

Valutazione del rischio chimico

CdL Magistrale Interateneo in
Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio
Università di Udine e Università di Trieste

CdL Magistrale in Chimica
Università di Trieste

Docente
Pierluigi Barbieri

SSD Chimica dell'ambiente e dei beni culturali, CHIM/12

Valutazione delle relazioni tra dose e risposta

Valutazione delle relazioni tra dose e risposta per effetti con soglia: l'approccio NOAEL

L'obiettivo è determinare una "dose" per cui non ci siano effetti significativamente rilevanti

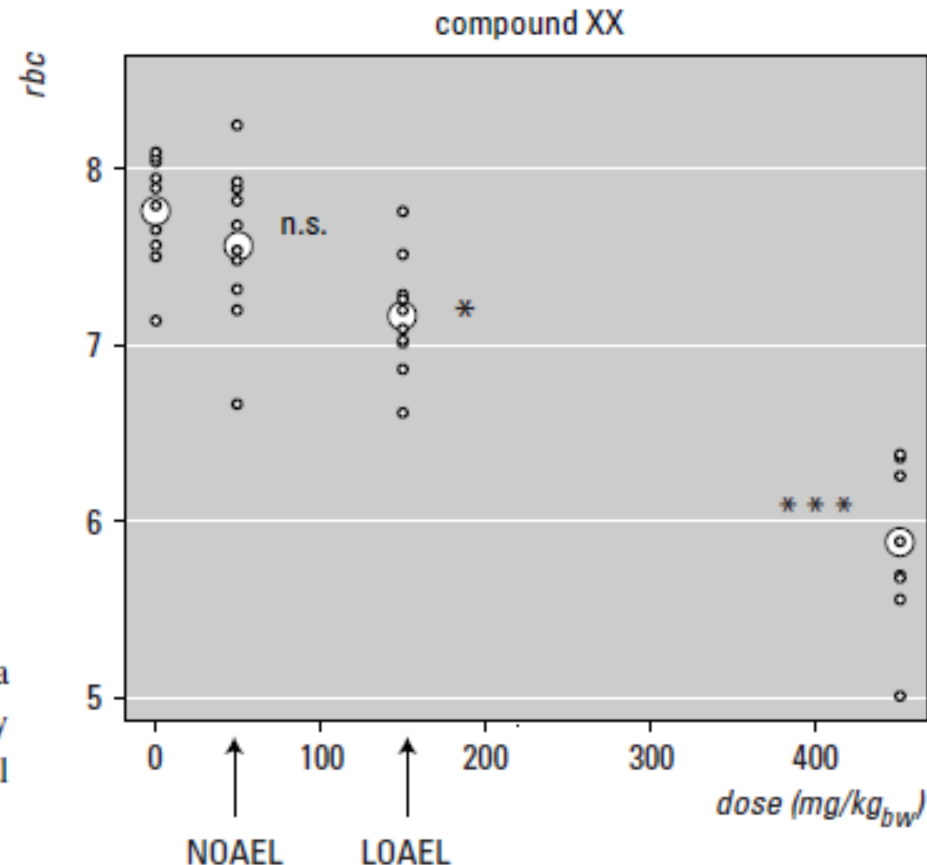
NOAEL = Not observable effect level
LOAEL = Lowest observable effect level
dipendono fortemente da progettazione del test (n° animali, dosi somministrate ...)

Figure 6.9. Illustration of the LOAEL and NOAEL for a decrease in red blood cell counts observed in an OECD toxicity study. The small marks indicate the observations in individual animals, the larger marks indicate the group means.

n.s.: not significantly different from the controls.

*: significantly different from the controls.

***: highly significantly different from the controls.



Valutazione delle relazioni tra dose e risposta

Valutazione delle relazioni tra dose e risposta per **effetti senza soglia**

Per le sostanze cancerogene, «anche singola molecola» ha piccola probabilità di generare un addotto con il DNA, e addotto ha piccola probabilità di causare una mutazione, in un gene potenzialmente correlato a un processo di carcinogenesi, aumentando la probabilità di generare una cellula maligna. Cancerogenesi è complessa, ma l'attivazione dei tumori sembra essere stocastica.

