

Valutazione del rischio chimico

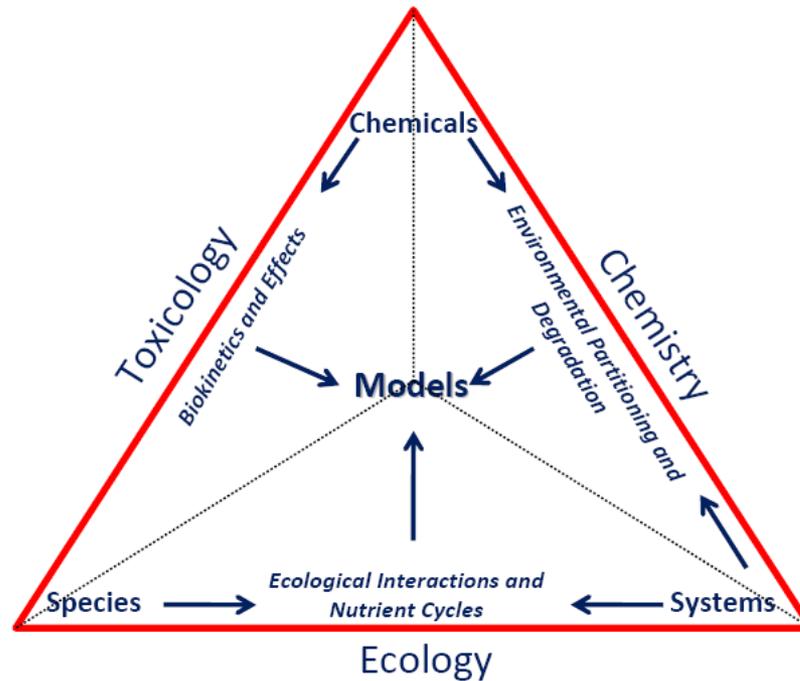
CdL Magistrale Interateneo in
Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio
Università di Udine e Università di Trieste

CdL Magistrale in Chimica
Università di Trieste

Docente
Pierluigi Barbieri

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

Ecotoxicologia: scienza delle tre S



Redrawn from Figure 7.1 of van Leeuwen and Vermeire (2007)

Table 6.1. “Disciplines” of ecotoxicology and some of their research topics

| Chemistry | Toxicology | Ecology | Mathematics |
|---------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------------|
| Exposure assessment | effects assessment | community structure | environmental fate models |
| Transport | modes of toxic action | community functions | pharmacokinetic models |
| Partitioning | bioaccumulation | population dynamics | LC50 and NOEC statistics |
| Transformation | biotransformation | nutrient/energy cycling | species-species extrapolation |
| SARs/QSARs | extrapolation | various interactions | population and ecosystem models |

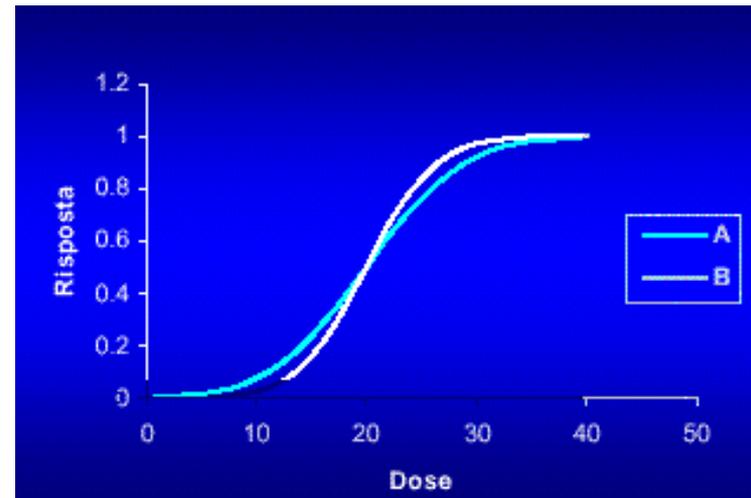
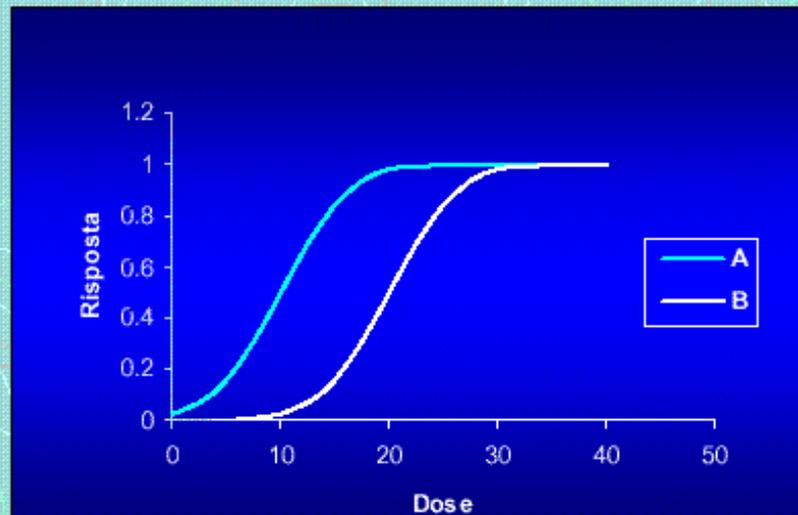
Differences between HRA and ERA

- Taxonomic diversity
- Toxicological endpoints
- Spatial scales
- Temporal scales
- Complexity of exposure

FOCALIZZIAMO L'ATTENZIONE SULLE RISPOSTE DI ORGANISMI DIVERSI

A e B organismi (specie) testati diversi

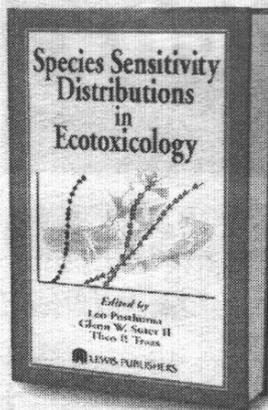
Confronto tra curve dose-risposta



TOSSICITÀ SELETTIVA

- Risposte multiple allo stesso composto tossico principalmente dovute a
 - Differenze nella superficie di esposizione
 - Differenze nell'accumulo
 - Tassi di trasformazione ("biotrasformazione")
 - Differenze nei percorsi biochimici

*Si possono definire **distribuzioni di sensibilità delle specie** (organismi su cui sono effettuati i test tossicologici)*



SPECIES SENSITIVITY DISTRIBUTIONS IN ECOTOXICOLOGY

Edited by

Leo Posthuma and Theo P. Traas

RIVM-Centre for Substances and Risks, The Netherlands

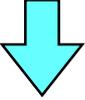
Glenn W. Suter II

U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA

This book provides a critical review of the conceptual basis, strengths and weaknesses of using Species Sensitivity Distributions (SSDs) to model the effects of contaminants on ecosystems. The book covers when and how to use SSDs, and includes alternative assumptions, data treatments, computational methods, and available resources. It explains the basis for the SSD-based criteria standards, making it possible to correctly apply and defend them.

