

**NAVODILA ZA IZDELAVO OCENE TVEGANJA
ZA ZDRAVJE LJUDI ZARADI IZPOSTAVLJENOSTI
KEMIJSKIM IN MIKROBIOLOŠKIM DEJAVNIKOM
IZ OKOLJA Z IZBRANIMI POGLAVJI
IN PRAKTIČNIMI PRIMERI**

I.del



Ljubljana, 2017

Navodila za izdelavo ocene tveganja za zdravje ljudi zaradi izpostavljenosti kemijskim in mikrobiološkimi dejavnikom iz okolja z izbranimi poglavji in praktičnimi primeri

I. del

Urednika: Pavel Pollak in Lucija Perharič

Avtorji: Katarina Bitenc, Urška Blaznik, Mateja Bolčič Tavčar, Tanja Fatur, Mojca Fuart Gatnik, Ivanka Gale, An Galičič, Viviana Golja, Matej Ivartnik, Stanislava Kirinčič, Andreja Kukec, Bonia Miljavac, Lucija Perharič, Pavel Pollak

Fotografija na naslovnici: Črtomir Ernesto Perharič Bailey

Oblikovanje: Maja Martinčič

Založnik: Nacionalni inštitut za javno zdravje

Kraj in leto izdaje: Ljubljana, 2017

Brezplačen izvod

Dostopno na: <http://www.nijz.si/>

Zaščita dokumenta © 2017 NIJZ

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.SI-ID=293187072
ISBN 978-961-7002-44-7 (pdf)

Vse pravice pridržane.

Reprodukcija po delih ali v celoti na kakršenkoli način in v kateremkoli mediju ni dovoljena brez pisnega dovoljenja avtorja. Kršitve se sankcionirajo v skladu z avtorsko pravno in kazensko zakonodajo.

Navodila za izdelavo ocene tveganja za zdravje ljudi zaradi izpostavljenosti kemijskim in mikrobiološkim dejavnikom iz okolja z izbranimi poglavji in praktičnimi primeri

I. del

Naročnik: Ministrstvo za zdravje, Direktorat za javno zdravje

Izvajalec: Nacionalni inštitut za javno zdravje, Center za zdravstveno ekologijo

Urednika: Pavel Pollak in Lucija Perharič

Avtorji: Dr. Katarina Bitenc, univ. dipl. soc., dr. informatik
Dr. Urška Blaznik, univ. dipl. kem.
Mateja Bolčič Tavčar, univ. dipl. biokem., MScTox(A), ERT
Dr. Tanja Fatur, univ. dipl. mikrobiol.
Ivanka Gale, dr. med., spec. hig. in spec. javnega zdravja
An Galičič, mag. san. inž.
Dr. Mojca Fuart Gatnik, univ. dipl. biol.
Dr. Viviana Golja, univ. dipl. kem.
Mag. Matej Ivartnik, dipl. san. inž.
Dr. Stanislava Kirinčič, univ. dipl. inž. živil. tehnol.
Doc. dr. Andreja Kuvec, dipl. san. inž.
Bonia Miljavac, dr. med., spec. hig.
Dr. Lucija Perharič, dr. med., spec. int., ERT
Mag. Pavel Pollak, dr. vet. med.

Ljubljana, december 2017

KAZALO VSEBINE

PREDGOVOR	1
SEZNAM KRATIC	3
SEZNAM TABEL	8
SEZNAM SLIK	9
1 NAVODILA ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA – PATOGENI MIKROORGANIZMI V POVEZAVI S HRANO	10
1.1 UVOD	10
1.2 NAČRTOVANJE OCENE TVEGANJA.....	11
1.2.1 Opis problema	11
1.2.2 Elementi, ki jih je treba upoštevati pri izvedbi mikrobiološke ocene tveganja.....	12
1.2.3 Primeri različnih vrst mikrobiološke ocene tveganja	12
1.3 MIKROBIOLOŠKA OCENA TVEGANJA.....	15
1.3.1 Elementi ocene tveganja	15
1.3.1.1 Identifikacija nevarnosti (<i>Hazard identification</i>).....	15
1.3.1.2 Karakterizacija nevarnosti (<i>Hazard characterisation</i>).....	15
1.3.1.3 Ocena izpostavljenosti (<i>Exposure assessment</i>).....	16
1.3.1.4 Karakterizacija tveganja (<i>Risk Characterisation</i>).....	17
1.3.2 Vrste ocen tveganja.....	17
1.3.2.1 Kvalitativna ocena tveganja	17
1.3.2.2 Kvantitativna ocena tveganja.....	18
1.4 PODATKI ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA.....	18
1.4.1 Podatki za identifikacijo nevarnosti	19
1.4.2 Podatki za karakterizacijo nevarnosti.....	19
1.4.3 Podatki za oceno izpostavljenosti	20
1.4.4 Viri podatkov	20
1.4.4.1 Modeli	20
1.4.4.2 Znanstvena literatura, ki vključuje kvantitativne ocene tveganja	20
1.4.4.3 Ekspertna mnenja	21
1.4.4.4 Združevanje virov podatkov.....	21
1.5 MODELI ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA	21
1.5.1 Modeli za identifikacijo nevarnosti	21
1.5.1.1 Modeli za podporo odločitvam	21
1.5.1.2 Modeli za razvrščanje tveganja	22
1.5.2 Modeli za oceno izpostavljenosti	22
1.5.2.1 Statistični modeli za razširjenost in koncentracijo mikroorganizmov.....	22
1.5.2.2 Modeli za rast mikroorganizmov	22
1.5.2.2.1 Primarni modeli.....	22
1.5.2.2.2 Sekundarni modeli	22
1.5.2.3 Modeli za inaktivacijo mikroorganizmov	23
1.5.2.3.1 Primarni modeli.....	23
1.5.2.3.2 Sekundarni modeli	23
1.5.2.4 Modeli za navzkrižno onesnaženje	24
1.5.2.5 Modeli za mešanje sestavin in porazdelitev	24
1.5.3 Modeli za karakterizacijo nevarnosti	25
1.5.4 Modeli za karakterizacijo tveganja.....	26
1.6 PROGRAMSKA ORODJA ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA	26

1.6.1	Orodja za identifikacijo dejavnikov tveganja, razvrščanje/razporejanje tveganja in postavljanje prioritet.....	26
1.6.2	Orodja za napovedovalno/prediktivno modeliranje (za oceno izpostavljenosti)	27
1.6.3	Orodja za specifične ocene tveganja.....	29
1.6.4	Viri informacij za oceno tveganja.....	30
1.6.5	Druga orodja	30
1.7	POMEMBNI KONCEPTI PRI INTERPRETACIJI REZULTATOV MIKROBIOLOŠKE OCENE TVEGANJA.....	31
1.7.1	Kvalitativne in kvantitativne ocene.....	31
1.7.2	Variabilnost in negotovost	31
1.7.3	Analiza občutljivosti in negotovosti	32
1.7.4	Viri variabilnosti in negotovosti v napovedovalni (prediktivni) mikrobiologiji	33
1.7.5	Primernost za namen: uporabnost in utemeljenost.....	33
1.7.6	Interpretacija rezultatov ocene tveganja.....	34
1.8	VIRI	34
2	SPLOŠNA NAVODILA ZA TOKSIKOLOŠKO OCENO TVEGANJA	40
2.1	UVOD.....	40
2.1.1	Oprelitev problema in načrt izvedbe	41
2.1.2	Zakonske podlage, strokovne podlage, drugi viri podatkov in informacij	42
2.1.2.1	Zakonske podlage	42
2.1.2.2	Strokovne podlage	42
2.1.2.3	Drugi viri podatkov in informacij.....	43
2.2	TOKSIKOLOŠKA OCENA TVEGANJA.....	44
2.2.1	Fizikalno kemijske lastnosti.....	44
2.2.2	Ocena nevarnosti	44
2.2.2.1	Identifikacija nevarnosti.....	45
2.2.2.2	Karakterizacija nevarnosti.....	46
2.2.2.2.1	Odnos med odmerkom in učinkom (odzivom)	46
2.2.2.2.2	Način delovanja in mehanizem delovanja	48
2.2.2.3	Razvrščanje in označevanje kemikalij	48
2.2.2.4	Referenčni odmerki.....	49
2.2.3	Ocena izpostavljenosti	50
2.2.3.1	Izračunana izpostavljenost.....	51
2.2.3.1.1	Scenariji izpostavljenosti	51
2.2.3.1.2	Modeli izpostavljenosti	52
2.2.3.2	Izmerjena izpostavljenost	53
2.2.3.2.1	Humani biomonitoring	53
2.2.4	Presoja kakovosti virov.....	54
2.2.4.1	Eksperimentalne študije	54
2.2.4.2	Epidemiološke študije	55
2.2.4.3	Drugi zdravstveni podatki	56
2.2.5	Karakterizacija tveganja	57
2.2.5.1	Kemikalije s pragom učinka.....	57
2.2.5.2	Kemikalije brez praga učinka	58
2.2.5.3	Drugi relevantni pristopi	59
2.2.5.3.1	Karakterizacija tveganja na podlagi HBM.....	59
2.3	OVREDNOTENJE TVEGANJA IN PREDLOGI RELEVANTNIH UKREPOV	59
2.4	ZAKLJUČEK.....	60
2.5	VIRI	60

3	METODOLOŠKI PRISTOP K OCENI TVEGANJA PITNE VODE	66
3.1	UVOD	66
3.1.1	Zakonske in strokovne podlage	66
3.2	OCENA TVEGANJA	68
3.3	VIRI	69
4	METODOLOŠKI PRISTOP K OCENI KEMIJSKIH DEJAVNIKOV TVEGANJA V HRANI	70
4.1	UVOD	70
4.1.1	Kratka predstavitev nekaterih kemijskih dejavnikov tveganja v hrani	70
4.1.1.1	Onesnaževala	70
4.1.1.2	Ostanki pesticidov	72
4.1.1.3	Aditivi za živila	72
4.1.1.4	Alergeni	73
4.1.2	Zakonski okvir in zahteve	73
4.1.3	Viri informacij in podatkov za pripravo ocene tveganja	73
4.2	OCENA TVEGANJA	75
4.2.1	Ocena nevarnosti	75
4.2.1.1	Mešanice kemikalij	76
4.2.2	Ocena izpostavljenosti	77
4.2.2.1	Točkovne (deterministične) metode za eno kemikalijo	78
4.2.2.2	Verjetnostne (probabilistične) metode za eno kemikalijo	79
4.2.2.3	Kumulativni prehranski vnos oz. ocena izpostavljenosti za mešanice	81
4.2.3	Karakterizacija tveganja	81
4.3	OVREDNOTENJE TVEGANJA	82
4.4	VIRI	82
5	METODOLOŠKI PRISTOP K TOKSIKOLOŠKI OCENI TVEGANJA MATERIALOV NAMENJENIH STIKU Z ŽIVILI	89
5.1	UVOD	89
5.1.1	Zakonske in strokovne podlage	89
5.2	OCENA TVEGANJA	89
5.2.1	Ocena nevarnosti	89
5.2.1.1	Jedrni nabor toksikoloških študij	90
5.2.1.2	Zmanjšani in omejeni nabor toksikoloških študij	90
5.2.2	Ocena izpostavljenosti	90
5.2.2.1	Prehajanje kemikalije iz MNSŽ v živila	90
5.2.2.2	Ocena vnosa kemikalij iz MNSŽ	91
5.2.2.3	Model FACET	91
5.2.3	Karakterizacija tveganja	91
5.2.3.1	Klasični pristop	91
5.2.3.2	Stopenjski pristop na podlagi izpostavljenosti	92
5.2.3.3	Nenamerno dodane snovi	92
5.3	VIRI	92
6	UPORABA OCENE TVEGANJA ZA ONESNAŽEN ZUNANJI ZRAK V KONTEKSTU EPIDEMIOLOŠKIH PROSTORSKIH RAZISKAV NA POPULACIJSKI RAVNI	94
6.1	KAKOVOST ZUNANJEGA ZRAKA KOT DETERMINANTA ZDRAVJA	94
6.2	PROCES OCENE TVEGANJA Z EPIDEMIOLOŠKIM PRISTOPOM ZA ONESNAŽEN ZUNANJI ZRAK NA POPULACIJSKI RAVNI	95
6.2.1	Priprava ocene tveganja z epidemiološkim pristopom za onesnažen zunanji zrak na populacijski ravni	96
6.2.1.1	Zdravstveni podatki – ocena velikosti opazovanih zdravstvenih izidov	97
6.2.2	Okoljski podatki - ocena izpostavljenosti	98
6.2.3	Potencialni moteči dejavniki	100
6.2.4	Karakterizacija tveganja	101