Diminuire le “dosi” porta sempre a diminuire la probabilità di tumori in una popolazione.

Manca quindi una soglia per le dosi d'esposizione → NOAEL non va bene

Una valutazione dei dati sull'incidenza dei tumori, può solo determinare una dose per la quale il rischio sia accettabilmente piccolo (rischio *de minimis*, es. 10^{-6} , in una vita)

Nelle valutazioni sperimentali

Studi su animali effettuati su 50-100 individui per dose. Un rischio osservabile prevederebbe 1 caso su 10 (10^{-1}), quindi ci si trova in *condizioni di estrapolazione per basse dosi* o, meglio, *per bassi rischi*.

Alcune nazioni evitano valutazioni quantitative su dati di incidenza di tumori.

Altri applicano il principio *As Low as Reasonably Achievable (ALARA)* per cancerogeni genotossici. È approccio debole, tratta tutti i cancerogeni in modo eguale.

La tendenza attuale è verso l'**approccio BMD** (*benchmark dose*)

L'approccio BMD (*benchmark dose*)

Si costruisce/fitta un modello dose-risposta per i dati di incidenza dei tumori, e il modello è usato per stimare una **dose che è associata con un livello di rischio che sta nell'intervallo osservabile** (tipicamente il rischio del 10% = BMD_{10} , termine basso di confidenza è $BMDL_{10}$)).

Questo rischio di cancerogenesi **non è accettabile, ed è considerato come punto di riferimento (RP)** per successive valutazioni, come

Estrapolazione lineare, oppure

Margine di esposizione (l'esposizione stimata è divisa per il RP (= $BMDL_{10}$), e il rapporto risultante è l'intervallo tra l'esposizione umana e la dose con livello di rischio noto (EFSA: $MOE > 10000$ basso livello di preoccupazione, non vi è consenso sul tema) ⁵