Approcci: Deterministico

Toxicity 

Exposure 

TER 

Valutazioni sulla tossicità

- **A livello di Specie**
 - Laboratory toxicity experiments
 - Greenhouse studies
 - Field studies
- **A livello di Ecosistema**
 - Most sensitive species
 - Mesocosm studies
 - Species Sensitivity Distribution

Species Level Assessment:

NOEC (aka NOAEL) and EC_x

- **LOEC** = lowest tested conc at which a statistically significant adverse effect is observed
- **NOEC** = highest tested conc < LOEC
 - LOEC, NOEC depend on experimental design & statistical test
- **EC_x** = conc producing x% effect
 - EC_x depends on experimental design and model and choice of x

Ecosystem level assessment

Current Method



- Determine the NOEC (or EC50) for each species representing an ecosystem
- Find the smallest NOEC (or EC50)
- Divide it by 10, 100, or 1000 (uncertainty factor)
- Regulate from this value
 - or argue against it

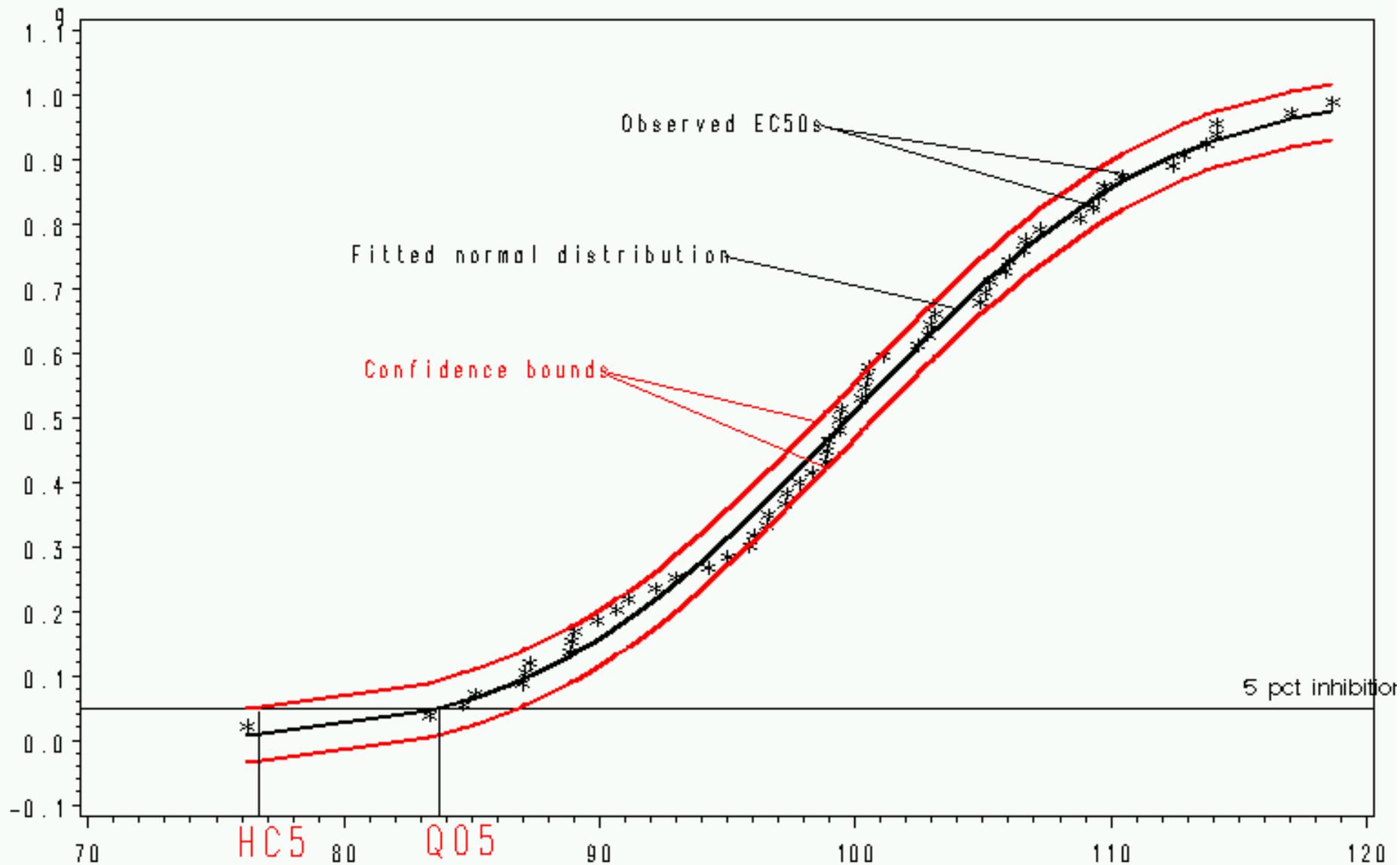
Ecosystem level assessment

Probabilistic Approach



- Collect a consistent measure of toxicity from **a representative set of species**
 - EC50s *or* NOECs (not both)
- Fit a distribution (**SSD**) to these numerical measures
- Estimate concentration, HC5, that protects 95% of species in ecosystem
- Advantages and problems with SSDs

