokinetikai vizsgálatok, vagy olyanok, amelyek az V. mellékletben megadott paraméterek közül csak néhányat vizsgálnak;
- a rendelkezésre álló in vivo toxicitási vizsgálatokból nyerhető toxikokinetikai információk.

Rendelkezésre állhatnak egyéb adatok is, amelyekből releváns információk nyerhetők:

- fehérje és/vagy DNS-kötési (addukt) vizsgálatok;
- különböző fajokból származó sejtkultúrákon végzett vizsgálatok;
- in vitro adatok (pl. dermális felvétel; anyagcsere vizsgálatok);
- modellrendszerek (pl. fiziológiai alapú farmakokinetikai modellek).

3.5.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

Humán adatok: A jól dokumentált humán adatok értékes információkat nyújthatnak (pl. a felvétel és elimináció kinetikájáról; a vizeletben lévő anyagcseretermékekről), amelyek az állatkísérletekből kapott adatok humán relevanciájának értékelésekor lehetnek hasznosak. A kinetikai vizsgálatok értékelése során a matematikai paraméterek értelmezéséhez esetleg külön szakértőre lehet szükség. Az expozíció (illetve különösen annak kvantitatív aspektusai) és az alkalmazott matematikai módszerek nem megfelelő leírása egyes vizsgálatok esetében nagyon megnehezítheti az adatok értelmezését.

A toxikokinetikában az egyik legfontosabb paraméter az eliminációs mechanizmus, az anyagnak a testből való kiválasztása. A kockázatbecslésnél az anyagok humán "féléletidejének" (az az idő, amely alatt az anyagnak vagy valamely anyagcsere termékének plazmakoncentrációja az eliminációs fázis során a felére csökken) ismerete is nagyon hasznos.

Állatkísérletekből kapott adatok: Az állatokon végzett toxikokinetikai vizsgálatok esetében is szükséges azok szakértői véleményezése, és ha a matematikai leírások korlátozottak, akkor ugyanazokkal a problémákkal találkozhatunk az adatok értelmezése során, mint a humán adatoknál. A valószínű toxikokinetikai viselkedésre vonatkozó (például a toxicitási tesztekben megfigyelt lokális és szisztémás hatásokon, vagy a különböző expozíciós kapukon jelentkező toxicitásbeli különbségeken alapuló) előrejelzések csak kvalitatív jellegűek lehetnek.

Egyéb adatok: Az in vitro vizsgálatok az anyagcsere olyan aspektusaival kapcsolatosan szolgáltathatnak adatokat, amelyeket igen nehéz in vivo körülmények között vizsgálni. In vitro módszerekkel jól lehet vizsgálni például az anyagcsere fajok között jelentkező különbségeit (pl. sejtkultúrákban), a dermális felvételt, illetve az anyagcsere kinetikai paramétereit.

Sok különböző típusú matematikai modell létezik, amelyeket fel lehet használni a felvétel, az eloszlás és az kiválasztás kinetikájának vizsgálatára. Az ilyen modelleket alkalmazó vizsgálatokból nyert adatok relevanciájának elbíráláshoz szükség van speciális szakismeretekre illetve a modellek megértésére.

3.5.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Bizonyos dózis (expozíciós szint) felett a felvételi, eloszlási, anyagcsere és kiválasztási folyamatok telítődhetnek. Nem szabad tehát azzal a feltételezéssel élnünk, hogy a dózis és az anyagcsere-folyamatok és a kinetika között az összefüggések lineárisak. Az anyagcsere-folyamatok telítődésének toxicitásra gyakorolt hatása attól függ, hogy a toxicitást maga az anyag, vagy annak valamely anyagcsereterméke közvetíti. A toxikokinetikai paraméterekkel kapcsolatos dózis-válasz összefüggések elemzése - ahol ez lehetséges - tehát nagyban segítheti a toxicitási vizsgálatok értelmezését, illetve a humán relevancia értékelését.

Az in vitro vizsgálatokból (különösen a sejtmentes rendszerek alkalmazásával) kapott dózis-válasz összefüggések in vivo relevanciájának értelmezésekor nagy körültekintéssel kell eljárni, mert in vivo körülmények között a celluláris vagy szubcelluláris dózis szinteket a felvétel és a sejtbe való bejutás kinetikája, továbbá az elsődleges anyagcsere esetleges beavatkozása is befolyásolhatja.

3.6. Heveny (akut) toxicitás

3.6.1. Bevezető

3.6.1.1. A heveny toxicitás definíciója

Az "akut toxicitás" egy egyszeri szájon keresztüli (orális), dermális vagy inhalációs expozíció következtében kialakuló az egészségre gyakorolt káros hatást jelent (ld. 92/32/EGK számú Irányelv, 2(2) (f), (g) és (h) cikkelyek). (Az "akut toxicitás"-ba e helyen nem tartoznak bele az olyan lokális irritációs vagy maró hatások, amelyek az anyag egyszeri szembe vagy bőrre kerülése következtében jelentkeznek és amelyeket a következő fejezetben tárgyalunk.) Az egyszeri expozíciót követő letális vagy irreverzibilis hatások, vagy a fix dózisos módszer alkalmazásával kapott diszkriminatív dózis alapján történő osztályozás kritériumait a 93/21/EGK számú Irányelv tárgyalja.

3.6.1.2. Az anyagok akut toxicitási vizsgálatának célja

Meghatározni:

- hogy egyszeri humán kitétség összefüggésbe hozható-e valamely káros egészségi hatással; és/vagy
- hogy állatkísérletek esetében az LD₅₀, az LC₅₀, a diszkriminatív dózis és/vagy az akut toxicitási osztályozás alapján milyen mértékben letális hatású az anyag; és/vagy

- hogy az egyszeri expozíciót követően (egy adott dózis esetében) milyen toxikus hatások indukálódnak, ezek a kitettséget követően mennyi idő elteltével jelentkeznek, mennyi ideig tartanak és mennyire súlyosak; és
- (ahol lehet) a dózis-válasz görbe meredekségét: és
- hogy van-e a nemek között különbség az adott válaszban.

3.6.1.3. Az V. mellékletben felsorolt akut toxicitási állatkísérletekből nyerhető információk

Az V. mellékletben négy tesztelési módszer szerepel az akut toxicitás vizsgálatához: a "standard" akut orális toxicitási teszt (ami a letalitáson alapszik): az (orális) fix dózisos módszer (amelynél a letalitást végpontként nem használják); az akut inhalációs toxicitási teszt és az akut dermális toxicitási teszt.

A tesztek során - ahogy az az V. mellékletben szerepel - adatokat kell gyűjteni a tesztállatoknak beadott egyszeri dózist követően adott időn belül (ez általában 14 nap) fellépő káros hatásokkal kapcsolatban.

A "standard" akut orális toxicitási és dermális vizsgálatoknál az LD₅₀-et kell meghatározni, kivéve akkor, ha az anyag a legnagyobb dózisban (általában 2000 mg.kg⁻¹) sem okoz halált. Az akut inhalációs toxicitási teszténél hasonlóan az előzőekhez az LC₅₀-et kell meghatározni, hacsak azt nem látjuk, hogy a legnagyobb dózis (5 mg.l⁻¹) sem okoz halált. A fix dózisos módszernél a diszkriminatív dózist (amely megegyezik azzal a legmagasabb előre meghatározott dózissal, amely még nem halálos) kell meghatározni.

Ha a vizsgálatokban felvették a dózis-válasz görbéket és meghatározták ezek meredekségét is, akkor ezeket az adatokat fel kell használni a kockázatbecslés során.

3.6.2. Az akut hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.6.2.1. Minimálisan szükséges adatok

Az új anyagokra vonatkozó minimálisan szükséges adatok - ahogy az a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében szerepel - a következők: az akut toxicitás legalább két expozíciós kapun, amelyek közül az egyik mindenképpen a szájon keresztüli (orális) expozíciós kapu.

A másik kapu megválasztását a vizsgált anyag jellege, illetve a humán expozíció valószínű kapuja határozza meg, azaz például gázok és illékony anyagok esetében az inhalációs kapun jelentkező akut toxicitási adatokra van szükség. A legmegfelelőbb expozíciós kapuval kapcsolatos kritériumok vonatkozásában részletes útmutatást a 3.3 pont alatt adunk. Az akut toxicitási tesztek az V. mellékletben megadott módszerek alkalmazásával kell elvégezni.

Meglévő anyagok esetében a minimálisan szükséges adatok megegyeznek az új anyagokra előírtakkal, kivéve hogy nem kötelező az V. mellékletben megadott standard tesztek alapján elvégezni a vizsgálatokat. Az akut toxicitás meghatározására igen sokféle korábban készült vizsgálatból vagy jelentésből származó adatot és információt fel lehet használni (ld. lent).

3.6.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Egy anyag akut hatásaival kapcsolatos humán adatok származhatnak balesetek vagy helytelen használat hatásait tárgyaló (eset)tanulmányokból, a használat során rövid ideig tartó kitettség következtében jelentkező hatásokról szóló jelentésekből, önkénteseken végzett vizsgálatokból és/vagy egyes esetekben az anyag orvosi célú felhasználásával kapcsolatos tapasztalatokból. Esetenként másodlagos forrásokból (pl. toxikológiai kézikönyv) is származhatnak egyszerűbb humán adatok - például "minimális letális dózis adatok" - az eredeti forrás megjelölése nélkül. Az ilyen információkat más adatok megerősítésére használhatjuk fel.

Az adatok származhatnak állatkísérletekből is:

- az V. mellékletben foglaltaknak megfelelő standard akut toxicitási vizsgálatokból;
- az "akut toxicitási osztályozási" módszert alkalmazó vizsgálatokból;
- egyéb akut toxicitási vizsgálati protokollt alkalmazó vizsgálatokból (pl. egyszerű letalitás vizsgálatok; olyan dermális vagy inhalációs tesztek, ahol az expozíciós időtartamok az V. mellékletben megadottaktól eltérnek; egy-egy szervnél vagy szervrendszerénél, pl. a vérkeringésben jelentkező hatásokat elemző vizsgálatok);
- pl. ismételt dózisos vizsgálatokhoz végzett előzetes vagy dózis-kereső, ún. célzó vizsgálatokból;
- egy-dózisú mutagenitási vizsgálatokból (pl. mikronukleusz-teszt);
- másodlagos forrásokban (pl. toxikológiai kézikönyv) az eredeti forrás megjelölése nélkül feltüntetett adatokból.

Egyéb vizsgálatok: az akut toxicitás esetében jelenleg nincsen általánosan elfogadott in vitro vizsgálati módszer, az ún. "szerkezeti vészjegyek"-et alkalmazó módszerekkel azonban az akut toxicitás értékelése szempontjából értékes információk nyerhetők bizonyos anyagok esetében (pl. az anyagok erősen vízdékony és toxikológiailag jól jellemzett sóinál a szisztémás toxicitás várhatóan hasonló lesz).

3.6.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

3.6.3.1. Új anyagok

Új anyagok esetében az akut toxicitás jellemzésére általában csak az V. mellékletben megadott módszerekkel elvégzett vizsgálatokat szabad elfogadni.

3.6.3.2. Meglévő anyagok

Humán adatok: A jól dokumentált humán adatok általában igen hasznos információkat szolgáltatnak, különösen az olyan hatások tekintetében, amelyeket közönséges laboratóriumi fajoknál nem lehet megfigyelni, ilyen pl. a hányinger (émelygés) és a fejfájás, feltéve hogy ezek a hatások biztosan az expozíció következtében lépnek fel.

Az információk használhatóságát korlátozhatja, ha viszonylag alacsonyak az expozíciós szintek, ha a jelentések színvonala nem megfelelő, ha az expozíciós szintekkel kapcsolatos információk hiányosak, ha a hatások leírása szubjektív vagy anekdotikus, ha alacsony a minta- vagy esetszám, stb., de esetleg így is alkalmas lehet a humán NOAEL (no observed adverse

effect level = az a szint, amelynél semmilyen káros hatás nem figyelhető meg) érték meghatározására.

A jelentések nem megfelelő színvonala gyakran károsan befolyásolhatja a balesetek vagy helytelen használat következtében jelentkező hatásokról szóló vizsgálati anyagok használhatóságát, és problémát jelenthet a munkahelyi, rövid ideig tartó expozíció hatásait vizsgáló jelentések esetében is. A tanulmányok értékelését a tüneteknek az érintettek általi gyaníthatóan szubjektív leírása is komplikálhatja. Ha azonban számos jelentés hasonló hatásokat közöl, akkor ez már hasznos lehet. Balesetek, helytelen használatok, továbbá az anyag orvosi célú felhasználása esetén a rendeltetésszerű használattól eltérő expozíciós kapukkal kell számolnunk, és habár ez utóbbi típusú használat esetén sok jó expozícióra vonatkozó adat állhat rendelkezésre, figyelembe kell venni a toxikokinetikai paraméterek közötti lehetséges különbségeket (ld. 3.5 pont). Időnként emberi baleseteket illetve visszaéléseket ismertető jelentésekből is meg lehet határozni egy minimális letális dózist.

Állatkísérletes adatok: Adott kezelési móddal / expozíciós kapun át beadott anyagok akut toxicitása jól jellemezhető az V. mellékletnek megfelelő standard és jól dokumentált vizsgálatok segítségével, különösen ha azok a GLP előírásainak is megfelelnek. Meglévő anyagok esetében legtöbbször számos korábbi akut toxicitási tanulmány áll a rendelkezésünkre, amelyek közül egyik sem felel meg az V. melléklet által felállított standardoknak. Ha azonban az ilyen vizsgálatok eredményei jól egyeznek, akkor együttesen már elegendő információt szolgáltathatnak egy anyag akut toxicitásáról egy vagy több expozíciós kapu vonatkozásában. Még akkor is, ha vannak kisebb-nagyobb eltérések az LD₅₀ vagy LC₅₀ értékek között, legtöbbször el lehet dönteni, hogy a kérdéses anyag a 93/21/EGK számú Irányelvben megadott kategóriák közül melyikbe sorolható. A régebbi "LD₅₀" tesztek az LD₅₀-nél alig adnak meg többet, de a nagyszámú állat és dóziscsoport alkalmazása miatt az ilyen vizsgálatok adatai megbízhatóak lehetnek.

Ha azonban a sokféle vizsgálatból kapott eredmények jelentősen eltérnek egymástól, a referens feladata lesz annak eldöntése, hogy a fenti értékelési kritériumok alapján mely vizsgálatokat kell a legmegbízhatóbbnak tekinteni.

Egyéb (nem akut toxicitási) vizsgálatok (pl. egy-dózisú célzó vizsgálatok, egy-dózisú mutagenitási vizsgálatok) adataiból is nyerhetünk értékes információkat, feltéve, hogy a vizsgálatok dokumentálása megfelelő (ami nem feltétlenül van kapcsolatban az akut toxikus hatásokkal).

3.6.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Jól dokumentált humán adatokból időnként meg lehet határozni megbízható NOAEL értékeket valamilyen specifikus szubpopulációra vonatkozóan.

Általában nem szokták meghatározni az állatoknál fellépő akut toxicitásra vonatkozó "akut NOAEL"-t. Inkább az a szokás, hogy az egyetlen numerikusan meghatározott érték az LD₅₀ vagy az LC₅₀. Az osztályozás felülvizsgálatakor óvatosan kell kezelni az olyan LD₅₀ és LC₅₀ értékeket, amelyeket az V. mellékletben megadottaktól eltérő expozíciós időtartamokat alkalmazásával végzett dermális és inhalációs akut toxicitási tesztekkel határoztak meg.

A dózis-válasz görbe meredeksége az egyik legfontosabb paraméter, mivel megadja hogy az expozíció csökkentésével milyen mértékben csökkenthető a válasz: minél meredekebb a görbe annál nagyobb mértékben csökken a válasz adott véges nagyságú expozíció csökkenés esetén.

3.6.5. Az akut toxicitási vizsgálatok bizonytalansága

Az állatkísérletekből nyert adatok legtöbbször igen értékes információkat szolgáltatnak a vizsgálat fajnál jelentkező akut toxicitással kapcsolatban és általában azt is fel lehet tételezni, hogy az állatokra erősen toxikus anyagok az emberekre nézve is toxikusak lesznek. Azonban ennek fordítottja is igaz. Vannak olyan hatások, amelyeket közönséges laboratóriumi fajoknál nem lehet megfigyelni (pl. hányinger/émelygés), úgyhogy nem biztos, hogy azok az anyagok, amelyeknél egyszeri expozíciót alkalmazó állatkísérletek szerint alacsony akut toxicitással rendelkeznek, nem idézhetnek elő embereknél a fentiekhez hasonló hatásokat.

3.7. Irritáció és maró hatás

3.7.1. Bevezető

3.7.1.1. Az irritáció és a maró hatás definíciója

Az irritáló anyagok olyan nem maró hatású anyagok, amelyek pillanatnyi, hosszabb ideig tartó vagy ismétlődő kontaktus esetén az érintett szövetben (bőr, szem vagy nyálkahártya/légutak) gyulladást okozhatnak. A maró hatású anyagok viszont a kontaktusnál elpusztíthatják az élő szöveteket. Az irritáló és maró hatású anyagok osztályba sorolásának kritériumai a 93/21/EGK számú Irányelvben találhatóak.

A minimálisan szükséges adatok ismert és új anyagok esetében lényegében megegyeznek.

3.7.1.2. Az irritáció és a maró hatás vizsgálatának célja

Meghatározni:

- hogy az anyag ténylegesen vagy feltételezhetően maró hatású-e;
- hogy in vitro vizsgálatok vagy állatkísérletek alapján fellép-e jelentősebb bőr-, szem- vagy légúti irritáció;
- hogy van-e arra utaló humán tapasztalat, hogy az anyagnak való kitettség következtében bőr-, szem-, nyálkahártya- vagy légúti irritáció lép fel;
- hogy a hatások mennyi idő múlva jelentkeznek, továbbá milyen mértékűek és mennyire súlyosak, illetve adatokat gyűjteni ezek visszafordíthatóságáról;

A hatások súlyosságát figyelembe véve - amennyiben ez a vizsgálati adatokból megállapítható-, a várható humán expozíció kapujára, az expozíciós helyzetre és az expozíció mértékére vonatkozóan pragmatikus módon kell meghatározni annak valószínűségét, hogy

akut maró vagy irritációs hatások jelentkeznek az anyagot használó, vagy annak egyéb módon kitett embereknél.

3.7.1.3. Az V. mellékletben felsorolt irritációs vizsgálatokból nyerhető információk

Az V. mellékletben a bőr- és szemirritációra vonatkozóan találunk tesztek. Mindkét testben található szűrési és beavatkozási elemek annak érdekében, hogy ki lehessen küszöbölni, illetve korlátozni lehessen a maró hatású anyagok, illetve az erősen irritáló anyagok in vivo tesztelését. A légúti irritációra az V. mellékletben nem található vizsgálati módszer.

Az V. mellékletben megadott bőr- és szemirritációs tesztek legfőbb (in vivo) része az anyag egy meghatározott mennyiségének alkalmazása után nyúlban jelentkező lokális hatásokról (a bőrnél erythema (bőrpír) és/vagy ödéma (vizenyő); a szemnél pedig a szaruhártya homályossága, a szivárványhártyán látható elváltozások, a kötőhártya bepirosodása és/vagy a szemhéjak duzzanata) szolgáltat adatokat. Az anyag alkalmazását követően meghatározott időkből megvizsgálják az állatokat és értékelik a lokális válaszokat. Ezen túlmenően adatokat szolgáltatnak a teljes időről, hogy megállapítsák a visszafordíthatóságot (vagy a visszafordíthatóság hiányát), vagy bármely egyéb lokális (pl. fájdalom, szemváladékozás, elhalás (nekrózis), a szemek maradandó elszíneződése) vagy toxikus hatásról.

3.7.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.7.2.1. Minimálisan szükséges adatok

A minimálisan szükséges adatok a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében szereplő követelményeknek megfelelően a következők: adatok az anyagok bőr- vagy szemirritáló, illetve maró hatásáról.

Új anyagokra az alapkövetelmények a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében található, és ezeket az adatokat az V. mellékletben megadott vizsgálati módszerek alkalmazásával kell beszerezni. Meglévő anyagok esetében az alapkövetelmények ugyanazok, de az adatok beszerzése tekintetében rugalmasabbak, mert nem kötelező az V. mellékletben megadott módszerek alkalmazása.

3.7.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Humán adatok (pl. esettanulmányok, epidemiológiai vizsgálatok vagy önkénteseken végzett vizsgálatok) is rendelkezésre állhatnak.

Állatkísérletes adatok is rendelkezésre állhatnak:

- az V. mellékletben foglalt standardoknak megfelelő bőr- és/vagy szemirritációs vizsgálatok;
- egyéb toxikológiai vizsgálatok, amelyekben az expozíciót követően az állatokon a bőrön, a szemben, a nyálkahártyán és/vagy a légutakban lokális hatások jelentkezéséről számolnak be;
- az V. mellékletben megadott módszerektől eltérő vizsgálatok (pl. az Alarie-teszt a légúti irritáció vizsgálatára (Alarie, 1973, 1981)).

Egyéb vizsgálatok (pl. in vitro fizikai-kémiai vizsgálatok) is szolgáltathatnak adatokat az anyagok irritáló vagy maró hatásával kapcsolatban.

3.7.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

3.7.3.1. Új anyagok

Új anyagok esetében az irritáló illetve a maró hatás jellemzésére általában csak az V. mellékletben megadott módszerekkel elvégzett vizsgálatokat szabad elfogadni.

3.7.3.2. Meglévő anyagok

Humán adatok:

A jól dokumentált humán adatok legtöbbször igen hasznos információkat szolgáltatnak bőr- és/vagy légúti irritációval kapcsolatban, időnként igen széles expozíciós tartományra vonatkozóan is. A légúti irritációra vonatkozóan, amely lehet egy munkahelyi károsodás, az egyetlen használható adatot legtöbbször humán vizsgálatok szolgáltatják. A különböző irritációra vonatkozó humán adatok használhatóságát az határozza meg, hogy a hatásokat illetve azok nagyságát milyen mértékben lehet a kérdéses anyaggal megbízható módon összefüggésbe hozni. A tapasztalatok azt mutatják, hogy valamely anyag által kiváltott szemirritációval kapcsolatban nehéz használható adatokat kapni, mindazonáltal bizonyos vegyi anyagokra, készítményekre vonatkozó adatok rendelkezésre állhatnak (pl. Freeberg et al., 1986).

Állatkísérletes adatok:

Az olyan jól dokumentált vizsgálatok, amelyek megfelelnek az V. mellékletben megadott standardoknak, és különösen ha a GLP előírásaival is összhangban vannak, jól alkalmazhatók annak megállapítására, hogy mely anyagok rendelkeznek, illetve nem rendelkeznek maró, vagy bőr-, illetve szemirritáló tulajdonságokkal. Meglévő anyagok esetében számos, az V. mellékletben előírtaknak nem teljes mértékben megfelelő bőr- és szemirritációs vizsgálat állhat rendelkezésre. Ha ezen vizsgálatok eredményei összhangban vannak egymással, akkor ezek összessége már elegendő adatot szolgáltathat egy anyag bőr- vagy szemirritáló tulajdonságaival kapcsolatban.

Ha azonban a sokféle vizsgálatból kapott eredmények jelentősen eltérnek egymástól, a referens feladata lesz annak eldöntése, hogy a fenti értékelési kritériumok alapján mely vizsgálatokat kell a legmegbízhatóbbnak tekinteni.

Különös figyelmet kell szentelni a tartós irritációs hatások jelentkezésének, még akkor is, ha ez nem vezet az anyag osztályozásához. Az olyan jellegű hatások, mint például az erythema (bőrpír), ödéma (vizenyő), repedés, pikkelyesedés, hámlás, hiperplázia vagy a homályosság, amelyek a vizsgálat időtartama alatt nem múlnak el, azt jelzik, hogy az anyag embernél maradandó bőr- vagy szemkárosodásokat okoz.

A bőr- és szemirritációs vizsgálatoktól eltérő vizsgálatok (pl. egyéb toxikológiai vizsgálatok, amelyek lokális bőr-, szem-, nyálkahártya és/vagy légúti hatásokról számolnak be) is szolgáltathatnak hasznos információkat.

Lehetséges azonban, hogy ezek a vizsgálatok a bőr- és szemirritáció értékeléséhez szükséges alapvető információk szempontjából nem jól dokumentáltak. Nem szabad azonban elfelejteni azt sem, hogy az állatokon végzett nyálkahártya és/vagy légúti irritációs vizsgálatokból származó adatok a kockázatbecslés szempontjából nagyon hasznosak lehetnek, feltéve, hogy az irritációs hatás egyértelműen a vizsgált anyagnak tulajdonítható, illetve különösen ha valamilyen expozíciós szintnek is megfeleltethető.

A légúti irritáció esetében az V. melléklet nem rendelkezik vizsgálati módszerről, csak egyéb módszerek léteznek (pl. az Alarie-teszt, amely a felső légutak szenzoros irritációjával kapcsolatban szolgáltathat használható információkat). Meg kell jegyezni, hogy többen vitatják azt, hogy az Alarie-tesztből kapott adatok alkalmasak határértékek meghatározására (pl. jelentős eltérések mutatkoznak az egyes laboratóriumok között, illetve fajokon belül és a fajok között), úgyhogy nagy körültekintéssel kell eljárni az Alarie-tesztek eredményeinek interpretálásakor.

Egyéb adatok:

Számos különböző in vitro vizsgálati módszer létezik, amelyekkel adatokat nyerhetünk egy-egy anyag irritáló tulajdonságait illetően. Egyes módszerek kifejezetten egy hatásra koncentrálnak (pl. szemirritáció), mások viszont általánosabbak. Ha valamely vizsgálat(ok) egyértelműen arra utal(nak), hogy az anyag irritációt okozhat, akkor ez veszélybeazonosítási célokra már elegendő lehet (az adatok értékelése pedig csakis az adott módszer elvének és lényegének részletes vizsgálata alapján történhet). Jelenleg azonban az in vitro adatokat önmagukban nem tekintik elegendőnek annak eldöntésére, hogy egy anyag nem okoz irritációt.

A fizikai-kémiai adatok alkalmasak lehetnek maró hatású anyagok azonosítására, de ezek sem elegendők annak megállapítására, hogy egy anyag nem irritáló. Az ilyen adatok (vagy a gyakorlati tapasztalat) azt is jelezhetik, hogy egy anyag zsírtalanító tulajdonságú. A kitett bőr zsírtalanítása irritációt okozhat.

3.7.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Humán vizsgálatokból is szolgáltathatnak megbízható adatokat a még nem-irritáló koncentrációkkal kapcsolatosan, habár néha csak az látszik, hogy egy anyag irritáló, vagy - csak következtetés útján meghatározva - nem irritáló.

Az V. mellékletben megadott standard bőr- és szem irritációs tesztek eredményeiből nem lehet meghatározni a nem-irritáló koncentrációkat, csak az olyan korábbi vizsgálatokból, amelyekben több koncentrációt is alkalmaztak. A nem-irritáló koncentrációk meghatározhatók olyan inhalációs expozíciót alkalmazó vizsgálatokból, ahol légúti irritációt tapasztaltak. Az ilyen vizsgálatoknál a dózis-válasz görbe meredeksége a legértékesebb adat, mert megmutatja, hogy a kitettség csökkentése milyen mértékben csökkenti a válaszokat: minél meredekebb a görbe, annál nagyobb mértékben csökken a válasz a kitettség adott mértékű csökkentése esetén.

3.7.5. Az irritáció és a maró hatás vizsgálatának bizonytalansága

Általában egyértelműen el lehet dönteni (vagy el lehet fogadni), hogy egy anyag maró hatású, bármilyen típusú vizsgálatból származzanak is az adatok.

Az irritáló hatások esetében azonban nagy lehet a bizonytalanság a humán adatoknál (a rossz dokumentálás, az expozícióval kapcsolatos specifikus információk hiánya, a hatások szubjektív vagy elnagyolt leírása, vagy az alacsony mintaszám, stb. miatt).

Az V. mellékletben megadott módszerekkel végzett állatkísérletek legtöbbször nagyon jó adatokat szolgáltatnak a vizsgált fajoknál jelentkező bőr- és szemirritációs hatások tekintetében és általában azt is el lehet fogadni, hogy azok az anyagok, amelyek az V. mellékletben megadott vizsgálatok alapján állatoknál irritáló hatásúak, azok bőr- vagy szemirritáló hatásúak lesznek embernél is, és azok, amelyek az V. mellékletben megadott vizsgálatok szerint nem irritáló hatásúak, embernél sem lesznek azok. A jól megtervezett és jól dokumentált inhalációs állatkísérletekből jó, és gyakran egyértelműen az expozíciós szintekhez rendelhető adatokat kaphatunk a légúti, illetve a nyálkahártya-irritáció tekintetében. Ha a hasonló vizsgálatok eredményei nincsenek összhangban egymással, az növeli az állatkísérletekből kapott adatok bizonytalanságát.

Az in vitro vizsgálatokból kapott adatok több dózis szintet, illetve párhuzamos mérést tartalmazhatnak: ha az ilyen vizsgálatokat jól tervezték, és azt mutatják, hogy az anyag várhatóan irritáló hatású, a veszélyazonosítás céljaira ez már elegendő lehet. Azonban in vitro vizsgálatok alapján ma még csak nagyon nagy bizonytalanság mellett lehet kimondani, hogy egy anyag nem irritáló, úgyhogy a kockázatbecslés során az in vitro teszt eredménye nem igazán alkalmazható.

3.8. Szenzibilizáció

3.8.1. Bevezető

3.8.1.1. A bőrszenzibilizáció és a légúti szenzibilizáció definíciója

Szenzitiváló hatású az anyag, amelyet ha belélegeznek (inhaláció) vagy átjut a bőrön, akkor hiperérzékenységi reakciót vált ki, azaz további kitettség esetében jellegzetes káros hatásokat vált ki. A bőr- és légúti szenzibilizációt okozó anyagok osztályozásának kritériumai a 93/21/EGK Irányelvben találhatóak.

3.8.1.2. Az anyagok szenzibilizációs vizsgálatának célja

Meghatározni:

- hogy a humán tapasztalatok alapján van-e arra való utalás, hogy az expozíció hatására bőr- vagy légúti szenzibilizáció jelentkezik;
- hogy állatokon végzett bőrszenzibilizációs tesztek alapján lehet-e az anyagnak bőrszenzitiváló hatása.

A hatások súlyosságát figyelembe véve -amennyiben ez a vizsgálati adatokból megállapítható- a várható humán expozíció kapujára, az expozíciós helyzetre és az expozíció mértékére vonatkozóan pragmatikus módon kell meghatározni annak valószínűségét, hogy szenzibilizációs hatások jelentkeznek az anyagot használó, vagy annak egyéb módon kitett embereknél.

3.8.1.3. Az V. mellékletben felsorolt szenzibilizációs vizsgálatokból nyerhető információk

Az V. mellékletben két módszert találhatunk a bőrszenzibilizációra: a tengeri malac maximalizációs teszt (GPMT, guinea pig maximisation test) és a Buehler-teszt. A GPMT adjuváns típusú teszt, amelynél az allergiás állapotot Freund-féle komplett adjuváns használatával érik el. A Buehler-teszt adjuváns nélküli teszt, ahol az indukciós fázisban a GPMT-nél használt intradermális injekció helyett helyi kezelést alkalmaznak.

Az adjuváns teszt a preferált módszer, mert az adjuváns nélküli módszer sok anyag esetében kevésbé érzékeny.

A bőrszenzibilizációs tesztek a bőr lokális vizsgálatokban adott válaszaikról, amelyeket az anyag többször ismételt adását követően minden egyes állat esetében külön-külön értékelnek, illetve a szenzitizált állatok százalékos arányáról szolgáltatnak adatokat.

A légúti szenzibilizációra az V. mellékletben nincsen megadva standard módszer. A potenciális technikák kutatása és fejlesztése azonban jelenleg is folyik.

3.8.2. A hatás értékelésére felhasználandó adatok

3.8.2.1. Minimálisan szükséges adatok

Rendelkezésünkre kell állnia azoknak az adatoknak, amelyek lehetővé teszik egy anyag szenzitizáló hatásának korrekt becslését. Új anyagok esetében az alapadatokat az V. mellékletben megadott módszerekkel végzett vizsgálatokból kell nyerni. Meglévő anyagok esetében az adat-követelmények ugyanazok, mint új anyagok esetében, de az adatok beszerzésének módja tekintetében már nagyobb rugalmasságot biztosít; nem kötelező az V. mellékletben megadott módszerek használata.

3.8.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Humán adatok

A humán expozíció tekintetében néha rendelkezésünkre állhatnak esettanulmányok és epidemiológiai vizsgálatok is, különösen meglévő anyagok esetében. Ezek közül is azok a fontosak, amelyekben kután (allergiás dermatitisz, ekcéma) vagy légúti (allergiás rhinitisz, alveolitisz, asztma) reakciók jelentkeztek. A negatív eredményeket mutató vizsgálatokat is értékelni kell.

További adatok állhatnak rendelkezésre dermatológiai tesztekkel, pl. a humán ismételt sebzési folt teszt, illetve a bőrpróbától, illetve bronchiális provokációs tesztekkel. Immunológia tesztek (pl. RAST) is segítségünkre lehetnek.

Állatkísérletek

- az V. mellékletben megadott módszerekkel végzett bőrszenzibilizációs vizsgálatok;
- egyéb bőrszenzibilizációs vizsgálatok, pl. Draize-teszt, Freund-féle komplett adjuváns teszt, optimalizációs teszt, hasított adjuváns teszt, nyílt epidermális teszt;

- alternatív vizsgálatok, pl. egér fülbedagadási teszt, lokális nyirokcsomó próba;
- légúti szenzibilizációs vizsgálatok (pl. egér IgE tesztek, vagy tengeri malac modellek) ;
- immunológiai hatásokat mutató szubakut, szubkrónikus vagy krónikus vizsgálatok.

Egyéb adatok

- figyelembe kell venni az ismert szenzitiváló anyagokkal való esetleges szerkezeti analógiákat.

Általánosan alkalmazható in vitro modell még nincs, de a kontakt allergiás reakciók egyes komponenseit lehet in vitro körülmények között is vizsgálni, pl. bőr penetráció, fehérjékkel való reakciók, stb.

3.8.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

3.8.3.1. Új anyagok

Új anyagok esetében a szenzibilizációs hatás jellemzésére általában csak az V. mellékletben megadott módszerekkel elvégzett vizsgálatokat szabad elfogadni.

3.8.3.2. Meglévő anyagok

Humán adatok

Az esettanulmányoknál a következőkre kell odafigyelni:

- a jól dokumentált esetek száma az exponált populációhoz képest;
- két típusú populáció létezése: azok az egyének, akik korábban szenzitiválódtak egyéb anyagokra és azok, akiket korábban szenzitiváló hatás nem ért;
- a kitettség típusa: pl. az anyag megfelelő módon történő azonosítása, többszörös expozíció, az anyag halmazállapota és koncentrációja/mennyisége, az expozíció gyakorisága és időtartama;
- szerkezeti analóg anyagok szenzibilizációjáról szóló beszámolók.