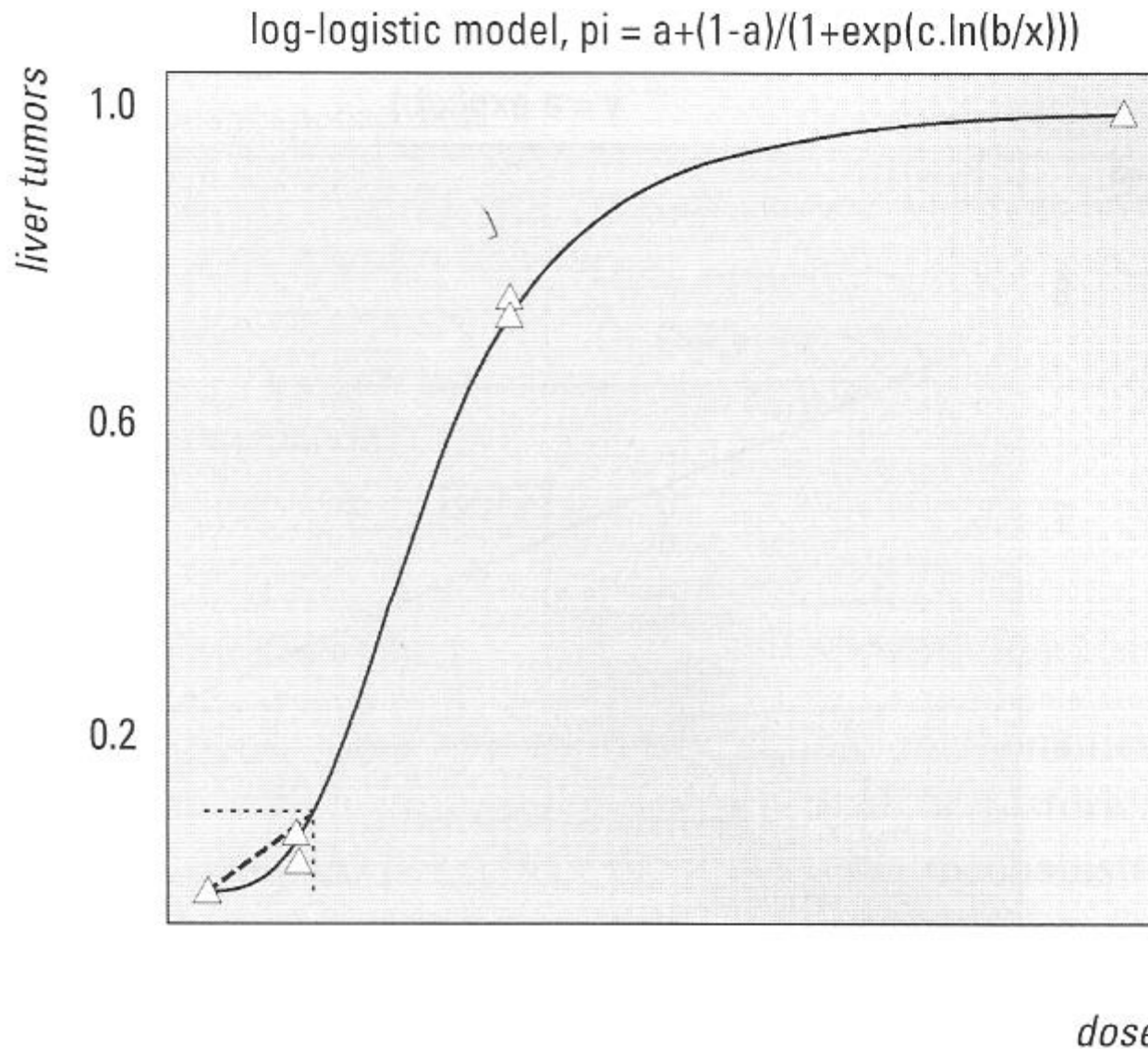


Figure 6.10. Sigmoidal dose-response relationship. Linear extrapolation from the BMD10 overestimates the risk.

http://www.acad.bg/ebook/cheminformatics/van%20Leeuwen_Risk%20Assessment%20of%20Chemicals-An%20Introduction%202nd%20ed.pdf

BMD per dose risposta da pag.262

<http://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/marginofexposure>

<http://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/282>

DERIVAZIONE DEI PNEL

per specie tossiche con soglia d'effetto

Pianificazione e realizzazione di studi di tossicità con definizione di curve «dose-risposta» ed identificazione dei risultati specifici/punti finali tossicologici.

Dai dati sperimentali (es. LD50 o NOEL) si passa a livelli predetti di non effetto (PNEL) applicando fattori di sicurezza che tengono conto del livello di estrapolazione delle conclusioni a partire dalla sperimentazione.

Fattori di valutazione di default

DNEL *derived no effect level* che tengano conto di:

- Differenze interspecie
- Differenze intraspecie
- Differenze nella durata dell'esposizione
- Aspetti associati alla dose-risposta
- Qualità della base di dati

Differenze interspecie

It has been demonstrated that generally equitoxic doses, expressed in mg per kg body weight (bw) per day, scale with body weight to the power of 0.75. This results in default allometric scaling factors for different animal species when compared with humans.

$$\frac{bw_{\text{human}} / bw_{\text{animal}}}{(bw_{\text{human}} / bw_{\text{animal}})^{0.75}} = (bw_{\text{human}} / bw_{\text{animal}})^{0.25}$$

Table 6.10. Default assessment factors to cover toxicokinetic interspecies differences.

Species	Body weight (kg)	Allometric assessment factor
Mouse	0.03	7
Rat	0.25	4
Guinea pig	0.8	3
Rabbit	2	2.4
Monkey	4	2
Dog	18	1.4
Human	70	1

Differenze *intraspecie*

Default assessment factor to cover intraspecies differences: 10.