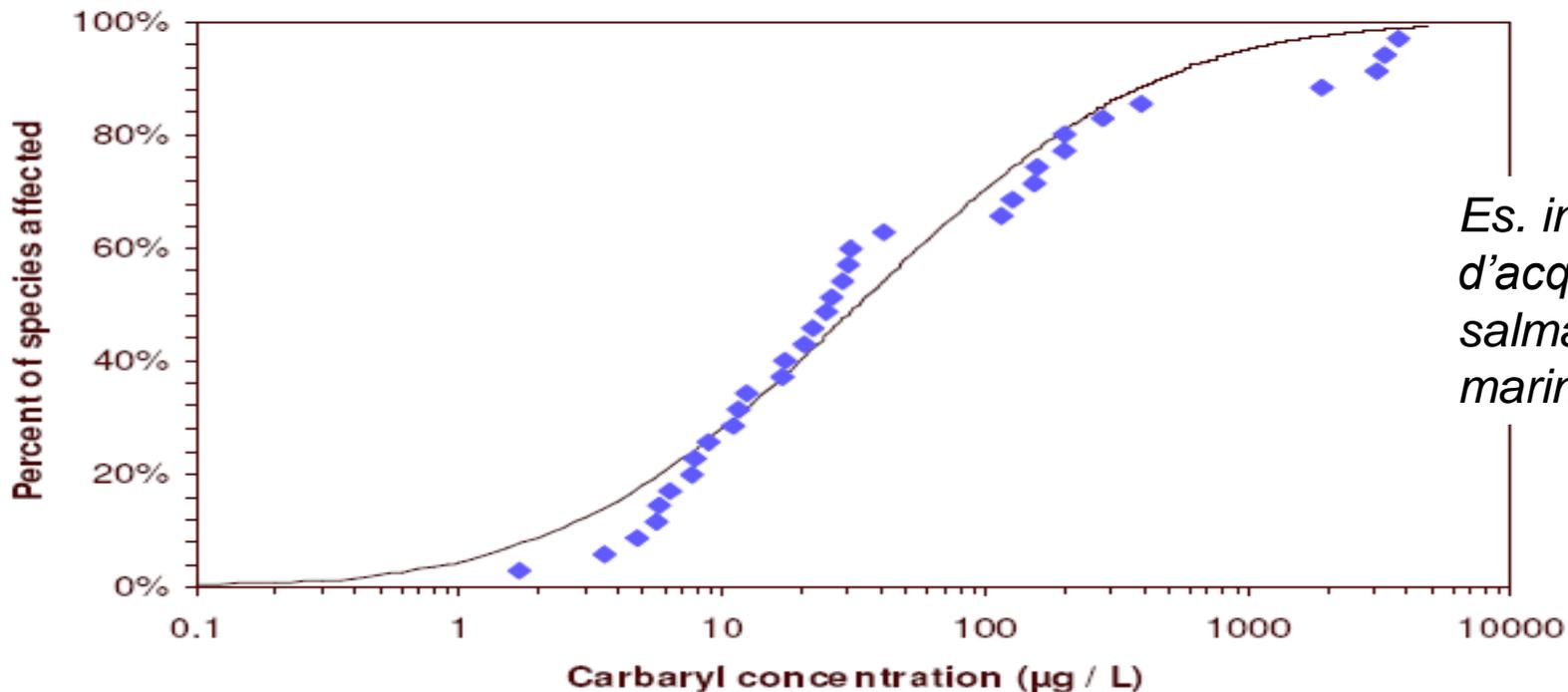
Normal Distribution



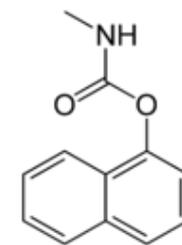
HC5 lower 5th percentile of the estimated hazardous concentration,

Selection of Toxicity Data

Acute LC₅₀ values of Carbaryl for 34 aquatic invertebrate species. The fitted log-normal SSD has a mean of 3.497 and a standard deviation of 2.063.



*Es. invertebrati
d'acqua dolce,
salmastra e
marina*



insetticida

SSD by Habitat

Visual groupings are not taxonomic classes but defined by habitat, possibly related to mode of action

How Many Species?

- **Newman's method: 40 to 60 species**
 - Snowball's chance...
 - Might reduce this by good choice of groups to model
- **Aldenberg-Jaworski: 1 species will do**
 - If you make enough assumptions,...
- **8 is usual target**
- **5 is common**
- **20-25 in some non-target plant studies**

Which Distribution to Fit?

- **Normal, log-normal, log-logistic, Burr III...?**
 - With 5-8 data points, selecting the “right” distribution is a challenge
- **Does it matter?**
 - Recent simulation study suggests **yes**
 - Various distributions fit
 - Actual laboratory data suggests **yes**

Which Laboratory Species?

One EUFRAM case study fits an SSD to the following

| Species | Toxicity ($\mu\text{g/l}$) | Test |
|-----------------------------------|------------------------------|--------------|
| <i>Selenastrum capricornutum</i> | 43 | 72h EC50 |
| <i>Navicula pelliculosa</i> | 60 | 120h EC50 |
| <i>Skeletonema costatum</i> | 69 | 48-120h EC50 |
| <i>Myriophyllum heterophyllum</i> | 132 | 14d EC50 |
| <i>Lemna gibba</i> | 180 | 7d EC50 |
| <i>Anabaena flos-aquae</i> | 342 | 72-120h EC50 |

Alga

Alga

Alga

Pianta acquatica

Pianta acquatica

Batterio/plankton

Aquatic toxicologists can comment (and have) on whether these values belong to a meaningful population