Ha már vannak korábbról önkénteseken végzett vizsgálatok, meg kell jegyezni, hogy habár az orvosok általában jól ismerik az alkalmazott módszereket, ezek közül hivatalosan egyik sem szerepel az EU szabályozó irányelvei között. Körültekintően kell kezelni az olyan vizsgálatok eredményeit, ahol a kitettség idején a bőrfelszín nem volt ép. Bronchiális diagnosztikai tesztekkel származó adatokat is érdemes figyelembe venni. Olyan vegyi termékek esetében, amelyek a használat során az emberi testtel közvetlen kontaktusba kerülnek, a humán vizsgálatok (ha korábban végeztek ilyet) a szenzibilizációs képesség használati-függő megítélése szempontjából lehetnek hasznosak.

Állatkísérletes adatok

Az olyan jól dokumentált vizsgálatok, amelyek megfelelnek az V. mellékletben megadott standardoknak, és különösen, ha a GLP előírásaival is összhangban vannak, jól alkalmazhatók annak megállapítására, hogy mely anyagok rendelkeznek, illetve nem rendelkeznek szenzitiváló tulajdonságokkal.

Az V. mellékletben megadott módszereknek nem teljes mértékben megfelelő egyéb vizsgálatok is szolgáltathatnak használható információkat. Különösen nagy figyelmet kell szentelni e tesztek módszertani megalapozottságának, továbbá a negatív és pozitív kontrollok alkalmazására.

Az adjuváns módszerek általában érzékenyebbek. Óvatosan kell tehát kezelni a kevésbé érzékeny módszerekkel kapott negatív eredményeket.

Az eredmények értékelésekor az alábbi szempontokat kell elsősorban figyelembe venni:

- a hordozó (adjuváns) típusa (amely biztosítja az anyag szolubilizálódását és a bőrön való átjutását);
- megfigyelhető-e az indukciós fázisban bőrirritáció, különösen az adjuváns nélküli módszerek esetében;
- a túlérzékenységet kiváltó fázisban a maximális nem-irritáló koncentrációt alkalmazták-e.

A provokatív fázisban jelentkező bőrreakciók értékelését nagy körültekintéssel kell végezni, hogy meg tudjuk különböztetni az irritációt az szenzibilizációtól.

- a teszt- és kontroll-állatok száma;
- a szenzitizált állatok száma vagy százalékos aránya;
- szerkezet-aktivitás összefüggések ismerete;
- a törzsre jellemző érzékenység rendszeres időközökben (6 havonta) történő ellenőrzése ismert gyenge-közepes szenzitizálókkal.

Kétséges reakciók vagy a teszt anyag elszínező hatása miatt elfedett válaszok esetén kórszövettani vizsgálatok segíthetik az értékelést.

Légúti szenzibilizációs állatkísérletek adatai is rendelkezésre állhatnak. Teljes mértékben elfogadott vizsgálati technika egyelőre nem létezik, de az előrejelzési módszerek ígéretesnek tűnnek. Egyes fizikai-kémiai, illetve biológiai tulajdonságok (pl. fehérjékkel szemben mutatott reaktivitás) is fontos korrelációkat mutatnak a légúti szenzibilizációval. Valószínű, hogy a legtöbb - hacsak nem az összes - légúti allergén a kísérletes modellekben bőrszenzibilizációt is képes okozni. Ennek fordítottja azonban nem feltétlenül igaz, hiszen számos anyag van, amely a prediktív bőrszenzibilizációs tesztekben pozitív válaszokat váltott ki, de humán légúti szenzibilizációt nem okozott.

Az alternatív állatkísérletek (pl. egér fülduzzadási teszt, lokális nyirokcsomó próba) is szolgáltathatnak használható információkat és pozitív eredmények esetén az anyagot potenciális szenzitizálónak tekinthetjük.

3.8.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Specifikus, jól definiált körülmények között humán vizsgálatok esetében is megvan a lehetőség arra, hogy megbízható módon a nem-szenzitiváló koncentrációkra vonatkozó adatokat nyerhessünk.

A legtöbb bőrszenzibilizációs állatkísérletben csak egyetlen koncentrációt alkalmaznak.

A korábban végzett humán vizsgálatok vagy állatkísérletek alapján általában nem könnyű dózis-válasz összefüggéseket meghatározni. De ki lehet dolgozni erre a célra specifikus vizsgálati protokollokat, amelyek - ha rendelkezésre állnak - a kockázatok ez irányú jellemzésénél lehetnek hasznosak.

3.8.5. A szenzibilizációs vizsgálatok bizonytalansága

A szenzibilizációs hatások esetében nagy lehet a bizonytalanság a humán adatoknál (a rossz dokumentálás, az expozícióval kapcsolatos specifikus információk hiánya, az alacsony mintaszám, vagy egyéb anyagoknak való párhuzamos kitettség, stb. miatt).

A jól megtervezett és jól dokumentált bőrszenzibilizációs állatkísérletekből jó adatokat kaphatunk. Ha a hasonló vizsgálatok eredményei nincsenek összhangban egymással, az növeli az állatkísérletekből kapott adatok bizonytalanságát.

Egyes esetekben a szenzibilizáció magának az anyagnak tulajdonítható, de előfordulhat, hogy szennyezések, vagy bomlástermékek okozzák a hatást.

3.9. Ismételt dózisú toxicitás

3.9.1. Bevezető

3.9.1.1. Az ismételt dózisú toxicitás definíciója

Ismételt dózisú toxicitás alatt értjük mindazokat az általános káros toxikológiai hatásokat (kivéve a reprodukív toxicitást, illetve a genotoxikus és karcinogén hatásokat), amelyek a várható élettartam egy részében (szubakut, vagy szubkrónikus expozíció) vagy krónikus expozíció esetén az élettartam teljes ideje alatt (vagy az élettartam túlnyomó részében) az anyag ismételt napi adagolása, vagy az anyaggal való ismételt expozíció eredményeképpen jönnek létre. Az ismételt dózisú toxicitás alapján történő osztályozás kritériumai a 93/21/EGK Irányelvben találhatóak. Azt, hogy mit értünk "káros hatások" alatt, a 3.9.4 pont alatt kerül ismertetésre.

3.9.1.2. Az anyagok ismételt dózisú toxicitási vizsgálatának célja

Az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatok a célszervek ismételt expozíciója eredményeképpen jelentkező káros hatásokkal, illetve a dózis-válasz összefüggésekkel kapcsolatosan szolgáltatnak információkat.

A dózis-válasz összefüggések meghatározása után a NOAEL (no observed adverse effect level = az a szint, amelynél semmilyen káros hatás nem figyelhető meg) értéket is meg kell határozni (ld. 3.4 pont). A potenciális egészségügyi kockázatok meghatározása érdekében a kockázatbecslés során a várható humán expozíció figyelembe vételével kell meghatározni, hogy az anyag milyen káros hatásokat okozhat, illetve hogy a hatások milyen dózis szintnél jelentkeznek.

3.9.1.3. Az V. mellékletben felsorolt ismételt dózisú toxicitási vizsgálatokból nyerhető információk

Fontosnak tarjuk, hogy az V. mellékletben megadott vizsgálati módszerek követelményeinek értelmében a 28 napos vizsgálatból a lehető legtöbb információt nyerjük. Az V. melléklet szerinti vizsgálatoknak minimálisan az alábbi adatokat kell szolgáltatniuk: toxikus és egyéb válaszok nemenként, expozíciós szintenként és a megfigyelés időtartama szerint, táplálék és testtömeg adatok, hematológiai és klinikai biokémiai vizsgálatok eredményei, makroszkopikus és kórszöveti leletek. A vizsgálatról készült jelentésnek tartalmaznia kell az eredmények megfelelő statisztikai értékelését, és ahol ez lehetséges, a célszerv(ek)re, a hatás(ok)ra és a NOAEL értékre vonatkozó következtetéseket is.

3.9.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.9.2.1. Minimálisan szükséges adatok

A minimális követelményeket az új és meglévő anyagokra vonatkozó jogszabályok és rendelkezések tartalmazzák. Új anyagok esetében általában csak 1 t/év forgalmazási szint felett válik szükségessé az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatok elvégzése, és hacsak nincs valamilyen elfogadható indok arra, hogy a tesztet ne végezzék el, akkor általában az V. melléklet szerinti 28 napos tesztet kell elvégezni. Meglévő anyagok esetében a minimálisan szükséges adatok megegyeznek azokkal, amelyeket az V. melléklet szerinti 28 napos vizsgálat elvégzésével kapnánk.

3.9.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Humán adatok: Humán adatok epidemiológiai vizsgálatokból vagy egyéb embereken végzett megfigyelésekből származhatnak.

Állatkísérletes adatok: A rendelkezésre álló ismételt dózisú toxicitási tesztek száma várhatóan tág határok között mozog majd. Lehet, hogy semmilyen vizsgálat nem áll rendelkezésre, lehet, hogy van az V. melléklet szerinti 28 napos vizsgálat, vagy egy azzal egyenértékű vizsgálat, mint minimum, de az is lehet, hogy egyes meglévő anyagok esetében számos az V. melléklet szerinti, vagy attól eltérő vizsgálat áll a rendelkezésünkre. Lehetnek olyan vizsgálatok is, amelyek különböző expozíciós kapukat alkalmaznak. Olyan speciális toxicitási vizsgálatok is rendelkezésre állhatnak, amelyek egy adott célszervben vagy célszövetben jelentkező kritikus hatások jellegét, mechanizmusát és/vagy dózis-válasz összefüggéseit tanulmányozzák. Szerkezetileg analóg anyagok adatai is rendelkezésre állhatnak, és ez is hozzájárulhat a kérdéses anyag toxicitási profiljának kialakításához.

3.9.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

Amennyiben vannak megbízható és releváns humán adataink, ezek nagyon hasznosak lehetnek a veszélyek azonosításakor és mindenképpen ezeket kell előnyben részesíteni az állatkísérletes adatokkal szemben. Ritkák azonban az olyan humán adatok, amelyek alkalmasak arra, hogy a dózis-válasz összefüggések meghatározásának egyedüli alapját képezzék. Sok humán vizsgálatban sem az expozíció körülményei, sem maguk az expozíciós szintek nem jól ismertek, előfordulhat más anyagokkal együttes, kevert expozíció, a hatások előfordulási gyakorisága alacsony, az anyagnak kitett egyének száma kicsi, továbbá hosszú lehet az expozíció és a betegség jelentkezése közötti látencia idő is. Előfordulhat ezen kívül az is, hogy a kitett populáció korra, nemre, étkezési szokásokra, környezetre, tevékenységi formára, fizikai erőnlétre és genetikai állományra nézve heterogén. Ezen vizsgálatok interpretálása tehát nagy körültekintést igényel.

A 3.2 pont alatt leírtakon túlmenően a rendelkezésre álló ismételt dózisu toxicitási adatok értékelésekor az alábbi szempontokat is figyelembe kell venni:

- azokat a vizsgálatokat kell előnyben részesíteni, ahol a vizsgált anyag anyagcseréje tekintetében az emberre leginkább hasonlító kísérleti állatokat használtak; amennyiben ilyen nincs, akkor a legérzékenyebb állatfajt kell használni;
- azokat a vizsgálatokat kell előnyben részesíteni, amelyek a várható humán expozíciós kapu(k), időtartam és gyakoriság tekintetében megfelelő expozíciós kaput, időtartamot és gyakoriságot alkalmaznak;
- azokat a vizsgálatokat kell előnyben részesíteni, amelyek lehetővé teszik a NOAEL meghatározását;
- a megbízható, eléggé részletes és hosszabb ideig tartó vizsgálatokat kell előnyben részesíteni; pl. a NOAEL meghatározásánál nagyobb figyelmet kell szentelni egy 90 napos vizsgálatra, mint egy 28 naposra.

Ha elegendő információval rendelkezünk a kritikus hatásról azaz a dózis-válaszra és a következményekre vonatkozó humán megfelelőségről, illetve a célszervről vagy célszövetről, akkor a NOAEL meghatározásakor elsősorban ezt a hatást elemző specifikus vizsgálatokat kell figyelembe venni.

3.9.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

A NOAEL (vagy a LOAEL) meghatározásakor kulcsfontosságú kérdés a "káros hatások" pontos definiálása. Az ismételt dózisu toxicitási vizsgálatokban az egyes kiválasztott paraméterek értékeit a kezeletlen kontroll állatok átlagértékeivel hasonlítják össze. A káros hatásokat nem lehet tisztán statisztikai alapon definiálni, mint valamilyen szignifikáns változást a kontrollértékekhez képest.

A NOAEL meghatározásakor egyéb tényezőket is figyelembe kell venni. Ilyenek pl. a hatás súlyossága, dózis- és idő-hatás összefüggések és/vagy dózis- és idő-válasz összefüggések megléte vagy hiánya, egy hatás biológiai relevanciája, reverzibilitása, továbbá egy hatás normál biológiai varianciája, amelyet például a reprezentatív történeti kontrollértékek igazolhatnak (IPCS, 1990).

A hatások károsságának megítéléséhez nagy segítséget nyújthat a paraméterek, pl. klinikai vagy biokémiai és kórszöveti hatások változásai közötti korrelációk megfigyelése. E témával kapcsolatban további információkat a Nemzetközi Kémiai Biztonsági Program (International Programme on Chemical Safety) kiadványaiban (IPCS 1987, 1987, 1990, 1992).

A NOAEL meghatározásának alternatív módszereit, illetve ezek alkalmazhatósági korlátait a 3.4. pont alatt ismertettük.

3.9.5. Az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatok bizonytalansága

A humán egészségügyi kockázatbecslésben a NOAEL értékek használatával kapcsolatos általános bizonytalanságot különböző tényezők befolyásolják, például a fajon belüli és a fajok közötti toxikokinetikai és érzékenységbeli különbségek, továbbá a NOAEL pontosságával kapcsolatos bizonytalanság. A NOAEL pontosságát túlnyomórészt az adatok variabilitása határozza meg, továbbá az adott kísérlet körülményei. Amint azt már jeleztük, a NOAEL meghatározásakor nem használható fel a dózis-válasz görbe alakja.

3.9.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános elvek

Új anyagokra a következő bekezdésekben foglaltak az irányadók. Ahogy azt a 3.1 pont alatt említettük, szükség és lehetőség szerint a meglévő anyagoknál is ezeket kell alkalmazni.

Világos, hogy egyes anyagok esetében az ismételt dózisú toxicitással kapcsolatosan nem találunk majd semmilyen használható információt, úgyhogy vizsgálatokat kell végezni. A kockázatbecslés vagy a forgalmazási szint emelkedése folytán is felmerülhet, hogy további ismételt dózisú toxicitási vizsgálatokra van szükség. Az anyagok ismételt dózisú toxicitásának vizsgálatára az alábbiakban ismertetésre kerülő stratégiát dolgoztuk ki. A stratégia lényege a fokozatos tesztelés, amelynek kiindulási pontja rendszerint a 28 napos vizsgálat, de ezt mindenképpen rugalmasan kell kezelni, és úgy is meg lehet közelíteni a kérdést, hogy először meghatározzuk a szükséges adatokat, majd a leghatékonyabb és az állatok védelmét is figyelembe vevő módon szerezzük meg őket. A stratégia megadja, hogy mikor lehet szükség valamely szervnél vagy szervrendszerrel jelentkező toxicitás (pl. neurotoxicitás) részletesebb vizsgálatára, és hogy hogyan lehet ezeket elvégezni. Ezt a stratégiát az itt megadott egyéb vizsgálati stratégiákkal összhangban kell szükség szerint felhasználni.

Ahogy azt már korábban jeleztük, az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatokat általában egy 28 napos vizsgálatlal kezdjük, és ezt rendszerint patkányokon végezzük. Bizonyos esetekben előfordulhat, hogy az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatot tudományosan megalapozott okok miatt más időtartamú (tipikusan egy 90 napos) teszttel kell kezdeni. Ezeket az okokat a vizsgálati stratégián belül ismertetjük részletesebben. A 28 napos vizsgálatot a 67/548/EGK számú Irányelv határozza meg, mint az új anyagoknál igényelt alaptesztelés során alkalmazandó vizsgálatot. Nem kell azonban elvégezni ezt a tesztet abban az esetben, ha a forgalmazási szint miatt várhatóan nemsokára 90 napos vizsgálat elvégzése válik szükségessé.

Meg kell jegyezni, hogy a 28 napos tesztre vonatkozó OECD vizsgálati irányelvet (407) jelenleg dolgozzák át és várható, hogy a módosított (1992-es) V. melléklet szerinti 28 napos vizsgálatban foglaltakon túlmenően egyéb szempontok is belekerülnek: nagyobb hangsúlyt kapnak a klinikai megfigyelések, a klinikai kémia és a patológia, továbbá olyan anyagok kimutatása, amelyek káros neurológiai vagy immunológiai hatásokat idéznek elő. A 28 napos

vizsgálatra vonatkozó OECD vizsgálati irányelv javasolt módosítása nyomán csökkenthet a kiegészítő vizsgálatok iránti igény. Javasoljuk tehát, hogy amint elfogadják, mindenki ezt a módosított OECD 28 napos tesztet használja minden 28 napos vizsgálatnál.

Az anyag toxicitása alapján veszélyesnek ítélt humán expozíciós szintek esetén további vizsgálatok elvégzése válhat szükségessé: az expozícióbecslés eredménye, illetve a hatás jelleg határozza meg, hogy szükséges-e tovább vizsgálni valamely megfigyelt hatást (azaz, hogy kell-e további vizsgálatokat végezni), és ha igen, mikor.

Ha van egyértelmű bizonyíték arra, hogy valamilyen állatkísérletben megfigyelt hatás embereknél nem jelentkezhetsz (pl. hímpatkányra specifikus szénhidrogén-okozta vese-károsodás), további vizsgálatokra (pl. a "no-effect" level meghatározása az adott hatásra) nincsen szükség.

Függetlenül attól, hogy melyik ismételt dózisu toxicitási tesztet fogják elvégezni, mindig a legmegfelelőbb expozíciós kaput/kezelési módot kell kiválasztani. A megfelelő expozíciós kapu kiválasztásának kritériumai a 3.3 pont alatt találhatóak, ahol a szájon keresztüli (orális) és dermális kapu kiválasztásának kritériumait is ismertettük.

Minden további releváns információt figyelembe kell venni: a toxikokinetikai és egyéb toxicitási adatok, illetve az SAR felhasználható a további vizsgálatok szükségességével és idejével, illetve a vizsgálatok jellegével (pl. a vizsgálat időtartama, milyen tesztek elvégzése szükséges) kapcsolatos döntések meghozatalakor.

Fontos biztosítani, hogy minden új vizsgálatot adekvát protokollok segítségével és nem csak az V. mellékletnek illetve a GLP előírásainak megfelelően végezzük, de figyelembe vegyük a kérdéses anyagot, a vizsgálatok céljait és a humán expozíciós helyzeteket is. Ezeket a szempontokat még a tervezési fázisban érvényesíteni kell, mert ezzel megelőzhetjük az eredménytelen és irreleváns vizsgálatokat, és így a teszttálatok szükségtelen használatát is.

Javasolt, hogy ha lehetséges, a bejelentő és az illetékes hatóság egyeztesse az ismételt dózisu toxicitási tesztek típusát, célját és időtartamát.

3.9.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához

3.9.7.1. Az útmutató ezen részének célja

Célunk, hogy bemutassunk egy hatékony és tudományosan megalapozott ismételt dózisu toxicitás vizsgálati stratégiát, amellyel az állatkísérletek száma minimálisra csökkenthető. Állatkísérleteket csak akkor szabad végezni, ha a jogszabályi előírásoknak megfelelően indokolt, és ha eredményük várhatóan elősegíti a kockázatbecslést. Ennek a stratégiának az alkalmazásával a kockázatbecslést végző hatóság adekvát információkat kaphat egy anyag ismételt dózisu toxicitásáról, és ezt a humán expozíció várható szintjét tekintetbe véve a kockázatbecslés során megfelelő időben felhasználhatja.

Új anyagok

A 2. táblázatban összefoglalt vizsgálati stratégia a forgalmazási szintektől függően adja meg, hogy milyen tesztek kell elvégezni.

Ezt a stratégiát szükség szerint az anyagra vonatkozó egyéb vizsgálati stratégiákkal összefüggésben kell alkalmazni.

2. táblázat. Az új anyagok ismételt dózisu toxicitási vizsgálataira vonatkozó követelmények, ahogy az a 67/548/EGK számú Irányelvben szerepel.

Forgalmazási szint	A szükséges ismételt dózisu toxicitási vizsgálat	Egyéb szükséges releváns vizsgálatok
< 1 t/év	-	
1 t/év	28 napos vizsgálat; a preferált faj a patkány; ellenjavallat hiányában az expozíciós kapu a szájon keresztül (orális)	Toxikokinetikai értékelés, amilyen mértékben ez az alapszintű műszaki dossziében szereplő adatokból vagy más rendelkezésre álló adatokból lehetséges
10/100 t/év	Szubkrónikus és/vagy krónikus, ezen belül specifikus vizsgálatok, amennyiben az alapvizsgálatok eredményei, vagy egyéb adatok (pl. SAR) alapján további megfelelő vizsgálatokat kell végezni	Alapvető toxikokinetikai információk is szükségesek *
1000 t/év	Krónikus toxicitási vizsgálatok; további vizsgálatok az egyes szervekre vagy szervrendszerekre vonatkozó toxicitás vizsgálatára	További toxikokinetikai vizsgálatok a biológiai transzformáció és a farmakokinetika tanulmányozására. Karcinogenitás.

Megjegyzések a 2. táblázathoz:

1, 10 és 100 t/év forgalmazási szintnél a kért információk biztosításától abban az esetben lehet eltekinteni, ha ez technikailag nem megoldható, vagy tudományos szempontból nem szükséges, továbbá, ha ennek indoklását a kockázatbecslést végző hatóság elfogadja (67/548/EGK számú Irányelv, VIIA. és VIII. melléklet).

1000 t/év forgalmazási szintnél abban az esetben nem kell követni a 67/548/EGK számú Irányelvben ismertetett programot, ha "megalapozott érvekkel és bizonyítékkal alátámasztva indokolják, hogy nem kell követni" (67/548/EGK számú Irányelv, VIII. melléklet).

* A vizsgálatokra 10 t/év forgalmazási szintnél esetleg szükség lehet, de 100 t/év szintnél mindenképpen elő kell írni, hacsak a bejelentő megfelelő érvekkel nem indokolja, hogy az adott teszt vagy vizsgálat nem megfelelő vagy egy alternatív tudományos teszt vagy vizsgálat jobb lenne (67/548/EGK számú Irányelv, 7(2) cikkely).

Meglévő anyagok

A stratégiát meglévő anyagok esetében is lehet alkalmazni, amennyiben további vizsgálatok elvégzésére van szükség. A stratégia az új anyagokra megadott forgalmazási szinttől függő vizsgálati követelményeken alapszik és szükség szerint az egyéb vizsgálati stratégiákkal (pl. az expozíciós kapu/kezelési mód megválasztásának stratégiája, vagy a karcinogenitás) összhangban kell alkalmazni.

Az alapvető követelmény szerint a minimálisan meghatározandó adatok megegyeznek azzal, amelyet egy, az V. melléklet szerinti 28 napos ismételt dózisu toxicitási vizsgálatból kapnánk. A meglévő információkat is aszerint kell értékelni, hogy megfelelnek-e ennek a követelménynek. Egy, a releváns (pl. toxikológiai, toxikokinetikai és fizikai-kémiai) tulajdonságokkal és forgalmazási szintekkel, illetve humán expozíciós helyzetekkel (mintákkal) kapcsolatos információkat figyelembe vevő kockázatbecslés eredménye azonban arra utalhat, hogy további ismételt dózisu toxicitási adata van szükség.

3.9.8. A vizsgálati stratégia

3.9.8.1. Előzetes szempontok

Mielőtt egy ismételt dózisu toxicitási vizsgálatához hozzákezdenénk, legalább az alábbi szempontokat megfontolás tárgyává kell tenni:

- az anyag halmazállapota;
- a releváns fizikai-kémiai tulajdonságok (pl. vízdékonyság, Log Pow);
- korábbi toxicitási vizsgálatok eredményei;
- az anyag kémiai szerkezete és szerkezeti hasonlósága más ismert toxicitású anyagokkal (ld. SAR);
- az anyagban jelenlévő szennyezések, továbbá a várható anyagcseretermékek vagy bomlástermékek;
- egyéb releváns kritériumok az inhalációs toxicitási vizsgálatban megadott expozíciós kapu megválasztásához;
- az irodalomban hozzáférhető bármilyen egyéb adat.

3.9.8.2. 28 napos alapvizsgálatok vagy 90 napos vizsgálat a 28 napos helyett

A 28 napos vizsgálat megtervezése során tehát figyelembe kell venni az "Előzetes szempontok" alatt felsorolt tényezőket. Javasoljuk, hogy a vizsgálati protokollt egészítsék ki mindazokkal az egyéb paraméterekkel, például további szövetek morfológiája, vagy további klinikai kémiai vagy hematológiai vizsgálatok, amelyekre nyilvánvalóan szükség van.

Ha egy anyag például nagy szerkezeti hasonlóságot mutat valamilyen ismert pajzsmirigyre ható anyaggal, akkor érdemes lesz felvenni az általános és kórszövettani vizsgálatok körébe a pajzsmirigy vizsgálatát is.

Bizonyos esetekben előfordulhat, hogy az ismételt dózisu toxicitási vizsgálatot tudományosan megalapozott okok miatt más időtartamú (tipikusan egy 90 napos) teszttel kell kezdeni. A 28 helyett 90 napos vizsgálat elvégzésének elfogadható indokai a következők:

- az anyag szisztémás toxicitása várhatóan alacsony, ugyanakkor tüdőfibrózis okozhat (pl. belélegezhető (inhalálható) anyagok, vagy kevésbé oldódó porok);
- az anyag (pl. SAR alapján) várhatóan enyhén toxikus, de a forgalmazási szint magas, vagy várhatóan gyorsan növekszik majd, továbbá elegendő információ áll rendelkezésre ahhoz, hogy egy 90 napos vizsgálatához kiválasszuk a megfelelő és adekvát dózis szinteket;
- a várható hatások jellege olyan, hogy azokat egy 28 napos vizsgálatban valószínűleg nem lehetne detektálni;
- a fenti három közül valamelyik, továbbá, ha az expozíció szintjére és időtartamára vonatkozó helyzet (minta) arra utal, hogy egy hosszabb időtartamú vizsgálat a megfelelő.

Amennyiben ezek a körülmények fennállnak, a 90 napos vizsgálat az állatok védelme érdekében is előnyösebb lehet.

3.9.8.3. További vizsgálatok

Az alapvizsgálatokat követően azonnal további vizsgálatokat kell végezni

Bizonyos esetekben az ismételt dózisu toxicitás további vizsgálatára azonnal szükség lehet. Erre az alábbi körülmények utalhatnak:

- NOAEL nem került meghatározásra;
- különösen veszélyes toxicitás (pl. komoly/súlyos hatások);
- egy olyan hatás (pl. immunotoxicitás) jele, amelynél a rendelkezésre álló bizonyítékok alkalmatlanok a toxikológiai és/vagy a kockázatok jellemzésére;
- az első ismételt dózisu toxicitási vizsgálatban alkalmazott expozíciós kapu a várható humán expozíciós kapu szempontjából nem volt megfelelő, és nem lehetséges a kapuk közötti extrapoláció;
- a kitettséggel kapcsolatos különösen nagy veszély (pl. a fogyasztási cikkekben történő felhasználás mértéke viszonylag magas ahhoz a dózis szinthez képest, ahol az anyag toxikusnak mutatkozott);
- az SAR olyan hatásra utal, amelyet az első vizsgálat nem mutatott ki.

Amennyiben azonnal további vizsgálatra van szükség, ezek típusáról és céljáról minden esetben egyedileg kell dönteni. Lehet, hogy egyszerűen csak újra meg kell vizsgálni valamilyen archivált szövetet, de az is lehet, hogy egy teljesen új vizsgálatot kell végezni (pl. bizonyos szerveknél mutatott toxicitás; egy másik ismételt dózisos vizsgálat valamilyen másik expozíciós kapu alkalmazásával és/vagy hosszabb időtartammal).

Új anyagok 10 t/év mennyiségénél

Új anyagok esetében, ha fennáll valamilyen olyan körülmény, amely alapján az alapszintű vizsgálatokat követően azonnal további vizsgálatokat kellene végezni, de az nem olyan mértékű, hogy tényleg azonnali vizsgálatokat igényelne, akkor rendszerint a 93/67/EGK számú Irányelv 3(4) cikkelye (ii) bekezdését kell alkalmazni, azaz, hogy további vizsgálatokat majd a 10 t/év mennyiség (vagy halmozott mennyiségben az 50 tonna) elérésekor kell végezni. A humán expozícióval kapcsolatos veszélyektől függően azonban a további vizsgálatokat el lehet halasztani a 100 t/év (halmozott mennyiségben 500 tonna) mennyiségi szint eléréséig is.

A 10 t/év mennyiségi szintnél szükséges vizsgálatok jellege és célja tekintetében a döntést ugyancsak minden esetben egyedileg kell meghozni. Legtöbbször 90 napos vizsgálatot szoktak előírni. Javasolt lehet egy olyan vizsgálat is (28 vagy 90 napos), amelyikben másik expozíciós kaput alkalmaznak: irányelvek lásd a 3.3 pont alatt. Bizonyos esetekben ehelyett vagy ezen túlmenően speciális vizsgálatokat kell végezni valamely hatás, például a neurotoxicitás (ld. lejjebb) tanulmányozására.

Új anyagok 100 t/év mennyiségi szintnél

A 67/548/EGK számú Irányelv 7(2) cikkelyének megfelelően, ha egy új anyag forgalmazási szintje eléri a 100 t/év mennyiséget (halmozott mennyiségben 500 tonna), szubkrónikus vagy krónikus vizsgálatot kell végezni feltéve, hogy korábban ilyet még nem végeztek, és nincsenek megalapozott és a kockázatbecslést végző hatóság számára is elfogadható indokok amelyek alátámasztanák, hogy nem szükséges elvégezni ezeket a vizsgálatokat, vagy másik vizsgálatot kell végezni helyette. Ugyancsak szükség lehet egy adott szervre vagy szervrendszerre vonatkozó toxicitás vizsgálata is.

Ha úgy találjuk, hogy a vizsgálatot nem szükséges elvégezni, akkor ezt nagyon alaposan meg kell indokolni, mert a 90 napos (szubkrónikus) vizsgálat képezi az osztályozás alapját, továbbá az egyéb tesztekben (pl. reprodukív toxicitási vizsgálatok, illetve szervekre/szervrendszerekre gyakorolt toxicitás vizsgálata) alkalmazandó dózisszintek beállítására is használható. A szubkrónikus / krónikus vizsgálatok feleslegesnek bizonyulhatnak például nem reaktív, nem oldódó és nem inhalálható anyagok esetében, amelyeknél a 28 napos "limit (határ) teszt"-ben sem adszorpció, sem toxicitás nem jelentkezett, és különösen, ha egy ilyen helyzet korlátozott humán expozícióval párosul. A 90 napos vizsgálat jelentőségét akkor is megfontolás tárgyává kell tenni, ha egy ismert anyag esetében vizsgálati programot kell kidolgozni, de hogy kell-e 90 napos vizsgálatot végezni, és ha igen mikor, azt a rendelkezésre álló toxikológiai, toxikokinetikai, fizikai-kémiai és humán expozíciós adatok alapján kell ledönteni.

A 28 napos vizsgálatot követően végzendő vizsgálatok időtartamát nagy körültekintéssel kell meghatározni: a rendelkezésre álló adatok alapján nehéz meghatározni, hogy egy vizsgálatnál milyen az az optimális időtartam, amely biztosítja az összes célszövet kvalitatív azonosítását, illetve a NOAEL meghatározását és döntésünket elsősorban a várható expozíciós helyzet (minta) befolyásolja majd. Azonban, ha csak nincs jó indok arra, hogy krónikus vizsgálatot végezzünk, és ki lehet dolgozni egy megfelelő protokollt (pl. dózis szintek), a 28 napos vizsgálatot követően további vizsgálatok szükségessége esetén (új anyagok esetében a 100 t/év mennyiségi szint elérésekor) szubkrónikus (90 napos) vizsgálatot kell végezni. Egy 90 napos vizsgálat nélkül sokszor nehéz meghatározni a krónikus vizsgálatnál alkalmazandó dózisszinteket.

Új anyagok 1000 t/év gyártási szintnél

A 67/548/EGK számú Irányelv 7(2) cikkelye alapján új anyagok esetében az 1000 t/év forgalmazási szint elérésekor krónikus toxicitási vizsgálatot kell végezni, ha csak nincsenek erős és megalapozott és a kockázatbecslést végző hatóság számára is elfogadható, illetve bizonyítékokkal alátámasztott érvek amellest, hogy nem szükséges elvégezni ezt a vizsgálatot. Szükség lehet további, szervekre vagy szervrendszerekre vonatkozó toxicitási vizsgálatokra is. Olyan anyagoknál, ahol a forgalmazási szint eléri az 1000 t/év mennyiséget, egy karcinogenitási vizsgálat elvégzését is meg kell fontolni: az alábbiakban ismertetjük, hogy mikor kívánatos kombinált toxicitási-karcinogenitási vizsgálatot végezni, ha ezen tesztek valamelyike szükséges. Meglévő anyagok esetében a krónikus toxicitási vizsgálatok szükségességét minden esetben egyedileg kell meghatározni és ehhez figyelembe kell venni összes rendelkezésre álló humán és állatkísérletes információt, valamint minden egyéb releváns adatot.

Akár új, akár ismert anyagról legyen szó, ilyen magas forgalmazási szintnél már mindenképpen szükség van toxikokinetikai adatokra is. Ezek az adatok azon célszövetek vagy célszervek azonosítására használhatók, amelyeket az anyag, vagy valamely anyagcseretermék elér. Korábbi toxicitási vizsgálatok eredményeivel való összevetéssel meg kell tudni állapítani, ha az anyag vagy valamely anyagcseretermék által elért célszövetben vagy célszervben jelentkező hatások detektálása a korábbi vizsgálatok során nem sikerült, és ezért hosszabb idejű vizsgálatokra van szükség annak eldöntésére, hogy egy olyan szövetben, amelyet a kérdéses anyag, vagy valamely anyagcseretermék bizonyítottan elér, fellépnek-e káros hatások egy hosszabb vizsgálat elvégzése során.

Amikor egy krónikus toxicitási teszt esetleges szükségességét vizsgáljuk, a humán expozíciós szintre vonatkozóan megbízható becslésekre vagy mért adatokra lesz szükségünk, továbbá ismerni kell a humán expozíciós helyzetet (mintát) is (van-e krónikus kitétség?) ahhoz, hogy segíteni tudjunk az illetékes hatóságnak annak eldöntésében, hogy az ismételt dózisú toxicitás alacsonyabb meghatározásához szükség van-e egy hosszabb vizsgálatra.

Olyan anyagok esetében, ahol előfordulhat egész életen át tartó expozíció (pl. háztartási vegyszerek vagy kézi mosószerek), legtöbb esetben el kell végezni egy krónikus toxicitási vizsgálatot.

