

CHÉMIA 2019

Liptovský Ján 26. september 2019

HODNOTENIE LÁTOK

Toxikologické testy - ČO JE NOVÉ?

Irina Sadloňová

Centrum pre chemické látky a prípravky CCHLP

REACH

Registračné požiadavky - PRÍLOHY

VII	VIII	IX	X
> 1 t/rok	> 10 t/rok	> 100 t/rok	> 1000 t/rok

CHEMICKÁ LÁTKA

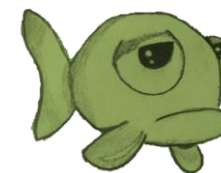
fyzikálno-chemické
vlastnosti



toxicita



ekotoxická



REACH 1907/2006/ES

CLP 1272/2008/ES GHS



FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ



TOXICITA



EKOTOXICITA

TESTY

OECD, EU



- Nariadenie komisie (ES) č. 440/2008, ktorým sa ustanovujú testovacie metódy podľa REACH
- Pokyny na vykonávanie skúšok (Test guidelines)
- Guidance (USMERNENIE) on Information Requirements and Chemical Safety Assessment

<http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>

! SVHC

CMR!

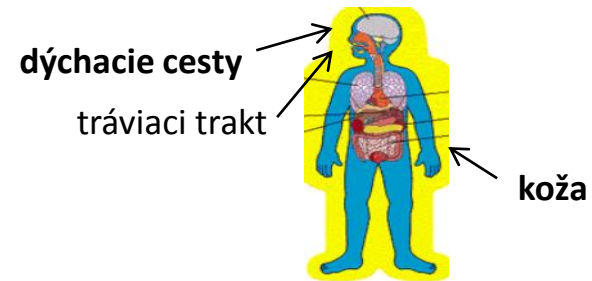
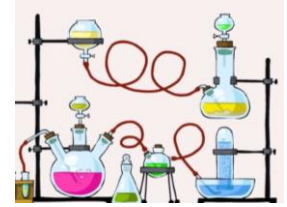
PBT (vPvB)!

HODNOTENIE TOXICITY CHEMICKÝCH LÁTOK

I. Identifikácia nebezpečných účinkov (Hazard identification)

II. Posúdenie nebezpečných vlastností (Hazard characterisation)

Vzťah dávka/koncentrácia – odpoveď (Response)



Podráždenie/Poleptanie
Koža, oči

Senzibilizácia

Mutagenita

Akútna toxicita

Toxicita po opakovanej dávke
ED

Reprodukčná toxicita
ED

Karcinogenita
ED

SPĽŇA TESTOVANÁ LÁTKA KRITÉRIÁ PRE KLASIFIKÁCIU ? Nariadenie CLP (1272/2008/ES)



GHS06



GHS07



GHS08

HODNOTENIE TOXICITY – PRINCÍP „3R“

REACH

Článok 13.1 využitie alternatívnych metód

Článok 25.1 zdieľanie informácií



ALTERNATÍVNE METÓDY



Testy na zvieratách - len ako posledná možnosť



3R



3

Refinement

Zjemnenie

2

Reduction

Zníženie počtu

1

Replacement

Náhrada



William Moy Statten Russell 1925 - 2006

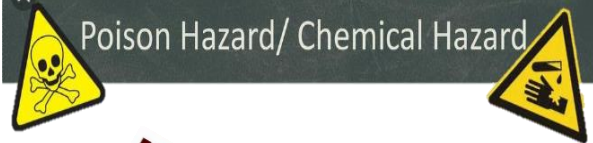
Lex Leonard Burch 1926 - 1996



1959 The principles of Humane Experimental Technique

HODNOTENIE TOXICITY

TOXICITA PRE ĽUDÍ



INTOXICATION



NETESTOVACIE

- Read - across

	Chemical 1	Chemical 2	Chemical 3	Chemical 4
Endpoint 1	●	○	○	○
Endpoint 2	●	○	●	●
Endpoint 3	○	●	●	○