<http://www.eufram.com/outputsDraft.cfm>

Variability and Uncertainty

Uncertainty reflects *lack of knowledge* of the system under study

Ex1: what distribution to fit for SSD

Ex2: what mathematical model to use to estimate EC_x

Increased knowledge will reduce uncertainty

Variability reflects *lack of control*

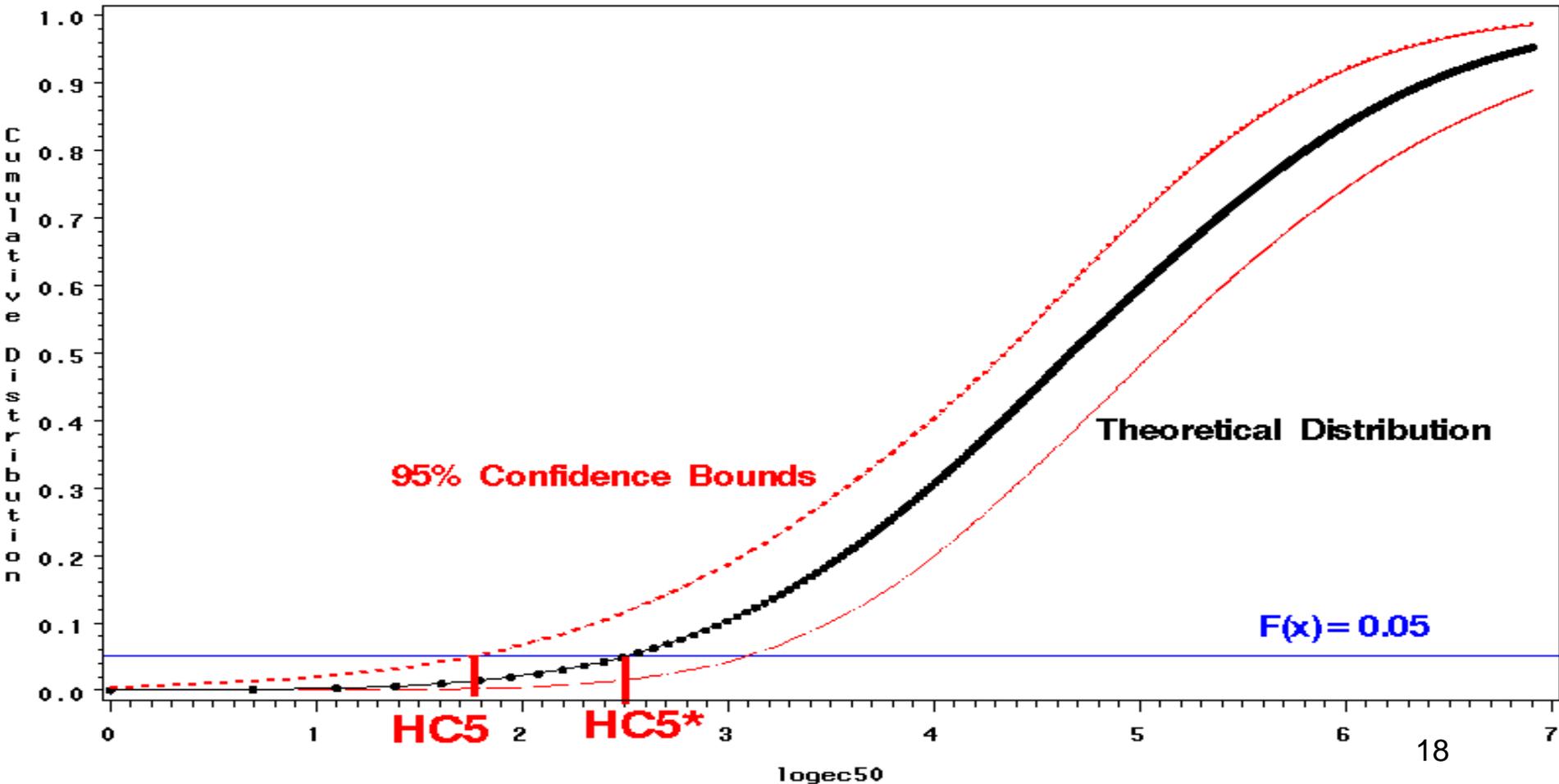
inherent variation or noise among individuals.

Increased knowledge of the animal or plant species will not reduce variability

Summary Plot for SSD

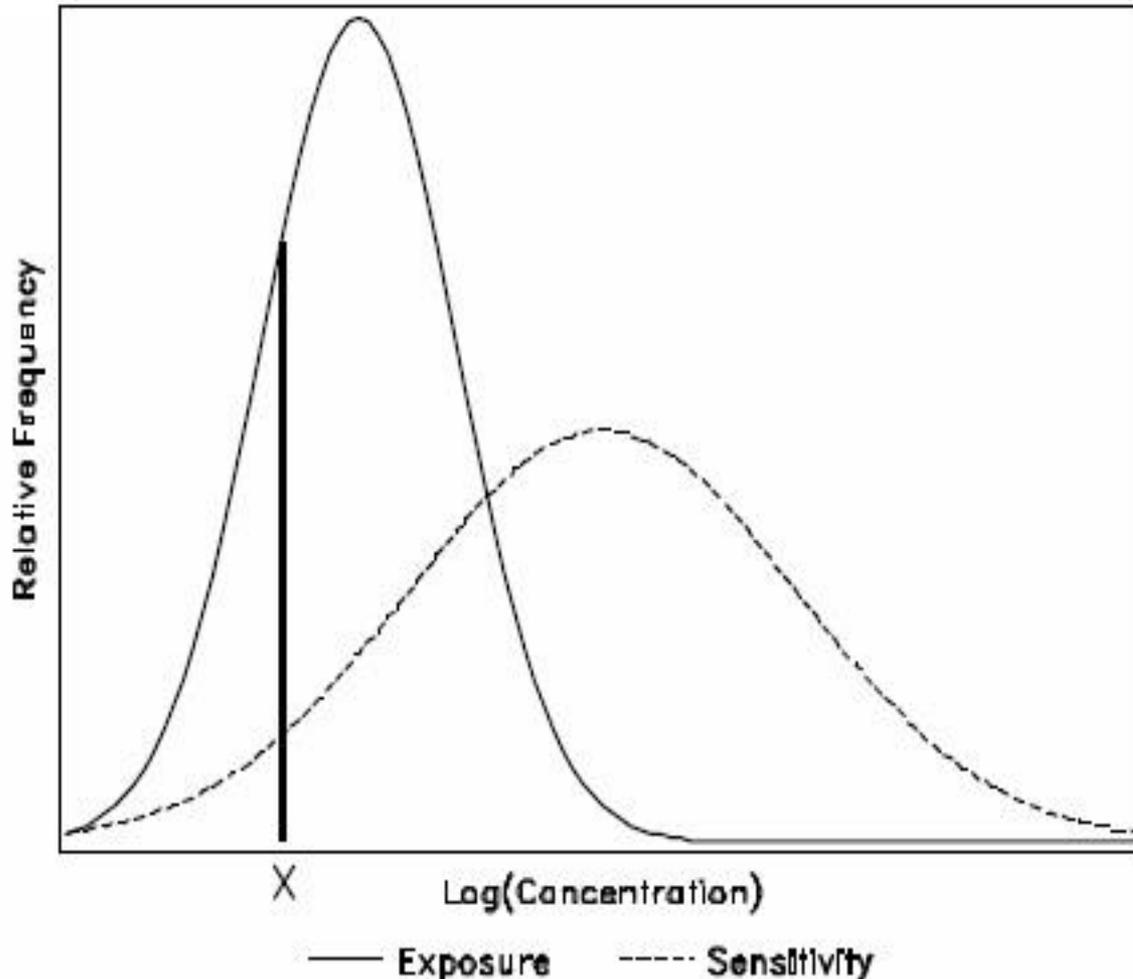
Distribution of Log(EC50) w/ 95% Confidence Bounds