A patkányokon végzett krónikus toxicitási vizsgálatok minimális időtartama az V. mellékletben foglaltaknak megfelelően 12 hónap. Előfordulhat, hogy a NOAEL meghatározásához hosszabb vizsgálatok (pl. "élettartam-hosszúságú" vizsgálat - patkányoknál 2 év) elvégzése szükséges. Az egész életre kiterjedő vizsgálatoknál azonban a kor előrehaladtával bekövetkező változások zavarhatják a megfigyelt hatások értelmezését. Hosszabb időtartamú vizsgálatok esetén fontos, hogy a kísérleti állatfajt, vagy törzset a rá jellemző ismert életkori (geriátriai) hatások és a vizsgált toxikus hatás összefüggésében válasszuk meg.

A 67/548/EGK számú Irányelv 7(2) cikkelye szerint, ha egy új anyag forgalmazási szintje eléri az 1000 t/év mennyiséget (halmozott mennyiségben 5000 tonnát), karcinogenitási vizsgálatot is kell végezni. Meglévő anyagok esetében azonban nincs törvényi előírás a karcinogenitási vizsgálatra, habár az anyag kockázatbecslése során az esetleges karcinogén hatást is figyelembe kell venni. Az esetleges karcinogén hatások becsléséhez vizsgálati stratégia a 3.11 pont alatt található. Amennyiben egy anyaggal kapcsolatban karcinogenitási vizsgálatot végeznek, a vizsgálati protokollba fel kell venni egy krónikus toxicitási vizsgálatot is.

A gyakorlatban ma már nem csak az a módszer elterjedt, hogy összevontan végezzék a krónikus toxicitási és karcinogenitási vizsgálatokat, hanem az is, hogy kísérő-(szatellit) csoportok segítségével határozzák meg a szisztémás toxicitásra vonatkozó NOAEL-t. A vizsgálat krónikus toxicitási részének időtartamát a fentiekben vázolt tényezők figyelembevételével kell meghatározni.

3.9.8.4. Toxicitás egyes szervek vagy szervrendszerek esetében

Előfordulhat, hogy egyes szisztémás vagy szervi hatások esetében az V. mellékletben, illetve a vonatkozó OECD irányelvben megadott vizsgálati módszerekkel nem lehet adekvát módon jellemezni a toxicitást. Ilyen hatásokra utalhatnak a standard szisztémás toxicitási vizsgálatok vagy az SAR. Előfordulhat, hogy a toxicitás, illetve ezen keresztül a humán egészségügyi kockázatok adekvát jellemzéséhez a vizsgálatok során egyéb publikált, vagy "egyedi", esetleg e célra tervezett módszereket kell igénybe venni. Ezzel kapcsolatban hivatkozások a 3. táblázatban találhatóak. Abban az esetben, ha szükségesnek látszik valamely specifikus szervre vagy szervrendszerre vonatkozó toxicitási vizsgálat elvégzése, fontos, hogy a vizsgálati módszereket a laboratórium a kockázatbecslést végző hatósággal még a vizsgálatok megkezdése előtt egyeztesse, különösen nagy hangsúlyt fektetve a vizsgálati protokollokra. Külön figyelmet érdemel még az élő állatokon végzett kísérletek szükségessége (illetve célja és mennyisége).

Egyes szervek vagy szervrendszerek esetében a speciális toxicitási vizsgálatok (pl. hepatotoxicitás és nephrotoxicitás) az V. melléklet szerinti ismételt dózisú toxicitási vizsgálatok részét képezik. A reprodukív toxicitás vizsgálatára speciális (az V. mellékletben megadott) módszereket kell alkalmazni. Az erre vonatkozó vizsgálati stratégiát a 3.12 pont alatt ismertetjük. Időnként szükség lehet az összes szerve vagy szervrendszerre (pl. vese, szív, mellékvese, pajzsmirigy) vonatkozó toxicitás speciális (vagy további) vizsgálatára is. Ennek módját minden esetben egyedileg kell kidolgozni. Az illetékes hatóságok kérték, hogy jelen vizsgálati stratégiába foglaljuk bele a neurotoxicitás és az immunotoxicitás kérdéskörét is. Külön pontban foglalkozunk továbbá a tüdő túlterhelési jelenségekkel, illetve a fibrózissal.

3.9.8.5. Neurotoxicitás

A neurotoxicitás azt jelenti, hogy a központi, vagy a perifériás idegrendszerben, vagy az érzékszervekben káros hatások indukálódnak. Egy anyagot akkor tekintünk "neurotoxikus"-nak, ha strukturális léziókat, vagy idegrendszeri funkciózavarokat idéz elő. A neurotoxikus anyagokat külön nem osztályozzuk. Az ilyen anyagok a 93/21EGK számú Irányelvben (a 67/548/EGK számú Irányelv VI. melléklete) megadott kritériumok alapján tartozhatnak a nagyon toxikus, toxikus vagy káros vegyi anyagok osztályába.

Az esetleges neurotoxicitás vizsgálata során ajánlatos egymásra épülő megközelítést alkalmazni. Külön figyelmet kell szentelni tehát az akut toxicitási vagy az első ismételt dózisú toxicitási vizsgálat során (akár specifikus, akár nem specifikus - ld. lent) kapott neurotoxicitásra utaló jelekre. Ha a 28 napos vizsgálatnál az OECD új javasolt 28 napos teszt irányelveit alkalmazzuk, az idegrendszeri hatásokat nagyobb hatásfokkal lehet egy 28 napos vizsgálatban tanulmányozni.

Amennyiben sem az akut toxicitási, sem az első ismételt dózisú toxicitási vizsgálat, továbbá az SAR sem mutat neurotoxicitásra utaló jeleket, nem kell speciális neurotoxikológiai vizsgálatokat végezni.

Amikor a standard akut toxikológiai, illetve ismételt dózisú toxikológiai vizsgálatok eredményeit az esetleges neurotoxicitás szempontjából elemezzük, meg kell különböztetni a specifikus neurotoxicitást a nem specifikus neurotoxicitásra utaló jelektől, amelyek egyéb szisztémás toxikus hatások, vagy például fizikai hatások - a bélcsatorna felfúvódása, vagy elzáródása miatt érzett diszkomfort - nyomán másodlagosan jelentkezhettek. Különösen az akut toxicitási vizsgálatok eredményeinek (pl. letargia, illetve testtartási vagy viselkedésbeli változások) elemzésekor kell nagy hangsúlyt fektetni a specifikus és nem specifikus neurotoxicitásra utaló jelek megkülönböztetésére. A letális dózisokhoz közeli vagy afeletti dózisoknál megfigyelt hatásokat önmagukban nem szabad a neurotoxicitás bizonyítékának tekinteni.

Az alábbiakban a csökkenő bizonyítási erő sorrendjében megadjuk azokat a jeleket, amelyek neurotoxicitásra utalhatnak:

- morfológiai elváltozások a központi vagy a perifériás idegrendszerben, vagy egyes speciális érzékszervekben;
- fiziológiai változások (pl. elektroencefalográfiai változások);
- viselkedésbeli változások;
- biokémiai paraméterek (pl. neurotranszmitter szintek) változása.

Arról is meg kell bizonyosodni, hogy vajon az idegrendszer-e az elsődleges célszerv. Különösen veszélyesek lehetnek azok az anyagok, amelyek alacsonyabb dózisban okoznak neurotoxicitást, mint más szervi vagy szervrendszeri toxicitást.

A neurotoxikus hatások reverzibilitását is meg kell vizsgálni. A reverzibilis hatások általában idegrendszeri funkcionális változások. Ezek főleg kísérletes vagy akut (balesetszerű) expozíciók esetében fordulnak elő. A kockázatok jellemzése során meg kell vizsgálni, hogy előfordulhatnak-e ilyen esetek a kitett populációban (vagyis az expozíciós helyzet (minta) és a becsült expozíció akut jellegű). Az irreverzibilis neurotoxikus hatások általában strukturális változásokkal járnak, ennek ellenére embernél legalábbis előfordul, hogy látszólag morfológiai változások nélkül is fellépnek tartós funkcionális hatások (pl. depresszió).

Ha a szisztémás toxicitási adatok egyértelműen specifikus neurotoxicitásra utalnak, és ha van a neurotoxikus hatásokra vonatkozó NOAEL, ez általában elegendő információ a veszélyek beazonosításához, illetve legtöbbször a kockázatok jellemzéséhez is, ami a neurotoxicitást illeti. Ilyen körülmények között általában nincs szükség további vizsgálatokra, különösen neurotoxicitási vizsgálatokra. Bizonyos esetekben azonban szükség lehet a neurotoxicitás további speciális vizsgálatára (pl. egy hosszabb időtartamú vizsgálatra a NOAEL szint jobb meghatározása érdekében). Az ezzel kapcsolatos döntést minden esetben egyedileg, és szakértői vélemény alapján kell meghozni.

Amennyiben a standard szisztémás toxicitási vizsgálatok adatai neurotoxicitásra utalnak, de az adatok nem alkalmasak a kockázatok jellemzéséhez, meg kell vizsgálni, hogy milyen további vizsgálatokat kell elvégezni. Sok esetben bele lehet építeni egy specifikus neurotoxicitási tesztet bármely standard (28 napos vagy 90 napos) toxicitási vizsgálatba, amelyet, mint további vizsgálatot tervbe vettünk. Más esetekben önálló specifikus vizsgálatra lehet szükség. A kockázatbecslést végző hatóságnak és a laboratóriumnak azonban minden esetben egyeztetnie kell a további vizsgálatok szükségességét, illetve a vizsgálati módszereket még mielőtt további vizsgálatokat indítanának.

Amikor döntést hozunk arról, hogy szükség van-e további vizsgálatokra, és ha szüksége van akkor milyenekre, illetve mikor kell ezeket elvégezni, figyelembe kell venni mind a várható humán expozíciós helyzetet (mintázat) és annak expozíciós szintjét, mind pedig az eddigi vizsgálatok, vagy in vitro adatok, vagy az SAR alapján várt veszélyeket. Új anyagok esetében az alapszintű vizsgálatok után azonnali további vizsgálatokra akkor lehet szükség, ha mind a hatások, mind a humán expozíció esetében nagyok a veszélyek, ha azonban a lehetséges humán kitettség viszonylag alacsony azokhoz a dózisokhoz képest, ahol a hatások előfordultak, vagy előfordulhatnak, akkor ezeket a vizsgálatokat el lehet halasztani a 10 vagy 100 t/év mennyiségi szint (halmozott mennyiségben 50 vagy 500 tonna) eléréséig. Az ilyen további vizsgálatok módját (dózis szintek, az expozíciós kapu és időtartama) a kérdéses anyag anyagcseréjével vagy toxikokinetikájával kapcsolatos ismert vagy feltételezett tényezők is befolyásolhatják.

Amennyiben az akut, és/vagy a 28 napos vizsgálatok eredményei neurotoxicitásra utalnak, továbbá ha a humán expozíció várható szintje azokhoz a dózis szintekhez képest, ahol a hatások jelentkeztek, viszonylag magas, azonnal szükségessé válhat a további vizsgálatok elvégzése (vagy új anyagok esetében akkor, amikor a forgalmazási szint eléri a 10 t/év mennyiséget (halmozott mennyiségben 50 tonna)). Az expozíció időtartama is fontos tényező a specifikus neurotoxikus hatások detektálásakor. A rövid ideig tartó csúcshatású kitettségeknél jelentkező neurotoxikus hatásokat egyes illékony szerves oldószerek esetében már nagyrészt

azonosították - főleg a munkahelyi expozíció esetében. A várható hatások detektálására kifejezett módszereket alkalmazó akut inhalációs vizsgálatok jelentik az ideális megoldást az ilyen anyagok, illetve hatások esetében. A hatásmechanizmus szabja meg, hogy mennyi ideig kell tartania a kitettségeknek ahhoz, hogy a specifikus neurotoxikus hatások jelentkezzenek.

A neurotoxicitási vizsgálatokhoz nagy körültekintéssel kell kiválasztani a kísérlethez használandó állatfajt vagy törzset. Patkányokon végzett kísérletek esetében bizonyos hatások funkcionális detektálása nehézségekbe ütközhet (pl. speciális érzékszervi hatások): ahol ilyen hatásokat feltételezünk, a kórszöveten adhat érzékeny eszközt a kezünkbe a hatások detektálásához. Bizonyos anyagokat és/vagy bizonyos hatásokat jobban lehet vizsgálni egyes fajokban, mint másokban (pl. a tyúk a legjobb tesztorganizmus a szerves foszfátok által előidézett késleltetett neurotoxicitás kimutatásához).

A további neurotoxicitási vizsgálatok használandó legalkalmasabb módszer kiválasztásának alapját a standard szisztémás toxicitási vizsgálatokban megfigyelt hatások és/vagy az SAR-ok előrejelzése képezik. Az alkalmas módszerekről részletes összefoglalást a WHO (1986) és az ECETOC (1992) közöl, továbbá egyeseket a 3. táblázatban is feltüntettünk.

* Részletes ismertetőt a Hivatkozások alatt megadott ECETOC (1992), WHO (1986) vagy Mitchell (1982) közöl.

3. táblázat Neurotoxicitási vizsgálati módszerek

Hatás	Módszerek	Hivatkozások*
Morfológiai változások	Neuropatológia. Makroszkópikus anatómiai technikák. Immuncitokémia. Speciális festési eljárások	Krinke, 1989; O'Donoghue, 1989; Mattsson et al., 1990
Fiziológiás változások	Elektrofiziológia (pl. NCV, EEG, kiváltott potenciálok).	Fox et al., 1982; Rebert, 1983; Mattsson & Albee, 1988
Viselkedésváltozások	Funkcionális megfigyelések. Szenzoros funkcionális tesztek. Motoros funkcionális tesztek (pl. lokomotoros aktivitás). Kognitív funkcionális tesztek.	Robbins, 1977; Tilson et al., 1980; Cabe & Eckerman, 1982; Pryor et al., 1983 Moser & McPhail, 1990
Biokémiai változások	Neurotranszmitter analízisek. Enzim/fehérje aktivitás. Sejtintegritási vizsgálatok.	Dewae & Moffett, 1977; Damstra & Bondy, 1982; Cooper et al., 1986

3.9.8.6. Immunotoxicitás

"Immunotoxikusnak nevezzük egy anyagnak azt a tulajdonságát, hogy káros hatást gyakorol az immunrendszerre: azaz az érintett egyéneknél megváltozik az immunválasz. Nem minden anyag van hatással az immunrendszerre. Egyes anyagok viszont immunszuppressziót okozhatnak, ami azt jelenti, hogy csökken a kórokozókkal szembeni ellenállás és nőhet az onkogénekkal szembeni érzékenység. Más anyagok viszont növelhetik

az immunrendszer reaktivitását, aminek eredményeképpen az immunotoxikus anyagokkal szemben hiperszenzitivitás alakulhat ki, vagy nőhet az autoimmun reakciók kockázata.

A hiperszenzitivitás körébe tartozik a bőr és légúti szenzibilizáció is: a bőrszenzibilitás kérdésével a VII. mellékletben megadott vizsgálati programban foglalkozunk. Habár már kidolgoztak, illetve jelenleg is fejlesztenek módszereket arra, hogy azonosítsák a légúti szenzibilizációt okozó anyagokat, ezen módszerek alkalmazhatóságát még nem sikerült megnyugtatóan igazolni, és használatuk sem túlságosan elterjedt.

Jelenleg a légúti szenzibilizációt okozó anyagok osztályozása legtöbbször humán adatok, illetve ismert légúti szenzitiválókkal való szerkezeti hasonlóság (SAR) alapján történik. A bőr- és légúti szenzibilizáció részletesebb tárgyalását jelen útmutatóban nem részletezzük: a jelenlegi tudományos megítélés további részletei az ECETOC dokumentumokban található (ld. a Hivatkozásoknál).

Az alábbiakban ismertetett módszer legfontosabb immunotoxicitási aspektusa az immunszuppresszió. A vizsgált mutatók alkalmasak az autoimmun reakciók kiváltásának jelzésére is.

Az új anyagok esetleges immunotoxicitásának vizsgálatára szolgáló javasolt módszer alapja, hogy a legtöbb immunotoxikus anyagot a standard szisztémás toxicitási teszttel ki lehet mutatni, különösen ha az OECD 28 napos tesztekre vonatkozó vizsgálati irányelveinek (ld. lent) javasolt módosításában foglaltakat alkalmazzuk. Immunotoxikus hatások jellemzésére szolgáló speciális vizsgálatokat csak akkor kell végezni, ha ez a kockázatok adekvát jellemzéséhez szükséges. Az ilyen speciális vizsgálatok módjáról, illetve konkrét időpontjáról minden esetben egyedileg kell dönteni. Különösen in vivo tesztek nem szabad anélkül elvégezni, hogy előzőleg alaposan megvizsgálánánk ezek szükségességét. Az immunotoxicitási kockázatok rutin toxikológiai vizsgálatának módszerét Basketter et al. (1993) írták le.

Az OECD 28 napos vizsgálati irányelveinek tervezett módosítása az V. melléklet szerinti vizsgálatokban előírt össz-, és differenciált fehérvérsejt-számlálás és lép-kórszövettan mellett előírja a thymus és a lép súlyvizsgálatát, továbbá bizonyos szövetek (pl. thymus, nyirokerek és távoli nyirokmirigyek, csontvelő) kórszövetteni vizsgálatát is. A fenti szövetek mindegyike rendelkezik immunológiai funkcióval, így megváltozásuk jó indikátora lehet az immunrendszert érő káros hatásoknak.

A 28 napos vizsgálatban a fenti kiegészítő vizsgálatokat ajánlatos az összes kontroll és nagy-dózissal kezelt állaton elvégezni, továbbá minden állatnál meg kell mérni a thymus és a lép súlyát is. Az előírt szöveteket minden egyes dóziscsoportban és minden állatnál tartósítani kell. Ha a nagy-dózisú állatokból vett szövetminták jelentős elváltozásokat mutatnak, a kisebb dózisú csoportoknál is el kell végezni a vizsgálatot és meg kell próbálni meghatározni a NOAEL-t.

Ha csontvelő-elváltozásokat látunk, ezt csontvelőkenet segítségével számszerűsíthetjük: egy olyan anyag esetében, ahol (pl. SAR alapján) valószínűsíthető az immunotoxicitás, e célra már előre érdemes elkészíteni csontvelő keneteket. (Az ECETOC egyik speciális munkacsoportja jelenleg vizsgálja azt a kérdést, hogy mi minősüljön "jelentős" elváltozásnak immunológiai paraméterek esetében.)

Amennyiben sem a 28 napos vizsgálat sem az SAR alapján nincs immunotoxicitásra utaló jel, normális esetben nem kell további speciális immunotoxicitási vizsgálatokat végezni. Ha

azonban további szisztémás toxicitási vizsgálatokat végeznek, akkor a fent leírt módon a potenciális immunotoxicitást is vizsgálni kell.

Minden esetben egyedileg kell megvizsgálni, hogy szükség van-e egy esetlegesen immunotoxikus anyag részletesebb immunotoxicitási vizsgálatára az alap ismételt dóziszú vizsgálatban. Olyan anyagok esetében, ahol az SAR immunotoxicitásra utal, de a 28 napos vizsgálat alapján nincs erre utaló jel, ugyancsak meg kell fontolni a további immunotoxicitási vizsgálatok lehetőségét. Az ilyen további immunotoxicitási vizsgálatok konkrét időpontjáról egyrészt a megfigyelt vagy várható hatások, másrészt a humán expozíció várható nagyságának figyelembe vételével kell dönten. További meghatározó tényező a hatások súlyossága, ezek humán egészségügyi jelentősége, illetve a kitett populáció(k) jellege (pl. dolgozók és/vagy fogyasztók).

Az immunfunkciók (pl. T-sejtek funkcionális vizsgálata olyan anyagoknál, amelyek kórszövettani elváltozásokat okoznak a thymusban) további vizsgálatára csak abban az esetben van szükség, ha az ilyen vizsgálatok eredményeit a kockázatbecslés szempontjából értékelni lehet. Sok esetben a morfológiai elváltozások megfigyelése, illetve az elváltozásokhoz tartozó NOAEL érték meghatározása már elegendő lehet.

Ahogy azt már korábban említettük, a kockázatbecslést végző hatóságnak ajánlatos egyeztetnie a vizsgálatokat elvégző laboratóriummal a további immunotoxicitási vizsgálatok szükségességét, továbbá ha a vizsgálatokra szükség van, akkor az alkalmazandó vizsgálati módszereket, illetve a vizsgálat menetét is még azok megkezdése előtt kell megbeszélni.

3.9.8.7. Túlterhelési jelenségek és a tüdőfibrózis

Az inhalálható (belélegezhető), vízben és zsírokban kevésbé oldódó, továbbá gyenge szisztémás toxicitású anyagok is károsíthatják a tüdőt (a tüdő tisztulásának irreverzibilis károsodása, tüdőfibrózis és tüdőtumor kialakulása), amit "túlterhelési jelenségekkel" lehet magyarázni.

Az oldhatatlan porokkal kapcsolatos adatok arra utalnak, hogy a munkahelyeken úgy lehet elkerülni a túlterhelés nyomán fellépő hatásokat, ha az adott anyag atmoszférikus koncentrációját az anyag $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ egységben kifejezett sűrűsége alatt tartjuk (vagyis ha az anyag sűrűsége 1,6, akkor az atmoszférikus koncentrációt $1,6 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ alatt kell tartani).

A fentiekben megfogalmazott alapelv azonban nem vonatkozik azokra az anyagokra, amelyek a túlterhelést okozó koncentrációk alatti mennyiségben citotoxikusak: az ilyen anyagok alacsonyabb koncentrációban is tüdőfibrózist okozhatnak. Javasolt tehát, hogy az belélegezhető (inhalálható), kevésbé oldékony és gyenge szisztémás toxicitást mutató anyagokat az ismételt dóziszú toxicitási vizsgálatokat követően megfelelő citotoxicitási tesztek (pl. primer makrofág kultúrák vagy epiteliális sejtvonalak in vitro alkalmazásával; vagy a broncho-alveoláris öblítőfolyadék analízisével (Henderson, 1989)) alkalmazásával azonnal tovább vizsgálják. A vizsgálatok során pozitív (pl. kvarc) és negatív (pl. TiO_2) kontroll anyagokat is alkalmazni kell. Amennyiben a citotoxicitási vizsgálat eredményei negatívak, nem szükséges a tüdőfibrózis további vizsgálata.

Amennyiben az anyag citotoxikusnak minősül, a fibrotikus elváltozásokat megfelelő időtartamú ismételt dóziszú inhalációs teszt alkalmazásával kell megvizsgálni, hogy meg tudjuk határozni a NOAEL-t. Amennyiben végeztek olyan 28 napos vizsgálatot, amelyben az

inhalációs útvonalat alkalmazták, lehet hogy már vannak fibrotikus elváltozásokra utaló adatok, sőt lehet, hogy NOAEL-t is meghatároztak. Amennyiben egy új anyag esetében a NOAEL meghatározásához hosszabb időtartamú inhalációs vizsgálat szükséges, a vizsgálat elvégzésének konkrét időpontját a humán expozíció várható nagysága, illetve a dózis-válasz összefüggésekkel kapcsolatos információk mennyisége határozza meg. Amennyiben a humán expozíció nem ellenőrzött (pl. az anyag fogyasztói termékekben van jelen), illetve ha a toxicitási tesztek nem szolgáltatnak elegendő információt az inhalációs koncentrációkra adott válaszokkal kapcsolatban, haladéktalanul további vizsgálatok elvégzésére lehet szükség (pl. az alapvizsgálatokat követően azonnal).

Meglévő anyagok esetében a rendelkezésre álló és releváns információk, illetve a fenti kritériumok figyelembe vételével mindig egyedileg kell elbírálni az ilyen ismételt dózisu inhalációs tesztek szükségességét.

3.10. Mutagenitás

3.10.1. Bevezető

A kockázatbecslések során vizsgálni kell az esetleges "mutagén" hatásokat is. A rendelkezésre álló adatok közül némelyek várhatóan a genetikai anyagot érő káros hatások ("genotoxicitás") vizsgálatát célzó tanulmányokból származhatnak. Ez utóbbi toxikológiai célpont nem feltétlenül kapcsolódik a mutagenitáshoz, de esetleg ennek is vizsgálat tárgyát kell képeznie. Az alábbiakban tehát mind a "mutagenitás", mind a "genotoxicitás" kifejezést alkalmazzuk.

3.10.1.1. A mutagenitás és a genotoxicitás definíciója

A kromoszómális DNS illetve az emlős sejtekben hozzá kapcsolódó fehérjék kémiai és szerkezeti komplexitása, továbbá a genetikai anyag megváltoztatásának számtalan lehetséges módja miatt igen nehéz precíz és diszkrét definíciókat kialakítani.

A mutagenitás azt jelenti, hogy egyes sejtekben, vagy organizmusokban a genetikai anyag mennyisége vagy szerkezete tartós és öröklődő változásokat szenved. Ezek a változások, vagy más néven "mutációk" érinthetnek egy-egy gént, vagy génrészletet, esetleg egy egész géncsoportot vagy egy teljes kromoszómát is. A teljes kromoszómákat érintő hatások lehetnek szerkezeti és/vagy számbeli hatások.

A genotoxicitást szélesebb értelemben használják és olyan, a genetikai anyagot közvetve vagy közvetlenül érintő potenciálisan káros hatásokat értünk alatta, amelyek nem feltétlenül kapcsolódnak mutagenitáshoz. A genotoxicitási tesztek között tehát a mutagenitási tesztek mellett vannak olyanok is, amelyekkel a DNS-szintézis zavar (UDS, unscheduled DNA synthesis), testvér kromatida kicserélődési (SCE, sister chromatid exchange) vagy mitotikus rekombináció által indukált DNS-sérülések (de nem a mutáció közvetlen bizonyítékai) mutathatók ki.

3.10.1.2. Az anyagok mutagenitási és genotoxicitási vizsgálatának célja

A sejtek genetikai anyagának káros megváltozásai bekövetkezhetnek spontán, illetve indukált módon (pl. ionizáló vagy ultraibolya sugárzás, továbbá genotoxikus anyagok hatására) is.

Elvben a mutagén anyagok hatására várhatóan nő a mutációs gyakoriság (az alap mutációs ráta felett).

A testi (szomatikus) sejtek mutációi lehetnek letálisak, vagy a leánysejtekbe átöröklődve gyengén káros, súlyos vagy letális hatással lehetnek az érintett szervezetre (pl. ha a mutáció proto-onkogéneket és/vagy tumor szupresszor géneket érint).

Ma már számos bizonyíték van arra, hogy hosszú időtartamú állatkísérletekben az anyagok in vivo mutagenitása és karcinogenitása között szoros pozitív korreláció áll fenn. Egyes ismert karcinogének azonban - úgy tűnik - nem a genotoxikus útvonalon keresztül hatnak (vagyis kezdetben anélkül fejtik ki karcinogén hatásukat, hogy az anyag maga, vagy annak valamely anyagcsereterméke közvetlen interakcióba lépne a DNS-sel). Az ilyen anyagok karcinogenitása tehát genotoxicitási tesztekben nem mutatkozik meg.

Ha az expozíció következtében a szülők ivarsejtjeiben jönnek létre mutációk, akkor ez az utódokra, sőt esetleg a későbbi generációkra is átöröklődő károsodásokat okozhat. Mai tudásunk szerint az összes olyan mutagén, amely az ivarsejtekre hat, in vivo a szomatikus sejtekre nézve is mutagén. Ennek fordítottja azonban nem áll fenn. Egyes, a szomatikus sejtekre ható mutagének nem okoznak öröklődő károsodásokat, mivel ezek az anyagok, illetve anyagcseretermékeik nem érik el, és így nem károsítják az ivarsejtek genetikai anyagát.

A genotoxicitási vizsgálatokkal célja tehát az, hogy meghatározzuk egy anyag genotoxikus karcinogenitási potenciálját, illetve hogy okozhat-e öröklődő károsodásokat emberekben. A genotoxicitási adatokat a kockázatok jellemzésénél, továbbá az anyagok osztályba sorolásakor használhatjuk fel.

3.10.1.3. Az V. mellékletben felsorolt mutagenitási és genotoxicitási vizsgálatokból nyerhető információk

Az V. mellékletben számos, az anyagok genotoxicitásának és mutagenitásának vizsgálatára szolgáló módszert ismertetünk. Egyesek in vitro, mások viszont in vivo módszerek. Mindegyik a kérdéses anyag genotoxicitásának valamelyik specifikus aspektusát (vagy aspektusait) vizsgálja. Bármely megfigyelt változást általában kapcsolatba lehet és kell hozni a vizsgált anyag alkalmazott dóziséval vagy koncentrációjával. Különösen az in vitro vizsgálatok esetében kell információkat kapni a megfelelő exogén anyagcsere rendszer (pl. "S9" indukált patkánymájból) esetleges hatásairól (aktiválás vagy inaktiválás).

A 67/548/EGK számú Irányelv értelmében új anyagoknál olyan mértékben szükséges a mutagenitási potenciál vizsgálata, hogy ez alapján mindegyik megadott forgalmazási szintre megfelelően lehessen jellemezni a kockázatokat, illetve el lehessen dönteni, hogy szükség van-e további vizsgálatokra, illetve osztályozásra és minősítésre.

3.10.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.10.2.1. Minimálisan szükséges adatok

Ahogy az a 67/548/EGK számú Irányelv VII. mellékletében szerepel, minimálisan legalább az alábbi két genotoxicitási teszt eredményei szükségesek:

Bakteriális génmutációs és kromoszóma-aberrációs teszt, amelyeket egyéb megfontolás hiányában in vitro kell elvégezni.

A fenti követelmények alól van néhány kivétel ilyen, például ha anyag forgalmazási szintje meghaladja a 100 kg-ot, de nem éri el az 1 t/év mennyiséget. Ilyenkor csak a bakteriális génmutációs teszt, vagy - bizonyos esetekben, ha például az anyag jelentős bakteriális vagy bakteriosztatikus aktivitással rendelkezik - egy ezzel egyenértékű alternatív vizsgálat elvégzése kötelező.

3.10.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Meglévő anyagok esetében nagy mennyiségben állhatnak rendelkezésre in vitro és/vagy in vivo vizsgálati eredmények, de előfordulhat, hogy ezek a vizsgálatokat a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében felsorolt módszerektől eltérően végezték.

Az új anyagokra megadott vizsgálati stratégia (EC, 1993) különböző elemeiből is származhatnak adatok. Ilyenkor azt is meg kell állapítani, hogy ezek a vizsgálatok megfelelnek-e a vizsgálati stratégia irányelveinek. Meglévő anyagok esetében nem kötelező az új anyagokra vonatkozó stratégiában felsorolt összes teszt elvégzése, mert a sokféle rendelkezésre álló toxikológiai adat ezt szükségtelenné teheti. Egy adekvát negatív in vivo genotoxicitási adatbázis például sokkal nagyobb jelentőséggel bírhat, mint egy korlátozott méretű in vitro adatbázis.

Humán adatok:

Ritkán ugyan, de rendelkezésre állhatnak humán genotoxicitási hatás adatok.

Állatkísérletes adatok:

Adatok az alább felsorolt típusú vizsgálatokból származhatnak:

- csontvelő mikronukleusz és/vagy citogenetikai tesztek (bone marrow micronucleus and/or cytogenetics tests);
- emlős ivarsejteken végzett citogenetikai vizsgálatok (mammalian germ cell cytogenetics studies);
- domináns letális tesztek (dominant lethal tests);
- pont-tesztek egérben (mouse spot tests);
- öröklődő transzlokációs tesztek egérben (mouse heritable translocation tests);
- in vivo vagy in vitro UDS (DNS szintézis zavar) tesztek (in vivo/in vitro USD tests);
- SCE (testvér kromatida kicserélődési) tesztek (SCE tests);
- a "kontakt"-szöveteket (pl. bőr, vagy a légúti illetve gasztrointesztinális rendszer epitéliuma) tanulmányozó vizsgálatok.

Egyéb adatok:

Az V. mellékletben számos in vitro teszt található, amelyek közül egyesek a szükséges alapadatokat (ld. fent) biztosítják, és amelyeknek közül több eredménye a már rendelkezésre álló információk közé tartoznak (pl. emlős sejteken végzett génmutációs illetve

transzformációs tesztek; UDS; SCE). Számos gerincteleneken (különösen *Drosophila melanogaster*en), gombákon (*Saccharomyces cerevisiae*) és növényeken (pl. *Allium cepa* gyökércsúcsán) végzett vizsgálat is rendelkezésre állhat. Az ilyen adatok relevanciája a hatás értékelése szempontjából nem mindig egyértelmű, úgyhogy minden esetben egyedileg kell elbírálni.

A hatások értékeléséhez jól használható adatokat toxikokinetikai (és anyagcsere) vizsgálatokból; makromolekula kötési tesztekéből; az anyag reaktivitásával és elektrofilitásával kapcsolatos információkból, illetve genotoxicitásra utaló "szerkezeti vészjegyek" meglétéből vagy hiányából is kaphatunk.

3.10.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

Habár a 67/548/EGK számú Irányelv VII. mellékletében megfogalmazott alapadatokra vonatkozó követelmények alapján a legtöbb *in vivo* genotoxikus anyag detektálható, előfordulhat, hogy a veszélyek azonosítása, vagy az *in vitro* teszteknel jelentkező hamis pozitív előrejelzések kizárása érdekében további vizsgálatokat kell végezni. Az anyagok mutagenitási potenciáljának meghatározásakor ezen kívül a más forrásokból származó adatokat is figyelembe kell venni, ahogy azt már a 3.10.2 pont alatt felvázoltuk.

Az adatok számos azonos módszerrel végzett vagy azonos célpontú, de egymásnak ellentmondó eredményekre jutó vizsgálatból származhatnak. A különböző módszerek megbízhatóságának, továbbá a bizonyítékok súlyának szakértői véleményezése alapján azonban ilyenkor is konklúzióra juthatunk a veszélyekkel kapcsolatosan.

Az egymásnak ellentmondó eredményeket azok jelentősége alapján kell mérlegelni. Ennek során többek között az alábbi szempontokat kell figyelembe venni:

- a nem emlős rendszereken, illetve emlős sejteken végzett vizsgálatok egymással ellentétes eredményei esetében az ellenmondások feloldásához további adatokra lehet szükség;
- indikátor módszerek (pl. UDS) eredményei, amelyeket a mutagenitási tesztek eredményei nem támasztanak alá. A mutagenitási tesztek általában nagyobb jelentőséggel bírnak, mint az indikátor tesztek;
- az *in vivo* és *in vitro* adatok szembenállása. Az adekvát *in vivo* teszteknek a kockázatbecslés szempontjából általában nagyobb megbízhatóságot kell tulajdonítani, mint az *in vitro* módszereknek.