6.2.5	Ovrednotenje tveganja in predlog javnozdravstvenih ukrepov.....	105
6.3	VIRI	106
7	DOLOČANJE GENOTOKSIČNOSTI V OKVIRU OCENE NEVARNOSTI	111
7.1	UVOD.....	111
7.1.1	Testiranje genotoksičnosti	112
7.2	DOLOČANJE GENOTOKSIČNEGA DELOVANJA KEMIKALIJ.....	112
7.2.1	Študije genotoksičnosti <i>in vitro</i>	112
7.2.1.1	Test povratnih mutacij na bakterijskih celicah (Amesov test).....	113
7.2.1.2	Določanje genskih mutacij v sesalskih celicah <i>in vitro</i>	114
7.2.1.3	Določanje kromosomskih aberacij v sesalskih celicah <i>in vitro</i>	114
7.2.1.4	Določanje pojava mikrojedr v sesalskih celicah <i>in vitro</i>	115
7.2.1.5	Drugi testi za določanje genotoksičnosti <i>in vitro</i>	117
7.2.2	Študije genotoksičnosti na somatskih (telesnih) sesalskih celicah <i>in vivo</i>	117
7.2.2.1	Določanja pojava mikrojedr v kostnem mozgu ali eritrocitih glodalcev	118
7.2.2.2	Test določanja genskih mutacij v transgenih glodalskih celicah.....	118
7.2.2.3	Test komet	119
7.2.2.4	Določanje neplanirane sinteze DNK.....	120
7.2.2.5	Določanje genotoksičnosti v zarodnih celicah	121
7.2.3	Interpretacija rezultatov študij genotoksičnosti	121
7.2.4	Razvrščanje in označevanje kemikalij glede na genotoksični potencial	122
7.3	KO NIMAMO ŠTUDIJ GENOTOKSIČNOSTI.....	122
7.4	ZAKLJUČEK.....	124
7.5	VIRI	124
8	KEMIČNI MOTILCI ENDOKRINEGA SISTEMA.....	127
8.1	UVOD.....	127
8.1.1	Ključne definicije	128
8.1.2	Pravna ureditev področja KMES.....	128
8.2	OCENA TVEGANJA	129
8.2.1	Ocena nevarnosti	129
8.2.1.1	Identifikacija nevarnosti.....	129
8.2.1.2	Karakterizacija nevarnosti.....	132
8.2.2	Ocena izpostavljenosti	133
8.2.3	Karakterizacija tveganja	133
8.3	ZAKLJUČEK.....	134
8.4	VIRI	135
9	NANOMATERIALI – OCENA TVEGANJA PROIZVEDENIH NANOMATERILOV, KI SE UPORABLJAJO NA PODROČJU ŽIVIL.....	138
9.1	UVOD.....	138
9.2	OCENA TVEGANJA	138
9.2.1	Identiteta snovi	139
9.2.2	Identifikacija in karakterizacija nevarnosti.....	141
9.2.3	Ocena izpostavljenosti	143
9.2.4	Karakterizacija tveganja	143
9.2.4.1	Analiza negotovosti.....	143
9.3	ZAKLJUČEK.....	144
9.4	VIRI	144
10	NE-TESTNE METODE PRI TOKSIKOLOŠKI OCENI TVEGANJA	146
10.1	UVOD.....	146
10.2	PRAG TOKSIKOLOŠKEGA TVEGANJA.....	146
10.2.1	Razvoj principa TTC	146
10.2.1.1	Cramerjevi razredi	147
10.2.2	Uporaba principa TTC.....	147

10.2.2.1	Neprimernost principa TTC	149
10.3	ODNOS MED KEMIJSKO STRUKTURO IN BIOLOŠKO AKTIVNOSTJO.....	149
10.3.1	SAR in QSAR.....	149
10.3.2	Pristop na osnovi kemične kategorije in navzkrižnega branja	150
10.3.3	Uporaba <i>in silico</i> metod pri oceni kemijskega tveganja.....	150
10.3.3.1	<i>In silico</i> orodja.....	150
10.4	ZAKLJUČEK.....	151
10.5	VIRI	151
11	POGLOBLJENA OCENA TVEGANJA ZA ZDRAVJE OTROK – SVINEC V PITNI VODI	153
11.1	POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD	153
11.1.1	Povzetek	153
11.1.2	Summary	153
11.1.3	Uvod	154
11.2	OCENA TVEGANJA	155
11.2.1	Identiteta snovi	155
11.2.2	Uporaba.....	155
11.2.3	Ocena nevarnosti	156
11.2.3.1	Referenčni odmerki	158
11.2.4	Ocena izpostavljenosti	159
11.2.4.1	Poklicna izpostavljenost	159
11.2.4.2	Okoljska izpostavljenost	159
11.2.4.3	Izpostavljenost otrok v Sloveniji.....	160
11.2.4.3.1	Rezultati analiz v različnih segmentih okolja.....	160
11.2.4.3.2	Izračun izpostavljenosti	161
11.2.4.3.3	Izmerjena izpostavljenost.....	162
11.2.5	Karakterizacija tveganja	162
11.2.5.1	Negotovosti	163
11.3	OVREDNOTENJE TVEGANJA IN PREDLOGI JAVNO ZDRAVSTVENIH UKREPOV	164
11.4	VIRI	166
12	PRIMER OCENE TVEGANJA OSTANKOV ATRAZINA V PITNI VODI	171
12.1	Opredeleitev problema	171
12.2	Določitev mejne vrednosti za pitno vodo za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite na podlagi toksikološke ocene tveganja	171
12.2.1	Povzetek fizikalno-kemijskih lastnosti in usode v okolju.....	171
12.2.2	Povzetek ocene nevarnosti	172
12.2.3	Izračun mejne vrednosti upoštevajoč toksikološke parametre	173
12.3	Zaključek in predogi relevantnih ukrepov	173
12.4	Viri	174
13	PRIMER OCENE TVEGANJA GENOTKSIČNIH IN RAKOTVORNIH SNOVI V ŽIVILIH – POLICIKLIČNI AROMATSKI OGLJIKOVODIKI (PAH)	175
13.1	POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD	175
13.1.1	Povzetek	175
13.1.2	Summary	175
13.1.3	Uvod	176
13.1.3.1	Opredeleitev problema	176
13.1.3.2	Zakonsko ozadje	176
13.2	OCENA TVEGANJA	177
13.2.1	Ocena nevarnosti	177
13.2.1.1	Fizikalno kemijske lastnosti	177
13.2.1.2	Identifikacija in karaktetrizacija nevarnosti.....	177

13.2.1.2.1	Metabolizem, kinetika in mehanizem strupenosti	177
13.2.1.2.2	Strupeni učinki po različnih poteh vnosa in po trajanju izpostavljenosti...	179
13.2.1.3	Referenčni odmerki	179
13.2.2	Ocena izpostavljenosti	180
13.2.2.1	Primer ocene izpostavljenosti PAH	180
13.2.3	Karakterizacija tveganja	181
13.2.3.1	Komentar k negotovostim ocene tveganja za primer PAH	181
13.3	VIRI	182
14	PRIMER OCENE TVEGANJA MATERIALOV NAMENJENIH STIKU Z ŽIVILI – NIKELJ IZ PEKAČA	183
14.1	POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD	183
14.1.1	Povzetek	183
14.1.2	Summary	183
14.1.3	Uvod	184
14.1.3.1	Rezultati migracij in SRL (<i>specific release limit</i>).....	184
14.2	OCENA TVEGANJA	185
14.2.1	Ocena nevarnosti	185
14.2.1.1	Značilnosti niklja, uporaba in sproščanje v živila.....	185
14.2.1.2	Identifikacija in karakterizacija nevarnosti.....	185
14.2.1.2.1	Absorpcija, porazdelitev, metabolizem, izločanje in ključni učinki.....	186
14.2.1.3	Določitev varne meja uživanja niklja pri dolgodobni izpostavljenost	186
14.2.2	Ocena izpostavljenosti	187
14.2.2.1	Prikaz stopenjskega pristopa k oceni izpostavljenosti	187
14.2.2.2	Izračun izpostavljenosti	188
14.2.3	Karakterizacija tveganja	189
14.2.3.1	Negotovosti	189
14.3	OVREDNOTENJE TVEGANJA	190
14.4	VIRI	190
15	PRIMER UPORABE MODELA IEUBK ZA OCENO IZPOSTAVLJENOSTI OTROK SVINCU	191
15.1	POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD	191
15.1.1	Povzetek	191
15.1.2	Summary	191
15.1.3	Uvod	192
15.2	OCENA NEVARNOSTI	192
15.3	OCENA IZPOSTAVLJENOSTI IN OCENA TVEGANJA Z MODELOM IEUBK	193
15.4	UPORABA MODELA PRI RAZISKAVAH IN SANACIJI OKOLJA V ZGORNJI MEŽIŠKI DOLINI	197
15.5	ZAKLJUČEK.....	198
15.6	VIRI	198
16	PRILOGE	199
16.1	BESEDNJAK STROKOVNIH IZRAZOV	199
16.2	PREDLOG FORMATA TOKSIKOLOŠKIH OCEN TVEGANJA.....	204
16.3	STAVKI O NEVARNOSTI (H STAVKI), DODATNI STAVKI O NEVARNOSTI (EUH STAVKI) IN SESTAVLJENI STAVKI O NEVARNOSTI ZA ZDRAVJE LJUDI	206
16.4	PRIMERJAVA NOVEGA IN STAREGA NAČINA OZNAČEVANJA NEVARNIH KEMIKALIJ.....	210

PREDGOVOR

Svetovna zdravstvena organizacija ocenjuje, da je leta 2012 v državah zahodne in srednje Evrope delež bolezni, ki so pripisljive dejavnikom tveganja iz fizičnega okolja, znašal od 9–14 %.¹ Za učinkovite na dokazih temelječe ukrepe za preprečevanje in zmanjševanje akutnih in kroničnih bolezni ter poškodb, ki lahko nastanejo kot posledica izpostavljenosti okoljskim dejavnikom, za omogočanje čim varnejšega bivanja v okolju in za zagotavljanje varne vode, živil in predmetov splošne rabe, je potrebno oceniti tveganje za zdravje zaradi okoljskih dejavnikov.

Ocena tveganja je proces, s katerim ocenimo verjetnost za nastanek škodljivih posledic na zdravje pri znani oziroma predvideni izpostavljenosti nevarnostim iz širšega in ožjega fizičnega okolja. Kemijski dejavniki so naravne in umetne kemikalije v različnih segmentih okolja (npr. v zraku, tleh, vodah, hišnem prahu), v živilih in v predmetih splošne rabe. Mikrobiološki dejavniki tveganja so mikroorganizmi (bakterije, virusi, glive, kvasovke, plesni, alge, cianobakterije, parazitski protozoi, mikroskopski parazitski helminti), njihovi toksini in presnovki ter pelodi. Ocena tveganja mora temeljiti na razpoložljivih znanstvenih dognanjih in se izvajati na neodvisen, objektivni in pregleden način. Za izdelavo ocen tveganja so pristojne institucije, ki so strokovno usposobljene za ocenjevanje tveganja posameznih področij.

Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) je v skladu s 23a. členom Zakona o zdravstveni dejavnosti (Ur. L. RS 9/92 in 14/13), pristojen za izdelavo celovitih ocen tveganj za zdravje. Oceno tveganj posameznih okoljskih dejavnikov na NIJZ oziroma njegovih predhodnikov, Inštitutu za varovanje zdravja RS in regionalnih Zavodih za zdravstveno varstvo, sistematično razvijamo od leta 1999, torej že skoraj 20 let. V tem času smo pridobili ogromno znanja in izkušenj, ki jih redno nadgrajujemo in v slovenski prostor vpeljujemo sodobne metodološke pristope. Organizirali in sodelovali smo pri izvedbi številnih izobraževanj namenjenih izgradnji kapacitet na področju ocenjevanja tveganj okoljskih dejavnikov. Strokovno monografijo z navodili za ocenjevanje tveganja za zdravje ljudi zaradi izpostavljenosti kemijskim in mikrobiološkim dejavnikom iz okolja smo pripravili v okviru nalog, ki jih Center za zdravstveno ekologijo NIJZ izvaja za Ministrstvo za zdravje.

Monografija ni učbenik ocene tveganja, ampak vsebuje splošna navodila, kako pristopiti k ocenjevanju tveganja. Navodila smo povzeli po mednarodnih strokovnih smernicah in jih oplemenitili z lastnim znanjem in izkušnjami. Splošnim navodilom so dodana izbrana poglavja v zvezi s pristopi za posamezne segmente okolja, postopki za snovi, ki so pogosto predmet nasprotujočih si interpretacij (genotoksične snovi in kemični motilci endokrinega sistema), postopki za relativno nova tveganja (nanomateriali), uporabo ne-testnih metod za zagotavljanje kemijske varnosti in nekaj praktičnih primerov: oceni tveganja svinca in atrazina v pitni vodi, poliaromatskih ogljikovodikov v hrani, niklja v materialih namenjenih stiku z živilom in prikaz uporabe računalniškega modela za napoved izpostavljenosti otrok svincu. Nekaj več pozornosti smo namenili pitni vodi, saj je skrb za kakovost pitne vode sodila med pomembnejše medicinske dejavnosti že v preteklosti², medtem ko je danes zdravstveno ustrezna pitna

¹ Prüss-Üstün, A., Wolf, J., Corvalán, C., Bos, R., Neira, M. (2016). Preventing disease through healthy environments. A global assessment of the burden of disease from environmental risks. [na spletu] Dostopno 20. 12. 2017 na: http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/publications/preventing-disease/en/.

² Krbavčič, A. Bivanjske razmere in zdravljenje Ljubljčanov v letu 1828. (2007). V Zupanič Slavec, Z. (Ur.) Fran Viljem Lipič. *Bolezni Ljubljčanov*. Ljubljana. Založba ZRC in Znanstveno društvo za zgodovino zdravstvene kulture Slovenije, str: 49–75.

voda ena od ključnih determinant javnega zdravja, kot tudi eden od globalnih ciljev trajnostnega razvoja³. Predstavitve praktičnih primerov imajo poleg povzetka v slovenščini tudi povzetek v angleščini, ker zaključke ocen tveganja sporočamo v mednarodne mreže in o njih razpravljamo s strokovnjaki iz drugih držav. Zaradi izkušenj z zmotnimi interpretacijami, ki vsaj do neke mere izvirajo iz nerazumevanja izrazov in definicij, smo v monografijo vključili tudi besednjak strokovnih izrazov.

Navodila so v prvi vrsti namenjena ocenjevalcem tveganja kemijskih in mikrobioloških dejavnikov iz fizičnega okolja⁴ z namenom poenotenja metodoloških pristopov na nacionalni ravni, izboljšanja kakovosti in demistifikaciji ocen tveganja. V monografijo smo nameravali vključiti tudi postopke ocenjevanja fizikalnih dejavnikov, vendar prepoznanih ocenjevalcev fizikalnih dejavnikov nismo uspeli pritegniti k sodelovanju. Za ustrezno upravljanje s tveganji je potrebna pravilna interpretacija ocen tveganja, ki je možna le ob dobrem razumevanju pomena kakor tudi procesa ocene tveganja. Zato so navodila namenjena tudi upravljalcem s tveganji z namenom, da se izboljša interpretacija ocen tveganja, upravljanje s tveganji in komunikacija tveganj.

Ocena tveganja je izrazito multidisciplinarna dejavnost, kar se odraža tudi v osnovni izobrazbi avtorjev monografije. Gre za znanja in veščine, ki jih ne pridobimo pri dodiplomskem študiju, temveč ob delu in specialističnem, podiplomskem ter stalnem strokovnem usposabljanju. Za ocenjevalce tveganja so primerni strokovnjaki, ki so se pripravljene procesa naučiti, se stalno izpopolnjevati, uporabljati strokovno presojo na podlagi znanja in izkušenj, uporabljati zdravo pamet in sprejeti odgovornost za svoje odločitve, saj imajo katerekoli smernice svoje omejitve. V idealnih razmerah bi se ocenjevalci tveganj specializirali za posamezne podskupine dejavnikov in posamezne elemente ocene tveganja. Vendar je ob trenutnih kadrovsko finančnih virih tovrstna subspecializacija malo verjetna, zato naj predstavlja izziv za razvoj ocenjevanja tveganja dejavnikov iz fizičnega okolja v prihodnosti. Toda kljub navedenemu je potrebno zavedanje, do kod seže ocenjevalčevo znanje in usposobljenost, zato naj bo vodilo Ciceronov rek: *Vsakdo naj opravlja le tisto delo (spretnost, umetnost), ki ga zna*⁵. Poleg ustreznih kadrov je nujen dostop do relevantnih podatkov in informacij, do strokovne literature, do ustreznih orodij za izvedbo posameznih elementov ocene tveganja, primerno odmerjeni čas ter možnost sodelovanja s strokovnjaki zunaj matičnih institucij.

Želimo si povratnih informacij in predlogov ocenjevalcev in upravljalcev posameznih dejavnikov tveganja v povezavi z različnimi segmenti okolja. Če bo monografija dobro sprejeta in se bo izkazalo, da je prispevala k poenotenju pristopov in izboljšanju kvalitete ocen tveganj kemijskih in mikrobioloških dejavnikov iz okolja, bodo sledila nadaljevanja.

Pavel Pollak
Lucija Perharič

³ Glej sprotno opombo 1.

⁴ Perharič, L. in Pollak, P. (2013). Identifikacija ocenjevalcev tveganja okoljskih dejavnikov. *Elektronske novice s področja nalezljivih bolezni in okoljskega zdravja*, [na spletu], str. 15-22.

Dostopno 5. 5. 2017 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_dec_2013.pdf.

⁵ *Quam quisque norit artem, in hac se exerceat* (Cicero, M. T. Tusculanae disputationes. [na spletu] 1. knjiga, 41. odstavek. [na spletu] Dostopno 5. 5. 2017 na: http://ae-lib.org.ua/texts-c/cicero_tusculanae_disputationes_lt.htm.

SEZNAM KRATIC

KRATICA	RAZLAGA
2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-tetraklorodibenzo-para-dioksin
3-MCPD	3-monokloro-1,2-diol
ADME	absorpcija, distribucija, metabolizem, ekskrecija
ANSES	francoska Nacionalna agencija za zdravstveno varnost hrane, okolja in delovnih mest (fr. <i>Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail</i>)
AOP	pot škodljivega izida (angl. <i>Adverse Outcome Pathway</i>)
As	arzen
ATSDR	Agencija ZDA za toksične substance in register bolezni (ang. <i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>)
BaA	benz[a]antracen
BaO	benzo[a]piren
BaP	benzo(a)piren
BbFA	benzo[b]fluoranten
BfR	Nemški zvezni inštitut za oceno tveganja
BghiP	benzo [ghi]perilen
BHA	butilhidroksianizol
BHT	butilhidroksitoluol
BkFA	benzo[k]fluoranten
C	koncentracija kemikalije v živilu
CAG	skupina substanc za kumulativno oceno, EFSA
CAS	registrska številka, številčni identifikator kemikalij (ang. <i>Chemical Abstracts Service</i>)
Cd	kadmij
CDC	Center za nadzor in preprečevanje bolezni (ang. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
CHO	ovarijske celice kitajskih hrčkov (ang. <i>Chinese hamster ovary</i>)
CHR	Krizen
C _{ijfs}	koncentracija kemikalije <i>s</i> v živilu <i>f</i> , ki ga zaužije posameznik <i>i</i> na dan <i>j</i>
CO	ogljikov dioksid
COE	Svet Evrope (ang. <i>Council of Europe</i>)
COM	Odbor za mutagenost kemikalij v hrani, izdelkih splošne rabe in v okolju (ang. <i>Committee of Mutagenicity</i>)
Cr	krom
DBahA	dibenz[a,h]antracen
DG SANTE	Generalni direktorat za zdravje in varstvo potrošnikov
DHAHC	Oddelek za zdravje in staranje ter zdravstveni svet avstralskega ministrstva za zdravje (ang. <i>Department of Health and Ageing and Health Council</i>)
DMKZ	Državna merilna mreža za spremljanje kakovosti zunanjega zraka
DNA	deoksiribonukleinska kislina (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)

DNK	deoksiribonukleinska kislina
DON	deoksinivalenol
E	vnos kemikalije z živilom - izpostavljenost
E102	tartrazin
E104	kinolinsko rumeno
EATS	estrogenska, androgenska, tiroidna os in steroidogeneza
EC	Evropska komisija (ang. <i>European Commission</i>)
ECB	Evropski urad za kemikalije (ang. <i>European Chemicals Bureau</i>)
EC SCF	Znanstveni odbor Evropske komisije za hrano (ang. <i>European Commission, Scientific Committee on Food</i>)
ECHA	Evropska agencija za kemikalije (ang. <i>European Chemicals Agency</i>)
EDQM	Evropski direktorat za kakovost zdravil in za zdravstveno varstvo
EFSA	Evropska agencija za varnost hrane (ang. <i>European Food Safety Authority</i>)
EHC	Zdravstvena merila za okolje (ang. <i>Environmental Health Criteria</i>)
E _{ij} s	vnos kemikalije s pri posamezniku <i>i</i> na dan <i>j</i>
EK	Evropska komisija
e-NBOZ	Elektronske novice s področja nalezljivih bolezni in okoljskega zdravja
EP	Evropski parlament
EMA	Evropska agencija za zdravila
ES	Evropska skupnost
EU	Evropska unija
FACET	dopolnilo k informaciji o kategorizaciji živila, EFSA orodje
FAIM	model za oceno vnosa aditivov za živila, EFSA orodje
FAIRMODE	Evropska skupina za modeliranje kakovosti zraka
FAO	Organizacija za prehrano in kmetijstvo Združenih narodov (ang. <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
FFS	fitofarmacevtsko sredstvo
FISH	fluorescenčna hibridizacija <i>in situ</i>
FSA	Agencija za živilske standarde Združenega kraljestva
GEF	Globalni faktor ocenjevanja (ang. <i>Global evaluation factor</i>)
GEMS	globalni okoljski monitoring, WHO orodje
H ₂ SO ₄	žveplova kislina
HAH	Hrvaška agencija za hrano
HBGV	na zdravju temelječa smerna vrednost (ang. <i>Health-Based Guidance Value</i>)
HCl	klorovodikova kislina
Hg	živo srebro
HNO ₃	dušikova kislina
HPRT	hipoksantin gvanin fosforibozil transferaza
HT-2	HT-2 mikotoksin
IARC	Mednarodna agencija za raziskave raka (ang. <i>International Agency for Research on Cancer</i>)
IEUBK	model za napoved koncentracije svine v krvi otrok na podlagi izpostavljenosti iz različnih virov (ang. <i>Integrated Exposure Uptake BioKinetic Model for Lead in Children</i>)