Subset: Where Obs <=35,
Subset: Where 0 < Obs,
Mean=267.5159923, STD=533.77440553



Putting it All Together

Probability Density Functions (PDF's)



Joint Probability Curves

Plot exposure and toxicity distributions together to understand the likelihood of the exposure concentration exceeding the toxic threshold of a given percent of the population

Calculating Risk

The risk is given by

$$\Pr[X_e > X_s]$$

where X_e = exposure, X_s = sensitivity or toxicity

This is an “average” probability that exposure will exceed the sensitivity of species exposed

ICE and ACE Software Development

ICE (Interspecies Correlation Estimation)

Estimates ***acute toxicity*** for a species, genus or family ***from a surrogate species***

<https://www3.epa.gov/webice/> (2016)

ACE (Acute to Chronic Estimation)

Estimates ***chronic*** toxicity ***from raw acute toxicity data***

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=62534

Interspecies Correlation Estimation | Interspecies Correlation Estimation | US EPA - Windows Internet Explorer

US EPA http://www.epa.gov/ceampubl/fchain/webice/ Interspecies Correlation Estimation software

Interspecies Correlation Estimation | Interspecies Cor...

Contact Us Share

Interspecies Correlation Estimation

You are here: [EPA Home](#) » [Exposure Assessment](#) » [Food Chain](#) » [WebICE](#) » Interspecies Correlation Estimation

The data for this site is being updated, please postpone toxicity calculations until update is complete.

Exposure Assessment Models

- Web-ICE Home
- Aquatic Species
- Aquatic Genus
- Aquatic Family
- Wildlife Species
- Wildlife Family

Species Sensitivity Distributions

- Aquatic Wildlife

Endangered Species

- Aquatic Wildlife

Basic Information

- User Manual
- Download Model Data
- Bibliography

Web ICE Logo

The Web-based Interspecies Correlation Estimation (Web-ICE) application estimates acute toxicity to aquatic and terrestrial organisms for use in risk assessment. Please refer to the [User Manual](#) for detailed instructions on using Web-ICE.

Web-ICE Modules

| ICE Aquatic | ICE Wildlife |
|--|---|
| Aquatic vertebrates / invertebrates | Terrestrial Birds / Mammals |
| Species Genus Family | Species Family |

Species Sensitivity Distribution Module

| | |
|-----------------------------|------------------------------|
| ICE Aquatic | ICE Wildlife |
|-----------------------------|------------------------------|

Endangered Species Module

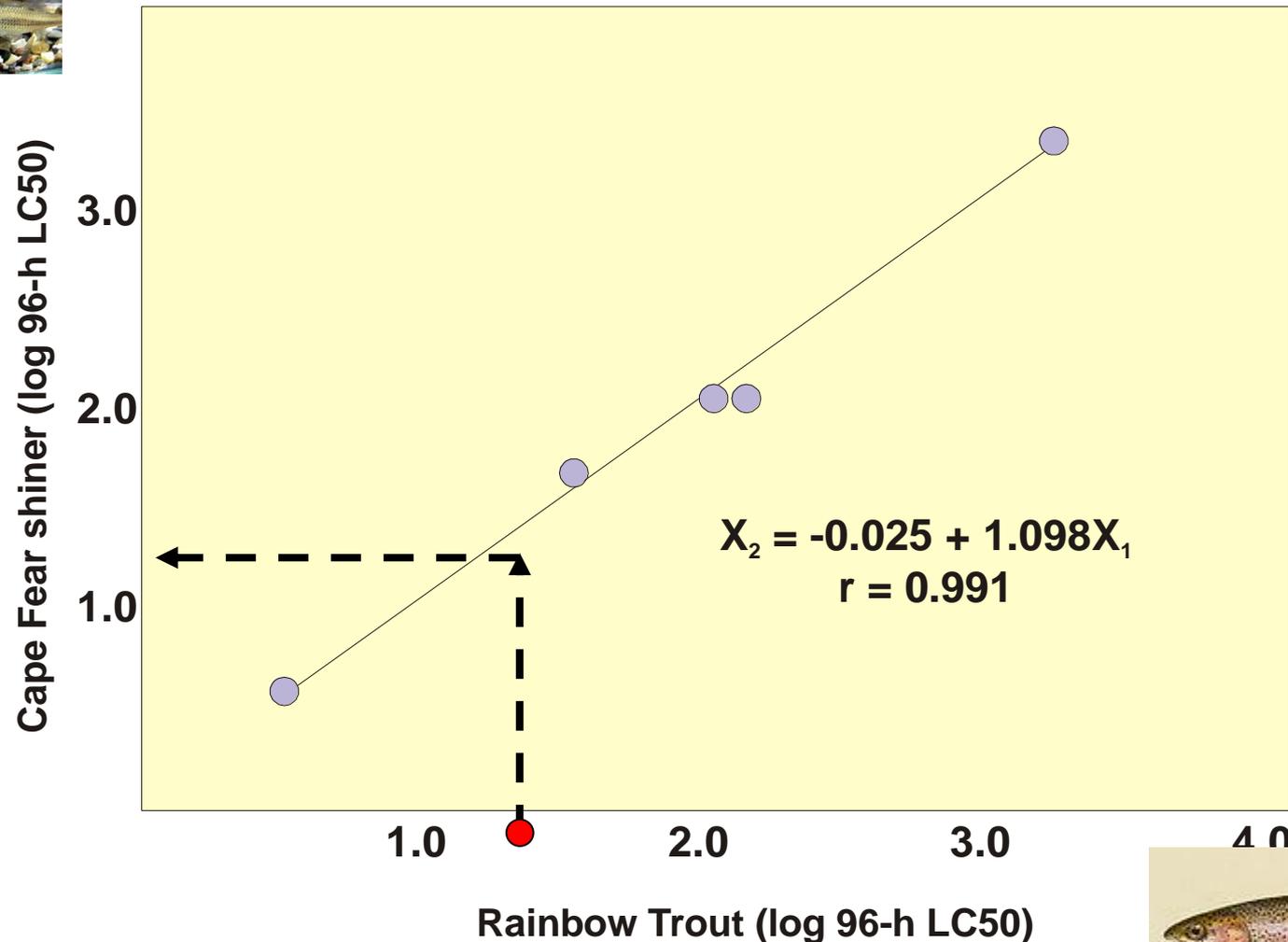
| | |
|-----------------------------|------------------------------|
| ICE Aquatic | ICE Wildlife |
|-----------------------------|------------------------------|