A "pozitív" genotoxicitási teszteredmények értékelésekor nagy körültekintéssel kell eljárni, ha a válaszok csak olyan koncentrációknál jelentkeznek, ahol az anyag nagyon toxikus vagy citotoxikus, továbbá mérlegelni kell a dózis-válasz összefüggések meglétét vagy hiányát is az adatok biológiai jelentőségének meghatározásakor. Különleges figyelmet kell szentelni annak a kérdésnek is, hogy a vizsgálati protokollok ne okozzanak hibákat (pl. nagyon alacsony pH vagy nagy ozmolaritás alkalmazása *in vitro* citogenetikai teszteknel "hamis pozitív" eredményeket produkálhat).

A "negatív" teszteredmények értékelésekor az alábbi szempontokat kell figyelembe venni:

- az alkalmazott dózisok vagy koncentrációk (elég magasak voltak?);
- a vizsgált anyag illékonyasága (az *in vitro* tesztekben fenntartották a koncentrációkat?);

- in vivo vizsgálatok esetében arra utaló bizonyíték, hogy a vizsgált anyag elégséges koncentrációban érte el a célszövetet;
- az anyag reakcióképessége (pl. a hidrolízis sebessége, elektrofilitás).

A tudományos szempontból elfogadható, de az V. mellékletben felsorolt módszerektől eltérően végzett vizsgálatok is hozzájárulnak a genotoxicitás "mellett szóló bizonyítékok súlyához".

A humán adatok, illetve azok relevanciáját a rendelkezésre álló technikák korlátai miatt minden esetben egyedileg kell elbírálni. Az irodalomban, illetve másutt jelenleg is folyik a vita a megfigyelt humán genotoxicitási hatások értelmezésével, illetve a kromoszóma aberrációk rákkockázati jelentőségével kapcsolatosan (ld. pl. Hagmar et al., 1994).

3.10.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Genotoxikus anyagok esetében ésszerű az a feltételezés, hogy az expozíciónak nem létezik olyan küszöbértéke, amely alatt a hatások nem jelentkeznek, hacsak ennek ellenkezőjét nem sikerül igazolni pl. a hatásmechanizmus vizsgálata alapján. A gyakorlatban természetesen nehéz elfogadható módon igazolni a küszöbérték meglétét. Azonban sok olyan vizsgálati típus létezik, amelyeknél a legtöbb esetben lehet némi adatot gyűjteni a hatások (pl. gyakoriság és súlyosság), illetve a vizsgált anyag alkalmazott dózisa vagy koncentrációja közötti összefüggésekről.

3.10.5. A mutagenitási és genotoxicitási vizsgálatok bizonytalansága, útmutató a további vizsgálatokhoz

Egyfajta bizonytalanság származhat a mutagenitási tesztek ellentmondásos eredményeiből. Ha a bizonytalanságot a meglévő adatok minősége okozza, az összes releváns információ (többek között a felhasználási formák, a humán expozíció várható mértéke, továbbá a korábban megfogalmazott döntések és szempontok) figyelembevételével mérlegelni kell a további genotoxicitási vizsgálatok lehetőségét is. A további vizsgálatokat elvben a 3.10.7 pont alatt ismertetésre kerülő vizsgálati stratégia alapján kell elvégezni. Ha azonban egy ismert anyagnál a meglévő genotoxicitási adatok tudományos szempontból elfogadhatók, akkor nem kell ragaszkodni az új anyagokra érvényes merev vizsgálati stratégiához. Ha egy ismert anyag egy bakteriális génmutációs teszt és egy citogenetikai teszt eredményeinek adekvát értékelése alapján nem mutatkozik genotoxikusnak, akkor lehetséges, hogy nem kell további genotoxicitási vizsgálatokat végezni, kivéve akkor, ha a kitétség miatt általános veszélyekkel kell számolni.

Nem kell a teszteket elvégezni azokban az esetekben, ha ez technikailag megoldhatatlan, vagy ha a jelenlegi tudományos álláspont alapján nem szükséges. Ha azonban mégis szükség van in vivo genotoxicitási tesztekre, ezeket bizonyítottan megbízható és széles körben elismert módszerekkel, illetve lehetőleg az V. mellékletben foglaltak szerint kell elvégezni. Az in vivo kísérletek minimális számát az információ igény alapján kell meghatározni.

3.10.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek

Új anyagok esetében az alábbiakban leírtakat kell alkalmazni. Ha lehet és fontos, meglévő anyagoknál is ezeket kell alkalmazni, ahogy az a 3.1 pont alatt szerepel.

Nyilvánvaló, hogy bizonyos esetekben nincs használható adat az anyag mutagenitásáról ezért vizsgálatok elvégzésére lesz szükség. A kockázatbecslés eredményeként, illetve egy új anyag forgalmazási szintjének növekedése miatt is felmerülhet, hogy további mutagenitási vizsgálatokat kell végezni. A mutagenitási vizsgálatokra kidolgozott stratégiát a 3.10.7 pont alatt ismertetjük. A stratégia alapja a lépcsőzetes tesztelés, amelynek során össze kell gyűjteni a 67/548/EGK és a 93/67/EGK számú Irányelvek által megkívánt adatokat és információkat, azoknak megfelelően osztályba kell sorolni és címkézni kell az anyagokat, továbbá minden forgalmazási szinthez adekvát kockázat jellemzést kell készíteni. Ez a stratégia lehetővé teszi, hogy az adatokat nagy hatékonysággal, tudományos alapossággal kiválasztott vizsgálatok segítségével gyűjtsük össze a költségek és az állatkísérletek számának minimalizálása mellett.

A stratégia világos útmutatást ad, de egyben kellően rugalmas is és jól adaptálható az adott körülményekhez. A későbbiekben az alkalmazási tapasztalatok és a genotoxicitási vizsgálatok fejlesztésében bekövetkezett változások fényében felül kell vizsgálni és szükség szerint módosítani kell a stratégiát. Azt is vizsgálni kell, hogy mennyire hasznos, ha az első negatív eredménnyel végződő szomatikus sejteken végzett in vivo vizsgálatot másodszor is elvégezzük, illetve ha három negatív eredményű teszt után egy negyediket is elvégezzünk.

A 3.10.7 pontban ismertetjük a vizsgálati stratégia alkalmazását olyan anyagokra, amelyeknél in vivo alap kromoszómás hatásvizsgálatokat végeztek.

Ahol lehet, a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében megadott módszereket kell használni, de más módszerekkel is lehet dolgozni, amennyiben alkalmazhatóságuk igazolt és/vagy tudományosan megalapozott. Fontos, hogy a vizsgálatokat szigorú protokollok alapján végezzük el, mert így maximalizálhatjuk az esetleges mutagén hatások detektálási valószínűségét, illetve biztosíthatjuk azt, hogy a negatív eredményeket is el lehessen fogadni, továbbá hogy a különböző laboratóriumokban kapott eredmények összehasonlíthatóak legyenek.

Minden genotoxicitási vizsgálatnál, legyen az in vitro vagy in vivo, úgy kell megválasztani a koncentrációkat/dózisokat, illetve az adagolás módját/az expozíció kapuját, hogy az adott korlátok között (toxicitás, oldhatóság, stb.) a tesztanyag és/vagy anyagcseretermékei a célsejteknel megfelelő kitettséget okozzanak.

Új anyagok

Ahogy azt már jeleztük, a mutagenitási vizsgálatoknál a stratégia célja, hogy fokozatosan addig bővítsük a genotoxicitási adatbázist, amíg össze nem gyűjtöttük az előírt adatmennyiséget. E stratégia során a kezdeti szűrés általában csak két in vitro vizsgálatot történik. In vivo vizsgálatokból is csak annyit szabad végezni, amennyi a megfogalmazott célok eléréséhez feltétlenül szükséges. A stratégia alkalmazása során szép sorjában kell haladni, és nem kell elvégezni mindazokat a vizsgálatokat, amelyek technikailag nem megoldhatók, vagy az aktuális tudományos ismeretek alapján nem látszanak szükségesnek.

Az in vivo vizsgálatok általában kevésbé érzékenyek, mint egy-egy jól megtervezett in vitro vizsgálat, ezenkívül a nagy mennyiségű vizsgálati adat nem feltétlenül segíti ezek interpretálását a potenciális humán kockázatok szempontjából.

Előfordulhat, hogy a kezdő szűrővizsgálatokból nem kapunk megfelelő információkat és az anyaggal kapcsolatosan rendelkezésre álló információk fényében további vizsgálatokat tartunk szükségesnek. A szokásos tonna-küszöbértékek elérése előtt akkor lehet még szükség további vizsgálatokra, ha az anyag bármelyik in vitro tesztje pozitív eredménnyel járt, illetve különösen akkor, ha a potenciális humán expozíció jelentős mértékű.

Meglévő anyagok

A mutagenitási vizsgálati stratégiát alapvetően új anyagokra dolgozták ki, de természetesen meglévő anyagokra is adaptálható, ha legfontosabb tényezőként a korábbi vizsgálati eredményeket és a humán expozíciós helyzetet (kapu, szint, időtartam, fogyasztók érintettsége) alkalmazzuk a forgalmazási szintek helyett. Ha azonban a meglévő anyagokra vonatkozó genotoxicitási adatok tudományosan megalapozottak, akkor nem feltétlenül kell mereven ragaszkodni a stratégiához. Ha például valamely ismert anyag esetében a bakteriális génmutációs teszt illetve a citogenetikai teszt megfelelő értékelésével negatív eredményeket kapunk, akkor lehet, hogy nem lesz szükség további genotoxicitási vizsgálatokra, hacsak a kitétséggel összefüggésben nem merülnek fel további aggodalmak.

3.10.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához

3.10.7.1. Az útmutató ezen részének célja

A vizsgálati stratégia megadja a mutagenitási potenciállal kapcsolatos veszélyazonosítás fokozatos módszerét, amelynek alkalmazásával összegyűjthetjük a 67/548/EGK és a 93/67/EGK számú Irányelvekben előírt, az anyagok osztályba sorolásához és címkézéséhez, továbbá minden forgalmazási szintre adekvát kockázat jellemzéséhez szükséges adat mennyiséget. A stratégiával ezen túlmenően azt is biztosítani kívánjuk, hogy az adatok összegyűjtése a lehető leghatékonyabb módon, tudományosan megalapozott és megfelelően elvégzett vizsgálatokkal történjen, így minimalizálva az állatkísérletek számát, illetve a felmerülő költségeket.

Az anyagok szisztematikus vizsgálatának elősegítése érdekében a meglévő adatok figyelembe vételével a vizsgálatokhoz stratégiai megközelítést kell alkalmazni. Az alábbiakban ismertetjük azt a logikai lépéssort, amelyet az anyagok mutagenitási vizsgálatokor irányelveként használhatunk. Az egyes forgalmazási szinteknél jelentkező kockázatok jellemzése, a további vizsgálatok szükségességének megítélése, illetve az osztályozás és címkézés szempontjából a stratégiát szükségszerűen nagymértékben befolyásolták az új anyagokra vonatkozó tonna-küszöbérték függő vizsgálati követelmények. Biztosítani kell azt is, hogy állatokon csak akkor végezzünk kísérleteket, ha ezt az idevonatkozó jogszabályok alapján indokolható, illetve ha az ilyen vizsgálatok végeredménye a kockázatbecslés szempontjából hasznosnak ígérkezik.

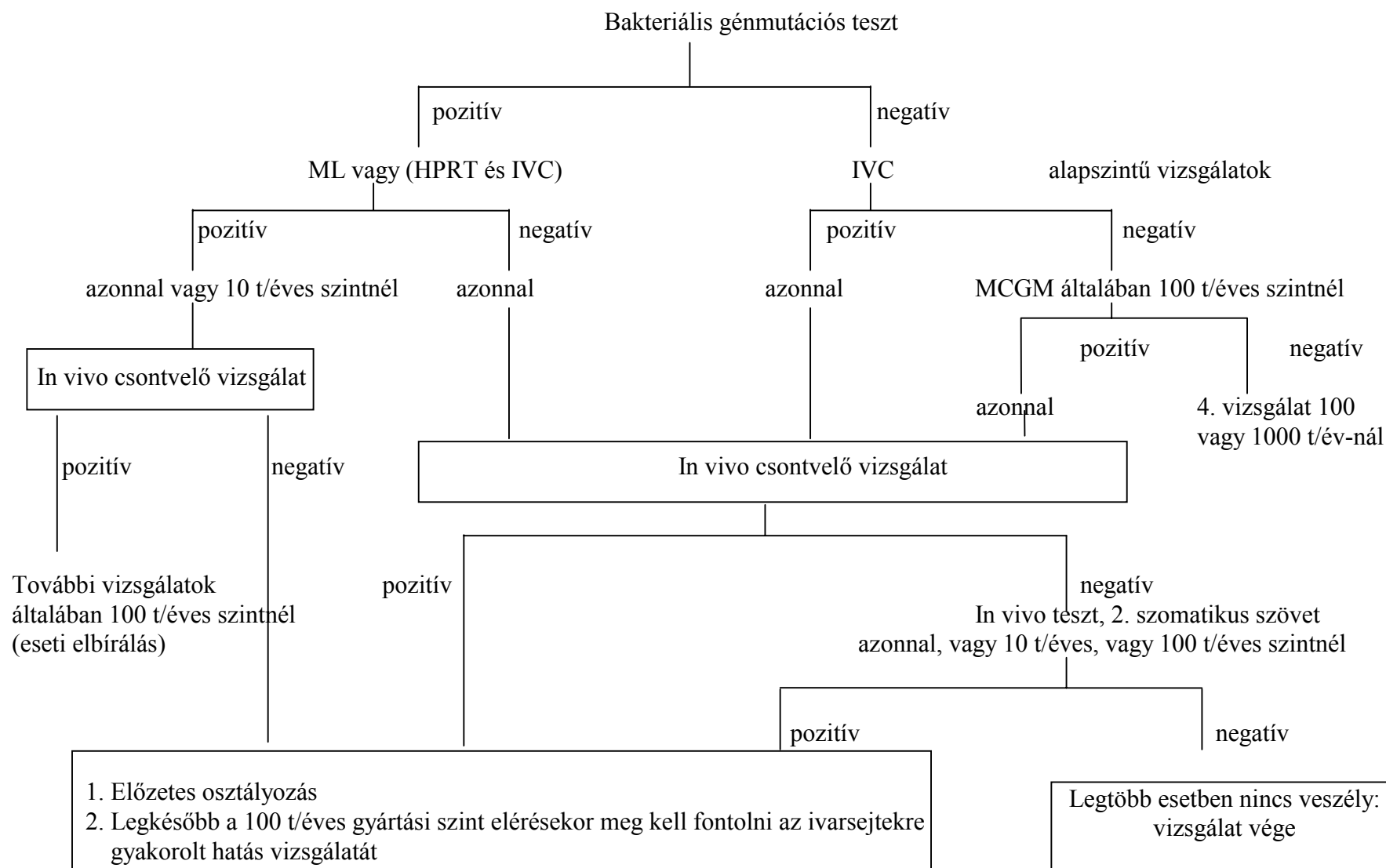
Ahol lehet, a stratégiát az anyag vizsgálatára vonatkozó egyéb stratégiákkal együtt kell alkalmazni. Az ismertetett módszert a 2. ábrán és a 4. táblázatban foglaltuk össze.

Új anyagok

A 67/548/EGK számú Irányelv szerint az új anyagok mutagenitását olyan mértékben kell vizsgálni, hogy ez alapján mindegyik megadott forgalmazási szinthez megfelelő kockázat jellemzést készíthessünk, továbbá megfelelő döntést hozhassunk a további vizsgálatok szükségességéről, illetve az anyag további osztályba sorolásáról és címkézéséről. A fokozatos tonna-küszöbérték függő módszert a 67/548/EGK számú Irányelv mellékleteiben ismertettük.

Meglévő anyagok

Meglévő anyagok esetében a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében megadott bakteriális génmutációs teszt és citogenetikai teszt együttes elvégzésével a legtöbb genotoxin detektálható. Azonban a veszélyek azonosítására való tekintettel, illetve hogy kizárjuk a pozitív in vitro tesztekben származó esetleges hamis pozitív eredményeket, további genotoxicitási vizsgálatokat kell végezni pl. annak eldöntésére, hogy az in vitro megfigyelt saját genetikai aktivitás in vivo is megjelenik-e. Amikor egy ismert anyag mutagén hatását vizsgáljuk, az egyéb forrásokból/vizsgálatokból származó adatokkal (pl. fizikai-kémiai adatok, toxikokinetikai adatok, toxikodinamikai paraméterek és egyéb adatok; szerkezeti analógok adatai) együtt az összes elvégzett genotoxicitási teszt eredményét figyelembe kell venni.



2. ábra Új anyagok genotoxicitási vizsgálatához alkalmazandó stratégia

4. táblázat. Új anyagok genotoxicitási vizsgálatához alkalmazandó stratégia

	Bakteriális teszt	IVC	ML vagy (HPRT + IVC)	MCGM (ML vagy HPRT)	Csontvelő teszt	További eljárás
1	+					MLA vagy (HPRT plusz IVC) alapszinten.
2	+		+			További vizsgálatok azonnal; általában csontvelő teszt.
3	+		+		+	Osztályba sorolás és címkézés. Csírvonal vizsgálat legkésőbb 100 t/év mennyiségénél.
4	+		+		-	Második in vivo teszt (szomatikus sejteken) azonnal vagy a későbbiekben.
5	+		-			Általában csontvelő teszt azonnal vagy 10 t/év mennyiségénél.
6	+		-		+	Osztályba sorolás és címkézés. Csírvonal vizsgálat legkésőbb 100 t/év mennyiségénél.
7	+		-		-	Általában további tesztelés 100 t/év mennyiségénél.
8	-					IVC alapszinten.
9	-	+				További vizsgálatok azonnal; általában csontvelő teszt.
10	-	+			+	Osztályba sorolás és címkézés. Csírvonal vizsgálat legkésőbb 100 t/év mennyiségénél.
11	-	+			-	Második in vivo teszt (szomatikus sejteken) azonnal vagy a későbbiekben.
12	-	-				MCGM, azonnal vagy 100 t/év mennyiségénél.
13	-	-		+		További vizsgálatok azonnal; általában csontvelő teszt.
14	-	-		+	+	Osztályba sorolás és címkézés. Csírvonal vizsgálat legkésőbb 100 t/év mennyiségénél.
15	-	-		+	-	Második in vivo teszt (szomatikus sejteken) azonnal vagy a későbbiekben.
16	-	-		-		Negyedik teszt 100 vagy 1000 t/év mennyiségénél.

A 2. ábrán és a 4. táblázatban használt rövidítések:

Bakteriális teszt = bakteriális génmutációs teszt (bacteriological gene mutation test)

IVC = in vivo citogenetika (kromoszóma aberrációs teszt);
(in vitro cytogenetics-chromosomal aberration test)

ML = egér limfóma teszt (L5178Y sejtvonal, TK lókus);
(mouse lymphoma test-L5178Y cells, TK locus)

HPRT = emlősejt génmutációs teszt (HPRT lókus);
(mammalian cell gene mutation test-HPRT locus)

MCGM = vagy ML vagy HPRT

Csontvelő teszt = mikronukleusz vagy citogenetika (kromoszóma aberráció teszt in vivo
(micronucleus or cytogenetics-chromosomal aberration test in vivo))

3.10.8. A vizsgálati stratégia

3.10.8.1. Előzetes szempontok

Fontos, hogy a vizsgálati programok kidolgozásakor, illetve megfelelő teszt protokollok megválasztásakor az anyag összes ismert fiziko-kémiai, toxikokinetikai, toxikodinamikai tulajdonsága mellett a molekulaszervezetileg analóg anyagokkal kapcsolatos információkat (azaz a molekulaszervezet-aktivitás közötti összefüggések - SAR) is figyelembe vegyünk. Ha az anyag, vagy egy anyagcseretermékének szerkezete hasonlít valamilyen mutagén (vagy karcinogén) anyaghoz, akkor korábban szükség lehet további tesztelésre, mint olyan anyagok esetében, ahol ilyesfajta hasonlóság nincs.

Bizonyos anyagok különleges figyelmet érdemelnek. Az in vitro tesztekben pozitív eredményt adó és nagyon elektrofil anyagok például in vivo kölcsönhatásba léphetnek a fehérjékkel és a vízzel, aminek következtében számos szövetrel szemben inaktívvá válnak. A kontaktus eredeti helyén azonban in vivo is kifejtethetik mutagén hatásukat, ezért különösen veszélyesek a légúti rendszerre, a gasztrointesztinális rendszer felső traktusára és a bőrre. Utóbbi szövetek vizsgálatára csak kevés módszer áll rendelkezésünkre (az V. mellékletben vagy az OECD irányelvekben egy sem szerepel): a bejelentővel történő konzultációk alapján a kockázatbecslést végző hatóságnak minden ilyen esetben egyedileg kell mérlegelnie, hogy ilyen körülmények között milyen speciális vizsgálati lehetőségek vannak.

3.10.8.2. Csökkentett mértékű bejelentések

Olyan anyagok esetében, ahol a forgalmazási szint meghaladja a 100 kg-ot, de nem éri el az 1 t/év mennyiséget, rendes körülmények között el kell végezni a bakteriális génmutációs tesztet. Bizonyos esetekben (pl. olyan anyagoknál, amelyek erős baktericid vagy bakteriosztatikus hatással rendelkeznek) valamilyen alternatív in vitro vizsgálatot kell végezni.

Az alábbiakban ismertetésre kerülő stratégia (ld. az alapszintű bakteriális génmutációs teszt pozitív eredmény esetén végzendő további vizsgálatokról szóló részt) szerint pozitív eredmények esetén legalább még egy tesztet el kell végezni. Ennek - vagy bármely további vizsgálatnak - a konkrét időpontot azonban elsősorban az határozza meg, hogy milyen mértékű humán expozícióra lehet számítani: minél nagyobb a potenciális expozíció, annál inkább szükség lesz további vizsgálatokra.

Ha egy olyan anyag esetében kapunk pozitív eredményeket, amely egyértelmű szerkezeti hasonlóságot mutat egy tudottan (in vivo) mutagén anyaggal, akkor a további vizsgálatok alapján kapott pontosabb adatok megérkezéséig mérlegelni kell a mutagén tulajdonságok szerinti előzetes osztályba sorolás lehetőségét (a VI. mellékletben megadott szabályok alapján, de nem az I. melléklet szerint).

3.10.8.3. 1 t/év vagy afeletti mennyiségben forgalomba hozott anyagok vizsgálata

Általában két, rendszerint in vitro teszt elvégzésére van szükség: egy bakteriális génmutációs tesztre és egy, a kromoszóma-aberrációk detektálására alkalmas nem bakteriális tesztre. A bakteriális teszt általában egy indukált patkánymáj S9 felhasználásával elvégzett

Salmonella/mikroszomális reverz-mutációs teszt, ahogy az a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében szerepel. Ennek a vizsgálatnak az eredményeit még a nem bakteriális tesztek megkezdése előtt meg kell kapni.

Ha a bakteriális teszt negatív, akkor ezután a kromoszóma aberrációk vizsgálatára metafázis analízises citogenetikai tesztet kell végezni.

Ha a bakteriális teszt pozitív, akkor ezután lehetőleg emlőssejt génmutációs tesztet kell végezni egér limfóma módszerrel (L5178Y sejtek, TK lókuszt), amelynek során a kis és nagy kolóniákat is meg kell vizsgálni. Ha fokozódik a kis kolóniák kialakulása, az a kromoszómák károsodására utal. Alternatív megoldásként szóba jöhet a HPRT emlőssejt génmutációs teszt és az in vitro citogenetikai teszt együttes elvégzése.

Egyedileg kell elbírálni azokat az anyagokat, amelyek például kémiai reakcióképességük, továbbá fizikai-kémiai vagy toxikus tulajdonságaik miatt valamely fenti tesztben nem alkalmazhatók. Az erősen baktericid vagy bakteriosztatikus hatású anyagok esetében a génmutációs potenciált a bakteriális teszt helyett valamilyen in vitro emlőssejtes rendszerben kell vizsgálni. A semmilyen módon nem oldható, de szerkezeti tulajdonságaik miatt veszélyesnek tűnő anyagokat esetleg megfelelő extrakciós módszerekkel lehet kinyerni, majd a tesztekben az extraktumot lehet felhasználni (ahogy azt az orvosi eszközök esetében is szokták).

Ritka esetben az is előfordulhat, hogy in vivo vizsgálatok elvégzése látszik célszerűnek például olyankor, ha az in vitro vizsgálatokat nem lehet megfelelő eredménnyel elvégezni, de molekulaszervezeti okok miatt feltételezhető, hogy az anyag vagy esetleges bomlástermékei mutagén hatásúak. A kezelés módját és a célszövetet ilyenkor is körültekintően kell megválasztani.

Speciális in vivo tesztek csak akkor szükségesek elvégezni, ha az anyag tulajdonságai vagy a teszt protokoll felépítése alapján a speciális célszövetet várhatóan megfelelő mennyiségben éri el az anyag és/vagy anyagcseretermékei. A széles körben alkalmazott in vivo szomatikus sejt genotoxicitási tesztek esetében például a csontvelő a célszövet. A csontvelő könnyen hozzáférhető a vérben lévő anyagok számára, tehát a kezelés módját úgy kell megválasztani, hogy a beadásra kerülő anyag, vagy anyagcseretermékei megfelelő mennyiségben bejussanak a véráramba. Ha ismeretes vagy feltételezhető, hogy az anyag szájon keresztül történő beadást követően nem kerül be a véráramba megfelelő mennyiségben, akkor másik expozíciós kaput kell választani (pl. csontvelőnél az intraperitoneális útvonalat), vagy esetleg felül kell vizsgálni, hogy az adott teszt elvégzése milyen haszonnal jár.

Ha az első in vivo teszt negatív, akkor a második in vivo teszt előtt nagy körültekintéssel kell megválasztani a célszövetet, a beadási útvonalat, stb.

A vizsgálati jelentésekben vagy összefoglalókban feltétlenül meg kell említeni, ha közvetlen bizonyíték van arra - vagy fel lehet tételezni -, hogy a tesztelt anyag elérte a célszövetet. Ha ugyanis a teszt eredménye negatív, akkor ez nagyon jó indikátor lehet arra nézve, hogy a teszt önmagában megfelelő volt. Megfelelő bizonyíték lehet a célszövetben kimutatott toxicitás, azaz például a polikromatikus és a normokromatikus vörösvértestek (eritrociták) arányának megváltozása a mikronukleusz tesztben.

Emellett a toxikokinetikai adatok is bizonyíthatják, hogy a teszt anyag elérte a célszövetet.

Ha a vizsgálat eredménye nem egyértelmű, akkor azonnal újabb vizsgálatot kell végezni, általában ugyanazzal a módszerrel, csak esetleg a körülmények megváltoztatásával. A stratégia végrehajtása során lehetőség szerint egyértelmű eredményt kell elérni egy adott lépésben, mielőtt a következő lépésre áttérnénk.

Oldhatatlan anyagok esetében számolni kell azzal is, hogy az aktív molekulák a gasztrointesztinális rendszerben esetleg felszabadulnak.

Az 1 t/év, vagy afeletti forgalmazási szint esetén előírt két in vitro teszt után általában nem szoktak a mutagén tulajdonságok alapján osztályozni. Ha azonban az egyik, vagy esetleg mindkét tesztben egyértelmű és erős pozitív válaszokat kapunk, továbbá a szerkezeti analógokkal végzett SAR eredményei is erős in vivo mutagén hatásra utalnak, akkor amíg pontosabb adatok nem állnak rendelkezésre (ld. 3.10.8.4 pont), mérlegelhetjük az anyag 3. osztályú mutagénként történő osztályba sorolását.

3.10.8.4. Az 1 t/év mennyiség felett elvégzendő, további vizsgálatokra vonatkozó követelmények

További genotoxicitási vizsgálatok elvégzése iránti igény akkor merülhet fel, ha a korábbi tesztek pozitív eredményeket adtak, vagy ha a forgalmazási szint eléri 67/548/EGK számú Irányelvben definiált következő tonna-küszöbértéket: e szerint akkor van szükség további vizsgálatokra, ha a forgalmazási szint eléri a 100 t/év mennyiségi szintet (halmozott mennyiségben 500 tonna), illetve az 1 t/év mennyiségi szintet vagy 10 t/év mennyiségi szintet (halmozott mennyiségben 50 tonna), a tesztek elvégzése azonnal elkezdhető, ha ez szükségesnek látszik. A további vizsgálatok konkrét időpontját és felépítését alapvetően az anyag kémiai, toxikokinetikai és toxikodinamikai, egyéb toxicitási tulajdonságai, továbbá a molekulaszerkezeti analógokkal kapcsolatos adatok és a várható humán expozíció függvényében kell meghatározni.

Első lépésben az in vivo vagy in vitro genotoxicitási tesztek az anyag szomatikus sejtekre kifejtett esetleges hatásainak további vizsgálatára alkalmazzuk. Ha a szomatikus sejtek in vivo vizsgálata pozitív eredménnyel jár, akkor mérlegelni kell, hogy az ivarsejtekben is megvizsgáljuk az esetleges genotoxikus hatásokat.

3.10.8.5. Az 1 t/év mennyiségi szintnél előírt mindkét tesztben negatív eredményt adó anyagok

Ha egy anyag az 1 t/év forgalmazási szintnél előírt mindkét tesztben negatív eredményeket ad, akkor további vizsgálatok konkrét időpontját, illetve hatókörét nagymértékben az szabja majd meg, hogy milyen mértékű humán expozíció várható. Általában nem szokták ezt a 100 t/év (halmozott mennyiségben 500 tonna) szint elérése előtt megkezdeni, azonban előfordulhat az is, hogy korábban szükségessé válik, ha az anyag fizikai-kémiai tulajdonságai, vagy a felhasználási formák miatt a rendeltetészerű használat során is jelentősebb humán expozíció jelentkezik. Új anyagok esetében általában nem állnak rendelkezésre kvantitatív expozíciós adatok. A potenciális humán expozíciót tehát az anyag fizikai-kémiai tulajdonságai, továbbá a

felhasználási formák/mintázatok (ezen belül a fogyasztói felhasználás is) alapján kell meghatározni.

Olyan esetekben, ahol feltételezhető, hogy az anyag hatását nem lehet kimutatni standard exogén metabolizáló rendszerekkel, a módosított reverz-mutációs Salmonella teszt elvégzését kell fontolóra venni és szükség szerint vagy az alapszintű vizsgálatok után azonnal, vagy az 1. szintnél (10 tonna) előírni. Egyes azo- illetve diazo-vegyületeket például nem indukált hörcsög máj S9 keverékben kell tesztelni a Prival-Mitchell módszer szerint.

Ha alapszinten csak a Prival-Mitchell módosítás szerinti eredményt nyújthatják be, akkor egy standard Ames tesztet is elő kell írni vagy az alapszintű vizsgálatok elvégzése után azonnal, vagy az 1. szintnél (10 tonna).

Ha az 1 t/év forgalmazási szintnél előírt két in vitro tesztben negatív eredményt kapunk, akkor nagyon ajánlatos egy in vitro emlőssejt génmutációs teszt elvégzése, lehetőleg az in vitro citogenetikai vizsgálatban alkalmazott sejtípustól eltérő rendszerben.

Amennyiben a harmadik teszt eredménye is negatív, akkor kell megfontolás tárgyává tenni egy negyedik teszt elvégzését a 100 vagy 1000 t/év (halmozott mennyiségben 500 vagy 5000 tonna) szint elérésekor, ha jelentős humán expozíció várható. A negyedik lehet in vivo teszt is (rendesen csontvelő teszt), vagy egy in vitro vizsgálat, amelyben a korábbiaktól eltérő metabolizáló rendszert alkalmaznak.

Ha ezen in vitro tesztek közül bármelyik is pozitív eredményt ad, azonnal elő kell írni az in vivo vizsgálatot (ahogy az a következő két pont alatt szerepel).

3.10.8.6. Anyagok, melyeknél 1 t/év forgalmazási szintnél előírt in vitro citogenetikai teszt pozitív

Ilyen körülmények között azonnal in vivo vizsgálatokra van szükség. Biztosítani kell azt is, hogy az alkalmazott protokollok megfeleljenek a 3.10.8.3 pont alatt megfogalmazott kritériumoknak.

Az első in vivo végzett teszt javaslatunk szerint legyen egy csontvelő kromoszóma károsodási teszt; vagy metafázis analízis vagy mikronukleusz vizsgálat, patkányban vagy egérben. Az esetleges feltételezett vagy előrejelzett species-függő hatások nagyban befolyásolhatják a faj és a konkrét vizsgálati módszer megválasztását.

Ha ez az első in vivo vizsgálat negatív eredményt ad, akkor egy második in vivo tesztet kell végezni, méghozzá más szomatikus célsejtek alkalmazásával. Ezt a tesztet vagy azonnal, vagy a 10 t/év mennyiségi szint (halmozott mennyiségben 50 tonna) elérésekor kell elvégezni, illetve a 100 t/év szint eléréséig is elhalasztható akkor, ha a potenciális humán expozíció bizonyítottan elhanyagolható. Itt vagy az in vitro / in vivo UDS teszt vagy az egér pont-teszt alkalmazható. Egy másik megoldás lehet egy megfelelő fajban végzett in vivo DNS kovalens kötődési teszt (lehetőleg többféle szövetben is elvégezve).

Amennyiben egy in vivo vizsgálat pozitív eredményt ad, az anyagot legalábbis 3. osztályú mutagénnek kell besorolni, és ennek megfelelően kell címkézni.

3.10.8.7. Anyagok, amelyeknél a baktérium génmutációs alaptereszt pozitív

Amennyiben egy esetleges egér limfóma teszt pozitív eredményt ad, vagy pedig ha az egyik, vagy mindkét alternatív teszt pozitív, akkor az előző pont alatt ismertetett módszert kell alkalmazni, azaz azonnal újabb in vivo vizsgálatot kell végezni, általában egy csontvelő kromoszóma károsodási tesztek.

Ha az egér limfóma teszt, vagy mindkét alternatív teszt negatív eredményt ad, még akkor is szükség lehet az in vivo (általában csontvelő) tesztre azért, hogy alaposabban megvizsgáljuk a bakteriális tesztben látott pozitív hatások in vivo megjelenésének lehetőségét. Minden anyag esetében azonnal további in vivo vizsgálatot kell végezni, kivéve ott ahol a potenciális humán expozíció tekintetében megfelelően bizonyítható, hogy csak az ipari felhasználás során és ott is csak szigorúan ellenőrzött körülmények között jelentkezik, amikor is a tesztelés a 10 t/év szint (halmozott mennyiségben 50 tonna) eléréséig elhalasztható.

3.10.8.8. Anyagok, amelyeknél az in vivo szomatikus sejteken végzett genotoxicitási teszt pozitív

Olyan anyagok esetében, ahol valamely in vivo szomatikus sejteken elvégzett genotoxicitási teszt pozitív eredményt adott, legkésőbb a 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérésekor kell fontolóra venni a genotoxicitás ivarsejtekben való megjelenésének vizsgálatát. Ezen tonna-küszöbérték elérése előtt esetleg akkor merülhet fel a vizsgálatok elvégzésének szükségessége, ha a potenciális humán expozíció ad okot aggodalomra. Ha például egy anyagot nagyon sok helyen és/vagy számos eljárásban alkalmaznak, akkor nyilvánvalóan nagyobb veszélyt jelent, mint egy olyan anyag, amit csak egy helyen és zárt-rendszerben használnak.