IFCS	Medvladni forum za kemijsko varnost (ang. <i>Intergovernmental forum on chemical safety</i>)
IMPRORISK	model za oceno tveganja na področju živil, EFSA orodje
INCHEM	Mednarodni program za kemijsko varnost
IP	indeno[1,2,3-cd]piren
IPCS	Mednarodni program za kemijsko varnost (ang. <i>International Programme on Chemical Safety</i>)
IRIS	Informacijski sistem za oceno tveganja, US EPA orodje (ang. <i>Integrated Risk Information System</i>)
JECFA	Skupni strokovni odbor Organizacije za prehrano in kmetijstvo (FAO) in Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) o aditivih za živila (ang. <i>Joint Expert Committee on Food Additives</i>)
JMPR	Skupna FAO/WHO srečanja o pesticidnih ostankih
JRC	Skupni raziskovalni center (ang. <i>Joint Research Centre</i>)
KEA	Kemikalija z endokrino aktivnostjo
KMES	kemični motilec endokrinega sistema
LOAEL	odmerek najmanjšega opaznega škodljivega učinka (ang. <i>Lowest Observed Adverse Level</i>)
Log K _{ow}	porazdelitveni koeficient n-oktanol/voda
MCF-7	celična kultura humanega adenokarcinoma dojke
MCRA	ocena tveganja z Monte Carlo simulacijo, RIVM orodje
MI	mitotski indeks
MKB	Mednarodna klasifikacija bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov za statistične namene
Mn	mangan
MOE	količnik izpostavljenosti (ang. <i>Margin of Exposure</i>)
Ni	nikelj
NIJZ	Nacionalni inštitut za javno zdravje
NIOSH	Nacionalni inštitut ZDA za varnost in zdravje na delu (ang. <i>National Institute of Occupational Safety and Health</i>)
NLM	Nacionalna medicinska knjižnica (ZDA) (ang. <i>National Library of Medicine</i>)
NO ₂	dušikov dioksid
NOAEL	odmerek brez opaznega škodljivega učinka (ang. <i>No Observed Adverse Level</i>)
NRC	Nacionalni raziskovalni svet ZDA (ang. <i>National Research Council</i>)
O ₃	Ozon
OECD	Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj (ang. <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>)
OPK	Organizacija za prehrano in kmetijstvo Združenih narodov
Pa	Paskal
PAH	policiklični aromatski ogljikovodiki (ang. <i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i>)
Pb	svinec
PCB	poliklorirani bifenili
PCDD	poliklorirani dibenzo-p-dioksini
PCDF	poliklorirani dibenzofurani
PM ₁₀	trdni delci z aerodinamskim premerom do 10 µm

PM _{2,5}	trdni delci z aerodinamskim premerom do 2,5 μm
PNM	proizvedeni nanomateriali
POPs	obstojna organska onesnaževala
P-SC-EMB	Ekspertni odbor za živilsko embalažo in farmacevtske izdelke
PTWI	začasno dopustni tedenski vnos (ang. <i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i>)
PVC	polivinilklorid
Q	zaužita količina živila
Q	zaužita količina živila <i>f</i> pri posamezniku <i>i</i> na dan <i>j</i>
QSAR	modeli, ki ocenjujejo povezavo strukture in delovanja snovi ALI kvantitativni model, ki povezuje kemijsko strukturo molekule z njeno biološko aktivnostjo ALI kvantitativni odnos med strukturo in aktivnostjo (ang. Quantitative Structure–Activity Relationship)
RASFF	sistem hitrega obveščanja
RICC	relativno povečanje števila celic
RIVM	Nizozemski inštitut za javno zdravje
RP	referenčna točka
RPD	relativna podvojitev populacije
SAR	model, ki povezuje kemijsko strukturo molekule, z njeno biološko aktivnostjo (angl. <i>Structure Activity Relationship</i>)
SCCS	(ang. <i>Scientific Committee on Consumer Safety</i>)
SCENIHR	(ang. <i>Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks</i>)
SCHER	(ang. <i>Scientific Committee on Health and Environmental Risks</i>)
SLORA	Slovenija in rak
Sn	kositer
SO ₂	žveplov dioksid
SRL	specifična meja migracij
STO	Svetovna trgovinska organizacija
SURS	Statistični urad Republike Slovenije
SZO	Svetovna zdravstvena organizacija
T-2	T-2 mikotoksin
TBBPA	tetrabromobisfenol A
TDI	dopustni dnevni vnos (ang. <i>Tolerable Daily Intake</i>)
TDS	študija o celokupni prehrani
TEF	ekvivalenčni faktor strupenosti (ang. <i>Toxic equivalency factor</i>)
TEQ	ekvivalent strupenosti (ang. <i>Toxic equivalency</i>)
TG	testna smernica
Tk	timidin kinaza
Tm	telesna masa
TMDI	teoretični največji dnevni vnos (ang. <i>Theoretical Maximum Daily Intake</i>)
ToR	prag nadzora (ang. <i>Threshold of Regulation</i>)
TOXNET	NLM elektronska baza toksikoloških podatkov
TTC	prag toksikološkega tveganja (angl. <i>Threshold of Toxicological Concern</i>)
URSK	Urad Republike Slovenije za kemikalije
US EPA	Agencija Združenih držav Amerike za varovanje okolja (ang. <i>US Environmental Protection Agency</i>)

US FDA	Uprava za živila in zdravila iz ZDA (angl. <i>Food and Drug Administration</i>)
UV	ultravijolično valovanje
UVHVVR	Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin
VKM	Norveški znanstveni odbor za varnost živil
WHO	Svetovna zdravstvena organizacija (ang. <i>World Health Organization</i>)
WTO	Svetovna trgovinska organizacija (ang. <i>World Trade Organisation</i>)
ZDA	Združene države Amerike

SEZNAM TABEL

Tabela 2.1: Zanesljivost študij v skladu s Klimischevimi kriteriji	54
Tabela 6.1: Najpogosteje upoštevani potencialni moteči dejavniki pri oceni vpliva onesnaževal v zunanjem zraku na zdravje	102
Tabela 6.2: Kazalniki socialno-ekonomskega statusa, ki so najpogosteje upoštevani v oceno vpliva onesnaževal v zunanjem zraku na zdravje	103
Tabela 6.3: Mejne vrednosti onesnaževal zunanjega zraka (Uredba o kakovosti zunanjega zraka, 2011 s spremembo; Uredba o arzeniu, kadmiju, živem srebru, niklju in policikličnih aromatskih ogljikovodikih v zunanjem zraku, 2006) in priporočene vrednosti Svetovne zdravstvene organizacije	104
Tabela 6.4: Relativno tveganje za nekatere zdravstvene kazalnike zaradi vrednosti PM _{2,5} in NO ₂ za celo leto in O ₃ za poletja, ki presegajo priporočene mejne vrednosti s strani Svetovne zdravstvene organizacije.....	105
Tabela 8.1: OECD testne smernice in standardizirane metode za določanje kemičnih motilcev endokrinega sistema	132
Tabela 9.1: Parametri karakterizacije in identifikacije PNM	140
Tabela 11.1: Vnos svinca v telo na teden – najslabši možen scenarij	161
Tabela 11.2: Preračunani vnosi svinca iz posameznih virov v telo in koncentracije svinca v krvi otrok (starih 5-6 let), kot ga izračuna IEUBK model – najslabši možen scenarij	162
Tabela 12.1: Izračunane priporočene mejne vrednosti za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite, po metodologiji SZO in glede na podatke EFSA o starosti in telesni teži	174
Tabela 13.1: Seznam osmih PAH (PAH8), ki so indikatorji genotoksičnega in rakotvornega potenciala v živilih	178
Tabela 13.2: Referenčne vrednosti BMDL ₁₀ za oralno rakotvornost PAH	179
Tabela 13.3: Mediana prehranske izpostavljenosti različnih skupin PAH odraslih prebivalcev Evropske unije za povprečne in velike uživalce živil	180
Tabela 13.4: MOE različnih skupin PAH odraslih prebivalcev Evropske unije za povprečne in velike uživalce živil.....	181
Tabela 14.1: Prikaz migracij kovin v simulant [mg kovine/kg simulanta] in določenih SRL vrednosti	185
Tabela 14.2: Prikaz vnosa hrane za odrasle (Italijani)	188
Tabela 14.3: Prikaz vnosa hrane za otroke (Italijani)	188

SEZNAM SLIK

Slika 2.1: Shematski prikaz odnosa med odmerkom in učinkom brez praga in s pragom učinka	47
Slika 2.2: Shematski prikaz nemonotone (bifazične ali hormetične) krivulje odmerok učinek	48
Slika 2.3. Standardni piktogrami za označevanje nevarnih kemikalij.....	49
Slika 2.4 Shema stopenjskega pristopa k oceni izpostavljenosti	51
Slika 2.5: Pristop k vrednotenju epidemioloških študij	56
Slika 4.1: Pregled uporabe različnih metod in nivojev podatkov za oceno izpostavljenosti, od prve do izpopolnjene ocene izpostavljenosti	78
Slika 4.2: Točkovni (deterministični) in verjetnostni (probabilistični) model prehranskega vnosa kemikalije	80
Slika 6.1: Epidemiološki pristop ocenjevanja tveganja za onesnažen zunanji zrak na populacijski ravni	95
Slika 6.2: Odločitveno drevo za pripravo vhodnih podatkov in izbor metod ter orodij pri pripravi ocene tveganja z epidemiološkim pristopom za onesnažen zunanji zrak	96
Slika 7.1.: Dvojedna celica HepG2 z mikrojedrom, pobarvana s 5% raztopino barvila po Giemsi.....	116
Slika 7.2: Dvojedni celici HepG2 z mikrojedrom	116
Slika 7.3: Jedra celic HepG2 po testu komet	120
Slika 7.4: Strukturna opozorila za genotoksičnost	123
Slika 8.1: Shema možnih poti do škodljivega izida za zaviralec gorenja tetrabromobisfenol A	131
Slika 8.2: Shema ocene tveganja kemičnih motilcev endokrinega sistema.....	133
Slika 10.1: Generična shema za uporabo TTC principa	148
Slika 11.1: Porazdelitev svinca v telesu	157
Slika 14.1: Prikaz določitve SRL za nikelj.....	187
Slika 15.1: Struktura modela IEUBK	194
Slika 15.2: Primer prikaza rezultatov vnosa (krivulja gostote) v modelu IEUBK	195
Slika 15.3: Primer vnosa podatkov za opis izpostavljenosti v model IEUBK	195
Slika 15.4: Primer napovedi ciljne koncentracije svinca v viru izpostavljenosti na podlagi zelene vrednosti svinca v krvi	197

1 NAVODILA ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA – PATOGENI MIKROORGANIZMI V POVEZAVI S HRANO

Pavel Pollak

1.1 UVOD

Mikrobiološka ocena tveganja je postopek ovrednotenja oz. karakterizacije tveganja za zdravje, ki ga povzročajo mikrobiološki dejavniki. Jasne in kredibilne metode ocene tveganja potrjujejo nujnost obravnave aktualnih in bodočih mikrobioloških tveganj v povezavi z onesnaženjem zraka, vode, zemlje in hrane.

Hitri razvoj kvantitativne mikrobiologije po letu 1980 je bil osnova za razvoj mikrobiološke ocene tveganja. V devetdesetih pa je mikrobiološka ocena tveganja pridobila večjo kredibilnost kot nova informacija o identifikaciji in pojavu patogenih mikroorganizmov, o potencialu izpostavitve in odvisnosti učinka od odmerka. Na razpolago je vedno več matematičnih modelov, protokolov in drugih orodij, ki omogočajo izvedbo mikrobiološke ocene kljub znatni variabilnosti, negotovosti in pomanjkanju podatkov.

Medtem ko sta si kemijska in mikrobiološka ocena tveganja konceptualno podobni, je med kemikalijami in mikroorganizmi dovolj razlik, da je nujen pristop, ki specifično obravnava mikrobiološke dejavnike tveganja. Čeprav je značilnost vsake kemikalije v kemijski oceni obravnavana individualno, je pri mikrobiološki oceni tveganja nekaj pomembnih razlik: mikrobna rast in smrt, odpornost in dovzetnost gostitelja, raznolikost zdravstvenih izidov, genetska raznolikost, potencial za sekundarni prenos, heterogena prostorska in časovna porazdelitev, širok obseg mikrobnih odzivov na intervencije in poti izpostavitve.