Differenze nella *durata* dell'esposizione

Acute:	a single exposure (oral), or up to 24 h exposure (inhalation)
Sub-acute:	28 days of daily exposure
Semi-/sub-chronic:	90 days of daily exposure
Chronic:	1.5-2 years of daily exposure (for rodents)

The default AFs to extrapolate from short to long test periods are listed in Table 6.11. [125].

Estrapolazione	Fattori di valutazione
Semi/subcronico a cronico	2
Subacuto a cronico	6
Subacuto a Semi/subcronico	3
Acuto a subacuto/subcronico/cronico	impossibile

Table 5.11. Estimated conversion factors between an LD50, the NOEL of a subchronic or chronic study and the acceptable daily intake (ADI)

LD50	NOEL subchronic	NOEL chronic	ADI
100,000 - 5,000,000	300 - 1000	100	1

Box 6.4. Maximum Permissible Risk level

Examples of oral MPRs for non-carcinogenic substances are the ADI (acceptable daily intake, for substances deliberately added to food items) and TDI (tolerable daily intake, for substances unintentionally present in food items), both are expressed in mg/kg bw/day and defined as the daily intake of a chemical which, during the entire lifetime, appears to be without appreciable risk on the basis of all known facts at the time. The RfD (Reference Dose) is similar to the ADI/TDI, but is more strictly defined. Inhalation MPRs are defined in a similar way and expressed as concentrations in air. An example of another health-based limit value is the AOEL (acceptable operator exposure level): the level that has no harmful effects on the health of operators (people working with the substance).

MPRs for carcinogenic substances are usually defined as the daily dose, taken during the entire lifetime that will cause 1:10⁴, 1:10⁵ or 1:10⁶ additional cancer cases during the entire lifetime.

Table 5.12. Actual intake and safety margin for a number of substances, adapted after Kroes and Feron [59]

Substances		Actual daily intake	Safety margin
Fat	(en %) ^a	40	<2
Sugar	(g)	100	2-3
Nicotin acid	(mg)	20 ^b	50
Vitamin A	(IE)	5000 ^b	18
Selenium	(mg)	1 ^b	10
Tocopherol	(mg)	0.15-2	60-6
Vitamin D	(IE)	400 ^b	5
Fluor	(mg)	1 ^b	5
NaCl	(g)	9	<2
Mercury	(μ g)	63	50
Sulphite	(mg)	3	1400
Bromide	(mg)	9.4	10
Solanin	(mg)	1	2
Dietary fibre	(g)	20-30 ^a	2
Aspartame	(mg)	300	800
DDT	(μ g)	6	5000
Dieldrin	(μ g)	0.5	1200
Lindane	(μ g)	2	30000
Dioxins	(pg)	135	500

^a Energy percents.

^b Recommended daily intake.

Benchmark dose

US EPA Human Health Toxicity Assessment

<https://www.epa.gov/risk/human-health-risk-assessment>

US EPA Benchmark Dose Technical Guidance Document

<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=20871>

<https://www.epa.gov/risk/guidelines-carcinogen-risk-assessment>

EChA Guidance for Human Health Risk Assessment

Volume III, Part B GUIDANCE ON REGULATION (EU) No 528/2012 CONCERNING THE MAKING AVAILABLE ON THE MARKET AND USE - December 2013

https://echa.europa.eu/documents/10162/4221979/adi_arfd_derivation_en.pdf/9cf8371e-2aa7-b62a-1089-04b7a63c2aa1



Assessment factors

Guidance for assessment factors to derive a DNEL

<http://www.ecetoc.org/wp-content/uploads/2014/08/ECETOC-TR-110-Guidance-on-assessment-factors-to-derive-a-DNEL.pdf>

ECETOC

http://en.wikipedia.org/wiki/European_Centre_for_Ecotoxicology_and_Toxicology_of_Chemicals

<http://www.ecetoc.org/members-2>

CEFIC European Chemical Industry Council

Tossicità di miscele

In generale l'informazione disponibile per sostanze testate

- in condizioni di laboratorio
- in studi di campo

si riferisce a singole sostanze

Ecosistemi terrestri e acquatici raramente (mai) inquinati da una singola sostanza

Necessario considerare possibili **interazioni tra specie chimiche e interazioni tra i loro effetti** sugli organismi.