● reliable data point ○ missing data point

across: Chemical 1 to 2, 2 to 3, 3 to 4
Interpolation: Chemical 1 to 2, 2 to 3, 3 to 4
Extrapolation: Chemical 1 to 3, 1 to 4, 2 to 4, 3 to 4

- Grouping



- Počítačové modely

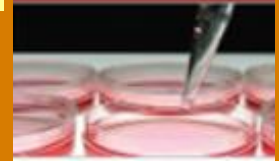
(Q)SAR
= (Quantitative) Structure-Activity Relationship
 = f()
IN SILICO



TESTOVACIE

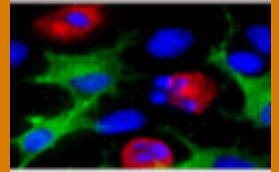
- *In vitro*

In vitro models



- *Ex vivo*

Ex vivo models



- *In vivo*



Integrovaná testovacia stratégia (ITS)

HODNOTENIE TOXICITY - TESTOVACIE METÓDY

In vitro



In vivo



Podráždenie/Poleptanie
Koža, oči



Senzibilizácia



Mutagenita



Akútna toxicita



Toxicita po opakovanej dávke*
ED



Reprodukčná toxicita*
ED










Karcinogenita*
ED

***Štúdie** – v ktorých sa môže prejaviť účinok endokrinných disruptorov

Uplatnenie 3R pri testovaní

B. - EU test method / OECD - Test Guideline TG

Kožná dráždivosť/leptavosť	<i>in vitro</i>	B.40/TG 430 B.40a/TG 431 B.41/TG 432 B.46/TG 439 -/TG 435		R1
	<i>in vivo</i>	B.4/TG 404 - ak je to nevyhnutné		R2,3
Očná dráždivosť/leptavosť	<i>in vitro</i>	B.47/TG 437 B.48/TG 438 B.61/TG 460 -/TG 491 -/TG 492		R1
	<i>in vivo</i>	B.5/TG 405 - ak je to nevyhnutné		R2,3
Kožná senzibilizácia	<i>in chemico + in vitro</i>	B.59/TG 442C B.60/TG 442D -/TG 442E	AOP	
	<i>in vivo</i>	B.42/TG 429 B.50/TG 442A B.51/TG 442B B.6/TG 406		R2,3
Akútna toxicita - orálna - dermálna	<i>in vivo</i>	B.1a/TG 420 B.1b/TG 423 TG 425 B.3/TG 402 TG 434 (návrh)		R2,3
Genotoxicita	<i>in vitro</i>	B.13/14/TG 471 B.10/TG 473 B.17/TG 476 B.49/TG 487 -/TG 490		
	<i>in vivo</i>	B.11/TG 475 B.12/TG 474 B.22/TG 478 B.23/TG 483 B.39/TG 486 B.58/TG 488 -/TG 489		R2,3

IN VITRO versus IN VIVO

ETICKY +

- Mechanizmus účinku
- Poškodenia špecifických zložiek, buniek, tkanív
- Rýchlejšia realizácia
- Možnosť skrínungu viacerých látok



- Náročná validácia metódy (ECVAM)
- Potreba viacerých *in vitro* metód pre daný parameter
- Nepoužiteľné pre stanovenie systémového účinku a limitnej dávky