Fine

Internet 100%

Start 6 Esplora ris... Download 3 Microsoft ... 2 Internet E... Adobe Reader 16.59

Acute toxicity estimates using interspecies correlations



- Exposure Assessment Modeling
- Modeling Products
 - Groundwater
 - Surface Water
 - Food Chain
 - Multimedia
 - Tools & Data
- Information Sources
 - About CEAM
 - Frequent Questions
 - CEAM Discussion
 - Related Links
 - Distribution & Support
 - Policy

You are here: EPA Home Exposure Assessment Food Chain ACE ACE

ACE

ICE and ACE were developed by the U.S. EPA in collaboration with other federal agencies, industry, and universities to address data gaps in species sensitivity and reduce reliance on uncertainty factors in ecological risk assessment.

The Acute-to-Chronic Estimation (ACE) with Time-Concentration-Effect Models software allows prediction of chronic toxicity from acute toxicity datasets. ACE uses linear regression and accelerated life testing to predict no-effect and low-effect concentrations for chronic mortality.

| Specifications | |
|--------------------------|--|
| Current Version: | 2.0 |
| Release Date: | December 2003 |
| Development Status: | General Release |
| Development Information: | Release Notes - changes and known deficiencies |
| Operating System: | Win 9x, NT, 2000, XP |
| Development Language: | Visual Basic, Fortran |
| Intended Audience: | Scientist/Biologist |
| Key Words: | acute, chronic, toxicity, concentration, exposure |
| Related Web Sites: | Web-ICE Model Page EPA National Health and Environmental Effects Research Laboratory (NHEERL) |

Text Files (ASCII Format)

| File Name | File Description |
|-----------|------------------|
|-----------|------------------|

ACE:

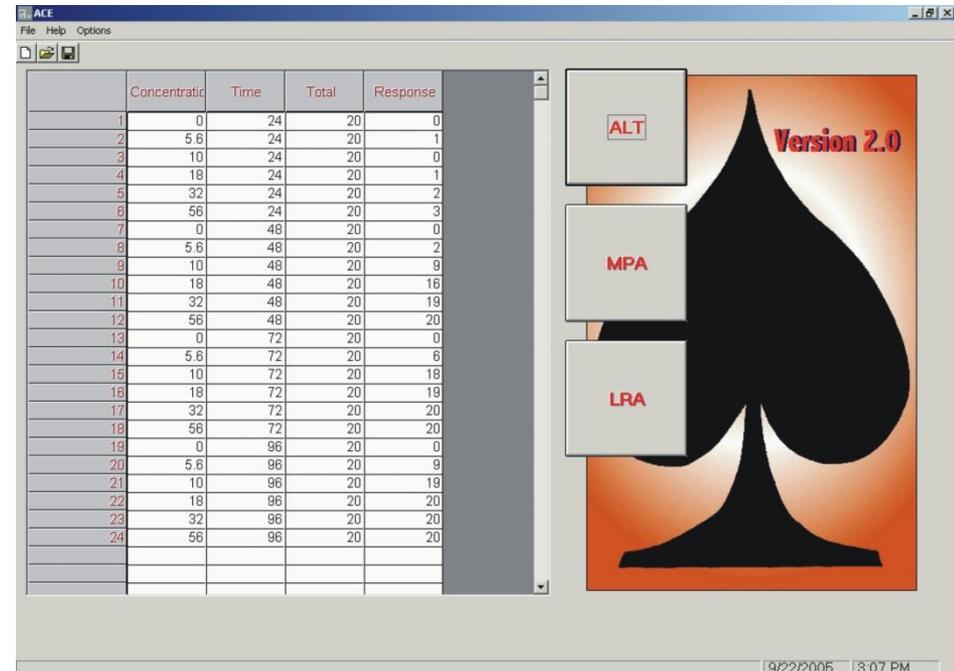
Acute to Chronic Estimations

Significance:

Provides estimated chronic toxicity for species with only acute data

Acute: ie. 96-hour LC50/ LD50

Chronic: long-term, sublethal



The screenshot shows the ACE software interface. On the left is a data table with columns for Concentration, Time, Total, and Response. On the right is a splash screen for Version 2.0 featuring a black spade symbol and three buttons labeled ALT, MPA, and LRA. The status bar at the bottom indicates the date 9/22/2005 and time 3:07 PM.

| | Concentration | Time | Total | Response |
|----|---------------|------|-------|----------|
| 1 | 0 | 24 | 20 | 0 |
| 2 | 5.6 | 24 | 20 | 1 |
| 3 | 10 | 24 | 20 | 0 |
| 4 | 18 | 24 | 20 | 1 |
| 5 | 32 | 24 | 20 | 2 |
| 6 | 56 | 24 | 20 | 3 |
| 7 | 0 | 48 | 20 | 0 |
| 8 | 5.6 | 48 | 20 | 2 |
| 9 | 10 | 48 | 20 | 9 |
| 10 | 18 | 48 | 20 | 16 |
| 11 | 32 | 48 | 20 | 19 |
| 12 | 56 | 48 | 20 | 20 |
| 13 | 0 | 72 | 20 | 0 |
| 14 | 5.6 | 72 | 20 | 6 |
| 15 | 10 | 72 | 20 | 18 |
| 16 | 18 | 72 | 20 | 19 |
| 17 | 32 | 72 | 20 | 20 |
| 18 | 56 | 72 | 20 | 20 |
| 19 | 0 | 96 | 20 | 0 |
| 20 | 5.6 | 96 | 20 | 9 |
| 21 | 10 | 96 | 20 | 19 |
| 22 | 18 | 96 | 20 | 20 |
| 23 | 32 | 96 | 20 | 20 |
| 24 | 56 | 96 | 20 | 20 |

Tossicologia acquatica

Gli studi sugli organismi acquatici sono di prima generazione, i più diffusi, i più consolidati

Misure basate su effetti a breve termine, o Saggi acuti:
da pochi minuti (batteri luminescenti) a 24 o 96 h (pesci, crostacei).