E' importante considerare i “**modi di azione**” delle sostanze:

“A mode of action (MoA) describes a functional or anatomical change, at the cellular level, resulting from the exposure of a living organism to a substance.”

Quattro tipi di azioni congiunte di specie chimiche secondo Plackett e Hewlett (J. Roy. Stat. Soc. B, **14**, 141 –163 (1952))

Similar joint action

Dissimilar joint action

Interaction absent

simple similar action
(concentration-addition)

independent action
(response-addition)

Interaction present

complex similar action

dependent action

L'azione congiunta è definita

simile o **diversa** a seconda che i siti di azione primaria delle due specie chimiche considerate siano gli stessi o diversi,

interattiva o **non interattiva** a seconda che una specie chimica influenzi o meno l'azione biologica dell'altra

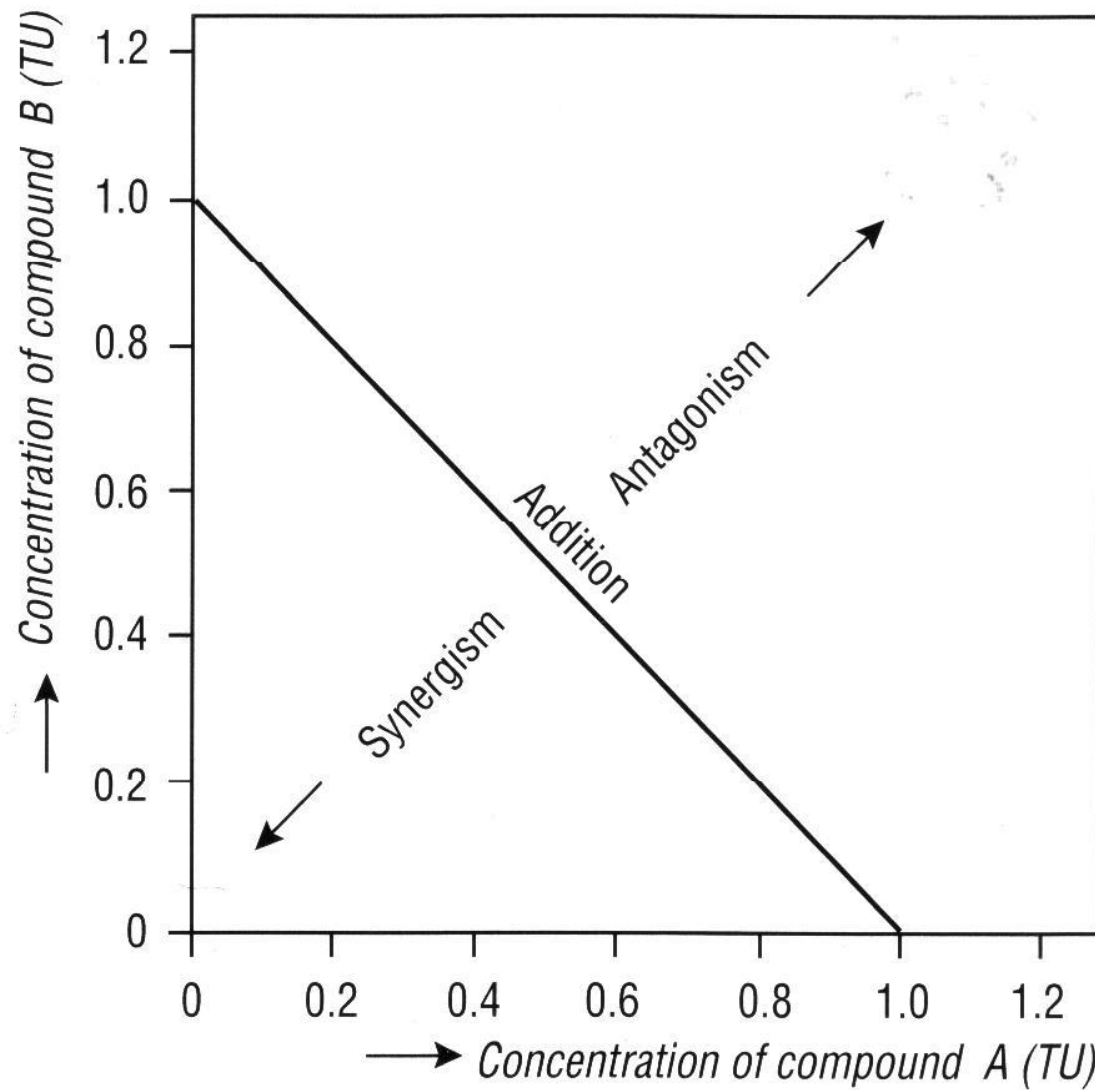


Figure 6.33. Possible toxicological interactions in a mixture of two chemicals.

Per la descrizione matematica della tossicità congiunta di una miscela di n composti ($n \geq 2$), è (possibile in pochi casi in cui l'assenza di interazione sembra essere un prerequisito.) difficile.

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf

Relativamente a miscele di composti, gli effetti per esperimenti per valutare LC50 possono essere predetti per composti con azione simile semplice (addizione delle concentrazioni)

Azione simile semplice

Sostanze chimiche nella miscela agiscono nello stesso modo, attraverso gli stessi meccanismi, con diverse potenze. L'effetto additivo può essere descritto con la somma delle dosi di ciascun componente individuale, dopo la correzione per la differenza nelle potenze:

Fattori di tossicità equivalente (TEF) e equivalenti di tossicità (TEQs) si definiscono per diossine, furani, PCB *dioxin-like*, e altri per IPA