Mikrobiološka ocena tveganja je znanstvena opredelitev situacije ali grožnje. Spekter se razteza od opisov na podlagi opazovanj, izkušenj in dejanskega znanja (npr. pregled literature, analiza dejavnikov tveganja, profili tveganja), do pristopov mikrobiološke ocene tveganja z razponom od kvalitativnih do vedno bolj analitičnih in podrobnih kvantitativnih ovrednotenj. Ocena tveganja je fleksibilen postopek znotraj strukturiranega formata, ki je prilagojen za odzivanje na specifične probleme upravljanja s tveganjem in je koristna podpora odločitvam ne glede na obseg ali kontekst. Najpomembnejši atribut mikrobiološke ocene tveganja je, da služi svojemu namenu (*»Fit for purpose«*), tj. da v sprejemljivem času odgovarja na vprašanja upravljavcev tveganja in izboljša proces odločanja. Pomembna vidika mikrobiološke ocene tveganja sta tudi: »uporabnost«, ki se nanaša na namen ocene tveganja, in »utemeljenost«, ki se nanaša na resničnost ali pravilnost mikrobiološke ocene tveganja.

Skozi oceno tveganja je verjetnost natančno opisana in izmerjena; potencialni izidi so definirani z nekim merilom razsežnosti. Primarna dodana vrednost ocene tveganja je povzetek verjetnosti škodljivih izidov kot posledice združevanja formalne predstavitve sistema, ki ustvarja tveganje, s pravili nakazovanja verjetnosti.

Uporabnik potrebuje nekaj znanja o mikrobiologiji in osnovno razumevanje načel ocene tveganja, da lahko svojim potrebam prožno (fleksibilno) prilagaja relevantna poglavja.

1.2 NAČRTOVANJE OCENE TVEGANJA

Ocena tveganja ni nujen pristop za obravnavo vseh vprašanj, ki jih zastavlja upravljanje s tveganjem. Tradicionalno in v mnogih okoliščinah je danes zanesljiva znanstvena informacija in karakterizacija povsem utemeljena. Le-ta vključuje historične epidemiološke podatke, ki lahko zagotovijo relevantno informacijo za odločanje, čeprav ji manjka napovedovalna vrednost (probabilistične) ocene tveganja. Odvisno od razpoložljivosti podatkov in domneve, da je njihova obravnava ustrezna, pa lahko ocena tveganja potencialno zagotovi dodatne vpoglede v negotove in kompleksne situacije in ekonomske dejavnike, ki so za upravljanje s tveganjem relevantni.

Načrtovanje ocene tveganja predstavlja osnovo za relevantno in dobro izvedeno oceno, določa njen namen in obseg ter se osredotoča na vprašanja in pristope, ki bodo v njeno izvedbo vključeni.

Načrtovanje vključuje:

- določitev primernega časovnega obsega in potrebnih virov, da bo zagotovljena večja učinkovitost,
- soglasje med deležniki glede realnih pričakovanj v zvezi s cilji, časovnim potekom in viri/sredstvi,
- identifikacijo sodelujočih (npr. mikrobiologi, toksikologi, ekonomisti,..),
- razumevanje stopnje kompleksnosti, ki je pri oceni potrebna, da bodo upravljavci tveganja primerno informirani.

1.2.1 Opis problema

Na začetku ocene tveganja oz. v fazi načrtovanja pogosto pride do težav pri opisu problema. Potrebni sta razprava in analiza, ki se usmerjata na tehnične in znanstvene aspekte. Določiti je treba značilno populacijo, ki bo v oceni obravnavana - npr. splošna populacija, otroci, nosečnice, starejši, skupine, ogrožene zaradi imunske oslABLjenosti - in kaj velja za primeren nivo zaščite pred boleznijo.

Konceptualni model temelji na scenarijih pričakovane izpostavitve mikroorganizmom - od vira do prejemnika. Mikrobiološka ocena lahko obravnava poti prenosa črevesnih patogenih bakterij od vira do ciljne populacije, kar lahko osvetli različne tvegane dogodke, ki potencialno vodijo do povečanega tveganja in nakazuje mesta, kjer so ukrepi upravljanja s tveganjem najbolj učinkoviti.

V nekaterih primerih konceptualni modeli niso na razpolago oz. lahko obstaja več verjetnih/prepričljivih, vendar med seboj različnih konceptualnih modelov. Utemeljenost izbranega konceptualnega modela je zato lahko negotova. Ocenjevalec tveganja se mora teh možnosti zavedati in pretehtati mnoge (tudi negotove) konceptualne modele, kakor tudi možnosti metod brez modela (*model-free*), kot npr. sledenje viru (*source tracking*), da bo lahko opisal problem. Pri opisu problema je pomembno prepoznati več možnih oz. verjetnih izidov in njihovih posledic. Celo nenamerne posledice je treba prepoznati, kjer je to možno, in jih obravnavati v okviru mikrobiološke ocene

tveganja (npr. ali morda intervencije, ki so usmerjene v redukcijo enega patogenega mikroorganizma, povečujejo tveganje za bolezen s strani drugega patogenega mikroorganizma). Prepoznati je potrebno tudi, ali omilitvene/mitigacijske strategije same lahko predstavljajo tveganje (npr. dezinfekcijski stranski proizvodi). Med aktivnostmi, ki opisujejo problem, lahko »slab« opis omeji vrednost naslednjih faz ocene tveganja.

1.2.2 Elementi, ki jih je treba upoštevati pri izvedbi mikrobiološke ocene tveganja

Odločitve so po navadi sprejete med načrtovanjem in določanjem obsega ocene tveganja. Lahko se odločimo, da ne bomo začeli z oceno, ker so ugotovitve, ki izhajajo iz faze načrtovanja pokazale, da je odločanje možno tudi brez izvedbe ocene tveganja. V tej fazi obravnavamo različne elemente, ki niso vsi nujni za vsako oceno tveganja, upoštevati pa je treba veliko kriterijev:

- značilnosti in pomembnost zaskrbljujočih dejavnikov tveganja; opisati je treba, kateri dejavnik tveganja – povzročitelj okužb bo obravnavan in kako je povezan z zdravjem ljudi skozi scenarij izpostavitve,
- razsežnost (npr. prisotnost, razširjenost, koncentracija) dejavnikov tveganja in resnost tveganja za zdravje (npr. vpliv na javno zdravje),
- na katere populacijske skupine se bo ocena tveganja osredotočala (npr. splošna populacija, starostne skupine, ranljive populacije ali geografsko definirane populacije),
- kakšni zdravstveni izidi bodo v oceni tveganja upoštevani; jasno izražen zdravstveni izid je za transparentnost pomemben in določa obseg ocene tveganja (okužba, simptomi bolezni, umrljivost),
- kateri elementi in poti izpostavitve so relevantni ter kateri specifični scenariji izpostavitve bi morali biti modelirani,
- pridobiti je treba nominalne ali verjetne »varne« nivoje mikroorganizmov (nivoji pod pragom zakonskih zahtev/kritičnih mejnih vrednosti); kateri nivo zaščite bo zagotovljen in tehnični razlogi zanj; pomembna je transparentnost ciljev javnega zdravja,
- resnost situacije,
- drugi faktorji, povezani s specifičnimi dejavniki tveganja (npr. postopki za obdelavo/pripravo vode, predelava in toplotna obdelava živil, navzkrižno onesnaženje),
- razpoložljivost/dostopnost virov (npr. čas, denar, delovna sila).

V fazi načrtovanja ocene tveganja so pomembne različne ideje, predvsem zaradi raziskovanja možnosti, ki jih imamo (npr. ali je ocena tveganja dejansko potrebna oz. kakšna vrsta ocene bi bila najprimernejša). Pomembno je tudi, da se v tej fazi ne osredotočamo pre zgodaj na posamezni vidik - ker to morda ni »najboljša« ali »pravilna« pot za nadaljevanje.

1.2.3 Primeri različnih vrst mikrobiološke ocene tveganja

Presejalno ovrednotenje (*Screening*) pogosto zagotavlja konzervativno oceno možnega tveganja, ki je osnovana na obstoječih podatkih. Ocenjevalci pogosto izvajajo takšna ovrednotenja, kadar je odločitev

potrebna v kratkem času (npr. hitro omilitveno ukrepanje ob nekem dogodku; preteča izpostavljenost mikrobiološkemu dejavniku tveganja). Za premostitev podatkovnih vrzeli, ki ne morejo čakati na raziskave, se ocenjevalec lahko zateče k standardnim predpostavkam. Kot dodatek presejalna ocena lahko omogoča potrebne informacije, ne da bi potrebovali več podatkov ali modelirali podrobno oceno tveganja. Presejalna ocena tveganja je v mnogih primerih bolj zaželeno kot podrobno ovrednotenje. Glede negotovosti je pomembna transparentnost in obravnava, da bi ugotovili, ali uporabljene domneve oz. predpostavke negotovost podcenjujejo ali precenjujejo. Presejalna ovrednotenja pa se lahko nadgrajujejo v bolj detaljne ocene, z dodelavo in preračunavanjem dodatnih podatkov, ki jih pridobimo s hitrimi vzorčenji, uporabo nadomestnih podatkov in ekspertnimi mnenji.

Razvrščanje tveganj (*Risk Ranking*) oz. »rangiranje« tveganj primerja relativno tveganje med številnimi dejavniki tveganja. Npr. ta vrsta ocene lahko vključuje en (sam) patogeni mikroorganizem, povezan z mnogimi živili, posamezno živilo, povezano s številnimi patogenimi mikroorganizmi ali več živil, v katerih so številni patogeni mikroorganizmi. Ta vrsta ocene lahko pomaga vzpostavljati programe prioritete in usmerjati raziskave kot npr. kvantitativna ocena relativnega tveganja za javno zdravje v povezavi z bakterijo *Listeria monocitogenes* med izbranimi gotovimi živili (FDA/USDA/CDC, 2003).

Analiza poti proizvoda (*Product pathway analyses*) je ovrednotenje, ki preiskuje faktorje, ki vplivajo na tveganje v povezavi s specifičnimi pari – nosilec/dejavnik tveganja. Za hrano po navadi vključuje pot od kmetije do porabe pri potrošniku. Ta ocenjevalna metoda pomaga identificirati ključne faktorje, ki vplivajo na izpostavitve, ob upoštevanju vpliva potencialnih omilitvenih ali intervencijskih strategij za zmanjševanje napovedanega tveganja. Primer takšnega ovrednotenja je kvantitativna ocena vpliva patogenega mikroorganizma *Vibrio Parahemoliticus* na javno zdravje, v povezavi s surovimi ostrigami (FDA, 2005).

Tveganje-tveganje (*Risk-risk*) pristop tehta prestop enega tveganja k drugemu (tj. zmanjševanje enega tveganja povečuje drugo tveganje). Npr. ocena lahko ugotovi, kako priprava pitne vode s kemijskimi sredstvi (nevarnost izpostavitve stranskim proizvodom dezinfekcije) vpliva na javno zdravje v primerjavi z vplivom izpostavitve patogenim mikroorganizmom iz vode, ki ni bila pripravljena/obdelana.

Geografska ocena tveganja (*Geographic risk assessment*) preiskuje faktorje, ki omogočajo ali omejujejo nastanek tveganja v določeni regiji. Ocena preiskuje tveganje vnosa bolezenskih agensov preko vode, zraka, živali in rastlin, ki vstopajo v prehransko verigo oz. hrano (nenamerno ali namerno kot dejanja bioterorizma). Geografski pristop npr. lahko preiskuje tveganje vnosa bovine spongiformne encefalopatije v črede goveda določene regije in posledično tveganje za variantno Creutzfeldt-Jakob-ovo bolezen pri ljudeh s prenosom preko goveda skozi meso in mesne izdelke.

Mikrobiološka ocena tveganja pri trajnostnih ovrednotenjih systemske ocene upoštevajo zdravje ljudi, zdravje ekosistema in ekonomske obravnave. Vidiki zdravja ljudi vključujejo mikrobiološko in kemijsko oceno tveganja. Pristop vključuje mikrobiološko oceno tveganja skozi pričakovano življenjsko dobo preko vseh poti izpostavitve patogenim mikroorganizmom (npr. pitna voda, reciklirana voda, aerosol, rekreativne izpostavitve in onesnažena tla ter hrana).