Elméletben azokat a hatásokat kell vizsgálni, amelyek átkerülhetnek az utódokban, de az átvitt hatások specifikus vizsgálatára alkalmas tesztekhez (például az öröklött transzlokációs teszthez és a specifikus lókuszt teszthez) igen nagymennyiségű tesztállatra van szükség. Az ilyen vizsgálatokat ritkán alkalmazzák, és ipari anyagok esetében általában nem írják elő.

A domináns letális teszt a csírasejtek érésének bármely fázisában bekövetkező genetikai károsodások kimutatására alkalmas, de csak azokat a hatásokat mutatja ki, amelyek letálisak a zigótára.

Egyéb módszerek is léteznek, amelyekkel speciálisan vizsgálhatóak az ivarsejtekben in vivo jelentkező hatások, de ezek nem a transzmisszió valószínűségét adják meg. Egy citogenetikai teszttel például kimutatható, ha az anyag klasztogenicitást indukál a spermatogóniumokban, de nem ad információt az érett spermák tekintetében.

A gyakorlatban tehát általában azzal a feltételezéssel szoktak élni, hogy ha egy anyag in vivo bizonyíthatóan mutagén hatást fejt ki a szomatikus sejtekben és az ivarsejtekben is kimutatható a hatása in vivo (pl. SCE vagy UDS tesztben, vagy citogenetikai tesztekben, vagy a domináns letális tesztben), akkor valószínűleg öröklődő károsodásokat okozhat, és ezért 2. osztályú mutagénként kell osztályozni. Ahogy az osztályba sorolási kritériumokból is kiténik, az ivar sejtek tekintetében történő osztályozás esetén a toxikokinetikai vizsgálatok eredményeit is figyelembe kell venni.

3.10.9. További genotoxicitási vizsgálatok az in vivo kromoszóma alaptesztek után

1993-ig bezárólag számos új anyag bejelentésekor végeztek in vivo csontvelő tesztet a kromoszómális hatások vizsgálatára. Sajnos számos korábban végzett in vivo teszt a mai standardok alapján nem tekinthető megfelelőnek. A leggyakoribb probléma, hogy nincs bizonyíték arra, hogy az anyag tényleges elérte a csontvelőt. Egy nem megfelelő teszt semmi használható adattal nem tud szolgálni, ilyen módon tehát hiányosnak kell tekintenünk az adatsort.

Azonban, ha csak nincs különösebb veszélyre utaló jel (pl. szerkezeti "vészjelek", vagy a humán expozíció várhatóan jelentős mértéke, vagy a felhasználási formák megváltozása), akkor, ha az alap in vivo kromoszómás teszt negatív eredményt adott, a 10 t/év (halmozott mennyiségben 50 tonna) szint eléréséig nincs szükség további vizsgálatokra. Ha a forgalmazási szint már elérte vagy meghaladta ezt a szintet, akkor azonnali további vizsgálatokra lesz szükség.

A korábban bejelentett és az alapszintű vizsgálat során pozitív eredményeket adó anyagok további vizsgálatát a fő szövegben ismertetett stratégia szerint kell elvégezni.

A korábban bejelentett és az alapszintű vizsgálat során negatív eredményeket, vagy negatív és nem egyértelmű eredmények keverékét adó anyagok további vizsgálatáról minden esetben egyedileg kell dönteni, figyelembe véve azt is, hogy az alaptesztek adekvátak voltak-e, különösen az in vivo tesztek esetében.

3.11. Karcinogenitás

3.11.1. Bevezető

3.11.1.1. A karcinogenitás definíciója

Egy anyag vagy készítmény akkor tekintendő karcinogénnek, ha belégzése, lenyelése vagy a bőrön át történő felvétele esetén rákot okoz vagy növeli a rák előfordulásának valószínűségét. Az osztályozás kritériumai a 93/21/EGK számú Irányelvben kerültek megfogalmazásra.

A karcinogenezis folyamatát jelenleg úgy értelmezik, hogy a célsejtek különböző stádiumok elérése során rákos sejtekké átalakulnak át; és e folyamatban igen fontos szerepet játszik az érintett sejtek növekedése és differenciálódása. Konvenció szerint a karcinogén anyagokat a feltételezett hatásmechanizmus alapján soroljuk be a két csoportba: a genotoxikus és a nem genotoxikus karcinogének közé.

A genotoxikus karcinogének esetében az anyag vagy anyagcsereterméke a DNS-sel való közvetlen kölcsönhatás eredményeképpen okoz rákot.

Mindabból, amit ma a genotoxicitásról tudunk feltételezhető, hogy a genotoxikus karcinogénekre nem lehet meghatározni küszöbértéket (azaz nem lehet meghatározni azt a szintet, ahol nem jelentkezik a hatás), továbbá a legkisebb mértékű humán expozíció esetén is nagy lehet a tumor indukálás kockázata.

Feltételezhető, hogy a nem genotoxikus karcinogének a genotoxikus mechanizmustól eltérő módon fejtik ki karcinogén hatásukat. A nem genotoxikus karcinogenitás számos különböző

hatásmechanizmuson keresztül valósulhat meg. Néhány karcinogén anyag például specifikus receptorokon keresztül hat (pl. a 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-para-dioxin (TCDD); vagy egyes hormonok), mások viszont a receptorközvetítése nélkül fejtik ki a hatásukat (pl. a szacharin és a phenobarbitol).

Az állandó sejtosztódás az egyik legjobban ismert prekuzora a nem genotoxikus karcinogenezisnek, aminek háttérében számos különféle mechanizmus működik (pl. citotoxicitás, mitogenitás, a növekedésellenőrző mechanizmusok, mint például az endokrin visszacsatolás megzavarása). Ezekhez a mechanizmusokhoz általában hozzá lehet rendelni egy küszöb-dózist, és a háttérben álló toxikus hatásokra is meg lehet adni azt a szintet, ahol még nem jelentkezik semmilyen hatás.

3.11.1.2. Az anyagok karcinogenitási vizsgálatának célja

A karcinogenitási vizsgálatok célja annak meghatározása, hogy az emlős sejtekben hosszú távú (kísérleti állatok esetében általában a teljes életidőt lefedő) expozíció nyomán az anyag milyen esetleges karcinogén hatásokat indukálhat. További információk az 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében találhatók.

3.11.1.3. Az V. mellékletben felsorolt karcinogenitási vizsgálatokból nyerhető információk

Az V. mellékletben két karcinogenitási teszt szerepel: az egyik egy specifikus karcinogenitási teszt, míg a másik egy kombinált toxicitási/karcinogenitási teszt. Mindkét tesztre van módszer mindhárom releváns expozíciós kapuhoz (szájon keresztüli, dermális és inhalációs). Az V. mellékletben ismertetett módszereket alkalmazva az alábbi adatokat kell összegyűjteni: túlélés, szisztémás toxicitás, tumor előfordulás és a tumorok típusa, továbbá ezek kapcsolata az expozíciós szinttel, az állat nemével és (ahol lehet) a hatások jelentkezésének időpontja.

3.11.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.11.2.1. Minimálisan szükséges adatok

A karcinogenitási vizsgálatok a 793/93 számú Rendelet 9(2). cikkelye alapján meglévő anyagok esetében nem tartoznak a minimális követelmények körébe. Mindazonáltal az összes ezzel kapcsolatos és releváns adatot figyelembe kell venni.

Új anyagok esetében a 67/548/EGK számú Irányelv szerint a karcinogenitási tesztek előírása általában a 2. szintű tonna-küszöbérték elérésekor merülhet fel, és hacsak nincs ésszerű ok ennek elhagyására, ennél a forgalmazási szintnél el is kell végezni a vizsgálatokat.

3.11.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Az anyagok karcinogenitási potenciáljának meghatározásához használható adatokat számos meglévő forrásból is kaphatunk, például humán vizsgálatokból, állatkísérletekből, az anyag molekulaszervezeti tulajdonságai alapján, továbbá hatásmechanizmus, anyagszerep illetve fiziko-kémiai vizsgálatokból.

Humán adatok:

A humán adatok közvetlen információkat szolgáltathatnak a kérdéses anyag karcinogenitásával kapcsolatban. Új anyagok esetében általában nem, de meglévő anyagok esetében valószínűleg rendelkezésre állnak majd epidemiológiai vizsgálatok. A releváns epidemiológiai vizsgálatok típusuk szerint lehetnek kohors-, eset-kontroll, vagy korrelációs vizsgálatok. A legtöbb rákkal kapcsolatban elvégzett analitikus epidemiológiai vizsgálatban munkahelyi populációkat vizsgáltak, és sokkal ritkábban a lakosságot. A csoport-vizsgálatok és az esettanulmányok, habár szigorú értelemben nem tartoznak az epidemiológiai vizsgálatok közé, egyes esetekben hasznos információkat szolgáltathatnak.

Gyorsan fejlődő területeknek számítanak manapság a biomonitoring és a molekuláris epidemiológiai módszerek, melyek különösen akkor szolgáltathatnak használható információkat az egyéni expozícióval kapcsolatban, illetve lehetnek a potenciális kockázatok korai indikátorai bizonyos esetekben, ha klasszikus epidemiológiai vizsgálatokhoz korrelálják ezeket.

Állatkísérletes és in vitro adatok, illetve kémiai vizsgálatok adatai:

Sokféle különböző vizsgálat állhat rendelkezésünkre, amelyek közvetlen vagy közvetett adatokat szolgáltathatnak az anyag karcinogenitási potenciáljának meghatározásához, például:

- karcinogenitási vizsgálatok (biológiai tesztek);
- genotoxicitási vizsgálatok;
- ismételt dózisu toxicitási vizsgálatokban megfigyelt idevágó kórszöveti elváltozások (pl. bizonyos szövetek hiperpláziája adhat okot aggodalomra);
- állandó sejtsztódás indukálásával (pl. olyan mechanizmusokon keresztül, mint a citotoxicitás és a mitogénitás, vagy a sejt szabályozó mechanizmusainak megzavarása) kapcsolatos információk;
- az immunszuppressziós aktivitásra vonatkozó releváns információk;
- a vizsgált anyag vagy valamely anyagcsereterméke szerkezetileg ismert karcinogén anyagokhoz hasonlít ("szerkezeti vészjegyek") és SAR;
- toxikokinetikai információk, ezen belül bármilyen adat az anyag ismert vagy feltételezett metabolizmusával kapcsolatban, legyen az humán vagy állati (a teszttállatra jellemző).

3.11.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

Az anyagok karcinogenitási potenciáljának meghatározásakor általában nagy mennyiségű adatot kell figyelembe venni, és általában szakértői véleményt is igényel e komplex adatok értékelése.

A teljes körű értékelés leglényegesebb eleme a genotoxicitási adatok értékelése.

Humán adatok:

A humán adatok alapján kiderülhet, hogy egy olyan anyag is lehet karcinogén, amellyel kapcsolatban állatkísérleteket nem végeztek, vagy ha igen akkor ezekkel nem lehetett kimutatni az anyag karcinogenitását. Arra is egyre több a bizonyíték, hogy egyes humán genetikai biomonitoring tesztekkel ki lehet mutatni olyan elváltozásokat, amelyek erősen korrelációban vannak a rák kockázatának növekedésével (Hagmar et al., 1994). Az egyes karcinogenitási vizsgálatok megbízhatóságát az általánosan elfogadott okozati kritériumok

alapján kell megítélni. Különösen nagy figyelmet kell szentelni az expozícióra vonatkozó adatoknak (ezen belül az anyag egyértelmű azonosítása, esetleges más anyagok hatásai, vagy a releváns dózis értékek meghatározásának módszere) és a téma megválasztásának. Ha több vizsgálatban is sikerül statisztikailag ugyan nem szignifikáns hatásokat kimutatni, akkor ez egy pozitív asszociációt jelezhet, és az érzékenység növelése érdekében esetleg érdemes lehet ezeket közösen kielemezni (meta-analízis). Ha azonban a különböző vizsgálatok eredményei nem egyeznek, akkor erre is magyarázatot kell keresni, illetve mindegyik vizsgálatot az alkalmazott módszerek alapján kell értékelni.

Állatkísérletes adatok:

A veszélyek azonosításához a toxikológiai vizsgálatok elfogadhatóságára vonatkozó, a 3.2 pont alatt ismertetett minőségi kritériumokat kell alkalmazni. Ha azonban a vizsgálati jelentés nem tartalmazza az V. mellékletben előírt összes információt, akkor szakértői vélemény alapján kell megítélni, hogy elfogadhatóak-e a kísérleti módszerek, illetve hogy nem hiányoznak-e lényegi információk.

Előfordulhat, hogy egy adott vizsgálat kísérletes eredményei nem bizonyítják egyértelműen a vizsgált anyag karcinogenitását. A biológiai tesztekben kapott tumor válaszok, továbbá ezek potenciális humán relevanciájának értékelése is szakértői véleményt kíván. Ha több azonos típusú, és az értékelések szerint megfelelő minőségű vizsgálat is rendelkezésre áll, akkor az egyezések elemzése érdekében esetleg érdemes lehet megfontolni az eredmények kumulálását és integrálását.

Egy anyag karcinogenitásának meghatározása sok különböző típusú adat integrált értékelését igényli. Az értékelés során együttesen kell figyelembe venni a rendelkezésre álló összes megbízható információt, azaz a humán, illetve állatokban talált bizonyítékokat és az in vitro tesztek eredményeit, a molekuláris szerkezet-aktivitás elemzéseket, a biológiai mechanizmust és a beazonosított anyagcsere folyamatokat, a farmakokinetikai és fiziológiai adatokat a dózisok fajok közötti arányosításához, a rendelkezésre álló epidemiológiai vizsgálatok statisztikai jelentőségét és az egész adatsor általános bizonytalanságát is. A bizonyítékok jelentőségét szakértői vélemény alapján kell megítélni.

3.11.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

Amennyiben lehet találni valamilyen összefüggést a dózis vagy koncentráció és a hatás előfordulása között, akkor ezt meg kell adni.

A genotoxikus karcinogéneknél általában úgy tartják, hogy nem lehet megállapítani egy küszöbértéket, úgyhogy NOAEL/LOAEL értékeket sem lehet meghatározni.

Az olyan nem genotoxikus karcinogéneknél, ahol az elsődleges toxikus hatáshoz (pl. a citotoxicitás által kiváltott állandó sejtosztódás, a sejt növekedés szabályozásának megzavarása) meghatározható egy küszöbérték, a háttérben álló toxicitásra meg lehet állapítani azt a szintet, ahol még nincs hatás.

3.11.5. A karcinogenitási vizsgálatok bizonytalansága

Humán adatok alapján egyértelműen csak meglehetősen bizonytalansággal állapíthatjuk meg egy anyagról, hogy karcinogén, mivel az epidemiológiai vizsgálatok érzékenysége viszonylag kicsi, amit gyakran az adatok nem megfelelő közreadása is kísér: véletlen, torzító vagy zavaró tényezők jelenlétét gyakran nem lehet kizárni. Hacsak nincs több olyan megfelelő, és a kitétség alapján is relevánsnak és reprezentatívnak tekinthető epidemiológiai vizsgálat, amely "negatív" eredménnyel járt, humán adatok alapján gyakran azt is nehéz egyértelműen kijelenteni, hogy egy anyag nagy valószínűséggel nem karcinogén.

Még akkor is lehetnek bizonytalanságok, ha a karcinogenitási állatkísérleteket az V. mellékletben megadott, vagy azzal egyenértékű módszerekkel végezték el, mivel például az is előfordulhat, hogy csak a jóindulatú, vagy a spontán is viszonylag gyakori daganatok előfordulása növekszik meg. Ha azonban egy vizsgálatban szokatlanul magasra nő a rosszindulatú daganatok gyakorisága; vagy több vizsgálat is jó egyezéssel mutat ki karcinogén válaszokat vagy azok hiányát - és különösen, ha a vizsgálatokat különböző állatfajokon végezték - akkor feltétlenül egyértelmű következtetést tudunk levonni az anyag karcinogenitásával kapcsolatosan.

Ahogy azt már említettük, sok meglévő anyag esetében valószínűleg nem találunk majd definitív karcinogenitási vizsgálatokat, mindazonáltal a kezdeti becslést az egyébként rendelkezésre álló adatok alapján kell elvégezni. A bizonytalanság mértéke nyilvánvalóan attól fog függeni, hogy a rendelkezésre álló adatok közül mennyi a releváns és megbízható adat.

3.11.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek

Az alábbiakban az új anyagokra vonatkozó alapelveket mutatjuk be. Itt az instrukciók a meglévő és az új anyagok esetében eltérnek egymástól, és a 3.1 pont alatt ismertetett stratégia nem teljes mértékben alkalmazható. Új anyagokra már kidolgozták a karcinogenitási vizsgálati stratégiát, amit a 3.11.7 pont alatt ismertetünk. Meglévő anyagokra azonban nem készült ehhez hasonló útmutatás.

3.11.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához

3.11.7.1. Az útmutató ezen részének célja

Célunk, hogy ismertetessünk egy olyan, hatékony és tudományosan megalapozott, az anyagok karcinogenitásának vizsgálatára alkalmas stratégiát, amellyel kiegészíthetjük a 67/548/EGK számú Irányelv tonna-küszöbérték függő adatait, továbbá minimálisra csökkenthetjük a szükséges állatkísérletek számát. A stratégia alkalmazása megkönnyíti a kockázatbecslést végző hatóság számára az új anyagokra vonatkozó karcinogenitási adatok összegyűjtését és ezeknek a várható vagy mért humán expozíció vonatkozásában a kockázatok jellemzéséhez megfelelő időben történő felhasználását.

Az anyagok szisztematikus vizsgálatának elősegítése érdekében a meglévő adatok figyelembe vételével a vizsgálatokhoz stratégiai megközelítést kell alkalmazni. Az alábbiakban

ismertetjük azt a logikai lépéssort, amelyet az anyagok karcinogenitási vizsgálatok irányelvéként használhatunk. A stratégiát szükségszerűen nagy mértékben befolyásolták az új anyagokra vonatkozó tonna-küszöbérték függő vizsgálati követelmények.

A tonna-küszöbértéktől függő fokozatos tesztelési eljárásban lényegében benne van az a koncepció, hogy a humán expozíció várható mértékét az anyag forgalmazási szintje határozza meg, így tehát a káros humán egészségügyi hatások általános valószínűsége akkor alacsony, ha a forgalmazási szintek is alacsonyak. Bizonyos tulajdonságokkal (pl. genotoxikus vagy mutagén, vagy genotoxikus mechanizmusokon alapuló karcinogén) rendelkező anyagok esetében azonban ez nem feltétlenül igaz.

Új anyagok

A 97/63/EGK számú Irányelv VII. mellékletének B rész, 1.2 pontja szerint új anyagoknál a kockázatok jellemzésére általában az olyan tulajdonságok esetében nincs szükség, ahol a veszélyek azonosítására szolgáló tesztek még nem végezték el. Az új anyagokra vonatkozó stratégia azonban mégis előírja, hogy a kockázatbecslést végző hatóság minden egyes tonna-szintnél mérlegelje, hogy a rendelkezésre álló adatok (különösen a genotoxicitási adatok) alapján van-e lehetőség a veszélyek azonosítására, illetve hogy a fennálló veszélyek mértéke miatt szükség van-e a veszélyazonosítási vizsgálatok előírására.

Mire egy új anyag forgalmazási szintje eléri az "alapszintet" (1 t/év, halmozott mennyiségben 5 tonna), a 67/548/EGK számú Irányelv előírásainak megfelelően már rendelkezésre fognak állni az anyag szerkezeti és fiziko-kémiai tulajdonságaival, illetve használatával és várható forgalmazási szintjével kapcsolatos adatok, sőt a genotoxicitásra (általában in vitro vizsgálatokból), és a lokális (szemirritáció, bőr irritáció és szenzibilizáció) és szisztémás toxicitásra (általában 28 napos és két expozíciós kapu alkalmazó akut toxicitási vizsgálatokból) vonatkozó információk is. (Egyes anyagoknál már az 1 t/év szint elérése előtt rendelkezésre állhatnak ezek az adatok.)

Az Irányelv előírásainak, továbbá a kockázatbecslés(ek) eredményének, illetve az egyéb toxicitási vizsgálati stratégiák ajánlásainak megfelelően további toxicitási vizsgálatokra közvetlenül szükség lehet az alapszintű vizsgálatokat követően is, de a 10 és/vagy 100 és az 1000 t/év szintnél (vagy az ezzel egyenértékű halmozott tonna szinteknél) mindenképpen elő kell írni (hacsak nincsenek megalapozott érvek ez ellen).

Az anyagok mutagenitását a 67/548/EGK számú Irányelv előírásai alapján kell vizsgálni, az erre vonatkozó vizsgálati stratégia a 3.10 pont alatt található. A 67/548/EGK számú Irányelv VI. mellékletében megadott kritériumok alapján az in vivo tesztekben pozitív eredményt adó anyagokat mutagénként kell osztályba sorolni; bizonyos anyagok kivételesen a molekulaszervezet-aktivitás összefüggések (SAR) és/vagy az in vitro eredmények (pl. nagyon erős reakciókészséget mutató anyagoknál) alapján is osztályba sorolhatók.

A karcinogenitási vizsgálatok elvégzését rendes körülmények között az 1000 t/év szint (halmozott mennyiségben 5000 tonna) elérésekor kell előírni, és hacsak nincsenek megalapozott ellenérvek, ennél a szintnél el is kell végezni ezeket.

Meglévő anyagok

A meglévő anyagokra nem került kidolgozásra az a kritérium rendszer, amely alapján döntést lehet hozni a karcinogenitási vizsgálatok elvégzéséről. Előírás ugyan, hogy a releváns humán epidemiológiai vizsgálatok, állatkísérletek és in vitro vizsgálatok eredményeit, továbbá a kémiai adatokat értékelni kell; majd a kockázatbecslést végző hatóságnak kell megalapozott döntést hoznia arról, hogy vajon van-e elegendő információ a felmérés elkészítéséhez. Amennyiben a rendelkezésre álló információk nem elégségesek, az V. melléklet két tesztelési módszert is közöl a karcinogenitási vizsgálatára, amelyeket ilyenkor fel lehet használni. Habár a stratégiát elsősorban új anyagokra dolgozták ki, amennyiben további adatokra van szükség, a stratégiában is található a tesztelésre vonatkozó további információkat.

Amennyiben döntés születik arról, hogy további vizsgálatokat kell végezni, fontos szempont lesz az is, hogy csak akkor végezzünk állatkísérleteket, ha ez feltétlenül szükséges ahhoz, hogy megfelelő információkat biztosítsunk a becsléshez.

3.11.8. A vizsgálati stratégia

3.11.8.1. Előzetes szempontok

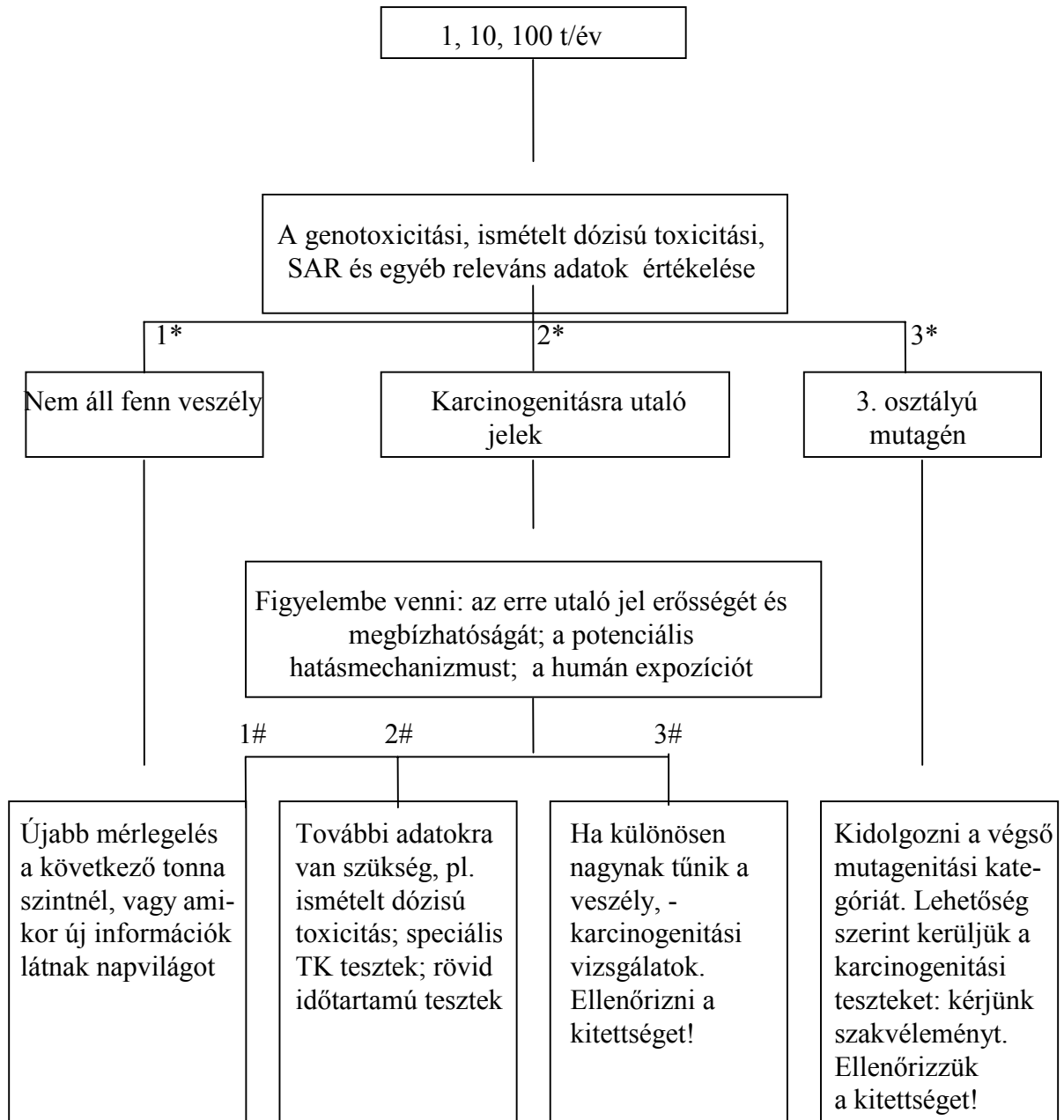
Az anyaggal kapcsolatos karcinogenitási kockázatokat a 67/548/EGK számú Irányelvben megadott mindegyik forgalmazási szintnél fel kell mérni, tovább akkor is el kell ezt végezni, ha új információ lát napvilágot.

Az anyagok karcinogenitási potenciáljának, képességének becslésekor az alábbi szempontokat kell figyelembe venni:

- a genotoxicitási vizsgálatok eredményi (amelyek információval szolgálhatnak avval kapcsolatban, hogy az anyag valószínűleg genotoxikus karcinogén-e, avagy sem);
- az ismételt dózisú toxicitási vizsgálatokban megfigyelt kórszövettani elváltozások (pl. bizonyos szövetek hiperpláziája nem genotoxikus karcinogenitásra utalhat);
- rendelkezik-e az anyag immunszuppresszív tulajdonságokkal;
- a vizsgált anyag vagy valamely anyagcsere terméke szerkezetileg egy ismert karcinogén anyagokhoz hasonlít ("szerkezeti vészjegyek");
- toxikokinetikai információk, ezen belül bármilyen adat az anyag ismert vagy feltételezett metabolizmusával kapcsolatban.

A stratégiát a 3. ábrán mutatjuk be.

Ha a forgalmazási szint eléri az 1000 t/év szintet (halmozott mennyiségben 5000 tonna), akkor egész élettartamra kiterjedő karcinogenitási vizsgálatot kell végezni, hacsak nem a 3.11.8.5 pont alatt megadott kritériumok állnak fenn.



3. ábra. Az új anyagok karcinogenitási potenciáljának meghatározásához kidolgozott stratégia alapelvei

* és #: valamelyik e három eredmény közül

3.11.8.2. Anyagok, amelyek nem jelentenek közvetlen karcinogenitási veszélyt

Nem kell a karcinogenitási vizsgálatok elvégzését mérlegelni olyan anyagok esetében, ahol sem a toxikológiai sem az SAR adatok nem utalnak karcinogenitásra, a legközelebbi tonna szint eléréséig, vagy amíg új információk nem látnak napvilágot.

A karcinogenitási vizsgálatokat a 2. szint (1000 t/év vagy halmozott mennyiségben 5000 tonna) elérésekor kell megfontolni. Ezen a szinten minden, az anyaggal kapcsolatban rendelkezésre álló adatot értékelni kell, majd ez alapján lehet eldönteni, hogy szükség van-e karcinogenitási tesztekre avagy sem. A 3.11.8.5 pont alatt ismertetjük azokat az eseteket, amikor nincs szükség karcinogenitási vizsgálatokra.

3.11.8.3. Anyagok, amelyeknél a karcinogenitás veszélye felléphet

Amennyiben karcinogenitásra utaló hatásokat vagy tulajdonságokat lehet kimutatni, akkor az egyéb idevonatkozó tesztelési stratégiák útmutatásainak, illetve a 93/67/EGK számú Irányelv alapelvei szerint kell a további vizsgálatokat elvégezni. A következő három bekezdésben megadott módszerek közvetlenül felhasználhatók a humán karcinogenitási kockázat becslésére, továbbá segítséget nyújthat annak eldöntéséhez is, hogy szükség van-e karcinogenitási tesztekre, vagy nem, és ha igen, akkor mikor.

A karcinogenitás további vizsgálatát szolgáló tesztek típusáról és konkrét időpontjáról a karcinogenitásra utaló jelek erőssége és megbízhatósága, a potenciális hatásmechanizmus és a várható humán expozíció alapján kell dönteni. Így tehát ha egy karcinogén-gyanús anyagra a bejelentő az illetékes hatóságok számára megfelelő módon demonstrálja, hogy az anyagot csak zárt rendszerben alkalmazzák, akkor a további vizsgálatokat esetleg érdemes lehet elhalasztani, és a helyzet átértékelését csak a következő tonna szint elérésekor, vagy akkor kell megejteni, ha bejelentés érkezik a helyzet megváltozásáról. Ezzel szemben a fogyasztói termékekben használt anyagoknál az expozíciós szinttől, illetve a testbe való felvételi potenciáltól, stb. függően azonnal elrendelhetőek a további vizsgálatok.

Hasznos lehet az is, ha a karcinogén-gyanús anyagok esetében a toxikokinetikai adatokat (pl. a testbe való felvétel és exkréció kinetikája, szöveti eloszlás, anyagcsere adatok, egy vagy esetleg több fajra vonatkozóan is) már előbb összegyűjtjük, mint azt a 67/548/EGK számú Irányelv előírja.

A rövid időtartamú vizsgálatok (pl. a daganatos transzformáció, vagy a sejtosztódás vizsgálata) ugyancsak szolgálhatnak az értékelés számára hasznos információkkal. Fontos, hogy a rövid időtartamú rendszer megválasztásakor figyelembe vegyünk az anyag speciális tulajdonságait. A máj vizsgálatára irányuló biológiai tesztet például akkor tekinthetünk adekvátnak, ha a máj a célszerv.

3.11.8.4. Mutagénként osztályozott új anyagok

Amennyiben egy új anyagot minimum 3. osztályú mutagénként osztályoznak, fontos, hogy lehetőleg elkerüljük a karcinogenitásra vonatkozó biológiai teszteket. Erre azért van szükség, mert az ilyen jellegű tesztek elvégzéséhez és leírásához nagyon hosszú idő kell, és időben meghozott döntésekre van szükség az anyag tényleges várható használati mintázatáról, illetve

az esetleges humán egészségügyi kockázatokról. Ezen túlmenően az ilyen tesztekhez nagy számú állat szükséges, ezért az állatok védelme érdekében lehetőleg az ilyen jellegű vizsgálatok elvégzése nélkül kellene a döntéseket meghozni. Habár az új anyagot mutagénként sorolták osztályba, az ellenőrzésnél úgy kell eljárni, mintha karcinogén lenne. Az alábbi három lehetséges megoldás létezik:

- amennyiben elég meggyőző adat van arra, hogy az anyag, ha letesztelnék, megfelelne a 2. osztályú karcinogénekre vonatkozó kritériumoknak, akkor ezt az osztályozást kell alkalmazni. Rendes körülmények között ilyenkor nem lesz szükség karcinogenitási biológiai tesztek elvégzésére;
- további mutagenitási tesztekre lehet szükség, ahogy az a 3.10 pont alatt szerepel. Az arra vonatkozó bizonyítékok, hogy az anyagot 2. osztályú mutagénként kellene klasszifikálni, általában eléggé meggyőzőek lesznek ahhoz, hogy az anyagot ténylegesen 2. osztályú karcinogénként klasszifikáljuk. Rendes körülmények között ilyenkor nem lesz szükség karcinogenitási biológiai tesztek elvégzésére;
- az anyagot úgy kell tekinteni, mintha karcinogén-gyanús lenne (ld. 3.11.8.3 pont).

3.11.8.5. A karcinogenitási teszt

Amikor a forgalmazási szint eléri az 1000 t/év szintet, vagy halmozott mennyiségben az 5000 tonnát, a nem mutagénként osztályozott anyagokat karcinogenitási vizsgálatoknak kell alávetni, hacsak a kockázatbecslést végző hatóság számára megfelelően nem bizonyítható, hogy az alábbi helyzetek valamelyike fenn áll:

- a várható humán expozíció elhanyagolható;
- az anyaggal kapcsolatos ismeretek összefogó értékelése alapján feltételezhető, hogy a karcinogenitás valószínűsége elhanyagolható (azaz az anyag toxikológiai, toxikokinetikai vagy egyéb tulajdonságai alapján semmi sem utal karcinogenitásra);
- vannak ugyan karcinogenitásra utaló jelek, de úgy tűnik, hogy humán egészségügyi szempontból ezek nem relevánsak (pl. a toxikokinetikai adatok, vagy a hatásmechanizmus alapján látszik, hogy az adott hatás emberekben nem fordulhat elő, ilyenek például a hím patkányoknál jelentkező alfa-2 mikroglobulin-mediált vesedaganatok);
- vannak ugyan karcinogenitásra utaló jelek, és a hatásmechanizmus adatok alapján a kockázatok jellemzése is lehetséges, és a háttérben meghúzódó toxikus hatásra meg lehet határozni azt a szintet, ahol még nem jelentkezik.

Amennyiben mégis szükség lenne egy karcinogenitási biológiai teszt elvégzésére, javasoljuk, hogy a kockázatbecslést végző hatóság a bejelentővel egyeztetve döntsön a vizsgálatok típusáról és a konkrét teszt protokollokról még a vizsgálatok megkezdése előtt.

Az összes rendelkezésre álló adat alapján és alapos megfontolást követően kell megválasztani a karcinogenitási vizsgálatok során alkalmazandó állat fajáról.