PCDXs e DL-PCBs What are TEFs and TEQs?

The complex nature of polychlorinated dibenzo-p-dioxin (PCDD), dibenzofuran (PCDF), and biphenyl (PCB) mixtures complicates the risk evaluation for humans. For this purpose the concept of **toxic equivalency factors (TEFs)** has been developed and introduced to **facilitate risk assessment and regulatory control of exposure to these mixtures.**

TEF values for individual congeners in combination with their chemical concentration can be used to calculate the total TCDD toxic equivalents concentration (TEQs) contributed by all dioxin-like congeners in the mixture using the following equation which assumes dose additivity:

$$TEQ = \sum (PCDD_i \times TEF_i) + \sum (PCDF_i \times TEF_i) + \sum (PCB_i \times TEF_i) + ..$$

The majority of studies have demonstrated that the interaction does not deviate significantly from dose additivity.

PCBs	TEF
2,3,7,8TCDD	1
PentaCB 126	0,1
HexaCB 156	0,0005
HexaCB 157	0,0005
TetraCB 77	0,0001
PentaCB 105	0,0001
PentaCB 118	0,0001
PentaCB 123	0,0001
HeptaCB 189	20,0001
HexaCB 167	0,00001

Martin Van den Berg et al. 1998 "Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife" Environmental Health Perspectives Volume 106, 775-792,

Le 17 “pecore nere” e la loro tossicità equivalente

Tabella 1: I fattori di tossicità equivalente secondo NATO e WHO

PCDD/F	I-TEFs (NATO/CCMS ¹⁴ , 1988)	WHO-TEFs (Van den Berg <i>et al</i> , 1998)
2,3,7,8-TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	0,5	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	0,01
OCDD	0,001	0,0001
2,3,7,8-TCDF	0,1	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	0,01
OCDF	0,001	0,0001

(T = tetra, Pe = penta, Hx = hexa, Hp = hepta, O = octa)