ETICKY -

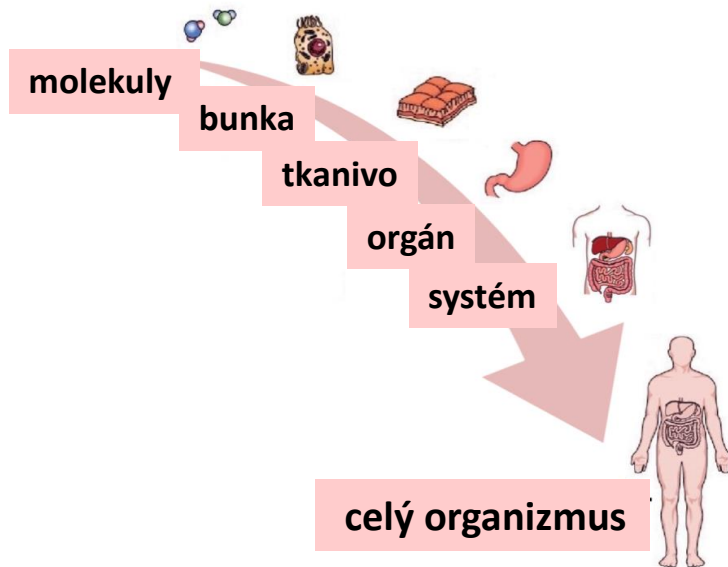
- Náročný schvaľovací proces
- Náročné na čas, priestor, personál
- Zviera - náročný testovací systém



- Systémový účinok
- Metabolizmus látky v živom organizme
- Rozsiahly počet sledovaných parametrov
- Stanovenie NOAEL, LOAEL
- Výpočet DNEL, AEL (limit pre človeka)
- Výpočet expozícií



KOMPLEXNÉ VEDECKÉ PRÍSTUPY



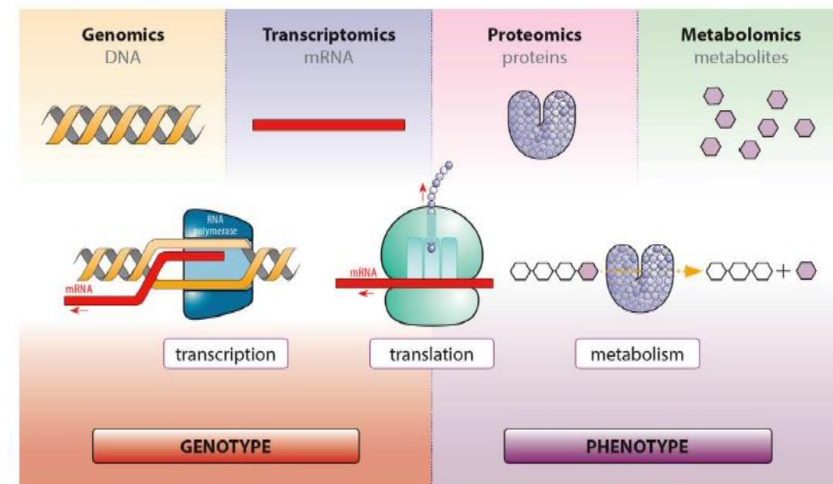
AOP – Adverse Outcome Pathways
(Dráha škodlivého účinku)

OMICS (- OMIKA) TECHNOLOGIE

- ➔ na báze systémovej biológie
- ➔ Interdisciplinárny výskum
- Rozvoj po roku 2000 v súvislosti s rozvojom vysokovýkonných počítačov
- Interakcie v biologických systémoch
- ↓
- Biologické funkcie a mechanizmy

Arch. Immunol. Ther. Exp. (2017) 65:37–49

45



BIOCÍDY – hodnotenie ED

- Nariadenie (EÚ) **2017/2100**, ktorým sa stanovujú vedecké kritériá určovania vlastností narúšajúcich endokrinný systém podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 528/2012 (BPR)
- Uplatňuje sa od 7. júna 2018.
- OECD TG 150 (vydanie 2012, aktualizácia 2018)



OECD Series on Testing and Assessment

Revised Guidance
Document 150 on Standardised
Test Guidelines for Evaluating
Chemicals for Endocrine
Disruption

LEVEL

1	Existujúce údaje a netestovacie metódy	
2	<i>In vitro</i>	} endokrinný mechanizmus / dráhy
3*	<i>In vivo</i>	
4*	<i>In vivo</i>	nepriaznivý účinok na endokrinný systém
5*	<i>In vivo</i>	komplexnejšie údaje (celý životný cyklus)

* Testy na cicavcoch aj necicavcoch



ČO SA PRIPRAVUJE?