Valutazioni: effetti prodotti da immissioni, più o meno accidentali, di sostanze diverse, di pesticidi, di reflui industriali o domestici

Specie animali: pesci, invertebrati

Specie vegetali: microalghe

Scopo: rilevare la concentrazione o la dose di una sostanza o di una miscela, di un agente fisico (torbidità, livello termico, radiazioni ionizzanti) che hanno effetto avverso misurabile per gli organismi considerati

Motivazioni dell'uso di saggi di tossicità con organismi acquatici

a) Sollecitazioni di carattere legale –

controllo della qualità delle acque superficiali ai fini della *tutela della fauna ittica e della pesca*

b) Formulazione di criteri di qualità:

saggi *preventivi all'immissione sul mercato di nuovi prodotti chimici*. Bersagli biologici – saggi con pesci e crostacei

c) Tutela ambientale:

giudizi di *accettabilità di effluenti* di cui non è nota la composizione

ACQUA DOLCE

Specie test

Pesci

Salmonidi Oncorhynchus mykiss, Salvelinus fontinalis

Ciprinidi Pimephales promelas

Ictaluridi Ictalurus punctatus

Centrarchidi Lepomis macrochirus

Invertebrati

Cladoceri Daphnia magna, D.pulicaria, D.pulex

Anfipodi Gammarus lacustris, G.fasciatus, G.pseudolimnaeus

Decapodi Orconects sp., Cambarus sp.

Ditteri Chironomus sp.

Gasteropodi Physa integra

ACQUA DI MARE

Pesci

Ciprinodontidi Cyprinodon variegatus, Fundulus heteroclitus, F.similis

Aterinidi Menidia sp.

Invertebrati

Copepodi Acartia tonsa, A.clausii

Decapodi Peneus setiferus, P.duorarum, Palaemonetes pugio, P.vulgaris, Crangon septemspinosa,
Mysidiopsis bahia, Callinectes sapidus, Uca sp.

Lamellibranchi Crassostrea virginica, C.gigas

Policheti Capitella capitata, Neanthes sp.

Introduction: experimental

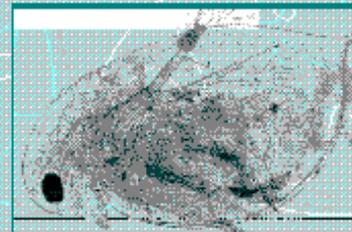
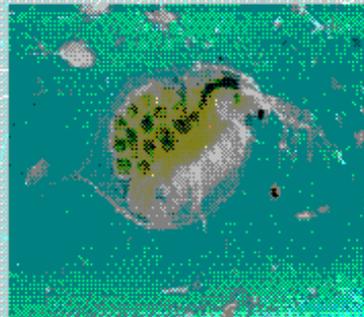
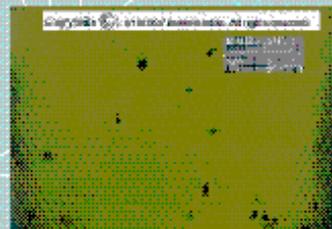
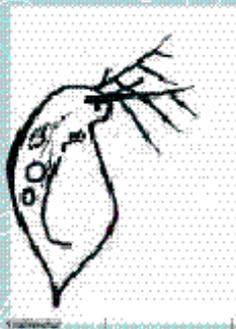
The toxicity towards **Fathead Minnow (*Pimephales promelas*)** – a freshwater fish from **north America** - has been tested [1] for

- 562 compounds representing a cross section of industrial organic chemicals [2], and
- Toxicity has been reported as median lethal concentrations LC50 (mmol/l) after 96 hours exposure

1. C.L. Russom, S.P. Brandbury, S.J. Broderius, D.E. Hammermeister, D.A. Drummond, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16 (1997) 948-967.
2. G.D. Veith, B. Greenwood, R.S. Hunter, G.I. Niemi, R. Regal, *Chemosphere*, 17 (1988) 1617-1630 .



Daphnia magna, *D.pulex* e le altre



Effetto rilevato: morte, a volte si sceglie l'immobilizzazione (dafnie). Per gli organismi monocellulari si sceglie la diminuzione della crescita (alghe) o la compromissione della luminescenza (batteri)

Somministrazione: Nei saggi con organismi acquatici si contamina l'acqua (*effective concentration* – concentrazione efficace).

Tre sono i possibili tipi di approccio:

- **test statici.** Si allestiscono una serie di soluzioni con concentrazioni diverse senza ulteriori aggiunte di contaminante.

Sono impiegati per i saggi di breve durata

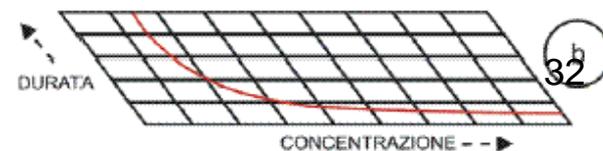
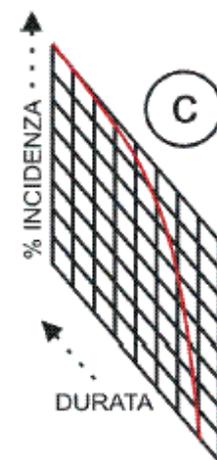
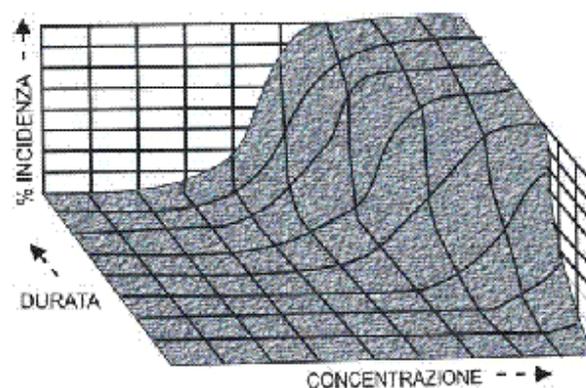
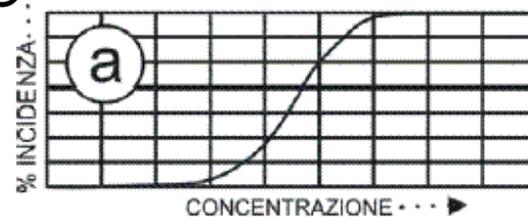
- **test con rinnovo periodico della soluzione:** si procede come con i test statici, ma dopo 24 h si procede ad una sostituzione dell'acqua a cui viene aggiunto di nuovo il tossico per ripristinare la concentrazione.