I 12 PCB, “parenti” pericolosi e la loro tossicità equivalente

Tabella 8: PCB dioxin-like e relativi fattori di tossicità equivalente

PCB _n (nome IUPAC)	PCB-TEF (Ahlborg et al., 1994)	WHO-TEF (Van den Berg <i>et al</i> , 1998)
3,3',4,4'-TCB (77)	0,0005	0,0001
3,4,4',5-TCB (81)	-	0,0001
3,3',4,4',5-PeCB (126)	0,1	0,1
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	0,01	0,01
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	0,0001	0,0001
2,3,4,4',5-PeCB (114)	0,0005	0,0005
2,3',4,4',5-PeCB (118)	0,0001	0,0001
2',3,4,4',5-PeCB (123)	0,0001	0,0001
2,3,3',4,4',5-HxCB (156)	0,0005	0,0005
2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	0,0005	0,0005
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	0,00001	0,00001
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	0,0001	0,0001

(T = tetra, Pe = penta, Hx = hexa, Hp = hepta)

IPA

Valutazione dell'equivalente internazionale di tossicità

$$I - TEQ_{B[a]P} = \sum_i [IPA]_i \cdot TEF_i$$

Table 13. Relative potency of individual PAHs compared with B[a]P (TEF values), according to different authors.^a

Compound	Chu and Chen (1984) (cit. Nisbet and LaGoy 1992)	Clement (1986) (cit. Nisbet and LaGoy 1992); Krewski et al. (1989)	Nisbet and LaGoy (1992)	The Netherlands (RIVM 1989)	CARB (1994); Collins et al. (1998)	Health Canada (Meek et al. 1994)	Ontario (Muller 1997)	Larsen and Larsen (1998)
Anthracene			0.01	0				0.0005
Phenanthrene			0.001	0.01			0.00064	0.0005
Benz[a]anthracene	0.013	0.145	0.1	0-0.04	0.1		0.014	0.005
Benzo[c]phenanthrene							0.023	0.023
Chrysene	0.001	0.0044	0.01	0.05-0.89	0.01		0.026	0.03
Fluoranthene			0.001	0-0.06				0.05
Pyrene		0.081	0.001				0	0.001
B[a]P	1	1	1	1	1	1	1	1
Benzo[e]pyrene		0.004					0	0.002
Benzo[b]fluoranthene	0.08	0.14	0.1		0.1	0.06	0.11	0.1
Benzo[j]fluoranthene		0.061			0.1	0.05	0.045	0.05
Benzo[k]fluoranthene	0.04	0.066	0.1	0.03-0.09	0.1	0.04	0.037	0.05
Cyclopenta[<i>cd</i>]pyrene		0.023					0.012	0.02
Dibenzo[<i>a,h</i>]anthracene	0.69	1.11	5				0.89	1.1
Anthanthrene		0.32					0.28	0.3
Benzo[<i>ghi</i>]perylene		0.022	0.01	0.01-0.03			0.012	0.02
Dibenzo[<i>a,e</i>]pyrene					1		1.0 ^b	0.2
Dibenzo[<i>a,h</i>]pyrene					10		1.2	1
Dibenzo[<i>a,i</i>]pyrene					10			0.1
Dibenzo[<i>a,l</i>]pyrene					10			1
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene	0.017	0.232	0.1	0-0.08	0.1	0.12	100 ^b	0.1

^aSee comments in the text. ^bData from Muller et al. (1995), cited in WHO/IPCS (1998).

Miscele con diversi modi d'azione →
maggior complicazione.

Gli effetti possono essere predetti se e solo
se i composti nella miscela agiscono in
modo diverso e indipendentemente (**azione
indipendente**).

Azione diversa semplice

(Azione semplice indipendente, azione indipendente congiunta o **addizione degli effetti** o delle risposte)

La natura, il meccanismo o il sito d'azione delle specie chimiche nella miscela sono diversi. Quindi ciascuna specie chimica esercita il suo effetto tossico individuale, e non altera l'effetto degli altri *chemicals* nella miscela.

Pericolosità di una miscela con azione diversa semplice ma correlazione positiva completa delle suscettibilità (risposte degli organismi ai tossici) è quella del componente più tossico della miscela.

Interazione

Effetti di due o più sostanze in una miscela, risultano in un effetto più forte della semplice somma di effetti delle sostanze individuali (sinergia, potenziamento, supra-additività).