Ocene groženj in ranljivosti (*Threat and vulnerability assessments*) predstavljajo specializirana orodja za ovrednotenje dovzetnosti sistemov in objektov na potencialne grožnje, kot so škodljiva dejanja oz. delovanja (npr. vandalizem, sabotaža ali teroristični napad), naravne nesreče in druge izredne situacije. Čeprav striktno ne moremo govoriti o »oceni tveganja«, so izidi lahko podobni, kadar prepoznajo grožnje, verjetnost in razsežnost škodljivih učinkov ter pripomorejo k odločitvam. Npr. nujno je oceniti tveganje, povezano z namernim onesnaženjem hrane ali vodovodnih sistemov z biološkimi agensi ali tveganje sproščanja bioloških agensov v obliki aerosolov v gosto naseljena, notranja ali zunanja javna okolja. Te ocene lahko prepoznajo popravne postopke, ki lahko zmanjšajo tveganje in resnost potencialnih posledic.

Obširne analize tveganja potrebujejo izdatno razpoložljivost virov. Takšna poglobljenost ni nujna, kadar za odločitve ni potrebna tako visoka raven ovrednotenja. Okoliščine, ko je tveganje dobro opisano, z jasnimi podatki ali pa je problem relativno enostaven, ne opravičujejo kvantitativne ocene tveganja. Kakorkoli, obširne ocene tveganja predstavljajo prepričljivo orodje za pomoč pri vrednotenju in interpretaciji informacij, kadar podatki, ki opisujejo tveganje, niso popolni, ko so izpostavitveni sistemi kompleksni in kadar je problem zelo zaskrbljujoč.

V opisu verjetnosti škodljivih učinkov za zdravje so ocene tveganja lahko kvalitativne ali kvantitativne (ali kombinacija obeh - »semi-kvantitativne«), odvisno od obsega podatkov in znanja, ki je na razpolago, obstoja modelov ali drugih orodij za kvantitativno napovedovanje, kompleksnosti problema, vprašanj s strani upravljavcev tveganja in časa, ki je na razpolago za izvedbo ovrednotenja. Pri kvantitativnih ocenah je tveganje za zdravje izraženo kot matematična trditev verjetnosti bolezni ali smrti po izpostavitvi določenemu dejavniku tveganja ter predstavlja kumulativne verjetnosti določenih dogodkov, upoštevajoč negotovosti, ki so povezane s temi dogodki. Nasprotno pa kvalitativna ocena tveganja uporablja verbalne opise tveganja, resnosti tveganja in negotovosti ter pogosto vključuje skupek predpostavk.

Ko z oceno tveganja začnemo, je treba temeljito pretehtati, koliko podrobnosti bomo v oceno vključili, da bi lahko odgovorili na vprašanja upravljavcev tveganja. Glede na različne potrebe upravljanja s tveganjem ni nujno, da bo izbrani pristop ocene odgovoril na vsa vprašanja.

Zavedati se je treba, da so poimenovanja različnih vrst ocen tveganja specifično definirana v različnih kontekstih; previdnost je potrebna pri imenovanju ali sklicevanju na različne vrste ocen oz. ovrednotenij. Npr. ta navodila so specifična za izbiro in izvedbo ocene tveganja za zdravje, ne pa za oceno varnosti. Razlika je v tem, da ocena tveganja ocenjuje verjetnost in/ali pogostnost škodljivih izidov za zdravje kot posledice izpostavitve. Ocenjevanje varnosti pa lahko predvidi verjetnost in/ali frekvenco preseganja praga, ki je zaskrbljujoč (npr. vnaprej določenih zakonodajnih kritičnih mejnih vrednosti ali standardov) ali zagotovi opredelitev, kaj je »varno« na osnovi sporazumov glede standardnih postopkov. Izrazi, ki se nanašajo na »tveganje«, imajo v nekaterih statutih formalne definicije. Ocenjevalec tveganja se mora zavedati strokovnih in zakonodajnih definicij, ki se nanašajo na oceno tveganja, v kolikor le-te obstajajo.

1.3 MIKROBIOLOŠKA OCENA TVEGANJA

Ocena tveganja (*risk assessment*) sodi v okvir analize tveganja, ki vključuje tudi upravljanje s tveganjem (*risk management*) in komunikacijo tveganja (*risk communication*). Ocena mikrobiološkega tveganja lahko variira od posamezne ekspertne presoje pa do obširnega kvalitativnega ali kvantitativnega postopka, ki je osnovan na načelih, opisanih v dokumentu »*Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment*« (CAC, 1999), ki predstavlja široko sprejeto referenco.

1.3.1 Elementi ocene tveganja

Ključni elementi mikrobiološke ocene tveganja so identifikacija in karakterizacija nevarnosti, ocena izpostavljenosti ter karakterizacija tveganja.

1.3.1.1 Identifikacija nevarnosti (*Hazard identification*)

Namen te stopnje mikrobiološke ocene tveganja je identifikacija zaskrbljujočih mikroorganizmov in/ali njihovih toksinov v hrani. V fazi identifikacije dejavnikov tveganja prevladuje kvalitativni postopek. Informacije o dejavnih tveganja lahko pridobimo iz znanstvene literature, podatkovnih baz, vladnih agencij in mednarodnih organizacij ter s pridobitvijo ekspertnih mnenj. Relevantne informacije vključujejo podatke s področij: kliničnih študij, epidemioloških študij in nadzora, študij na osnovi poskusov na laboratorijskih živalih, raziskav lastnosti mikroorganizmov, interakcij med mikroorganizmi in njihovim okoljem skozi celotno živilsko verigo, od primarne proizvodnje do porabe ter študij na analognih mikroorganizmih in situacijah.

1.3.1.2 Karakterizacija nevarnosti (*Hazard characterisation*)

Ta faza predstavlja kvalitativni ali kvantitativni opis resnosti in trajanja škodljivih učinkov, ki so lahko posledica izpostavljenosti mikroorganizmom in/ali njegovim toksinom.

Pri karakterizaciji nevarnosti je treba upoštevati veliko pomembnih dejavnikov.

V povezavi z mikroorganizmi je pomembno sledeče:

- mikroorganizmi so zmožni razmnoževanja,
- virulenca in kužnost mikroorganizmov se lahko spreminjata, odvisno od njihove interakcije z gostiteljem in okoljem,
- genski material se lahko med mikroorganizmi prenaša, kar lahko vodi v prenos lastnosti kot so antimikrobna rezistenca in virulenčni faktorji,
- mikroorganizmi se lahko širijo s sekundarnim in terciarnim prenosom,
- pojav kliničnih simptomov je lahko znatno odložen zaradi dolge inkubacijske dobe,
- mikroorganizmi lahko vztrajajo v kroničnih asimptomatskih nosilcih, kar lahko vodi do stalnega širjenja mikroorganizma oz. tveganja za prenos okužbe,
- tudi majhno število nekaterih mikroorganizmov lahko povzroči hude učinke,

- lastnosti živila lahko spremenijo patogenost mikroorganizmov (npr. visoka vsebnost maščobe).

V povezavi z gostiteljem je lahko pomembno sledeče:

- povečana dovzetnost zaradi okvare fizioloških pregrad,
- individualne lastnosti, ki vplivajo na dovzetnost kot npr. starost, spol, nosečnost, zdravstveno stanje, cepilni status (npr. za hepatitis A, tifus), prehrana, poklic in razvade,
- populacijske značilnosti kot npr. odpornost populacije, dostopnost zdravstvene oskrbe in vztrajanje mikroorganizmov v populaciji.

Ovrednotenje odnosa med odmerkom in učinkom (*dose-response assessment*) se izvede, v kolikor je možno pridobiti ustrezne podatke. Ob odsotnosti poznanega odnosa med odmerkom in učinkom se za obravnavo različnih faktorjev lahko uporabijo ekspertna mnenja, kot npr. o infektivnosti, ki je potrebna za opis karakterizacije nevarnosti.

1.3.1.3 Ocena izpostavljenosti (*Exposure assessment*)

Ovrednotenje izpostavitve ocenjuje raven patogenih mikroorganizmov in/ali njihovih toksinov in verjetnost njihovega pojava v hrani ob času zaužitja (ob upoštevanju različnih ravni negotovosti).

Ocena izpostavitve vključuje ovrednotenje obsega dejanske ali pričakovane izpostavljenosti. Za mikrobiološke dejavnike tveganja ovrednotenje izpostavitve lahko temelji na stopnji onesnaženja hrane z določenim agensom ali njegovim toksinom in podatkih o porabi živil. Ovrednotenje izpostavitve mora specificirati enoto hrane – v primeru akutne bolezni je to najpogosteje obrok.

Faktorji, ki jih je treba upoštevati pri ovrednotenju izpostavitve:

- 1) Na frekvenco onesnaženja hrane s patogenim agensom in na njegovo raven v živilu vplivajo:
 - lastnosti patogenega agensa,
 - mikrobiološka ekologija hrane,
 - prvotno onesnaženje surovin, upoštevajoč obravnavo regionalnih razlik oz. drugačnosti in sezono proizvodnje,
 - nivo sanitarno-higienskih razmer in nadzora postopkov proizvodnje,
 - načini proizvodnje, embaliranja, distribucije in shranjevanja hrane,
 - stopnje priprave hrane, ki so kritične kontrolne točke glede na HACCP metodologijo.
- 2) Vzorci prehranskih navad, ki se nanašajo na:
 - socialno ekonomska in kulturna ozadja,
 - etničnost,
 - sezonske značilnosti,
 - starostne razlike (populacijska demografija),
 - regionalne značilnosti,
 - naklonjenost in vedenjski vzorci potrošnikov.
- 3) Vloga zaposlenih v živilski dejavnosti, ki pri rokovanju s hrano lahko predstavljajo vir onesnaženja.

4) V kolikšni meri je živilo podvrženo stiku z rokami.

5) Na prisotnost, rast, preživetje ali smrt mikroorganizmov (vključujoč patogene mikroorganizme v hrani) vplivajo postopki obdelave/proizvodnje, način in temperatura shranjevanja, relativna vlaga okolja in plinska sestava atmosfere.

Pri ovrednotenju izpostavitve je treba opisati pot živila od proizvodnje do zaužitja. Nivoji patogenih mikroorganizmov so lahko dinamični in so lahko nekaj časa nizki (npr. med proizvodnjo, ko sta čas/temperatura pod nadzorom), potem pa se lahko ob neustreznih pogojih povečajo (nepriporočne temperature shranjevanja in navzkrižno onesnaženje).

Kvalitativno lahko živila kategoriziramo glede na:

- verjetnost, da so ali niso onesnažena na njihovem izvoru,
- ali živila omogočajo hitro rast zaskrbljujočih patogenih mikroorganizmov ali ne,
- ali obstaja znaten potencial možnosti nepravilnega rokovanja z živilom,
- ali bo živilo podvrženo toplotni obdelavi.

1.3.1.4 Karakterizacija tveganja (*Risk Characterisation*)

Karakterizacija tveganja je definirana kot kvalitativna in/ali kvantitativna ocena verjetnosti pojava in resnosti poznanega ali potencialnega škodljivega učinka za zdravje določene populacije, ki je osnovana na identifikaciji, karakterizaciji nevarnosti in oceni izpostavljenosti ter vključuje spremljajoče negotovosti (CAC, 2004).

Karakterizacija tveganja združuje vse kvalitativne ali kvantitativne informacije prejšnjih korakov ocene tveganja, da omogoča čim bolj zanesljivo oceno tveganja določene populacije.

1.3.2 Vrste ocen tveganja

1.3.2.1 Kvalitativna ocena tveganja

Kvalitativna ocena tveganja vključuje deskriptivni prikaz informacij za oceno tveganja. Kvalitativne ocene tveganja kljub temu zahtevajo uporabo kvantitativnih podatkov in analiz ter jih včasih opisujejo (čeprav nepravilno), kot »semi-kvantitativne« (Lammerding, 2007). Glede na okvir mikrobiološke ocene tveganja, v skladu s CAC (1999) metodologijo, morajo biti kvalitativne ocene tveganja več kot le pregled literature o obravnavanem problemu; predstavljati morajo sistematični in logični pristop k preudarni oceni tveganja, čeprav ni numerično izražena. Te ocene so deskriptivne karakterizacije verjetnosti in učinka (kot npr. neznatno, majhno, srednje ali veliko tveganje), kar mora biti jasno definirano, da se izognemo napačni razlagi (Fazil, 2005).