Hodnotenie ED účinku



REACH

EK, ECHA Prípravná fáza – Doplnenie testovacích požiadaviek (Prílohy VII – X)

Zložitosť hodnotenia ED potenciálu chemických látok

MECHANIZMUS ÚČINKU

EATS + iné mechanizmy

E - estrogénny a antiestrogénny účinok

A - androgénny a antiandrogénny účinok

T - tyroidný a antityroidný hormonálny účinok

S - zmeny biologickej syntézy steroidných hormónov

PROBLÉM STANOVENIA LIMITNEJ DÁVKY (treshold)

U väčšiny látok s ED účinkom

NEPRIAZNIVÝ ÚČINOK V RÔZNYCH VÝVOJOVÝCH FÁZACH ORGANIZMU

in vivo reprodukčné vývojové testy (EOGRT – extended one generation reproductive toxicity)



ČO NÁS ČAKÁ ?

Nanoformy - hodnotenie

od 1. januára 2020

REACH

ŠPECIFICKÉ HODNOTENIE RIZIKA – TESTOVACIE POŽIADAVKY V PRÍLOHÁCH VI – XI

Zmena fyzikálno-chemických vlastností látok v nanoformách (1-100 nanometrov)



Zmena (eko)toxicity

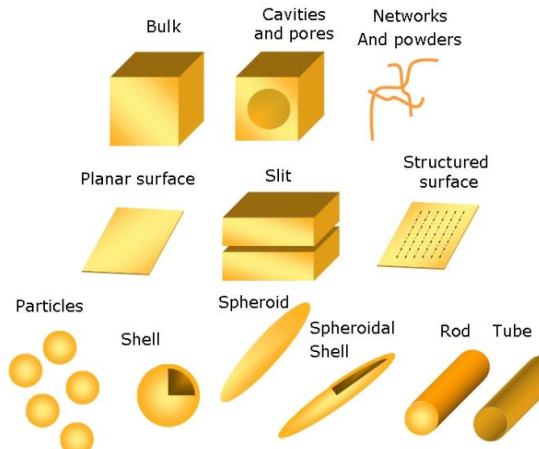


Inhalačná expozícia

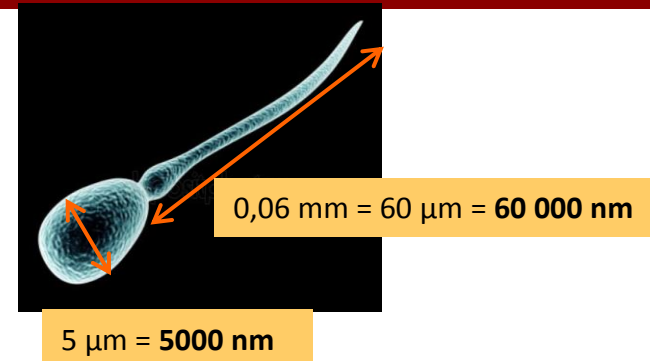
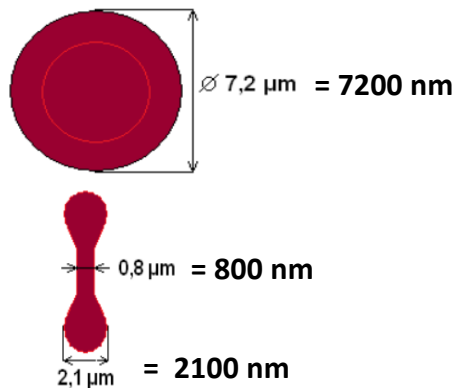


Obmedzenie testov na zvieratách

Rôzne štruktúry nanoforiem



Porovnanie veľkosti s najmenšími bunkami organizmu Erytrocyt Spermia



Ďakujem za pozornosť a trpezlivosť