Javasoljuk továbbá azt is, hogy ha karcinogenitási vizsgálatot kell végezni, akkor lehetőség szerint egy krónikus toxicitási vizsgálatot is vegyünk bele a teszt protokollba. Ma már ténylegesen bevett gyakorlat, hogy a karcinogenitási vizsgálatok részeként nem csak krónikus toxicitási tesztekkel végeznek, hanem megfelelő kísérő- (szatellit) csoportok segítségével a szisztémás toxicitásra vonatkozó NOAEL-t is meghatározzák (azaz az V. mellékletben

megadott kombinált krónikus toxicitási - karcinogenitási vizsgálatnál is kiterjedtebb vizsgálatot végeznek). A krónikus toxicitás vizsgálat időtartamát a 3.9 pont alatt tárgyaltuk részletesebben.

3.11.8.6. Karcinogenitási vizsgálat 1000 t/év (halmozott mennyiségben 5000 t.) elérése előtt

Egyedi esetekben előfordulhat, hogy az fent megadott értékelés során összegyűjtött és felhasznált adatok bizonyító erejének szakértői véleményezése nyomán már az 1000 t/év mennyiség (halmozott mennyiségben 5000 tonna) elérése előtt felmerülhet a karcinogenitási vizsgálatok elvégzésének szükségessége. Egy ilyen jellegű igény felmerülése mindenképpen arra utal, hogy különösen nagy a karcinogenitás veszélye, mind a potenciális karcinogenitás, mind pedig a várható humán kitettség vonatkozásában.

Amennyiben a potenciális veszélyek nagysága miatt a karcinogenitási tesztek elvégzése már az 1000 t/év (halmozott mennyiségben 5000 tonna) szint elérése előtt szükségessé válik, a karcinogenitás vizsgálatok eredményeinek megérkezése előtt az illetékes hatóság által elvégzett kockázat jellemzés kimutathatja, hogy szükség van a kockázatok csökkentésére (ld. a 93/67/EGK számú Irányelv, 3. cikkely (4) pontját).

3.12. Reprodukív toxicitás

3.12.1. Bevezető

3.12.1.1. A reprodukív toxicitás definíciója

A reprodukív toxicitás kifejezést azokra az (anyag által előidézett) káros hatásokra szokták alkalmazni, amelyek kapcsolatban állnak az emlősök reprodukív folyamataival. Pontos definíciója a 67/548/EGK számú Irányelv VI. mellékletében található. Ide tartozik a szaporodási ciklus összes fázisa, a hím és női reprodukív funkciók vagy képességek károsodásai, továbbá az utódokban jelentkező, de nem öröklődő károsodások, pl. halál, növekedési retardáció, illetve különböző strukturális és funkcionális hatások. A 92/32/EGK számú Irányelvben található a reprodukív toxikus anyagok definíciója. Az anyagok reprodukívra gyakorolt káros hatásai alapján történő osztályba sorolásának kritériumai a 93/21/EGK számú Irányelvben találhatók.

3.12.1.2. Az anyagok reprodukív toxicitási vizsgálatának célja

Meghatározni:

- hogy a vizsgált anyaggal való humán expozíció okoz-e valamilyen károsodást a szaporodási funkciókban vagy képességekben; és/vagy
- hogy állatkísérletekben a hím és/vagy nőstény állatok kezelése a fogamzás előtt, vagy a vemhesség, illetve laktáció idején okoz-e valamilyen károsodást a reprodukív funkciókban vagy képességekben; és/vagy

- hogy állatkísérletekben az anyag vemhes nőstényeknek való beadása az embriók szervrendszereinek kialakulása idején okoz-e az utódokban nem öröklődő káros elváltozásokat.

Az anyag reprodukciót érintő káros hatásai mindig nagy veszélyt jelentenek, de ahol lehet, meg kell különböztetni az anyag sajátosságaiból eredő specifikus káros hatásokat azoktól, ahol a reprodukív funkciók károsodása az általános toxicitás (pl. a csökkent táplálék vagy bevitel, illetve az anyai stressz) nem specifikus következménye. A reprodukív toxicitást tehát a szülői toxicitással együtt, egyazon vizsgálatban kell értékelni.

3.12.2. A hatás értékeléséhez felhasználandó adatok

3.12.2.1. Minimálisan szükséges adatok

A minimálisan szükséges adatokat mind a meglévő, mind pedig az új anyagokra a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A melléklete tartalmazza.

Új anyagok

A 67/548/EGK számú Irányelv rendelkezései alapján az új anyagok reprodukív toxicitásának specifikus in vivo tesztekkel történő vizsgálata az 1. szint (legalább 10 tonna per év (t/év), vagy halmozott mennyiségben 50 tonna) elérése előtt általában nem merül fel: az alapszintre (1 t/év) előírt reprodukív toxicitási szűrés egyelőre csak "formalitás", mivel hogy sem a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében sem az OECD vizsgálati/tesztelési útmutatóban nem szerepel megfelelő szűrés módszer. Azonban a különösen nagy veszélyt jelentő anyagok esetében már a 10 t/év szint elérése előtt is (azaz mihelyt az alapszintű vizsgálatok eredményei beérkeznek) elő lehet írni a reprodukív toxicitás specifikus vizsgálatát. Az alábbiakban ismertetjük azt is, hogy a kockázatbecslést végző hatóság milyen kritériumok alapján tudja beazonosítani ezeket az anyagokat.

Rendes körülmények között ha új anyagok tesztelésére kerül a sor, a 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében megadott módszereket kell alkalmazni. A reprodukív toxicitás vizsgálatára az V. melléklet két módszert ad meg; az egy- vagy kétgenerációs reprodukív toxicitási tesztet ("fertilítási teszt") és a fejlődés toxicitási tesztet ("teratogenitási teszt"). Tudományosan megalapozott indokok alapján az V. mellékletben megadott módszerektől eltérően is el lehet végezni a vizsgálatokat.

Új anyagokra azonban **nem** javasolt az OECD in vivo reprodukív toxicitási szűrővizsgálatának (az előzetes Tesztelési Útmutató 421. és 422. pontja) alkalmazása.

Az V. mellékletben megadott módszerekkel ellentétben az OECD szűrővizsgálattal kapott negatív eredmények nem bizonyítják megfelelő módon, hogy az anyag nem jelent veszély a reprodukcióra.

Meglévő anyagok

A VII.A melléklet előírja, hogy meglévő anyagok esetében rendelkezésre kell állnia a reprodukív toxicitás potenciállal kapcsolatos "szűrési" adatoknak. Mielőtt a tesztelés

lehetőségét mérlegelnék, át kell tekinteni a korábbi adatokat, hogy megfelelnek-e az ilyen jellegű "szűrés" kritériumainak.

A VII.A melléklet rendelkezéseit úgy kell értelmezni, hogy ha egy meglévő anyagok esetében a korábbi reprodukív toxicitási adatok között nincsen használható, akkor ezen alapszintű adatok - mint minimális követelményeknek - pótlására vizsgálatokat kell végezni, méghozzá az előzetes OECD Vizsgáló/Tesztelési Útmutató 421. pontja alatt megadott módszer (reprodukív/fejlődési toxicitási szűrő teszt) alkalmazásával. Amennyiben egy nem EU tagország által szponzorált meglévő anyagokkal kapcsolatos OECD program keretében foglalkoztak az anyaggal és elvégezték az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 422. pontja szerinti vizsgálatot (kombinált, ismételt dózisú toxicitási teszt reprodukív/fejlődési toxicitási szűrő tesztel), akkor az ebből származó eredményeket és adatokat úgy kell tekinteni, hogy megfelelnek a reprodukív toxicitás szűrésére vonatkozó követelményeknek. Ha e két vizsgálat bármelyikét végzik, meg kell találni a káros hatások, illetve az egyéb szisztémás toxicitási válaszok és a dózis szint közötti összefüggéseket. Fontos, hogy csak abban az esetben végezzünk állatkísérleteket, ha a vonatkozó jogi előírások alapján ez indokolt, továbbá ha eredményeit várhatóan hasznosítani tudjuk majd a kockázatbecslés során.

Az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 421. pontja helyett alternatív megoldásként - ha rendelkezésre áll egy legalább 90 napos és megfelelő minőségű ismételt dózisú toxicitási vizsgálat, amelynek során a reprodukív szervek (különösen a hím reprodukív szervek) szövettani elváltozásait is megvizsgálták - egy fejlődési toxicitási vizsgálat is elégségesnek tekinthető a reprodukív toxicitás szűrésének céljaira.

3.12.2.2. A már rendelkezésre álló adatok

Humán adatok:

Meglévő anyagok esetében előfordulhat, hogy a reprodukív toxicitás bizonyos aspektusaival kapcsolatban vannak humán adataink. Adatforrások lehetnek például azok az epidemiológiai tanulmányok, amelyek során vizsgálják, hogy a humán expozíciót követően előfordulnak-e menstruációs zavarok, hogyan változik a libidó, a fertilitást, a terhességek kimenetele, vagy az ondó; továbbá lehetnek bizonyos kitétségekhez társuló születési rendellenességeket feldolgozó esettanulmányok is.

Állatkísérletes adatok:

Igen sokféle állatkísérlet szolgáltathat különböző mennyiségű közvetlen vagy közvetett adatot a reprodukív toxicitással kapcsolatban, például:

- az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 421. pontja alatt megadott módszer szerint végzett vizsgálatok;
- 1- vagy 2- (vagy több-) generációs vizsgálatok az V. mellékletben megadott módszerek szerint;
- fejlődési toxicitási vizsgálatok az V. mellékletben megadott módszerek szerint;
- perinatális és posztnatális vizsgálatok;
- hím- vagy női fertilitási vizsgálatok;
- az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 422. pontja alatt megadott módszer szerint végzett vizsgálatok;

- egyéb rövid időtartamú in vivo szűrővizsgálatok (pl. Chernoff és Kavlock tesztek);
- ismételt dózisú toxicitási vizsgálatok;
- toxikokinetikai vizsgálatok;
- nem emlősökön végzett vizsgálatok.

Egyéb adatok:

További adatok is állhatnak rendelkezésre az anyag fiziko-kémiai tulajdonságairól, vagy egyéb in vitro vizsgálatokból: többek között sejt kultúrák (pl. embrionális sejtek, petesejtek), embrionális kultúrák (pre- vagy posztimplantációs embriók), vagy szervek szövetkultúráinak vizsgálatai, vagy spermium-mobilitási tesztek.

Előfordulhat, hogy az anyag fiziko-kémiai tulajdonságai alapján is meg lehet határozni, hogy a kitétséget követően várható-e az anyag testbe történő felvétele egy adott kapun keresztül, továbbá hogy az anyag (vagy valamely anyagcsereterméke) nagy valószínűséggel át tud-e lépni a méhlepénygáton, vagy ürülhet-e az anyatejjel.

3.12.3. A rendelkezésre álló adatok értékelése

Amikor egy adott anyaggal kapcsolatos összes reprodukív toxicitási információt értékeljük, nem szabad elfelejteni, hogy a reprodukív toxicitás számos különféle hatást magában foglal, amelyek közül esetleg nem mindegyikkel foglalkoztak. Az egyes vizsgálatok értékelésekor tehát a referensnek mérlegelnie kell azt is, hogy vajon van-e olyan fontos paraméter, amelyet nem meghatároztak meg vagy nem vizsgáltak ellőképpen.

Humán adatok:

Gyakran igen nehéz egyértelmű összefüggést találni valamilyen humán expozíció és egy reprodukíóra gyakorolt káros hatás között, hacsak nem egy ritka születési rendellenességről van szó és a kitétséget megfelelően jellemezték. Ez részben annak köszönhető, hogy az olyan reprodukív hatásokra, amelynek a "természetes" előfordulása is viszonylag gyakori (ilyen pl. a spontán vetélés) nehéz megállapítani az ok-okozati összefüggéseket, ezért az előfordulási torzítás miatt megbízhatatlan eredményeket kaphatunk.

Másrészt vannak olyan hatások is (pl. a libidó), amelynek megítélése nagyon szubjektív. Mint a humán adatok esetében általában, kevert expozíció és/vagy az életmóddal összefüggő számos zavaró tényező is előfordulhat. A jól megtervezett és prezentált, a reprodukív és az idevágó nem reprodukív hatások leírását is tartalmazó epidemiológiai tanulmányok hasznos adatokkal is bizonyítékokkal járulhatnak hozzá annak eldöntéséhez, hogy vajon az anyag toxikus-e a reprodukívitásra, avagy sem.

Állatkísérletes adatok:

Az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 421. pontja szerint elvégzett vizsgálatok eredményei alapján a referens esetleg el tudja majd dönteni, hogy az anyag toxikus-e a reprodukívitásra (vagyis ha a teszt egyértelműen "pozitív" eredményt ad).

Ez a módszer azonban csak korlátozottan alkalmazható a prenatális expozíció nyomán jelentkező posztnatális hatások, vagy a posztnatális expozíció eredményeképpen jelentkező hatások kimutatására. Ezen kívül a vizsgálat felépítése is (az egyes dóziscsoportokban

viszonylag kevés állat van; a vizsgálat időtartama is viszonylag rövid) hozzájárul ahhoz, hogy ezzel a módszerrel nem lehet egyértelműen bizonyítani, hogy nincs hatás. Az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 422. pontja szerint elvégzett vizsgálatok értékelésekor ugyanezeket a szempontokat kell figyelembe venni.

A specifikus reprodukció toxicitás megítélésére leginkább az V. mellékletben megadott módszerek szerint elvégzett és megfelelően prezentált egy- vagy kétgenerációs, vagy fejlődési toxicitási vizsgálatok alkalmasak, különösen ha a kísérletek elvégzésekor a GLP szabályait is figyelembe vették. Ezeket a vizsgálatokat arra is fel lehet használni, hogy megállapítsuk, ha egy anyag az adott kérdés tekintetében nem bizonyul veszélyesnek. A GLP-nek nem megfelelő, vagy az V. mellékletben megadott módszerektől eltérően elvégzett vizsgálatokat is ugyanígy fel lehet használni annak eldöntésére, hogy az adott anyag káros-e a reprodukcióra, ha a vizsgálathoz elegendő számú és megfelelő fajú állatot alkalmaztak, és ezek közül elegendő túl is élte a kezelést (általában legalább annyi, amennyi az V. mellékletben meg van adva, habár szakértői vélemény alapján egy kevesebb állatot alkalmazó vizsgálat is elfogadhatónak bizonyulhat), és ahol elegendő számú és nagyságú dózist volt (ahogy az az V. mellékletben szerepel), és a szükséges megfigyeléseket is elvégezték.

A reprodukció toxikus anyagok azonosítására az olyan ismételt dózisu toxicitási vizsgálatok eredményeit is fel lehet használni, ahol a vizsgálatok során a reprodukció szervekben (legtöbbször a herében) kifejezett káros hatásokat lehetett megfigyelni. Az ilyen vizsgálatok "negatív" eredményei azonban nem bizonyítják kellőképpen, hogy az anyag nem veszélyes a reprodukcióra.

Új anyagokra kidolgoztak egy, az adatok fokozatos és forgalmazási szinttől függő összegyűjtését elősegítő stratégiát. Az alábbiakban közöljük a meglévő anyagokkal kapcsolatos korábbi adatok értékelésének szempontjait.

Ha vannak korábbi peri-, illetve posztnatális tesztek, vagy specifikus hím- vagy női fertilitási vizsgálatok, akkor ezek eredményeit is fel lehet használni a reprodukció toxikus hatású anyagok azonosításához. Az ilyen vizsgálatok "negatív" eredményei azonban önmagukban nem bizonyítják kellőképpen, hogy az anyag nem veszélyes a reprodukcióra.

Pontosabb adatok hiányában a rövid időtartamú in vivo vizsgálatok (pl. Chernoff/Kavlock tesztek), a nem emlősökön végzett vizsgálatok vagy az in vitro tesztek alapján nem lehet megalapozott döntést hozni egy anyag reprodukció toxikus képességéről, potenciáljáról. Az ilyen vizsgálatok "pozitív" eredményei arra utalnak, hogy az anyag potenciális reprodukció hatású, de megfelelően és az V. melléklet módszerei alapján elvégzett reprodukció toxicitási vizsgálatok egyértelmű "negatív" eredményei könnyen felülbírálhatják ezeket. Az esetleges "negatív" eredmények a kérdéses vizsgálat megbízhatóságától függően hozzájárulhatnak a bizonyítékokhoz.

3.12.4. A dózis-válasz összefüggések elemzése

A reprodukció toxicitást általában olyan hatásnak tartják, amelynek háttérben dózisküszöbvel jellemezhető folyamat áll. A kockázatok jellemzése során tehát lehetőség szerint meg kell határozni a reprodukcióra káros hatásra vonatkozó NOAEL vagy LOAEL értékeket.

A NOAEL/LOAEL meghatározása helyett alternatív megoldást jelenthet a benchmark-dózis alkalmazása, amelyet a fejlődési toxicitási vizsgálatokhoz ajánlanak; ezzel a módszerrel kapcsolatosan további részletek a 3.4 pont alatt találhatók.

Ha megfelelően elvégzett és megbízható humán vizsgálatok alapján sikerült meghatározni a NOAEL értéket, akkor a kockázatok jellemzésekor elsősorban ezt az értéket használjuk. Ez azonban általában ritkán fordul elő.

3.12.5. A reprodukív hatásvizsgálatok bizonytalansága

Hacsak a hatás nem nagyon specifikus és amúgy alacsony a "normál" előfordulása, a humán vizsgálatok alapján beazonosított reprodukív hatások bizonytalansága igen nagy lehet (ld. feljebb, a humán adatok értékelési szempontjainál).

Az is nyilvánvaló, hogy a nem humán reprodukív toxicitási vizsgálatok legtöbb típusánál is számos korlátozó tényezővel kell számolni. Megfelelő biztonsággal általában az V. mellékletben megadott módszerekkel és megbízhatóan elvégzett kísérletek alapján lehet csak kimondani egy anyagról, hogy toxikus hatású vagy nem toxikus a reprodukívra. Egyéb vizsgálatok, pl. az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 421. és 422. pontja alatt megadott tesztek is szolgálhatnak (az OECD módszerek esetében) egyértelmű, vagy közvetett bizonyítékkal a reprodukív toxicitás megléte tekintetében, de azt nem tudják megfelelően bizonyítani, hogy nincs reprodukív toxicitás. A bizonytalanság csökkentéséhez hozzájárulhatnak egyéb vizsgálatok (pl. humán tesztek) eredményei, illetve toxikokinetikai s adatok is.

3.12.6. Mikor van szükség a vizsgálatokra: általános alapelvek

Az alábbi pontokban megadott alapelvek az új anyagokra vonatkoznak. Ahogy az a 3.1 pont alatt szerepel, meglévő anyagok esetében is lehetőleg ezeket alkalmazzuk.

Fontos, hogy a vizsgálati programok kialakításánál, illetve a konkrét teszt protokollok megválasztásánál minden, az anyag fizikai-kémiai, toxikokinetikai és toxikodinamikai tulajdonságaival kapcsolatban rendelkezésre álló adatot, továbbá a molekuláris szerkezeti analógokkal kapcsolatos információkat (azaz molekuláris szerkezet-aktivitás összefüggések - SAR) is figyelembe vegyünk.

A reprodukív toxicitási vizsgálatokhoz alkalmazandó faj kiválasztásánál is az összes rendelkezésre álló adat és információ alapján kell meghozni a döntést. Az egy- és kétgenerációs, illetve a kezdeti fejlődési toxicitási vizsgálatok esetében azonban általában a patkány tekinthető a legalkalmasabb állatfajnak, részben a rengeteg, már meglévő háttér információ miatt, részben pedig amiatt, hogy az általános toxicitási tesztekhez is ezt az állatfajt használják. A második fejlődés-toxicológiai vizsgálatához általában nyúl szoktak használni, ugyancsak a sok egyéb háttér adat miatt.

Más fajokat csak abban az esetben alkalmazzunk, ha teljesen egyértelmű, hogy jobban megfelelnek az adott vizsgálatához, mint a patkány, vagy a nyúl.

A kiválasztott kezelési módoknak/expozíciós kapuknak is jó egyezést kell mutatnia a várható humán expozíciós kapuval vagy kapukkal, tovább figyelembe kell venni az anyag fiziko-kémiai és egyéb tulajdonságait, illetve az adott kapu esetében jelentkező toxicitását (szisztémás hatás), valamint az adott reprodukív toxicitási vizsgálat elvégzésének gyakorlati aspektusait is. Ideális esetben a toxikokinetikai és anyagcsere adatokat is figyelembe kell venni a reprodukív toxicitási vizsgálatához alkalmazandó kapu megválasztásakor. A

gyakorlatban az orális kapu a legelterjedtebb, úgyhogy - hacsak nem jelentkeznek arra utaló jelek, hogy a beadásnak ez a módja valószínűleg nem megfelelő (az anyaggal vagy molekulaszervezeti analógiáival kapcsolatos anyagcsere adatok alapján) – a per os módszert kell általában a legmegfelelőbbnek tekinteni az egy- vagy kétgenerációs vizsgálatokhoz. A fejlődési toxicitási vizsgálatoknál inkább előtérbe kerülhet a dermális vagy az inhalációs expozíciós kapu, ha van e tekintetben megfelelő indikáció. Amennyiben a bőrön keresztüli kezelést választjuk, esetleg stressz jellegű hatásokkal is számolni kell majd. Nem ajánljuk azonban a reproduktív toxicitási vizsgálatokhoz sem az intraperitoneális adagolást, sem pedig azokat a parenterális útvonalakat (pl. intravénás, intramuszkuláris, szubkután), amelyeket például gyógyszerek teszteléséhez szoktak alkalmazni, kivéve ha megfelelően indokolható és a kockázatbecslést végző hatóság is hozzájárul.

Különösen veszélyesek azok az anyagok, amelyek a szülői generációban az egyéb szisztémás hatások kiváltásához szükséges dózisok alatt okoznak reproduktív károsodásokat.

Egy reproduktív toxicitási tesztben általában minél több különböző dózist kell alkalmazni, kivéve ha egy úgynevezett "limit tesztet" kívánunk elvégezni, ahol csak egyetlenegy magas dózist (pl. napi 1000 mg/testsúly kg orális gyomorszondán át adagolva) alkalmazunk. A legnagyobb dózis általában nem kell, hogy magasabb legyen, mint 100 mg/kg/nap, és lehetőleg ki kell hogy fejtse némi toxikus hatást a szülőállatokban, de nem nagy olyan mértékűt, ami nyilvánvaló szenvedéssel vagy halállal járhat.

Az alacsonyabb dózisokat úgy kell megválasztani, hogy alkalmasak legyen egy esetleges dózis-válasz összefüggés vagy a NOAEL szint meghatározására. (Meg kell említeni, hogy az V. mellékletben megadott fejlődési toxicitási vizsgálati módszer szerint a legmagasabb dózisonak "lehetőleg indukálnia kell némi maternális toxicitást, például kisebb súlyvesztést, de a maternális letalitás nem haladhatja meg a 10%-ot". Javasolt, hogy a fejlődési toxicitási vizsgálatoknál a legmagasabb dózis tekintetében feleljünk meg a maternális toxicitásra vonatkozó követelménynek, de általában nem legyen letális.)

A VIII. mellékletben megfogalmazott követelmények részben "nyitott kimenetűek" (open ended), például előírja, hogy ha az első generáció vizsgálata alapján nem sikerült egyértelmű eredményeket kapni, akkor a második generációt is meg kell vizsgálni. Ez tehát némi rugalmasságot is biztosít; mindazonáltal ha megállapodás születik valamely vizsgálat elvégzéséről, a tervezési szakaszban mindenképpen rögzíteni kell azt is, hogy az esetleges pozitív, negatív vagy nem egyértelmű eredmények esetében kell-e, és ha igen akkor milyen formában és mikor, elrendelni további vizsgálatokat. Amennyiben ésszerűnek látszik a nem egyértelmű eredmények további vizsgálatát ugyanannak a vizsgálatnak a folytatásával, és ugyanazok az állatoknak a felhasználásával tovább folytatni, akkor általában ezt a megoldást kell előnyben részesíteni más állatok felhasználásával szemben.

3.12.7. Bevezető a vizsgálati stratégiához

3.12.7.1. Az útmutató ezen részének célja

A vizsgálati stratégia megadja a reproduktív toxicitási potenciállal kapcsolatos veszélyazonosítás fokozatos módszerét, amelynek alkalmazásával összegyűjthetjük a 67/548/EGK és a 93/67/EGK számú Irányelvekben előírt, az anyagok osztályozásához és címkézéséhez, továbbá minden forgalmazási szintre adekvát kockázat jellemzéséhez szükséges adatmennyiséget. A stratégiával ezen túlmenően azt is biztosítani kívánjuk, hogy az

adatok összegyűjtése a lehető leghatékonyabb és leghumánusabb módon történjen, így minimalizálva az állatkísérletek számát, illetve a felmerülő költségeket.

Az anyagok szisztematikus vizsgálatának elősegítése érdekében a meglévő adatok figyelembe vételével a vizsgálatokhoz stratégiai megközelítést kell alkalmazni. Az alábbiakban ismertetjük azt a logikai lépéssort, amelyet az anyagok reprodukív toxicitási vizsgálatokor irányelvként használhatunk. A stratégiát szükségszerűen nagy mértékben befolyásolták az új anyagokra vonatkozó tonna-küszöbérték függő vizsgálati követelmények.

Ahol lehet, a stratégiát az anyag vizsgálatára vonatkozó egyéb stratégiákkal együtt kell alkalmazni.

Új anyagok

Az új anyagokra vonatkozó vizsgálati követelmények a 67/548/EGK számú Irányelv VIII. mellékletében szerepelnek, de ez nem tartalmaz világos és megfelelően rugalmas útmutatást a potenciális reprodukív toxicitás szisztematikus vizsgálatához. (A VIII. melléklet szerinti vizsgálati követelményeket a 3.12.9 pont alatt ismertetjük.)

Meglévő anyagok

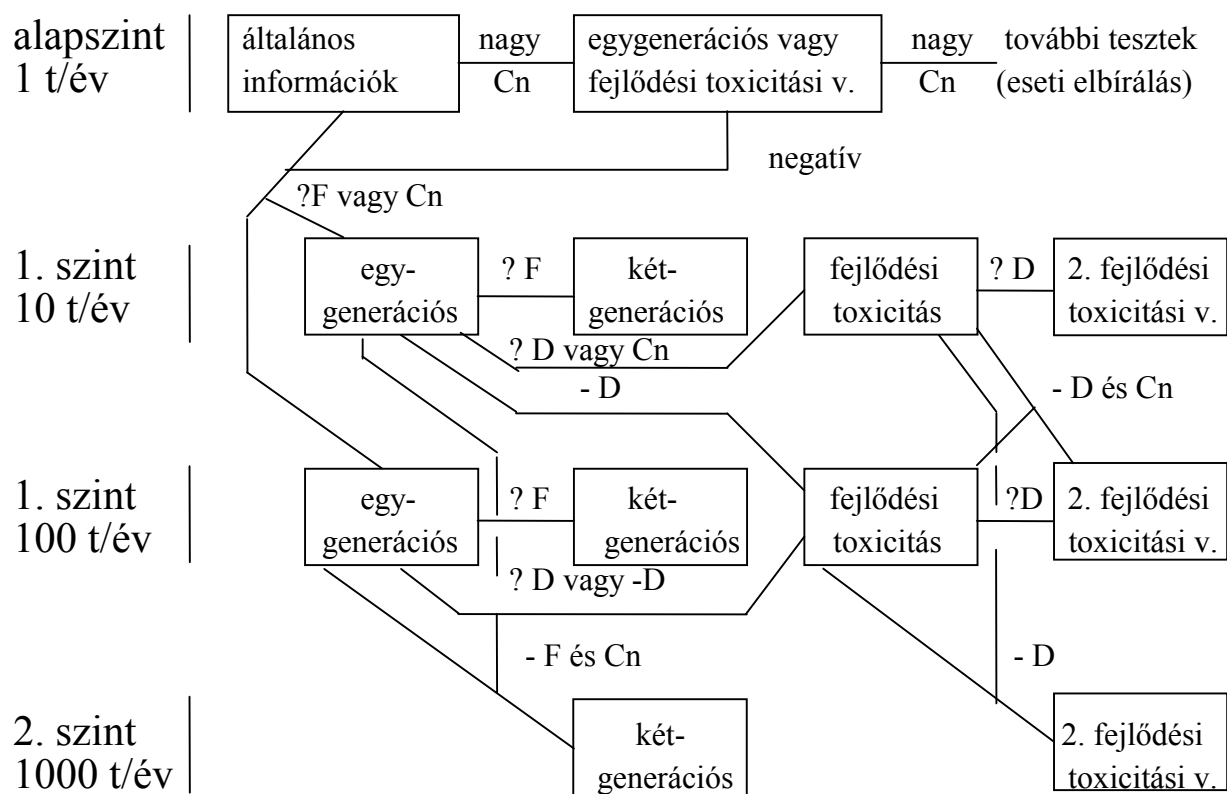
A meglévő anyagokra vonatkozó követelmények tekintetében a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A melléklete az irányadó, mely szerint a reprodukív toxicitási potenciállal kapcsolatosan a "szűrési" (screening) információknak rendelkezésre kell állni. Amennyiben egy ismert anyagra a reprodukív toxicitás tekintetében a korábbi adatok között nincsen használható, akkor ezeknek az alapadat igényeknek, mint minimális követelménynek, a kielégítésére vizsgálatokat kell végezni, méghozzá az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 421. pontja alatt megadott módszer (reprodukciós/fejlődési toxicitási szűrő teszt) alkalmazásával. Amennyiben egy nem EU tagország által szponzorált meglévő anyagokkal kapcsolatos OECD program keretében foglalkoztak az anyaggal és elvégezték az előzetes OECD Tesztelési Útmutató 422. pontja szerinti vizsgálatot (kombinált ismételt dózisos toxicitási teszt reprodukciós/fejlődési toxicitási szűrő tesztel), akkor az ebből származó eredményeket és adatokat úgy kell tekinteni, hogy megfelelnek a reprodukív toxicitás szűrésére vonatkozó követelményeknek. Ha e két vizsgálat bármelyikét végzik, meg kell találni a káros hatások, illetve az egyéb szisztémás toxicitási válaszok és a dózis szint közötti összefüggéseket. Fontos, hogy csak abban az esetben végezzünk állatkísérleteket, ha a vonatkozó jogi előírások alapján ez indokolt, továbbá ha eredményeit várhatóan hasznosítani tudjuk majd a kockázatbecslés során.

3.12.8. A vizsgálati stratégia

3.12.8.1. Előzetes szempontok

Új anyagok

A stratégia háttérében meghúzódó alapelv lényege, hogy az új anyagok reprodukív toxicitási tesztelését fokozatos módon, a Európai Közösségben jelentkező forgalmazási szinttel (az éves mennyiséggel) párhuzamosan végezzük el. Másfelől ne kezdjünk el addig egy következő vizsgálatot, amíg az előző eredményeit ki nem értékeltük. Ilyen módon össze tudjuk gyűjteni a megfelelő osztályozásához és címkézéshez szükséges információkat, amelyek az egyes forgalmazási szintekhez tartozó adekvát kockázat jellemzéshez is megfelelő alapot biztosítanak. A 4. ábrán összefoglalóan ábrázoltuk a stratégia lényegét.



4. ábra. Az új anyagok reprodukció toxicitási vizsgálatára vonatkozó stratégia generalizált folyamatábrája

<u>Rövidítések:</u>	v.	vizsgálat
	?	nem egyértelmű eredmény
	-	nincs káros hatás
	D	fejlődés-toxicológiai hatás
	F	fertilitás-toxicológiai hatás
	Cn	humán veszélyesség a potenciális expozíció vagy ismert reprodukció hatású anyagokkal való szerkezeti hasonlóság alapján

Megjegyzések

- Az ábra a stratégia egyfajta generalizált ábrázolása, amelyen nem szerepel minden egyes részlet. A részletek tekintetében a szöveg az irányadó.
- Minden egyes lépésben a konkrét vizsgálatot az előző lépés eredményei szabják meg (ld. a megfelelő részt a szövegben).
- Egy nem egyértelmű fertilitási vagy fejlődési hatás, bármelyik szinten is jelentkezzen, az anyagnak a 93/21/EGK számú Irányelvben megadott szempontok szerinti osztályozását és címkézését vonja maga után. Az adott hatás tekintetében további vizsgálatokra általában nincs szükség.
- Sok helyzetben a reprodukció toxicitás hiánya azt eredményezi, hogy "nincs szükség további vizsgálatokra". Ez az ábrán nincs feltüntetve, de a szövegben részletesen kitérünk rá.

- Az egygenerációs vizsgálatokat néha ki kell bővíteni és meg kell vizsgálni egy második almot vagy második generációt is ahelyett, hogy egy újabb (kéttgenerációs) vizsgálatra térnénk át. Ha a kibővített vizsgálatban egyértelmű fertilitási hatást kapunk az feleslegessé teheti a kéttgenerációs vizsgálat elvégzését.
- Az első fejlődés-toxicológiai vizsgálatot bizonyos körülmények között el lehet halasztani a 2. szint eléréséig (ld. a szövegben). Ha az elhalasztott vizsgálatban nem egyértelmű, vagy negatív eredményeket kapunk, akkor azonnal egy másik fajban is el kell végezni a fejlődési toxicitási vizsgálatot.

A konkrét vizsgálati programot számos tényező befolyásolhatja, különösen a humán expozíció várható vagy mért szintje és mintázata. Amennyiben széleskörű és jelentős humán expozícióval számolunk, és különösen akkor, ha az expozíció ellenőrzése nem megoldható (pl. fogyasztói használat), fel lehet gyorsítani, illetve ki is lehet bővíteni a vizsgálati programot, aminek segítségével előbb tudunk átfogó értékelést készíteni az anyag reprodukív toxicitási potenciáljával kapcsolatban. A vizsgálati programot további tényezők is befolyásolhatják, például ismételt dózisu toxicitási adatok, tovább ismert reprodukív anyagokkal való molekulaszervezeti hasonlóság (SAR adatok, ld. például Lewis (1991)).

Mivel alapvetően a várható humán expozíciós helyzetek (mintázatok) és szintek határozzák meg a vizsgálati programot, nagyon fontos az expozíció becslése is. Amennyiben vannak, fel kell használni minden kvantitatív expozíciós adatot, és a bejelentőket is buzdítani kell, hogy ilyen adatokat bocsássanak rendelkezésünkre. Új anyagok esetében azonban nem valószínű, hogy az alacsonyabb tonna-küszöbérték szinteknél ilyen kvantitatív expozíciós adatok rendelkezésre állnának; az ilyen esetekben alkalmazandó humán expozícióbecsléssel kapcsolatban további részletek a 2. pont alatt találhatóak.

A stratégiát a tapasztalatok és a reprodukív toxicitási vizsgálatok terén bekövetkezett aktuális fejlődés fényében mindig felül kell vizsgálni, és szükség szerint módosítani is kell.

Meglévő anyagok

A korábbi rendelkezésre álló adatok esetében meg kell vizsgálni, hogy megfelelnek-e a 67/548/EGK számú Irányelv VII.A mellékletében megadott, a "szűrési" információkra vonatkozó kritériumoknak.