Kvalitativno oceno tveganja lahko pripravimo pred kvantitativno, da dobimo idejo o potencialni razsežnosti tveganja in da nam nakaže, ali je bolj detajlna analiza potrebna, da bi problem bolje

razumeli (Lammerding, 2007). Kvalitativno oceno tveganja lahko izvedemo, preden so ključni podatki na razpolago, da bo v pomoč pri osredotočanju na izbor podatkov. Z napredovanjem v bolj kvantitativen pristop se poveča fleksibilnost, sprejemljivost, objektivnost in moč odločitev (Fazil, 2005). Pri uporabi vedno bolj sofisticiranih metod pa se povečajo potrebe po podatkih, detajlih pri opisovanju problema, analitični ekspertizi in času (Lammerding, 2007).

1.3.2.2 Kvantitativna ocena tveganja

Kvantitativna mikrobiološka ocena lahko uporablja deterministične ali stohastične modele, ki se razlikujejo po obravnavi naključnosti in verjetnosti (Fazil, 2005). Čeprav deterministični modeli lahko vključujejo verjetnosti, ne vključujejo nobene oblike naključnosti, medtem ko stohastični modeli vključujejo komponente naključnosti že po definiciji. Stohastični modeli se nagibajo k boljšemu prikazu naravnega stanja, ker je naključnost inherentna že sama po sebi.

Pri determinističnih ocenah tveganja je vsem spremenljivkam pripisana določena fiksna vrednost, ki lahko predstavlja srednjo ali maksimalno vrednost ali »scenarij najslabšega primera« (npr. za serijo različnih podatkov). Izračunavanje pripelje do posameznega števila (ki lahko vključuje intervale zaupanja) kot izida ocene tveganja. Ko je odnos med faktorji v modelu določen, so deterministični modeli relativno enostavni za izračunavanje. Vendar tudi ob upoštevanju intervalov zaupanja ne omogočajo zadostnega vpogleda v to, »kako verjetno« (ali »ne-verjetno«) se bo škodljiv dogodek zgodil, niti ne nudijo koristnih vpogledov v faktorje, ki prispevajo k izpostavitvi oz. tveganju (Lammerding, 2007). Ocena, ki uporablja scenarij najslabšega primera kot vhodni podatek (input), podaja ekstremno napoved (output), brez upoštevanja majhne verjetnosti, da se bo tak ekstrem zgodil, medtem ko ocena, ki uporablja srednje vrednosti, podaja »povprečno« tveganje, ne upošteva pa ekstremov, ki so lahko pomembni (npr. v predstavitvi občutljive populacije) ali redki, vendar z resnimi posledicami (Fazil, 2005). Rezultati determinističnih ocen so lahko bolj koristni kot indikatorji relativnega tveganja, kar lahko usmerja aktivnosti upravljanja s tveganjem brez potrebe po bolj natančni oceni tveganja.

Stohastični pristop razvoja ocene tveganja vključuje variabilnost, inherentno v sistemu samem, kakor tudi negotovost v parametrih vhodnih podatkov. Potrebna je statistična porazdelitev spremenljivk (oblika porazdelitvene krivulje in njenih parametrov); združevanje spremenljivk za izračun rezultata zahteva več strokovnega znanja kot združevanje posameznih števil v enačbi. Z uporabo simulacijske programske opreme, osnovane npr. na metodah analize Monte Carlo, se izračuna vpliv variabilnosti na vmesne rezultate in končni izid. Za vsako simulacijo (imitacijo realnosti) je izbrana naključna vrednost vsake spremenljivke, kar ima za posledico verjetnostno porazdelitev obravnavanega tveganja (Lammerding, 2007).

1.4 PODATKI ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA

Kakovost rezultatov mikrobiološke ocene tveganja je v veliki meri odvisna od razpoložljivosti ustreznih podatkov. Za ovrednotenje posameznega elementa oz. stopnje ocene tveganja, še bolj pa za izvedbo celotne ocene, so pogosto potrebni številni viri podatkov. Podatki zajemajo različne aspekte: živilski

proizvod, oskrba z vodo, proizvodna veriga, navade potrošnikov, karakteristike organizmov, ekologija, dovzetnost in virulenca. Za realno oceno tveganja kot dodatek k dobri predvideni oceni je treba jasno poročati o variabilnosti in negotovosti podatkov, kakor tudi o tem, kateri podatki so bili z razlogom izključeni (FAO/WHO, 2008).

Potreba po podatkih je povezana z naraščajočo razpoložljivostjo skupin podatkov, ki so lahko različne kakovosti. Hiter razvoj in uporaba mikrobiološke ocene tveganja sta ustvarila nove izzive pri vrednotenju kakovosti podatkov. Podatke je treba vedno ovrednotiti glede na reprezentativnost, v povezavi s situacijo, ki jo proučujemo. Pomanjkanje reprezentativnosti bo imelo za posledico negotovost, ki jo je pogosto še težje kvantificirati kot variabilnost. Pomembna je transparentnost vira podatkov.

1.4.1 Podatki za identifikacijo nevarnosti

Kot je nakazano v dokumentu Codex (CAC, 1999), informacije o dejavnih tveganja lahko pridobimo iz znanstvene literature, podatkovnih baz, vladnih agencij in mednarodnih organizacij ter s konzultacijami. Relevantne informacije vključujejo podatke kliničnih in epidemioloških študij, nadzora in raziskav izbruhov, raziskav o prisotnosti in karakteristikah mikroorganizmov skozi celotno živilsko verigo od primarne proizvodnje do potrošnje.

1.4.2 Podatki za karakterizacijo nevarnosti

Obstoječe kvantitativne podatke o odvisnosti učinka od odmerka je možno pridobiti iz literature ali javno-zdravstvenih podatkovnih baz, ki vključujejo podatke o raziskavah izbruhov, raziskavah na ljudeh ali laboratorijskih živalih. Tudi objavljene ocene tveganja so lahko koristen vir informacij.

Podatki se nanašajo na mikroorganizme, živila in človeka kot gostitelja. Podatki o mikroorganizmih: zmožnost razmnoževanja; kakršnekoli spremembe v virulenci in nalezljivosti zaradi vzajemnega delovanja gostitelja in okolja; dokaz prenosa genskega materiala med mikroorganizmi, kar lahko vodi do prenosa lastnosti kot npr. antimikrobne rezistence in faktorjev virulence; širjenje mikroorganizmov skozi sekundarni in terciarni prenos; zakasnitev kliničnih simptomov po izpostavitvi in vztrajanje mikroorganizmov v določenih posameznikih, kar vodi do trajnega izločanja in potencialne širitve okužbe. Majhni odmerki nekaterih mikroorganizmov lahko v določenih primerih povzročijo okužbe z resnimi posledicami. Lastnosti hrane lahko spremenijo patogenost mikroorganizmov kot npr. sestavine, ki vplivajo na pH želodca ali visoka vsebnost maščobe.

Podatki o individualni dovzetnosti gostitelja: genski faktorji, povečana dovzetnost zaradi okvare fiziološkega praga, kot posledice zdravstvenega stanja, starost, spol, nosečnost, prehrana, značilnosti populacije, kot npr. odpornost populacije.

Čeprav je pomen mikroorganizmov, živil in faktorjev v povezavi z gostiteljem na splošno poznan, do danes nobena mikrobiološka ocena tveganja ni bila zmožna vključiti vseh teh faktorjev, predvsem

zaradi pomanjkanja primernih kvantitativnih podatkov, težav pri obdelavi novih znanstvenih podatkov ter zaradi pomanjkanja primernih modelov za njihovo vključevanje.

1.4.3 Podatki za oceno izpostavljenosti

Za faktorje, ki jih pri ovrednotenju izpostavitve obravnavamo, je treba pridobiti podatke; le-ti vključujejo pogostnost onesnaženja s patogenimi agensi in njihovo raven v hrani v določenem času. Na te faktorje vplivajo karakteristike patogenih agensov; mikrobiološka ekologija hrane; začetno onesnaženje surovin (vključujoč regionalno in sezonsko variabilnost), raven sanitarno higienskih razmer in nadzora postopkov, načini proizvodnih postopkov, embaliranje, distribucija in shranjevanje, kakor tudi postopki priprave hrane, kot so toplotna obdelava, toplo vzdrževanje ter hitro ohlajevanje. Na prisotnost, rast, preživetje ali smrt mikroorganizmov vplivajo procesni in ekstrinzični faktorji (npr. okolje shranjevanja, vključujoč temperaturo, relativno vlago in sestavo plinov v atmosferi), intrinzični faktorji (npr. pH, vsebnost vlage oz. aktivnost vode, vsebnost hranil, prisotnost protimikrobnih snovi) in implicitni faktorji (kompetitivna mikroflora). Napovedovalna mikrobiologija je lahko koristno orodje pri oceni izpostavljenosti. Dodaten faktor, ki ga je treba pri oceni izpostavljenosti upoštevati so vzorci prehranjevanja, ki vplivajo na velikost obroka in na frekvenco uživanja hrane. Omenjeno se nanaša na socialno ekonomsko in kulturna ozadja, etničnost, sezonske značilnosti, razlike v starosti, regionalne razlike in vedenjske vzorce potrošnikov. Drugi faktorji, ki jih je treba upoštevati, vključujejo vedenjske faktorje kot npr. vloga zaposlenega pri rokovanju z živili, kot vira onesnaženja in neprimerne temperature okolja.

Onesnaženje lahko izhaja iz surovin, okolja ali od drugih proizvodov z navzkrižnim onesnaženjem. Raven onesnaženja določajo frekvenca onesnaženja, koncentracija in stopnja prenosa. Npr. izvedena je bila celovita analiza velikega števila podatkov o onesnaženju zraka, ki je doprinesla metodo za napovedovanje koncentracije in prenosa v specifičnih okoliščinah (den Aantrekker et al., 2003a). Na splošno je podatke o ponovnem oz. navzkrižnem onesnaženju težko pridobiti. Pogosto relevantni podatki, ki jih za analizo potrebujemo manjkajo ali pa so na razpolago le podatki z veliko negotovostmi.

1.4.4 Viri podatkov

1.4.4.1 Modeli

Za merjenje oz. kvantifikacijo rasti in inaktivacije mikroorganizmov lahko uporabimo kvantitativne modele ali parametre, ki izhajajo iz kvantitativnih modelov.

1.4.4.2 Znanstvena literatura, ki vključuje kvantitativne ocene tveganja

Mnogo specifičnih podatkov lahko najdemo v znanstveni literaturi in podatkovnih bazah (npr. ComBase, javnozdravstvene podatkovne baze in mnoge druge) in v kvantitativnih ocenah tveganja (v znanstveni literaturi in poročilih vladnih služb in mednarodnih organizacij). Npr. iz določene

kvantitativne mikrobiološke ocene lahko uporabimo podatke o virulenci specifičnega mikroorganizma za drugo surovino oz. proizvod in npr. variabilnost temperatur v hladilnih enotah lahko pridobimo iz drugih kvantitativnih ocen tveganja.

1.4.4.3 Ekspertna mnenja

Ob odsotnosti primernih podatkov, lahko ocene parametrov, ki jih potrebujemo za ovrednotenje tveganja, pridobimo z ekspertnimi presojami. Običajno je treba povprašati več ekspertov in upoštevati najboljše ocene, kakor tudi variabilnost in negotovost. Uporaba ekspertnih stališč je pri oceni tveganja pogosta; na razpolago so napredni metodološki pristopi za pridobivanje ekspertnih stališč, vključujoč potrjevanje in presojo (Cooke, 1991; Cooke in Gossens, 2000; Van der Fels-Klerx et al., 2005).

1.4.4.4 Združevanje virov podatkov

Na splošno je najbolje uporabiti najmanj dva vira podatkov, saj v mnogih primerih pridobivanje podatkov iz enega samega vira ni reprezentativno. Uporaba podatkov iz različnih virov zmanjšuje negotovost v končni oceni tveganja.