Avviene per natura chimico-fisica o nella fase tossicocinetica.

Supra-additività: possibile che sostanze in conc. sotto livelli di effetto avverso abbiano effetti avversi

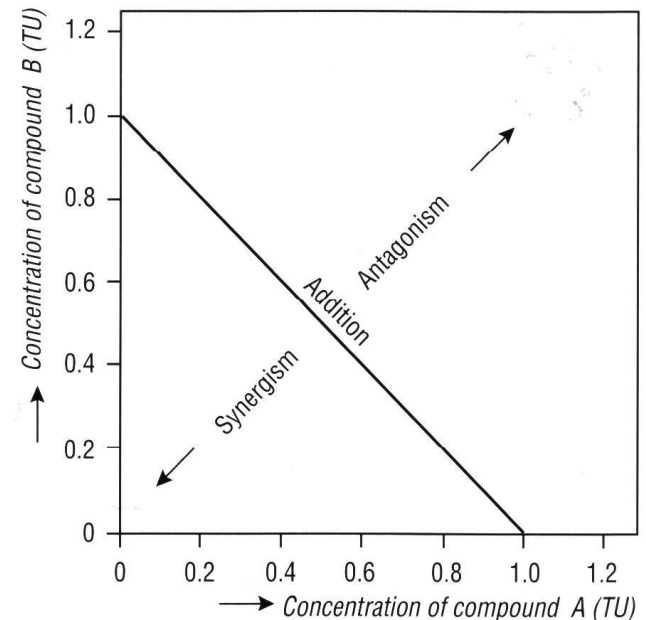


Figure 6.33. Possible toxicological interactions in a mixture of two chemicals.

Esposizione a miscele di sostanze genotossiche cancerogene

Sostanze senza soglia d'effetto: si assume additività delle risposte (nell'esprimere il rischio da sostanze cancerogene non si fa differenza tra i tipi di cancro)

$$CR_{\text{total}} = \sum CR_i$$

CR_i = rischio cancerogeno per l'i-mo componente nella miscela.

ABSTRACT

The EU Chemicals legislation is based predominantly on assessments carried out on individual substances. Since humans and their environments are exposed to a wide variety of substances, there is increasing concern in the general public about the potential adverse effects of the interactions between those substances when present simultaneously in a mixture. Based on their analysis of the available scientific literature, the non-food Scientific Committees of the European Commission reached the following conclusions:

1. Under certain conditions, chemicals will act jointly in a way that the overall level of toxicity is affected.

2. Chemicals with common modes of action will act jointly to produce combination effects that are larger than the effects of each mixture component applied singly. These effects can be described by dose/concentration addition.

3. For chemicals with different modes of action (independently acting), no robust evidence is available that exposure to a mixture of such substances is of health or environmental concern if the individual chemicals are present at or below their zero-effect levels.

4. Interactions (including antagonism, potentiation, and synergies) usually occur at medium or high dose levels (relative to the lowest effect levels). At low exposure levels, they are either unlikely to occur or are toxicologically insignificant.

5. In view of the almost infinite number of possible combinations of chemicals to which humans and environmental species are exposed, some form of initial filter to allow a focus on mixtures of potential concern is necessary. Several criteria for such screening are offered.

6. With regard to the assessment of chemical mixtures, a major knowledge gap at the present time is the lack of exposure information and the rather limited number of chemicals for which there is sufficient information on their mode of action. Currently, there is neither an agreed inventory of mode of actions, nor a defined set of criteria how to characterise or predict a mode of action for data-poor chemicals.

7. If no mode of action information is available, the dose/concentration addition method should be preferred over the independent action approach. Prediction of possible interaction requires expert judgement and hence needs to be considered on a case-by-case basis.

Based upon these conclusions, a decision tree for evaluating the risk of chemical mixtures is proposed.

Scientific Committee on Health
and Environmental Risks

Scientific Committee on Emerging
and Newly Identified Health Risks

Scientific Committee
on Consumer Safety

Dicembre 2011