3.12.8.2. Az alapszintre (1 t/év) előírt vizsgálatok

A 67/548/EGK számú Irányelv alapján alapszinten nem kell specifikus reprodukív toxicitási vizsgálatot végezni. Azonban utalás történik arra, hogy ezen szinten "szűrni" kell az új anyagokat a reprodukív toxicitási potenciál tekintetében. Ennek a szűrésnek azonban nem szabad in vivo tesztelést maga után vonnia. Jelenleg sem az V. mellékletben megadott módszerek, sem pedig az OECD Tesztelési Útmutatóban nincs erre a szűrésre megfelelő módszer, így az alapszintű "szűrési" követelmény egyelőre csak "formalitás".

Az alapszinten elvégzett 28 napos ismételt dózisu toxicitás vizsgálatok alapján lehetnek jelek, amik egy esetleges reprodukív toxicitási hatásra utalnak, például az ivarmirigyek, vagy az endokrin mirigyek kórszöveti elváltozásai. Az ilyesfajta megfigyelések alapvetően befolyásolhatják a reprodukív toxicitási vizsgálatok elvégzésének konkrét időpontját, ami

normális esetben az 1. szinten szokott elkezdődni, azaz 10 t/év vagy a 100 t/év tonna-küszöbértéknél (ld. lejjebb).

3.12.8.3. Reproductív toxicitási vizsgálatok az 1. forgalmazási szint elérése előtt

Kivételes esetben az is előfordulhat, hogy a reproductív toxicitási vizsgálatokat az alapszintű vizsgálatok befejezését követően azonnal elő kell írni. Ilyesmire akkor van szükség, ha az alapszintű toxicitási vizsgálatok (pl. a megfigyelt hatások, azok súlyossága illetve a dózis-válasz összefüggések alapján) és/vagy az SAR alapján nagyon nagy a reproductív toxicitás indikációja, továbbá ha a reproductív toxicitás a tényleges vagy becsült humán expozíciós szintek körüli dózisokban jelentkezik. Még nagyobb a veszély azokban az esetekben, ha a lakosság is ki van téve az anyag hatásainak.

Amennyiben az alapszintű vizsgálatok befejezését követően azonnal előírják a reproductív toxicitási vizsgálatok elvégzését, a várható toxikus hatások jellegét, továbbá az érintett humán populációt/népességi kört figyelembe véve minden esetben egyedileg kell mérlegelni, hogy mi legyen az első elvégzendő vizsgálat, továbbá hogy mikor végezzék el a további reproductív toxicitási tesztek. Ha például fejlődés károsodásokra utaló jeleket kapunk, akkor először a fejlődés-toxicitási vizsgálatot kell elvégezni.

3.12.8.4. Az 1. szinten (10 vagy 100 t/év) és a 2. szinten (1000 t/év) elvégzendő vizsgálatok

A reproductív toxicitási program kiindulási pontja általában az egygenerációs vizsgálat, amelyet normálisan az 1. szinten (vagy 10 t/év, vagy 1000 t/év, vagy a egyenértékű halmozott érték elérésekor) szoktak elvégezni minden anyag esetében. Ugyanezen a szinten, vagy a 2. szinten egy fejlődési toxicitási vizsgálatot (az V. mellékletben megadott 'Teratológiai vizsgálat') is elő lehet írni. A vizsgálatok elvégzésének legmegfelelőbb időpontjának megválasztása, illetve a további lépések tekintetében részletes útmutatást az alábbiakban adunk.

3.12.8.5. Az egy- és kétgenerációs vizsgálatok

Az első reproductív toxicitási vizsgálatnak általában az egygenerációs vizsgálatot (az V. mellékletben megadott 'Fertilitási vizsgálat') ajánljuk (egyetlen állatfajjal, hím és nőstény egyedek is). Ez egy általános teszt, amellyel az anyagnak a reproductív folyamatok számos elemére (libidó, fertilitás, magzati fejlődés, szülés, posztnatális hatások az anyaállatban (szoptatás) és az ivadékokban) gyakorolt hatása kimutatható.

A nem egyértelmű eredmények tisztázása érdekében esetleg kívánatos lehet a vizsgálatot egy második alomra és/vagy generációra is kiterjeszteni (ld. lejjebb): ezt a lehetőséget a vizsgálat megtervezésekor is mérlegelni kell és úgy kell kialakítani a protokollt, hogy a kibővített vizsgálat egyetlen folyamatos kísérletsorozatot jelentsen.

Ezen túlmenően ha a molekulaszervezeti analógiák vagy egyéb információk (pl. egyéb toxicitási tesztekben megfigyelt neurológiai hatások) arra utalnak, hogy az utódokban viselkedési vagy neurológiai zavarok léphetnek fel, érdemes lehet a kölykök megfigyelését az elválasztás utáni időszakokra is kiterjeszteni annak érdekében, hogy további információkat gyűjthessünk az utódok posztnatális fejlődésével kapcsolatban.

3.12.8.6. Tonna-küszöbérték az egygenerációs vizsgálathoz

Azt, hogy 10 t/év szintnél, vagy 100 t/év szintnél (vagy az ezekkel egyenértékű kumulatív értékek elérésekor) előírjuk-e az egygenerációs vizsgálatot, számos tényező befolyásolhatja.

- Ha reprodukív toxicitásra utaló adatok (pl. az ivarmirigyek kórszövettani elváltozásai egy ismételt dózisú toxicitási vizsgálatban; egy ismert reprodukív toxinhoz való molekulaszervezeti hasonlóság) már rendelkezésre állnak, akkor a 10 t/év forgalmazási szint (halmozott mennyiségben 50 tonna) elérésekor el kell rendelni az egygenerációs vizsgálatot;
- A potenciális humán expozíció is befolyásolja, hogy a vizsgálatot a 10 t/év szintről a 100 t/év eléréséig elhalaszthatjuk-e, avagy sem. Amennyiben az előrejelzések alapján elterjedt és nehezen ellenőrizhető humán expozícióval számolunk, különösen ha fogyasztói vagy közvetett expozíció is fellép, a vizsgálatokat normális esetben már a 10 t/év szint (halmozott mennyiségben 50 tonna) elérésekor el kell rendelni;
- Ha nincsen reprodukív toxicitásra utaló jel, és várhatóan az expozíció szintje is alacsony, akkor az egygenerációs vizsgálatot általában a 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérésekor szokták elrendelni.

3.12.8.7. Az egygenerációs vizsgálat eredménye és a további lépések

Az egygenerációs vizsgálatnak sokféle különböző eredménye lehet, amelynek nyomán számos különböző lépésre lehet szükség.

- Az egygenerációs vizsgálat egyértelmű károsodást jelez a fertilitás (definíciót ld. a 93/21/EGK számú Irányelvben) terén: ilyenkor az anyagot a 93/21/EGK számú Irányelvben megadott kritériumok szerint osztályba kell sorolni. Általában nincs szükség a fertilitási hatások további vizsgálatára, azonban a 2. szint elérésekor esetleg mérlegelni kell majd egy kétgenerációs vizsgálat elvégzését, ha várható, hogy az anyag által okozott fertilitási zavarok a következő generációban súlyosabb formában vagy alacsonyabb dózisonál jelentkeznek (pl. olyan anyagok, amelyeknél a fizikai-kémiai tulajdonságok vagy a toxikokinetikai adatok alapján biológiai akkumuláció várható; vagy a hormonális aktivitással rendelkező anyagok);
- Az egygenerációs vizsgálat alapján a fertilitási károsodás nem egyértelmű: ilyenkor az eredmények tisztázása érdekében azonnal el kell rendelni a további vizsgálatokat. Ha gyakorlati szempontok alapján megoldható az eredeti vizsgálatnak egy második alomra és/vagy generációra történő kiterjesztése, akkor lehetőleg ezt a megoldást válasszuk, és ne kezdjünk egy új független vizsgálatba. Az eredeti dózissal folyamatosan kezelt szülő állatoktól származó második alom még hasznosabb információkat szolgáltat a fertilitási zavarokkal kapcsolatban, mint egy második generáció vizsgálata, mivel az első esetben ugyanazokat az állatokat vizsgáljuk tovább, amelyek előzőleg a nem egyértelmű eredményeket adták;
- Az eredeti, a fertilitási károsodásokkal kapcsolatosan nem egyértelmű eredményeket adó vizsgálat kiterjesztésére nincs lehetőség: ilyenkor azonnal el kell rendelni egy második vizsgálat elvégzését és itt olyan protokollt kell használni, ami szükség esetén lehetővé teszi egy második alom és/vagy egy második generáció vizsgálatát. Ilyen esetekben

előfordulhat, hogy az egész vizsgálati módszert, és ezen belül különösen a dózis szinteket felül kell vizsgálni;

- Az egygenerációs vizsgálat alapján nincs bizonyíték fertilitási károsodásokra: ilyenkor a 2. szint elérésekor mérlegelendő, hogy szükség van-e egy kiterjedtebb és több információt szolgáltatató (pl. biztosítja az F1 generációban az elválasztást követően jelentkező hatások detektálását) kétgenerációs vizsgálatra, amennyiben nehezen kontrollálható és kiterjedt (pl. fogyasztói) expozícióval számolunk, és az egyéb toxikológiai hatásokra vonatkozó NOAEL értékekkel összehasonlítva az expozíciós szintek veszélyesek lehetnek. E potenciális követelmény alapján az olyan anyagok esetében, ahol a forgalmazási szint várhatóan eléri a 2. szintet, a bejelentő esetleg az 1. szintnél is a kétgenerációs vizsgálatot részesítheti előnyben, ha valószínű az ilyen jellegű expozíciós helyzet (minta);
- Esetlegesen fejlődési hatásokra utaló elváltozások (pl. az alomméret csökkenése, alacsony születési súly, az utódok alacsony túlélési aránya): ilyenkor azonnal további fejlődés-toxicitási vizsgálatot (az V. mellékletben megadott 'Teratológiai vizsgálat') kell elrendelni ugyanerre az állatfajra.
- Ennek segítségével különbséget lehet majd tenni a szülői generációt, illetve a magzatokat/utódokat érintő hatások között (pl. az alomméret csökkenését okozhatja a csökkent fertilitás, de az is lehet, hogy az anyaállat még az összeszámlálás előtt eltávolította a torz utódokat). A fejlődési toxicitási vizsgálatot követő lépések tekintetében ld. az alábbiakat;
- Esetenként előfordulhat, hogy az egygenerációs vizsgálatban egyértelmű bizonyítékot látunk a fejlődés-toxicitásra: pl. nincs látható anyagi toxicitás, de megnő az ivadékokban a fejlődési rendellenességek előfordulási gyakorisága. Ilyen esetben az anyagot a 93/21/EGK számú Irányelvben megadott kritériumok alapján kell osztályba sorolni. A NOAEL, és a dózis-válasz görbe jellegének meghatározása érdekében esetleg szükség lehet ugyanabban az állatfajban egy további fejlődési toxicitási vizsgálatra is, amelyet legkésőbb a 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérésekor kell elvégezni.

3.12.8.8. A fejlődési toxicitási vizsgálat

Itt azt vizsgáljuk, hogyha a vemhes állatokat a magzati szervkifejlődés (organogenezis) időszakában kezeljük az anyaggal, akkor az milyen káros hatásokat okozhat. Az első fejlődési toxicitási vizsgálatot általában az egygenerációs vizsgálat után ajánlott elvégezni, mert a vizsgálat megtervezése során tekintetbe kell venni az egygenerációs vizsgálatból kapott összes adatot és információt, különösen pedig a dózis-válasz összefüggéseket. Ha azonban (pl. az SAR alapján) erős indikáció van potenciális reprodukív toxicitási hatásokra, és a várható humán expozíció alapján is nagy veszélyt jelenthet az anyag, akkor az is előfordulhat, hogy a fejlődési toxicitási vizsgálatot az egygenerációs vizsgálatot megelőzően vagy azzal egyidőben kell elvégezni.

3.12.8.9. Tonna-küszöbérték a fejlődés-toxicitási vizsgálatához

Amennyiben az egygenerációs vizsgálatban fejlődési hatásokat, vagy arra utaló jeleket lehet megfigyelni, azonnal további intézkedéseket kell hozni.

Ha a 10 t/év szinten elvégzett egygenerációs vizsgálat a fejlődési toxicitásra semmilyen jel nem utalt, akkor a további fejlődési toxicitás vizsgálatok tekintetében számos tényező közre játszhat a döntés meghozatalakor:

- amennyiben (pl. az SAR alapján) nem jelentkezik fejlődési toxicitási indikáció, az első fejlődési toxicitási vizsgálatot a 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérésekor kell elvégezni;
- amennyiben az egyéb források (pl. SAR) alapján van indikáció egy esetleges fejlődési toxicitási hatásra, a vizsgálatot a 10 t/év szint (halmozott mennyiségben 50 tonna) elérésekor mérlegelni kell, és ennél a forgalmazási szintnél csak akkor kell elvégezni, ha nehezen kontrolálható és széleskörű expozícióval kell számolni (pl. fogyasztói termékekben való felhasználás esetében);
- amennyiben a 10 t/év (vagy 100 t/év) egygenerációs vizsgálatot legalább három dózis szinten megfelelően elvégezték, és az egyik dózisszint ezek közül napi 1000 mg/testsúly kg (szájon keresztül adagolás) körül volt, vagy ha "limit tesztként" végezték el és nem mutat semmilyen reprodukív károsodást, és a bejelentő megfelelően tudja demonstrálni a kockázatbecslést végző hatóság felé, hogy a várható humán expozíció elhanyagolható (pl. egy zárt rendszerben alkalmazott intermedier), és nincsen egyéb veszély indikáció (pl. az SAR alapján), akkor elfogadható, hogy a fejlődési toxicitási vizsgálat elvégzését az 1000 t/év szint (halmozott mennyiségben 5000 tonna) eléréséig elhalasszunk.

Amennyiben a 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérése előtt nem végeztek egygenerációs vizsgálatot, akkor az egygenerációs teszt eredményeinek értékelését követően minél hamarabb meg kell ejteni a fejlődési toxicitási vizsgálatot, kivéve ha a fenti harmadik pont alatt felsorolt körülmények megléte miatt a vizsgálat elhalasztható.

3.12.8.10. Az első fejlődés-toxicitási vizsgálat eredménye és a további lépések

Az első fejlődés-toxicitási vizsgálat is többféle eredménnyel járhat, ami több különböző további intézkedést vonhat maga után.

- Az anyag egyértelműen káros hatást gyakorol a fejlődésre (definíciót ld. a 93/21/EGK számú Irányelv 4.2.3.3 fejezetében): ilyenkor az 93/21/EGK számú Irányelvben megadott kritériumok alapján az anyagot osztályba sorolni és címkézni kell. Amennyiben az anyag megfelel a 2. osztály kritériumainak, rendes körülmények között nem kell további vizsgálatokat végezni;
- Az anyag kevésbé súlyos fejlődési toxicitási hatást fejt ki (pl. a legáltalánosabb szerkezeti variáns előfordulási gyakoriságának megváltozása, vagy a csontrendszer fejlődésének retardációja): ilyenkor az anyagot 3. osztályúként osztályozzák (ld. a 93/21/EGK számú Irányelv 4.2.3.3 fejezetét) és azonnal további fejlődési toxicitási vizsgálatokat kell végezni más állatfajban, így vizsgálva annak a lehetőségét, hogy az anyag esetleg súlyosabb hatásokat is okozhat;
- Nem egyértelmű eredmények valamely fejlődési toxicitási vizsgálatban (azaz a vizsgálat eredményei olyanok, hogy az anyag reprodukív toxicitásával kapcsolatban nem lehet biztos következtetéseket levonni): ilyenkor azonnali további vizsgálatokra van szükség, általában ugyanannak az állatfajnak az alkalmazásával. Ahhoz hogy használható eredményeket kapjunk, általában a vizsgálat felépítését kell módosítani, azaz pl. más

dózisokat, vagy nagyobb dózis csoportokat kell alkalmazni, és/vagy speciális vizsgálatok alkalmazását is fontolóra kell venni. Amennyiben a vizsgálati program során később kiderült, hogy az adott állatfaj a kérdéses anyag kémiai jellege tekintetében nem tekinthető a legérzékenyebbnek, másik fajt kell használni annak megállapításához, hogy a megfigyelt hatások valóban összefüggésbe hozhatók az anyaggal;

- Amennyiben az első fejlődési toxicitási vizsgálat egyértelműen negatív eredményeket ad, akkor a 2. szinten (1000 t/év, vagy halmozott mennyiségben 5000 tonna) egy második vizsgálatot kell végezni, még hozzá másik állatfajban, kivéve ha magasabb rendű indokok (pl. toxikokinetikai vagy anyagcsere adatok és/vagy a várható humán expozíció egyes fogyasztói termékeken keresztül széles körben érintheti a terhes korú nőket) alapján ezt inkább az 1. szinten (100 t/év vagy halmozott mennyiségben 500 tonna) lenne szükséges elvégezni. Amennyiben a második vizsgálat pozitív eredményt ad, akkor az anyagot ennek megfelelően kell osztályba sorolni és címkézni. Ha viszont ez a teszt is negatív, akkor általában nincs szükség további fejlődési toxicitási vizsgálatokra.

3.12.8.11. Perinatális és posztnatális hatások

A vemhesség, szülés és szoptatás alatt fellépő expozícióból eredő káros hatások vizsgálata az egy- és kétgenerációs vizsgálatok keretében történik, így tehát rendes körülmények között nem szükséges speciális peri- és posztnatális vizsgálatokra. Ha azonban széleskörű expozícióval kell számolni (pl. fogyasztói termékeken keresztül), akkor az egy- vagy kétgenerációs vizsgálat keretében szükség lehet a peri- és posztnatális káros reprodukív hatások megfelelő jellemzésére is. Ilyen körülmények esetén akkor kell mérlegelni egy peri- és posztnatális vizsgálat elvégzését, ha a forgalmazási szint eléri az 1000 t/év szintet (halmozott mennyiségben 5000 tonna).

3.12.8.12. Egyéb vizsgálatok

Speciális esetekben szükség lehet a reprodukív toxicitás további vizsgálatára is, ha az anyagot reprodukív toxicitása alapján osztályozták. Az illetékes hatóságok az alábbi tesztek elvégzését kérhetik:

- a NOAEL vagy a dózis-válasz összefüggések pontosabb meghatározása;
- in vivo és/vagy in vitro toxikokinetikai vizsgálatok a hatás helyének/mechanizmusának vizsgálatára;
- a fertilitási hatások reverzibilitásának vizsgálata;
- a megfigyelt hatások faj- és (ahol kell) nem-specifikusságának vizsgálata;
- potenciális specifikus laktációra gyakorolt hatások vizsgálata;
- hatások vizsgálata az alábbi területeken: ondósejtszám, morfológia és/vagy mobilitás; női ciklus. Ezek a vizsgálatok egy folyamatban lévő in vivo tanulmány keretében is elvégezhetők, vagy egyes esetekben (pl. ondósejt mobilitás) in vitro is elvégezhetők;
- specifikus indikáció esetében, speciális fejlődési neurotoxicitási vizsgálatok elvégzése, bár az US EPA növényvédő szerek kockázatbecslésével kapcsolatos irányelveitől eltekintve, jelenleg nincsenek még erre megfelelő tesztelési irányelvek.

3.12.9. A 67/548/EGK számú Irányelv alapján érvényes követelmények az új anyagok reprodukív toxicitási vizsgálataival kapcsolatban

A 67/548/EGK számú Irányelv V. mellékletében számos in vivo reprodukív toxicitási vizsgálati módszer szerepel.

A 67/548/EGK számú Irányelv értelmében az új anyagokat a reprodukív toxicitás szempontjából alapszinten (1 t/év vagy halmozott mennyiségben 5 tonna) "szűrni" kell, 10 t/év szintnél (halmozott mennyiségben 50 tonna) pedig mérlegelni kell az in vivo tesztelést. Ez utóbbi szinten az illetékes legfőbb hatóság előírhatja egyes reprodukív toxicitási vizsgálatok elvégzését (ld. lent: Tesztelés az 1. szinten).

A 100 t/év szint (halmozott mennyiségben 500 tonna) elérésekor az illetékes legfőbb hatóság el kell, hogy rendelje az 1. szintű teszteket, kivéve ha a bejelentő megfelelően indokolni tudja, hogy egy adott teszt miért nem adekvát, vagy ha egy tudományosan megalapozott alternatív módszer előnyösebb lehet. Ez a két forgalmazási szint adja az "1. szintet", amelynél az Irányelv VIII. melléklete alapján az alábbi teszteket kell elvégezni:

- "fertilítási vizsgálat (egy állatfaj, egy generációs, hím és nőstény állatok egyaránt, a legmegfelelőbb kezelési mód megválasztásával);
- amennyiben az első generáció vizsgálata nem egyértelmű eredményeket ad, a második generációt is vizsgálni kell. Az adagolás rendjétől függően ebben a vizsgálatban a teratogenitásra is kaphatunk indikációt. Pozitív indikáció esetén ezt hivatalos teratológiai vizsgálattal kell tovább elemezni;
- teratológiai vizsgálat (egy állatfaj, a legmegfelelőbb kezelési mód megválasztásával). Erre a vizsgálatra akkor van szükség, ha a fertilítási vizsgálat során teratogenitásra utaló jeleket kaptunk."

A "2. szintet" akkor érjük el, ha a forgalmazási szint elérte az 1000 t/év szintet (halmozott mennyiségben 5000 tonna). Ennél a tonna-küszöbértéknél a VIII. melléklet értelmében - "kivéve ha erős és bizonyítékokkal is alátámasztott érvek szólnak ez ellen" - a vizsgálati programba fel kell venni egy, a reprodukív toxicitás részletesebb vizsgálatára alkalmas tesztet is, amely lehet:

- "fertilítási vizsgálat (pl. háromgenerációs vizsgálat); csak akkor ha az 1. szinten meghatároztak valamilyen fertilítási hatást;
- fejlődési toxicitási vizsgálat a peri- és posztnatális hatások tekintetében;
- teratológiai teszt (az idevonatkozó 1. szintű vizsgálatban alkalmazott állatfajtól eltérő fajjal)."

4. A kockázatok jellemzése

4.1. Általános szempontok

A becslést végző hatóság a kockázatok jellemzése során összehasonlítja a humán populáció expozíciójával kapcsolatos kvantitatív és/vagy kvalitatív adatokat a NOAEL/LOAEL értékekkel, és lehetőség szerint kvalitatív szempontból értékeli, hogy az adott expozíciós szint megletekor milyen valószínűséggel lép fel a kérdéses hatás. Ezt mindegyik potenciálisan érintett populáció esetében külön-külön kell elvégezni. A hatóság azokra a hatásokra kell, hogy összpontosítson, amelyek humán toxikológiai relevanciával bírnak és amelyek a várható expozíciós szint mellett kifejezésre is juthatnak.

Hacsak nem rendelkezünk humán adatokból számolt NOAEL értékkel, akkor az állatkísérletekből meghatározott módosítatlan NOAEL/LOAEL értékeket használunk, ahogy az az alábbiakban ismertetésre kerül. Az alábbiakban leírt elvek akkor is alkalmazhatók, ha rendelkezünk humán NOAEL/LOAEL értékekkel, de egyes, az állatkísérletes adatok értékelése során alkalmazandó tényezőt ez esetben nyilvánvalóan nem kell figyelembe venni.

Ha valamely, az 1488/94 számú Rendeletben vagy a 93/67/EGK számú Irányelvben megadott hatásra már meghatároztak NOAEL/LOAEL értéket, akkor ezt kell összehasonlítani az érintett népességi kör expozícióbecsléseinek eredményeivel. Amennyiben adott hatásra több NOAEL/LOAEL értéket is meghatároztak, a legrelevánsabb NOAEL/LOAEL értéket kell felhasználni.

Amennyiben nem lehet meghatározni NOAEL/LOAEL értékeket, akkor a vizsgált népességi kör tekintetében releváns expozícióval kapcsolatos kvantitatív és/vagy kvalitatív információk alapján kell értékelni egy hatás előfordulásának valószínűségét. Ahol annak ellenére, hogy nem határozták meg a NOAEL/LOAEL értékeket, a tesztek eredményei alapján fennáll valamilyen összefüggés a dózis/koncentráció és a hatás súlyossága között, vagy olyan vizsgálati módszerrel összefüggésben, ami csak egyetlen dózis alkalmazásával jár, mégis meghatározható a hatás viszonylagos súlyossága, a hatás előfordulási valószínűségének értékelésekor, ezeket az információkat is figyelembe kell venni.

Ahol a becsült expozíció nagyobb vagy egyenlő mint a NOAEL/LOAEL érték, az arra utal, hogy az anyag a vizsgált népességi körre expozíció tekintetében "veszélyt jelent". Ilyen esetben a hatóságnak kell eldöntenie, hogy további expozíciós vagy toxicitási adatok összegyűjtésével pontosíthatók-e tovább az expozíciós vagy a NOAEL/LOAEL értékek, illetve, hogy ezt követően pontosítható-e tovább az az összehasonlítás, amely alapvetően befolyásolja a kockázat jellemzés eredményeit. Ehhez a döntéshez mérlegelni kell azt is, hogy vajon ezek a további adatok, nem előrejelezhető-e a már rendelkezésre álló adatok alapján.

Amennyiben a várható expozíció kisebb, mint a NOAEL/LOAEL érték, akkor a kockázatbecslést végző hatóságnak kell eldöntenie, hogy a lehetséges eredmények közül melyiket kell alkalmazni. Ennél a lépésnél azt kell mérlegelni, hogy a NOAEL/LOAEL értékek hány nagyságrenddel haladják meg a becsült expozíciót (azaz milyen mértékű a "biztonsági tényező"), illetve figyelembe kell venni az alábbi paramétereket is:

A 1488/94 számú Rendelet és a 93/67/EGK számú Irányelv alapján

- többek között a kísérleti adatok variabilitásából, illetve a fajon belüli és fajok közötti eltérésekből adódó bizonytalanság;
- a hatások jellege és súlyossága;
- az a humán populáció, amelyre a kvantitatív és/vagy kvalitatív expozíciós adatok vonatkoznak.

Egyéb tényezők

- expozíció belüli különbségek (kapu, időtartam, gyakoriság és minta);
- a megfigyelt dózis-válasz összefüggések;
- az adatbázis általános megbízhatósága.

A fenti egyedi paraméterek bizonyító erejének meghatározásához eseti megítélés alapján, szakértői véleményre lehet szükség. Az alkalmazott eljárásnak átvilágíthatónak kell lennie, és a levont következtetések tekintetében a kockázatbecslést végző hatóságnak megfelelő indoklást is adnia kell. A fenti paraméterekkel és a kockázat jellemzésben történő használatukkal számos publikáció foglalkozik (pl. Dourson & Stara, 1983; EPA, 1987; Hart et al., 1988; Lewis et al., 1990; IPCS, 1994; Renwick, 1993; UK, 1993 és ECETOC, 1995).

Új anyagok esetében a kockázatbecslést végző hatóságnak mindig mérlegelnie kell a expozícióbecslés felülvizsgálatát, ha a kockázat jellemzés alapján a 67/548/EGK számú Irányelvben megadott tonna-küszöbértékek elérése előtt elő kívánja írni az in vivo toxikológiai tesztek elvégzését: az ilyen jellegű felülvizsgálat kimutathatja, hogy a expozíció szintje alacsonyabb a vártnál, így a veszélyek is kisebb mértékűek. Ahogy azt a vizsgálati stratégiák ismertetésekor említettük, megfelelő alapot adhat a vizsgálatok elhalasztására, vagy végleges elvetésére, ha a humán expozíció elhanyagolható.

Különösen a meglévő anyagok esetében lehetséges, hogy a szükséges adatokat ipari vállalatoktól is beszerezhetjük, pl. az expozícióval és/vagy a toxicitással kapcsolatos egyéb adatokat a gyártó cégek megrendelőitől vagy az importőröktől is megkaphatjuk.

Ha kockázatbecslést végző hatóság döntése további adatok benyújtását írja elő, az ilyen döntésnek világosnak és megfelelően megalapozottnak kell lennie: a expozícióbecslés vagy a NOAEL/LOAEL értékek pontosítását szolgáló adatbekérési határozatokat a "minimális költség és erőfeszítés mellett maximális információ" alapelvére kell építeni, továbbá kerülni kell a felesleges állatkísérleteket is.

Mint azt már korábban jeleztük, a kockázat jellemzési lépésben figyelembe kell venni a potenciálisan érintett népességi kör jellegét is. Ez lényegében azt jelenti, hogy el kell dönteni vajon az érintett humán népességi körbe beletartoznak-e a gyerekek, idősek és betegek is, azaz, hogy az expozíció a teljes populációt érinti. A gyakorlatban a fogyasztókkal és a környezet által közvetetten érintett lakosságra vonatkozóan nagyobb a bizonytalansági tényező, mint a dolgozók esetében.

Ennek az az oka, hogy a dolgozók körébe feltételezhetően nem tartoznak bele a leginkább sérülékenyek (pl. a gyermekek, idősek és betegek); a munkahelyi expozíciós szintek és/vagy helyzetek ellenőrizhetőek, továbbá a munkahelyen érintett populációk vagy egyének számára specifikus védelem és/vagy monitorozás biztosítható. Bizonyos hatások (fejlődési toxicitás, légúti szenzibilizáció) esetében azonban különösen nagy figyelmet kell fordítani a "biztonsági tényezőre", amire az érzékenyebb szubpopulációk (pl. terhes nők, vagy a fokozott légúti reaktivitással rendelkezők) védelme érdekében lehet szükség.

Meg kell vizsgálni, hogy a további tesztekkel szemben támasztott követelményeket esetlegesen pontosabb expozíciós adatok és/vagy toxikokinetikai eredmények milyen mértékben befolyásolhatják. Ha például egy további ismételt dózisos, etetéses (per os) toxikológiai vizsgálat mellett (a fogyasztói expozíció vonatkozásában), szükség van az ismételt dózisos inhalációs vizsgálatra is (a munkahelyi expozíció vonatkozásában), a toxikokinetikai adatok alapján könnyebb lesz eldönteni, hogy egyetlen teszttel (és egyetlen expozíciós kapu alkalmazásával) mindkét cél megvalósítható-e. A toxikokinetikai vizsgálatok azonban általában igen költségesek és időigényesek, továbbá nagyon sok állatkísérlettel járnak. E tesztek elvégzésének mérlegelésekor ezeket a tényezőket is figyelembe kell venni. Eseti elbírálás alapján a további vizsgálati követelményeket a kockázatbecslés mindegyik lépcsőfokán a rendelkezésre álló adatok és lehetőségek (pl. az expozíció esetleges kontrollálása) figyelembe vételével kell mérlegelni, így integrált és megalapozott ajánlásokat tehetünk mind a további vizsgálatok, mind pedig a kockázatcsökkentés szükségessége tekintetében.

A NOAEL/LOAEL érték és az expozíciós szint arányától illetve a kérdéses hatás előfordulási valószínűségétől függően dönti el a kockázatbecslést végző hatóság, hogy az egyes érintett népességi körök és a hatások tekintetében milyen eredménnyel járt a kockázatbecslés:

Új anyagok:

- (i) A kérdéses anyag közvetlenül nem ad okot aggodalomra és nincs szükség újabb vizsgálatra mindaddig, amíg a 67/548/EGK számú Irányelv előírásai alapján újabb információk nem állnak rendelkezésre;
- (ii) A kérdéses anyag aggodalomra ad okot és az illetékes hatóságnak kell meghatároznia, hogy a kockázatbecslés pontosításához milyen további információkra van szükség, és ugyanezen hatóság rendeli el további információk bekérését, amikor a forgalomba hozott mennyiség eléri a következő tonna küszöbértéket;
- (iii) A kérdéses anyag aggodalomra ad okot (veszélyes), és a szükséges további információkat azonnal be kell kérni.
- (iv) A kérdéses anyag aggodalomra ad okot (veszélyes), és az illetékes hatóságnak azonnali hatállyal ajánlásokat kell tennie a kockázatok csökkentésére vonatkozóan.

Meglévő anyagok:

- (i) Szükség van további információkra és/vagy vizsgálatokra;
- (ii) Jelenleg nincs szükség további információkra és/vagy vizsgálatokra, és nincs szükség kockázatcsökkentő intézkedésekre azokon túlmenően, amelyek eddig is érvényben voltak;
- (iii) Szükség van a kockázatok korlátozására; figyelembe kell venni a jelenleg alkalmazott kockázatcsökkentő intézkedéseket.

Amennyiben egy vagy több hatás esetében további vizsgálatokra van szükség, az új anyagokra itt felvázolt vizsgálati stratégiák toxikológiai alapelveit kell alkalmazni. Ezek a vizsgálati stratégiák a meglévő anyagok kockázatbecsléséhez, csak mint döntéstámogató eszközök alkalmazhatók az adott hatással kapcsolatos veszélyek tisztázásához szükséges további vizsgálatok mérlegelésekor. Amikor úgy tűnik, hogy a kockázatbecslés pontosításához

szükség lehet további információkra, az igényelt információk jellegét pontosan definiálni kell, továbbá indokolni is kell ezen adatok bekérését.

Ahol a várható expozíció még a kockázat jellemzés pontosítását követően is nagyobb, vagy egyenlőnek adódik mint a NOAEL/LOAEL értékek, a kockázatbecslést végző hatóság általában előírja, hogy - (meglévő anyagok esetében) figyelembe véve a már meglévő intézkedéseket is - kockázatcsökkentő intézkedésekre van szükség.

4.2. Akut toxicitás

Az akut toxicitás szempontjából általában a rendeltetésszerű használat (pl. karbantartás, vagy ritkán adódó háztartási munkák) során jelentkező egyszeri (diszkrét) expozíciók jelentenek veszélyt. A feltételezhető nem rendeltetésszerű használatokat ugyancsak mérlegelni kell.

Az ilyen jellegű diszkrét expozíciós esetek tekintetében általában nem lehet megbízható kvantitatív adatokat kapni az expozíció szintjére, de számításokkal (pl. annak ismeretében, hogy milyen mennyiségű anyagról van szó és hogy ez milyen nagyságú térben terjedhet szét) legtöbbször meg lehet határozni a lenyelésen keresztüli (orális), dermális vagy inhalációs kapun jelentkező expozíció nagyságrendjét, ami már esetleg megfelelhet a célnak.

Ha a kockázatok jellemzéséhez humán vizsgálatokból származó akut toxicitási adatok használunk fel, pragmatikus módon össze kell hasonlítani a vizsgálatban jelentkező káros hatásokhoz tartozó expozíciós szinteket a vizsgált humán expozíciós szintekkel.

Mindazonáltal gyakran megesik, hogy a kockázatok jellemzéséhez használt akut toxicitási adatok állatkísérletes tanulmányokból származnak. Ilyen vizsgálatok esetében általában a dózis-válasz összefüggéseket is meghatározzák, de az is lehet, hogy az egyetlen megbízható számszerű érték, amit megadnak, az az LD₅₀ (vagy a diszkriminatív dózis, ha fix dózisu vizsgálatról van szó) vagy az LC₅₀ érték.

A humán expozíciós értékeket - ideértve a maximumokat is - össze kell vetni az akut toxicitási adatokból származó releváns dózisokkal vagy koncentrációkkal.