- **test a flusso continuo:** la soluzione test viene mantenuta in stato stazionario mediante un sistema di alimentazione automatico. *Sono i più utilizzati per gli esperimenti a lungo termine*

Si suppone che la sostanza impiegata nel test sia la causa dell'effetto osservato.

Nel corso del test deve essere verificato se a carico di tale sostanza si verificano trasformazioni chimiche **(b)**. Si suppone che la risposta osservata e la sua intensità siano in funzione della concentrazione della sostanza in esame nell'acqua in cui vengono posti gli organismi-test **(a)**. Livelli di esposizione non efficaci a breve termine possono produrre danni con tempi di trattamento più lunghi. ©

Tuttavia, in genere, si tiene costante il tempo ma si varia la concentrazione.



32

Produrre uno o più effetti sugli organismi tenuti in condizioni controllate

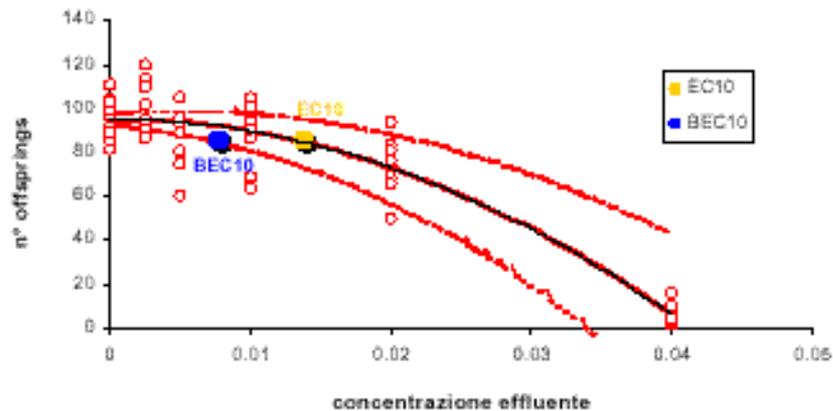
Esperimenti con più repliche:

- Variazione della concentrazione della sostanza in esame
- Scelta dei tempi
- Lettura dei danni prodotti allo scadere dei tempi prefissati
- Curva di tossicità
- EC 50 (*Median effective concentration – Concentrazione efficace mediana*)
- Quando l'effetto è la morte allora EC 50 = LC 50 (*Median lethal concentration – Concentrazione letale mediana*)
- Mediana indica che la risposta biologica è pari al 50%; alla LC 50 ci si aspetta la morte del 50% dei trattati.

- Generalmente si prendono come riferimento dei parametri fisiologici e/o riproduttivi (es. vel. di nuoto, tasso respiratorio, parametri indicativi del metabolismo) dell'organismo utilizzato nei test e se ne confrontano statisticamente i valori rispetto ad un gruppo di controllo.

Definizione del NOEC

- Ad esempio può essere assunto come endpoint una diminuzione del 10% del tasso riproduttivo



PREGI

Il saggio tossicologico diviene estremamente utile ai fini della valutazione delle interazioni tra le componenti tossiche e le caratteristiche naturali del corpo idrico ricevente.

LIMITAZIONI

L'approccio tradizionale basato sull'utilizzazione di *una singola specie* può essere riduttivo rispetto alla complessità degli ecosistemi

L'utilizzazione di un *numero maggiore di specie* lascia comunque irrisolti i problemi di incertezza rispetto alla capacità di tolleranza delle innumerevoli specie (micro e macrospiche) di un ecosistema acquatico

I saggi a *breve termine*, prevalentemente utilizzati, non permettono di prevedere quali siano invece gli effetti derivanti da esposizione a lungo termine

Soglia di tossicità. Dose o concentrazione alla quale o al di sotto della quale non si manifesta un danno misurabile dopo un determinato tempo prestabilito. Tale concetto non si applica per quelle sostanze o agenti fisici (radiazioni ionizzanti) che agiscono sul DNA, per le sostanze mutagene, per quelle che producono un'inibizione enzimatica e dei meccanismi di trasporto, per quelle cancerogene.

No-observed-effect level. Max livello di esposizione ancora non efficace

Lowest-observed-effect level. Livello più basso tra quelli efficaci

Per definizione la soglia di tossicità si colloca tra NOEL e LOEL

No-observed-adverse-effect level. Concentrazioni che non producono effetti necessariamente dannosi (*adverse effect*) e pertanto anche se presenti non vengono considerati ai fini della valutazione della soglia di tossicità.

La conoscenza del NOEL **per gli organismi più sensibili di una comunità** consente di ricavare criteri di protezione accettabili. La difficoltà è rappresentata dalla possibilità di includere le specie più sensibili tra gli organismi con cui si effettuano i test di tossicità.

Individuazione *a priori* dei **percorsi critici** degli inquinanti (quelli in cui si prevedono le contaminazioni maggiori) e dei **gruppi critici** (specie o insiemi di individui più esposti alla contaminazione).

Si controllano gruppi critici e/o i percorsi critici, e si assume che se per essi sono verificate condizioni accettabili, allora anche altre specie, individui, siti si trovino in condizioni di sicurezza.

Possibili forme di distorsione delle prove di tossicità:

- l'impiego di un basso numero di animali può portare a valutazioni di tipo ottimistico.
- l'insorgenza di effetti a basse concentrazioni può confondersi con le risposte dei controlli
- il trasferimento dei risultati ricavati dal campione sperimentale all'intera popolazione (inferenza statistica).
- l'estrapolazione dei risultati conseguiti con una specie ad altre

Fattori di sicurezza

Ai NOEL sperimentali si applicano *fattori di incertezza o fattori di sicurezza* (1/5, 1/10, 1/100 del suo valore)

Spesso si effettuano *test tossicologici su organismi posti a diversi livelli della catena trofica.*

Ad esempio:

1 test su batteri (es. *Vibrio Fisheri* inibizione luminescenza)

1 test su alghe (es. *Dunaliella Tertiolecta* inibizione crescita)

1 test su invertebrati (es. *Daphnia Magna* inibizione mobilità)

1 test su pesci (es. *Pimephales promelas* LD₅₀)