A különböző dózisok vagy koncentrációk esetében megfigyelt káros hatások, az LD(C)₅₀ vagy diszkriminatív dózis értékek, a káros hatások jellege és súlyossága, a dózis-válasz görbe meredeksége, a fajok és expozíciós kapuk közötti extrapoláció szükségessége és lehetősége, továbbá az érintett népességi kör(ök) figyelembe vételével elkészített szakértői vélemények segíthetik a hatóságot annak eldöntésében, hogy melyik eredményt fogadja el.

Amennyiben a kockázatbecslést végző hatóság elégedett a rendelkezésre álló expozíciós adatok és hatásokra vonatkozó információk relevanciájával és megbízhatóságával, továbbá ha úgy ítéli meg, hogy a humán expozíciós szint(ek) és az akut toxicitási vizsgálat(ok)ban megadott releváns dózisok/koncentrációk közötti különbség elegendően nagy ahhoz, hogy az akut toxikus hatások humán előfordulása igen kis valószínűséggel következne be, akkor le lehet vonni azt a konklúziót, hogy sem további információkra, sem pedig újabb kockázatcsökkentő intézkedésekre (a meglévőkön túlmenően) nincs szükség. Egy ilyen jellegű eredmény alátámasztása érdekében a kockázatbecslést végző hatóságnak nagy figyelmet kell fordítania a következőkre:

- a dózis-válasz görbe meredeksége, mivel nagyobb meredekség esetén nagyobb az egységnyi expozíció csökkentéshez járuló toxicitás csökkenés;
- az érintett népességi kör(ök) (általánosságban elmondható például, hogy az olyan populációk, amikbe gyerekek és betegek is beletartoznak, nagyobb védelmet igényelnek a károsító hatásokkal szemben);
- az anyag illékonyasága (a nagyon illékony anyagokat esetleg nem lehet az akut toxicitás szokásos kritériumai alapján osztályba sorolni, mert olyan magas koncentrációt érhetnek el a levegőben, ami egészségkárosodást okozhat a kitett populációban).

Amennyiben a hatóság nem tud arra a következtetésre jutni, hogy nincs szükség további információkra és/vagy vizsgálatokra, továbbá a meglévőkön túlmenően további kockázatcsökkentő intézkedéseket lát szükségesnek, akkor feltétlenül meg kell keresni ennek okait. Ha egyértelműen látszik, hogy sem a expozícióbecslés, sem pedig a hatásbecslés nem pontosítható lényegesen azáltal, ha jobban definiált vagy relevánsabb adatokat gyűjtünk be, továbbá ha figyelembe vettük a meglévő kockázatcsökkentő intézkedéseket is, akkor a kockázatok korlátozására lesz szükség (adott használat, vagy adott populáció/szubpopuláció (népességi kör/al-népességi kör) tekintetében).

Mindazonáltal a kockázatbecslést végző hatóság azt is megállapíthatja, hogy vannak olyan jobb és/vagy relevánsabb adatok, amelyekre a kockázatbecslés pontosítása érdekében szükség lehet. Lehetséges, hogy a kockázatbecslés pontosítása érdekében pontosabb mérési adatokat kell begyűjteni, vagy esetleg érdemes fizikai vagy matematikai modellezést végezni. Ami a további vizsgálatokat illeti, erre rendes körülmények között csak akkor lehet szükség, ha a meglévő adatok extrapolációja vagy értelmezése egy olyan expozíciós kapura nem lehetséges, amelyre akut toxicitási vizsgálatot eddig nem végeztek, de amelyen keresztül kiugrásszerű humán expozíció várható. Ilyen körülmények között a megfelelő expozíciós kapu alkalmazásával akut toxicitási vizsgálatot kell végezni.

4.3. Irritáció

A kockázatbecslést végző hatóságnak meg kell határoznia, hogy az expozíciós helyzet (mintázatok) alapján (és a meglévő kockázatcsökkentő intézkedéseket is figyelembe véve) valamely humán népességi kör esetében előfordulhat-e bőr-, szem- vagy légúti irritáció.

Amennyiben - pl. humán adatok alapján - egy irritáló hatású anyag valamely konkrét irritációs hatása tekintetében ismeretesek a nem-irritáló koncentrációk, lehetőség szerint el kell végezni a megfelelő kvantitatív expozícióbecslést. Egy ilyen vizsgálat jellege szerint állhat pusztán abból, hogy meghatározzuk az anyag súlyarányát valamilyen készítményben, de kiterjedhet a levegőben lévő koncentráció meghatározásáig is. Az expozíciós szint(ek)et ezután össze kell vetni a nem irritáló koncentrációkkal. A bőr- és szemirritáció tekintetében a kockázatbecslést végző hatóság általában meg tudja állapítani, hogy a nem irritáló koncentrációk és a expozícióbecslések alapján milyen következtetést kell levonnia.

A légúti irritáció esetében a nem irritáló koncentrációt össze kell vetni a becsült expozícióval, és a kockázatbecslést végző hatóság eldönti, hogy melyik végkövetkeztetést kell levonni.

Amennyiben ezen hatások valamelyikére nem határozták meg a nem irritáló koncentrációt, akkor a humán expozíció kapuja, mintája és mértéke tekintetében pragmatikus módszerrel kell

meghatározni, hogy milyen valószínűséggel várható az érintett népességi körben a szem-, bőr- és légúti irritáció.

A becslést végző hatóságnak minden esetben figyelembe kell azonban vennie többek között az alábbiakat:

- van-e valamilyen összefüggés a dózis vagy koncentráció és az irritáció súlyossága között;
- ha csak egy dózist alkalmaztak, milyen súlyos volt az irritáció;
- az irritáció(k) reverzibilitása (illetve irreverzibilitása);
- az anyag használata során jelentkezik-e hosszabb ideig tartó, vagy ismétlődő jellegű expozíció;
- az anyagot önmagában, vagy valamilyen készítményben alkalmazzák;
- az anyag releváns fiziko-kémiai tulajdonságai (pl. halmazállapota; bomlástermékei).

Bőr- és szemirritáció esetében nagyon ritkán fordul elő, hogy további vizsgálatokra legyen szükség. A légúti irritáció esetében a küszöb expozíciós szint meghatározásához időnként szükség lehet további vizsgálatokra. Az irritáció összes formája esetében az értékelés pontosítása érdekében esetleg további információkra lehet szükség.

Olyan anyagok esetében, ahol bizonyított a bőr- vagy szemirritáló képesség, a kockázatbecslést végző hatóságnak azt is meg kell vizsgálnia, hogy a használat során keletkezhet-e por, aeroszol vagy gőz.

Amennyiben az előrejelzések alapján ez előfordulhat, a hatóságnak át kell tekinteni az összes humán vizsgálatból vagy állatkísérletekből származó adatot, amelyekhez az inhalációs expozíciós kaput alkalmazták, és meg kell bizonyosodnia arról, hogy levonható-e az a konklúzió, hogy a légúti irritáció nem valószínű. Ha azonban felvetődik, hogy az anyag belélegzése légúti irritációt okozhat, szükség lehet az expozíciós szintek megbecslésére is, hogyha ezt össze tudjuk hasonlítani egy szerkezetileg hasonló anyag NOAEL/LOAEL értékeivel. A kockázatok jellemzése ezt követően a fentiek szerint folytatódhat. Meg kell említeni, hogy magával a veszéllyel (azaz a légúti irritációval) kapcsolatban nem valószínű, hogy találunk további használható adatokat, azonban az expozíciós küszöb meghatározásához esetleg szükség lehet egy jól megtervezett vizsgálatra.

4.4. Maró hatás

Rendes körülmények között a maró hatással kapcsolatos kockázat jellemzéshez a bőr- és szemirritációnál megadott pragmatikus szemléletet kell alkalmazni. Ha az anyag, vagy az anyagot tartalmazó készítmény belélegezhető (vagy a használat során belélegezhetővé válik), akkor a légúti irritációnál megadott módszer szerint kell eljárni. A kockázat jellemzést követően általában nem valószínű, hogy valaha is felmerülne a maró hatás további vizsgálata iránti igény, de az expozícióval kapcsolatban néha szükség lehet további információkra.

4.5. Szenzibilizáció

A bőrszenzibilizáció esetében is általában a bőr- és szemirritációnál megadott pragmatikus megközelítés a célravezető. Ha vannak használható információk a hatás súlyosságáról, vagy a koncentráció-hatás összefüggésekről, akkor ezeket a kockázat jellemzés során figyelembe

lehet venni, ahogy ezt már a bőr- és szemirritációnál jeleztük. Azonban a koncentráció-hatás összefüggések tekintetében csak nagyon ritkán áll rendelkezésre használható információ, ezért az elsődleges célnak mindenképpen azt kell tekinteni, hogy biztosítsuk az anyagot használó humán népességi kör bőrszenzibilizációjának megelőzését.

Mint a maró hatás esetében, általában a bőrszenzibilizációnál sem várhatók további vizsgálatok (ha pl. az adatok összességében nem adnak egyértelmű eredményt), de az expozícióval kapcsolatban néha szükség lehet további információkra.

A légúti szenzibilizáció potenciális életveszélyt jelenthet. Nem sikerült azonban tisztázni még, hogy a légúti szenzibilizációt milyen expozíciós körülmények (dózis/koncentráció, az expozíció gyakorisága és/vagy időtartama) okozzák. Általában csak akkor lehet megállapítani, hogy egy anyag légúti szenzibilizációt okoz, ha vannak pozitív humán adatok, habár a bőrszenzibilizációs vizsgálatok eredményei és/vagy a szerkezet-aktivitás összefüggések meghatározása, továbbá in vitro adatok (pl. makromolekulákkal való reakciókészség), és az anyag fiziko-kémiai tulajdonságai is szolgáltathatnak arra utaló bizonyítékot, hogy az anyag esetleg légúti szenzibilizációt okoz. (Meg kell jegyezni, hogy nem minden bőrszenzibilizáló lehet egyben légúti szenzibilizáló is.) Így tehát a légúti szenzibilizáció tekintetében a kockázatok jellemzése sokszor nehézségekbe ütközik. Ha a humán megfigyelések alapján van bizonyíték arra, hogy az anyag légúti szenzibilizációt okoz, az ilyen adatokat szolgáltató vizsgálatban használt expozíciós körülményeket össze kell hasonlítani a kérdéses népességi kör(ök) expozíciós körülményeivel.

Amennyiben indikáció jellegű bizonyítékot kell felhasználni annak igazolására, hogy az anyag légúti szenzibilizációt okozhat, a felmérést pragmatikusabb irányba kell fordítani, figyelembe véve az olyan jellegű expozíciós körülményekkel kapcsolatos tudásunkat, amelyek a légúti szenzibilizációt okozó anyagokat káros hatások előidézése nélkül lehet használni. Ehhez különösen nagy segítséget nyújthatnak esetleges negatív humán kísérletekből származó negatív adatok.

Mivel nem létezik széles körben elismert módszer, nem valószínű, hogy a kockázat jellemzés nyomán in vivo vizsgálatokat rendelnének el, azonban a kockázatbecslés pontosítása érdekében in vitro tesztek (pl. az anyag esetleges fehérjekötő képességének vizsgálata) és/vagy további információk iránti igény néha felmerülhet.

4.6. Ismételt dózisu toxicitás

A kockázatok jellemzése során össze kell hasonlítani a leginkább releváns NOAEL/LOAEL érték(ek)et a humán expozíciós szint(ek)kel. A "biztonsági tényező" alkalmazásával az expozíciós szint - NOAEL/LOAEL arány(ok) értékeléséhez a fent megadott általános útmutatás alkalmazandó. Olyan döntés is születhet, hogy az érintett humán népességi körök vagy humán szubpopulációk egyike vagy semelyike esetében nincs szükség további információkra/vizsgálatokra vagy kockázatcsökkentő intézkedésekre. Amennyiben nem ez a helyzet, még akkor sem, ha a már meglévő kockázatcsökkentő intézkedéseket figyelembe vették, továbbá ha a hatáság számára egyértelmű, hogy sem a további expozícióbecslés, sem pedig a hatásokkal kapcsolatos további információk alapján nem lehet tovább pontosítani a kockázatbecslést, akkor kockázatcsökkentő intézkedésekre van szükség. A kockázatbecslési jelentésben a kockázatcsökkentési igényt megfelelően indokolni és magyarázni kell.

Tipikusan abban az esetben lehet szükség további adatokra a hatásokat illetően, ha az összes meglévő adat (különös tekintettel a toxikokinetikai vizsgálatok adataira és a humán megfigyelésekre) áttekintése után sem lehetséges extrapolációt végezni sem a humán expozíciós kapuk, sem az expozíció időtartama tekintetében. Alkalomadtán az is előfordulhat, hogy a kérdéses hatás súlyossága miatt a NOAEL érték pontosításra szorul, és ennek érdekében további vizsgálatok elvégzése látszik szükségesnek. Szükség lehet a specifikus szervrendszerekre/szervekre vonatkozó toxicitás további vizsgálatára is: a követendő toxikológiai irányelvekkel kapcsolatos útmutatás a dokumentum idevonatkozó részeiben található.

Amennyiben további ismételt dózisu toxicitási vizsgálatokra van szükség, mindig mérlegelni kell azt a lehetőséget, hogy ezt a vizsgálatot egy másik hatásra előírt további vizsgálattal kombinálva végezzük el, mivel ezzel esetleg csökkenteni lehet a szükséges állatkísérletek számát, és nyilvánvalóan a vizsgálatok költségeit is. Például gyakran előfordul, hogy a reprodukciós toxicitási vizsgálatok (azaz egy 28 naposnál hosszabb időtartamú vizsgálat) alapján is kaphatunk további ismételt dózisu toxicitási adatokat.

Minden további vizsgálat esetében fontos, de különösen a kombinált vizsgálatoknál az, hogy a konkrét teszt-protokollokat nagy körültekintéssel dolgozzuk ki, figyelembe véve az V. mellékletben megadott módszereket is.

Egy új anyag bejelentésének korai szakaszában még lehet, hogy nem áll rendelkezésre az összes szükséges elem (pl. rendelkezésre állhatnak a humán inhalációs expozícióbecslések eredményei, amelyeket össze kell vetni a 28 napos orális toxicitási vizsgálat eredményeivel, ami megköveteli, hogy az anyag levegőben lévő koncentrációját $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{nap}^{-1}$ értékre számoljuk át). Annak eldöntésére, hogy a felülvizsgálathoz azonnal vagy a későbbiekben lesz-e szükséges további információkra, szakértői véleményt kell igénybe venni.

4.7. Mutagenitás

Egy anyag a mutagenitás szempontjából akkor tekintendő veszélyesnek, ha legalább egy, relevánsnak elismert és adekvát módon elvégzett (ld. a 3.2 pont alatt) tesztben pozitív eredményt ad. Különösen veszélyesek azok az anyagok, amelyek in vivo vizsgálatokban (szomatikus vagy ivarsejteken) pozitív eredményt adtak és amelyeknél a humán adatok potenciális genotoxicitást vagy mutagenitást jeleznek.

Hacsak nincs egyértelmű bizonyíték arra, hogy a hatásmechanizmus küszöb jellegű, ésszerűnek tűnik azt feltételezni, hogy a mutagenitás tekintetében nem lehet meghatározni küszöbértékeket. Ahogy az a WHO állásfoglalásában szerepel (1994) "nincsen konszenzus az olyan vegyi anyagok kockázatbecslésének metodikájáról, ahol a kritikus hatások nem rendelkeznek küszöbértékkel (mint például a genotoxikus karcinogének és az ivarsejtekre mutagének)". A kockázatok jellemzését tehát pragmatikus módszerrel kell elvégezni, figyelembe véve a humán expozíció mértékét és mintáját, a vizsgálatokban (pl. toxikokinetikai adatok alapján) megfigyelt hatások humán relevanciájával kapcsolatos ismereteket és következtetéseket, valamint az anyag hatásosságát és a meglévő kockázatcsökkentő intézkedéseket.

Az összes rendelkezésre álló adat értékelését követően a kockázatbecslést végző hatóság arra a következtetésre juthat, hogy a kockázatok korlátozására van szükség. Ilyen esetekben a

kockázatbecslési jelentésben részletes indoklást és magyarázatot kell adni arra, hogy a már meglévőkön túlmenően miért van szükség további kockázatcsökkentő intézkedésekre. Azonban olyan végkövetkeztetés is születhet, hogy további adatok is - amennyiben azokat meg lehet szerezni - felhasználhatók lennének a kockázatbecslés pontosításához. Ilyen jellegű információk lehetnek például a az expozícióval kapcsolatos további adatok. További adatokra is szükség lehet a hatásokat illetően (a jelen dokumentumban meghatározott toxikológiai alapelveknek megfelelően) a hatások jellegének, vagy hiányának megerősítéséhez, amennyiben ezeket az adatokat nem dolgozták teljes mértékben ki a veszélyazonosítási fázisban. A humán vonatkozással kapcsolatos adatok értelmezésének pontosításához további információk kereshetők még az anyag makromolekula kötő képességével és/vagy metabolizmusával kapcsolatosan.

Esetenként előfordulhat, hogy azonosítani lehet egy küszöb jellegű hatásmechanizmust (pl. az aneuploidia előidézése esetében). Ilyen esetekben a dózis-válasz összefüggéseket (különösen az esetleges NOAEL/LOAEL értékeket) fel lehet használni a kockázat jellemzéshez, ahogy az az ismételt dózisu toxicitásnál szerepel.

4.8. Karcinogenitás

Ha megállapítást nyer, hogy egy anyag egyértelműen vagy nagy valószínűséggel genotoxikus vagy nem genotoxikus karcinogén, a kockázat jellemzést a mutagenitási vagy az ismételt dózisu toxicitási rész alatt, a küszöb jellegű és nem küszöb jellegű hatásokra megadott módszerek felhasználásával kell elvégezni.

Amennyiben az a végkövetkeztetés születik, hogy szükség van hatásokra vonatkozó adatokra, nagy körültekintéssel kell meghatározni, hogy a leggazdaságosabb módon (ide tartozik az állatkísérletek száma is, illetve a költség- és időigény) milyen, megfelelő és adekvát kockázatbecslést elősegítő információk szerezhetőek be. A további toxikokinetikai adatok például elősegíthetik, hogy az egész élettartamra kiterjedő biológiai tesztek nélkül is meg lehessen hozni a döntést. Amennyiben biológiai teszt szükséges, olyan teszt protokollt kell kidolgozni, amelynek segítségével az alkalmazott expozíciós kapu mellett a lehető legtöbb adat kinyerhető az ismételt dózisu toxicitás tekintetében.

4.9. Reprodukív toxicitás

A reprodukív toxicitás különböző aspektusait általában olyan hatásoknak tekintik, amelyek háttérében küszöb jellegű hatásmechanizmus áll, és a meglévő adatok alapján általában meg lehet határozni a NOAEL/LOAEL értékeket, annak ellenére, hogy a reprodukív toxicitás egyes aspektusainál a küszöbdózis megállapítása nem mindig egyszerű. Abban a ritka esetben, ha egy jól dokumentált és megbízható humán adatok alapján már meghatározták a NOAEL értéket, akkor ezt fel kell használni a kockázat jellemzés során, de legtöbb esetben állatkísérletekből számolt érték áll csak rendelkezésre.

A kockázat jellemzést úgy kell elvégezni, ahogy az az ismételt dózisu toxicitási részben szerepel. Különösen nagy figyelmet kell szentelni a dózis/koncentráció és mind a reprodukív károsodások, mind pedig szisztémás hatások között fennálló összefüggéseknek. A döntési kritériumok, sőt az azt követő lépések általánosságban meglehetősen hasonlóak ahhoz, mint ami az ismételt dózisu toxicitási részben szerepel.

Azonban itt külön kitérünk a további vizsgálatok iránti esetleges igényekre: meg kell említeni, hogy általában ritkán fordul elő, hogy újabb reprodukív toxicitási vizsgálatra lenne szükség egy másik expozíciós kapu felhasználásával, kivéve, ha a meglévő vizsgálatokról bebizonyosodik, hogy az alkalmazott kapu (kezelési mód) nem volt megfelelő és adekvát, vagy ha az adatokból semmi használhatót nem lehet kihámozni.

Bizonyos esetekben a reprodukcióra toxikus anyagok tekintetében a kockázat jellemzést követően további célkitűzések megállapítására is sor kerülhet, továbbá felmerülhet, hogy ezen célkitűzések megvalósításához a kockázatbecslés szempontjából további vizsgálatokra lehet szükség.

Ha ismeretes, hogy egy anyag reprodukív toxicitásának hátterében genotoxicitási mechanizmusok állnak, ésszerű feltételezés, hogy ilyenkor nem lehet meghatározni küszöbdózist vagy koncentrációt. Ilyen esetekben a kockázat jellemzéshez az előző két pont alatt a genotoxikus anyagokra megadott módszer szerint kell eljárni.

4.10. Egyéb szempontok

Az alacsony szisztémás toxicitással rendelkező és vízben vagy zsírban rosszul oldódó anyagok, illetve a belélegezhető port képező, vagy használat során belélegezhető porrá alakuló anyagok hozzájárulhatnak a légzési funkció túlterheléséhez. Ez többféle károsodást okozhat, pl. a tüdőclearance romlását, tüdőfibrózist vagy daganatot.

A rendelkezésre álló adatok arra utalnak, hogy a tüdő túlterhelését el lehet kerülni, ha a levegőben lévő koncentrációt az anyag $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ -ben kifejezett sűrűsége alatt tartjuk (Morrow et al., 1991; Morrow, 1992).

4.11. Fizikai-kémiai tulajdonságok

Az olyan anyagok esetében, amelyeket bizonyos fizikai-kémiai tulajdonságaik (pl. robbanékonyság, gyúlékonyság vagy oxidáló képesség) alapján sorolták osztályba, vagy ahol egyéb ésszerű alapja van az emberi egészség veszélyeztetésének, humán egészségkockázat jellemzést kell végezni. A meglévő anyagok esetében a fizikai-kémiai tulajdonságokról kell kockázatbecslést készíteni.

Kockázatbecslést kell végezni arra vonatkozóan is, hogy az ésszerűen feltételezhető munkahelyi és fogyasztói használat körülményei között milyen valószínűséggel jelentkezhet valamilyen káros hatás.

A várható végkövetkeztetés vagy az, hogy az anyag nem jelent közvetlen veszélyt (pl. a munkahelyen a használati, tárolási, stb. körülményeket egyértelműen befolyásolják az anyag fiziko-kémiai tulajdonságaival kapcsolatos ismeretek. A fogyasztói használat esetében az anyag felhígulása és/vagy a kicsomagolási mennyiség korlátozása arra utalhat, hogy a közvetlen veszély hiányáról hozott döntés megalapozott); vagy pedig, hogy kockázatcsökkentő intézkedésekre van szükség.

4.12. Az emberi egészségkockázat jellemzésének átfogó integrálása

Egy anyagnál a különböző tulajdonságok, használatok és/vagy érintett humán népességi körök tekintetében több különböző végkövetkeztetés is születhet. Ez nem feltétlenül okoz nehézséget, mivel egyes végkövetkeztetések megférhetnek egymás mellett: előfordulhat például, hogy az egyik hatás tekintetében elrendelt kockázatcsökkentés egy másik hatásnál elrendelt vizsgálatokat feleslegessé tehet.

Előfordulhat azonban, hogy kezdetben számos további tesztre van szükség, egyesekre azonnal, másokra csak később. A kísérleti állatok védelme, továbbá a költségek csökkentése érdekében az ilyen jellegű követelményeket összesíteni és integrálni kell.

Nem szabad megfeledkezni arról sem, hogy bizonyos vizsgálatok elvégzése és lejelentése nagyon sok időt vehet igénybe: a veszélyes hatás tekintetében azonban a kockázatcsökkentő intézkedésekre már időközben is szükség lehet.

5. Szójegyzék és definíciók a “Humán egészségi kockázatbecslés” című fejezethez

- Káros hatás: A káros hatások jelentkezhetnek a szervezet morfológiai, fiziológiai, növekedési, fejlődési elváltozásai, vagy az élettartam megváltozása formájában, amelynek következtében károsodhat valamilyen funkció, vagy az a képesség, hogy a szervezet a további stresszhatásokkal szemben megfelelő ellenállást tudjon tanúsítani, vagy megnőhet az érzékenysége az egyéb káros környezeti hatásokkal szemben (IPCS, 1978).
- Fogyasztói termék: Olyan termék, amely kiskereskedelmi forgalomban kapható és bárki hozzájuthat. Formáját tekintve lehet maga az anyag, vagy egy olyan készítmény, ami tartalmazza az anyagot (pl. egy felületaktív anyag valamilyen mosószerben; egy pigment valamilyen festékben; vagy egy illatanyag valamilyen kozmetikai cikkben) vagy egy árucikk, amely tartalmazza a az anyagot (pl. plasztikálószer egy műanyag fabevonatban; festékanyag valamilyen szövetben; egy játék alkatrésze).
- Expozíció: Általában külső expozíció a lenyelt anyag mennyisége, a bőrrel kontaktusba kerülő anyag mennyisége, a belélegzett anyag mennyisége, vagy a levegőben lévő koncentráció.
- Belső expozíció : Biológiaiilag hozzáférhető anyagok mennyisége.
- LOAEL: A LOAEL (lowest observed adverse effect level) az a kísérletileg vagy megfigyelés útján meghatározott legalacsonyabb koncentráció vagy mennyiség, amely meghatározott expozíciós körülmények esetén a célszervezetben az ugyanazon fajhoz vagy fajtához tartozó normál (kontroll) szervezetekhez képest megkülönböztethető káros morfológiai, funkcionális, növekedési, fejlődési vagy élettartambeli elváltozást okoz (WHO, 1979).
- NOAEL: A NOAEL (no observed adverse effect level) az kísérletileg vagy megfigyelés útján meghatározott legmagasabb koncentráció vagy mennyiség, amely meghatározott expozíciós körülmények esetén a célszervezetben nem okoz kimutatható morfológiai, funkcionális, növekedési, fejlődési vagy élettartambeli káros elváltozásokat. (WHO, 1979).
- Ésszerűen feltételezhető legrosszabb eset: Ésszerűen feltételezhető kedvezőtlen, de nem irreális szituáció: ide tartoznak a rendeltetészerű vegyi anyag használati helyzetek, ezen belül is azok az esetek, amikor a populáció ugyanannak az anyagnak többféle szituációban is ki van téve, pl. a dolgozók és a fogyasztók számos terméket

használhatnak, ami ugyanazt az anyagot tartalmazza. Az ésszerűen feltételezhető legrosszabb eset figyelembe veszi az extrém mértékű használatra, és az ésszerűen feltételezhető nem rendeltetésszerű használatra vonatkozó legmagasabb becsléseket is.

Használat:

Ide tartozik a rendeltetésszerű használat és az ésszerűen feltételezhető nem rendeltetésszerű használat is. Balesetek vagy nagymérvű helytelen használat (pl. öngyilkossági kísérletek) nem tartozik jelen dokumentum hatáskörébe. Így például ha egy kézi mosogatószerként használandó szerben a benne lévő illatanyagnak vagyunk kitéve, akkor ezt a mosogatási szokások figyelembe vételével rendeltetésszerű használatként (mosogatás) kell vizsgálni; továbbá mérlegelni kell az ésszerűen feltételezhető nem rendeltetésszerű használatokat is (pl. hajmosás a mosogatószerrel).

6. A humán egészségkockázat becslése fejezet irodalmi hivatkozásai

Alarie Y. (1973) *Sensory irritation of the upper airways by airborne chemicals*. Toxicol. Appl. Pharmacol 24: 279-297.

Alarie Y. (1981) *Bioassay for evaluating the potency of airborne sensory irritants and predicting acceptable levels of exposure in man*. Food Cosmet. Toxicol. 19: 623-626.

Basketter D. A., Bremmer J., Kammuller M. E., Kawabata T., Kimber I., Magda S., Pal T. H. M., Loveless S. E., Vohr H-W. and Stringer D. A. (1993) *The identification of immunotoxic hazard in routine toxicology*. Food and Chemical Toxicology (in press).

Bos P. M., Zwart A., Reuzel P. G. G. & Bragt P. C. (1992) *Evaluation of the sensory irritation test for the assessment of occupational health risk*. Critical Reviews in Toxicology 21 (6): 423-450.

Cooper J. R., Bloom F. E. & Roth R. H. (1986) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. Oxford University Press, New York and Oxford.

Crump K. S. (1984) *A new method for determining allowable daily intakes*. Fund. appl. Toxicol. 4: 854-571.

Dourson M. L. & Stara J. F. (1983) *Regulatory history and experimental support of uncertainty (safety) factors*. Reg. Toxicol. Pharmacol. 3: 224-238.

EC (1993) *Risk Assessment of Notified New Substances: Technical Guidance Document*. European Commission, DG XI, Brussels (ISBN 0-7176-0758-5).

ECETOC (1992) *Evaluation of the neurotoxic potential of chemicals*. Monograph No 18, Brussels.

ECETOC (1992) *EC 7th Amendment: Role of Mammalian Toxicokinetic and Metabolic Studies in the Toxicological Assessment of Industrial Chemicals*. Technical Report No 46, Brussels.

ECETOC (1994a) *Assessment of Non-Occupational Exposure to Chemicals*. Technical report No. 58, Brussels.

ECETOC (1994b) *Assessment Factors in Human Health Risk Assessment*. Technical Report (in press), Brussels.

EEC (1992a) *Guidance note "occupational Exposure Limits - Criteria Documents"*. Report EUR 13776EN (ISBN 92-826-3507-4).

EEC (1992b) *Council Directive 92/32/EEC of 30 April 1992 amending for the 7th time Council Directive 67/548/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of substances (7th Amendment)*. O. J. of the European Communities L 154/1.

EEC (1993) *Council Regulation 793/93 of March 1993 on the evaluation and control of the risks of existing substances*. O. J. of the European Communities L 84/1.

EPA (1987) *The risk assessment guidelines of 1986*. United States Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment, Doc. EPA 600/S9-85-027, Washington DC, USA.

European Commission (1993). *HEDSET explanatory note*. Harmonised Electronic Data Set for the Council Regulation on the Evaluation and Control of the Risks of Existing Substances and the OECD Existing Chemicals Programme. pp 5-8 EC: Brussels.

Freeberg F. E., Nixon G. A., Reer P. J., Weaver J. E., Bruce R. D., Griffith J. F & Sanders L. W. (1986) *Human and rabbit eye responses to chemical insult*. Fund. appl. Toxicol. 7: 626-634

Gaylor D. W. (1988) *Applicability of cancer risk assessment techniques to other effects*. Toxicol. ind. Health 4: 453-459.

Hagmar et al. (1994) *Cancer Risk in Humans Predicted by Increased Levels of Chromosomal Aberrations in Lymphocytes*. Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosomal Damage, Cancer Research 54: 2919-2922.

- Hart W. L., Reynolds R. C., Krasavage W. J., Ely T. S., Bell R. H. & Raleigh R. L. (1988) *Evaluation of developmental toxicity data: a discussion of some pertinent factors and a proposal*. Risk Anal. 8(1): 59-69.
- Henderson R. F. (1989) *Broncho-alveolar lavage: A tool for assessing the health status of the lung*. In "Concepts in Inhalation Toxicology", ed McClellan R. O. and Henderson R. F., Hemisphere Publishing Co., New York.
- Hertzberg R. C. (1989) *Fitting a model to categorical response data with application to species extrapolation of toxicity*. Health Phys. 57: 405-409.
- Hrubec J. & Toet C. (1992) *Predictability of the removal of organic compounds by drinking water treatment*. Report no. 714301007, National Institute of Public health and Environmental Protection (RIVM), Bilthoven.
- IARC (1991) *Mechanisms of carcinogenesis in risk identification: A consensus report of an IARC monograph working group*. IARC International Technical report No. 91/002, IARC, Lyon.
- IPCS (1978) *Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals*. Part I., International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 6, WHO, Geneva.
- IPCS (1987) *Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food*. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 70, Geneva.
- IPCS (1990) *Principles for the toxicological assessment of pesticide residues in food*. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 104, Geneva.
- IPCS (1992) *Scientific principles for assessment of risk to human health associated with chemical exposures*. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria draft, Geneva.
- Lewis R. J. (1991) *Reproductively Active Chemicals: a Reference Guide*. Van Nostrand Reinhold, New York, ISBN 0-442-31878-2.
- Lewis S. C., Lynch J. R. & Nikiforov A. I. (1990) *A new approach to deriving community exposure guidelines from "No-Observed-Adverse-Effect-Levels"*. Regul. Toxicol. Pharmacol. 11: 314-330.
- Mitchell C. L. (ed) *"Nervous System Toxicology"*. Raven Press, New York, 1982¹
- OECD (1994) *Sids Manual, Screening Information Data Set Manual of the OECD Programme on the Co-Operative Investigation of High Production Volume Chemicals, Revised Draft*. EXCH/MANUAL/9405.DOC/July 1994, OECD Secretariat, Paris.
- Renwick A. G. (1993) *Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants*. Food Add. Contam., 10 (3): 275-305.
- Riederer M. (1990) *Estimating partitioning and transport of organic chemicals in the foliage/atmosphere system: Discussion of a fugacity-based model*. Environmental Science and technology 24: 829-837.
- Robbins T. W. (1977) *A critique of the methods available for the measurement of spontaneous motor activity*. In "Handbook of Psychopharmacology", Vol 7, ed Iverson L. L., Iverson S. D. & Snyder S. H. New York, p37.
- Tilson H. A., Cabe P.A. and Burne T. A. (1980) *Behavioural procedures in the assessment of neurotoxicity*. In "Experimental and Clinical Neurotoxicology" ed Spender P. S & Schaumburg H. H., Williams and Wilkins, Baltimore, p758.
- Toet C. & Arai S. (1991) *Indirect exposure of human beings to organic compounds, discussion document 4*. Discussion document for the OECD workshop on the application of simple models for environmental exposure assessment in Berlin, Dec. 1991.
- Trapp S. & Matthies M. (1995) *Generic one-compartment model for uptake of organic chemicals by foliar vegetation*. Environ. Sci. Technol. 29: 2333-2338.
- UK (1993) *Risk Assessment of existing substances*. Guidance provided by a UK Government/Industry Working Group, Printed by Department of the Environment, London.
- US-EPA (1989) *Exposure factors handbook*. Washington DC, USA, Office of Health and Environmental Assessment, Exposure Assessment Group, US Environmental Protection Agency, EPA/600/8-89/043, PB90-106774.

¹ Contains the papers by Cabe & Eckermann; Damstra & Bondy; Fox *et al.*

Vermiere T. G., van der Poel P., van der Laar R. T. H & Roelfzema H. (1993) *Estimation of consumer exposure to chemicals: application of simple models*. Sci. Total Environ. 136: 155-176.

WHO (1979) *Agreed Terms on Health Effects Evaluation and Risk and Hazard Assessment of Environmental Agents*. Internal Report of a Working Group, (EHE/EHC/79.19), World Health Organization, Geneva. In: Duffus J. F. (1993) Glossary for Chemists of Terms used in Toxicology, Pure & Appl. Chem. 65 (9): 2003-2122.

WHO (1986) *Principles and test methods for the assessment of neurotoxicity associated with exposure to chemicals*. Environmental Health Criteria No. 60 WHO, Geneva.

WHO (1994) *The derivation of guidance values for health-based exposure limits*. WHO, Copenhagen, in press.