1.5 MODELI ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA

Kvantitativna mikrobiološka ocena tveganja potrebuje matematične modele in spremljajoče podatke, da lahko opiše dinamiko in spremembe v nivojih mikrobiološkega onesnaženja hrane med obdelavo in proizvodnjo ter posledice za javno zdravje. Obstaja več vrst modelov. Ocena tveganja najprej potrebuje vhodne podatke o prisotnosti in koncentraciji mikrobioloških dejavnikov tveganja. Potem pa bodo različni procesi vplivali na prisotnost in koncentracijo mikroorganizmov - z mehanizmi bakterijske rasti in inaktivacije, navzkrižnega onesnaženja in mešanja sestavin ter razdeljevanja živil na obroke. Nazadnje pa bodo modeli odvisnosti učinka od odmerka (*dose-response models*) opisali učinek izpostavitve, izražen v bolezni.

1.5.1 Modeli za identifikacijo nevarnosti

1.5.1.1 Modeli za podporo odločitvam

Z združevanjem podatkovnih baz in kvalitativnega sklepanja se lahko vzpostavi strukturirane metode za identifikacijo nevarnosti. Za ta namen lahko uporabimo podatke iz epidemioloških študij. Takšne »sisteme« za identifikacijo dejavnikov tveganja sta opisala Zwietering (1992) in van Gerwen (1997). Ti sistemi so osnovani na združevanju podatkovnih baz, ki vsebujejo parametre mikroorganizmov in živilskih proizvodov s kombinacijo dobro definiranih pravil kvalitativnega sklepanja.

1.5.1.2 Modeli za razvrščanje tveganja

Za izbor relevantnih dejavnikov tveganja se lahko uporabljajo modeli za razvrščanje (*Risk ranking models*), npr. *Risk Ranger*, s katerimi se izračuna relativno tveganje za različne kombinacije živilskih proizvodov, patogenih mikroorganizmov in proizvodnih postopkov. Ti modeli lahko pripomorejo pri določanju prioritet za kombinacije med dejavnikom tveganja in živilskim proizvodom ter za izvedbo bolj poglobljenih mikrobioloških ocen tveganja.

1.5.2 Modeli za oceno izpostavljenosti

1.5.2.1 Statistični modeli za razširjenost in koncentracijo mikroorganizmov

Statistični modeli opisujejo razširjenost in koncentracijo porazdelitve z empiričnimi podatki. Za opis teh podatkov je poleg statističnih vidikov treba upoštevati tudi metode vzorčenja in kakovost analitičnih metod (npr. občutljivost, specifičnost, ponovljivost). Kadar uporabljamo podatke za ovrednotenje vpliva specifične analize, je treba te aspekte pretehtati z uporabo statističnih metod.

1.5.2.2 Modeli za rast mikroorganizmov

1.5.2.2.1 Primarni modeli

Modele, ki opisujejo spremembe v številu mikroorganizmov kot funkcije časa (rast ali inaktivacija), imenujemo primarne modele. Različni modeli ustrezajo krivulji razmnoževanja bakterij, kot npr. Baranyjev model (Baranyi et al., 1993; Baranyi in Roberts, 1994) in tri-fazni linearni modeli (Buchanan et al., 1997). Učinkovitost izbranega modela ni odvisna le od zmožnosti odražanja ugotovitev, temveč tudi od namena modeliranja in kakovosti podatkov, ki so na razpolago.

1.5.2.2.2 Sekundarni modeli

Primarni modeli podajajo informacije o maksimalni stopnji rasti in maksimalni doseženi populaciji glede na začetni inokulat. Ko se okoliščine spremenijo, se tudi te vrednosti spremenijo; sekundarni modeli si prizadevajo te spremembe opisati, kot npr. učinek temperature ali pH na specifično stopnjo rasti. Namen takšnega modeliranja je priprava modela z manj parametri (parsimonija, skladnost z načelom Ockhamovega rezila)⁶, ki opisujejo opazovane parametre rasti, na način, da so predvidevanja možna (Ratkowsky, 1990). Glavni faktorji, ki vplivajo na rast:

⁶ Parsimonija (*lex parsimoniae*) - uporaba najpreprostejše predpostavke pri oblikovanju hipoteze ali interpretacije podatkov; Ockhamovo rezilo (Ockham's razor) je raziskovalno načelo, ki ga pripisujejo angleškemu logiku Vilijemu iz Ockhama (1287–1347). Načelo zahteva, da pri oblikovanju hipotez in teorij privzamemo čim manj predpostavk ter pojav pojasnimo s kar najmanjšim številom vplivnih spremenljivk in delnih procesov. Na kratko: če najdemo dve razlagi pojava, ki sta enako verodostojni, izberemo tisto, ki je preprostejša.

Temperatura

Od vseh ovir mikrobne rasti v živilih je temperatura najbolj kritična. Razviti so bili različni modeli, ki so empirični in uporabljajo kardinalne temperaturne vrednosti (minimalne, maksimalne in optimalne), kar omogoča dobro prilagajanje opazovanim podatkom (Rosso et al., 1993).

Kislost

Za učinek pH so bili prvotno razviti eksponentni modeli, katerim so sledili kardinalni modeli (Rosso et al., 1995).

Aktivnost vode

Obstaja premo-sorazmerna povezava med aktivnostjo vode in maksimalno specifično stopnjo rasti (McMeekin et al., 1987). Na uspehu modelov s kardinalnimi parametri je bil razvit splošni model za učinek aktivnosti vode (Rosso in Robinson, 2001).

Združeni učinki

Združeni učinki glavnih okoljskih faktorjev pri večini živil preprečujejo ali zmanjšajo mikrobno rast. Večino modelov, ki so na voljo, so razvili v laboratorijskih okoljih in vsebujejo učinek določenih okoljskih faktorjev. V živilih lahko mikrobno rast ovirajo tudi drugi faktorji, ki niso vključeni v modele, kot npr. fiziološko stanje celic, struktura hrane, vzajemno mikrobno delovanje ali prisotnost protimikrobnih spojin. Na splošno je bilo ugotovljeno, da je rast v živilih počasnejša kot napovedana rast v modelih. Modeli »združenih učinkov« omogočajo deterministično informacijo brez ali z malo nakazovanja variabilnosti in negotovosti.

1.5.2.3 Modeli za inaktivacijo mikroorganizmov

1.5.2.3.1 Primarni modeli

Modeli, ki opisujejo inaktivacijo ali preživetje patogenih mikroorganizmov se uporabljajo že od leta 1920, ko so jih uporabili za spore *Clostridium botulinum* v konzerviranih živilih z nizko kislinsko stopnjo, kar je povzročilo uporabo D vrednosti (decimalni redukcijski čas). Z D-vrednostjo izražamo čas, ki je potreben, da pri določeni temperaturi zmanjšamo mikrobno populacijo za 10 krat. D vrednost je na razpolago za številne mikroorganizme (McKellar in Lu, 2004).

1.5.2.3.2 Sekundarni modeli

Relativno malo modelov obravnava učinke številnih okoljskih faktorjev na stopnjo bakterijske smrti (Ross in Dalgaard, 2004). V glavnem je bila opisana variabilnost v ne-termičnih postopkih inaktivacije mikroorganizmov, kot kombinacije pH in aktivnosti vode.

1.5.2.4 Modeli za navzkrižno onesnaženje

Živila se lahko med proizvodnjo onesnažijo na različne načine - s stikom z onesnaženimi surovinami, živili, rokami, delovnimi pripomočki in opremo ter iz zunanjih (okoljskih) virov. Ponovno/navzkrižno onesnaženje predstavlja problem, predvsem ko se že toplotno obdelana živila (prosta patogenih mikroorganizmov) ponovno onesnažijo po zadnji proizvodni fazi.

Modeli opisujejo različne poti in vire navzkrižnega onesnaženja - od surovin, površin v stiku z živili, onesnaženja preko zraka, insektov in okolja priprave oz. proizvodnje hrane. Do navzkrižnega onesnaženja lahko pride pri industrijski proizvodnji hrane, ob prodaji ter med pripravo hrane, tako v domačem kakor tudi poklicnem okolju (Reij et al., 2004).

Navzkrižno onesnaženje ni pogosto vključeno v mikrobiološke ocene tveganja. Omejena pozornost navzkrižnemu onesnaženju je lahko posledica pomanjkanja znanja o dinamiki navzkrižnega onesnaženja, pomanjkanja podatkov in izključitve iz načrtovanega obsega ocene tveganja.

Kljub temu pa so bili modeli navzkrižnega onesnaženja uporabljeni v ocenah tveganja. V teh modelih je izraz navzkrižno onesnaženje (*cross-contamination*) pogosto uporabljen za opis ponovnega onesnaženja (*re-contamination*) živilskih proizvodov, s strani mikroorganizmov, ki izhajajo od drugih živilskih proizvodov, z direktnim ali indirektnim kontaktom preko opreme, pripomočkov, rok, itd. Npr. če je površina delovne opreme onesnažena, lahko mikroorganizmi preidejo na živilski proizvod, v kolikor pride do stika med površino opreme in živila. Takšno onesnaženje se lahko modelira z uporabo stopnje prenosa (*transfer rate*) in verjetnostjo prenosa posamezne kolonijske enote (*colony-forming unit, CFU*), z ene površine na drugo. Število podatkov o prenosu bakterij med rokovanjem s hrano se v zadnjem času povečuje (Chen et al., 2001; Montville et al., 2001; Kusumaningrum et al., 2004; Luber et al., 2006; de Jong et al., 2008; van Asselt et al., 2008; Nauta et al., 2008).

Za mikrobiološko oceno tveganja je bilo razvitih nekaj različnih modelov navzkrižnega onesnaženja. Npr. model vpliva navzkrižnega onesnaženja na industrijsko obdelavo govejega mesa (Cassin et al., 1998), model navzkrižnega onesnaženja z listerijo (Schaffner, 2004), model navzkrižnega onesnaženja pri industrijski obdelavi perutninskega mesa (Nauta et al., 2005). Modeli se razlikujejo po kompleksnosti modeliranih postopkov in namenu modeliranja.

V zadnjem času so se številne mikrobiološke ocene tveganja osredotočale na navzkrižno onesnaženje v domačem okolju. K temu so vodila opažanja, da je izpostavitve patogenim mikroorganizmom, ki izhajajo iz surovega mesa, pogosto posledica uživanja gotovih obrokov, ki so bili med pripravo onesnaženi ob posrednem stiku z onesnaženim surovim mesom. Tak način izpostavitve je relevanten predvsem za kampilobakte v perutninskem mesu (Brynstad et al., 2008; Calistri in Giovannini, 2008; van Asselt et al., 2008; Nauta et al., 2009).

1.5.2.5 Modeli za mešanje sestavin in porazdelitev

Kadar živilske proizvode mešamo, združimo različne enote skupaj (npr. mleko molznic združimo v zbiralniku za mleko; kosi različnih trupov klavnih živali so združeni za mletje). Posledica tega postopka

je prerazporeditev mikroorganizmov – poveča se razširjenost, zmanjša pa se povprečna koncentracija v onesnaženih enotah.

Kadar živilske proizvode porazdelimo, večje enote živila ločimo v manjše (npr. mleko se porazdeli v steklenice, mleto meso se oblikuje v izdelke (npr. hamburgerje, pleskavice, čevapčiče). V tem primeru ima lahko prerazporeditev mikroorganizmov za posledico manjšo razširjenost in večjo koncentracijo v onesnaženih enotah. Čeprav ti postopki nimajo za posledico povečanja ali zmanjšanja števila mikroorganizmov v skupni količini živila, pa spremenijo porazdelitev mikroorganizmov med posameznimi enotami živil. Ta sprememba ima vpliv na variabilnost odmerkov mikroorganizmov med enotami hrane oz. porcijami, kar lahko vpliva na oceno tveganja. Modeli za mešanje in porazdelitev obravnavajo posledice nehomogenega mešanja in odvisnosti med posameznimi enotami obravnavanega živila (Nauta, 2005).

1.5.3 Modeli za karakterizacijo nevarnosti

Matematično modeliranje odnosa med odmerkom in učinkom (*dose-response relationship*) predstavlja koristen dodatek k opisnim analizam kliničnih in epidemioloških študij ter podatkov, ki se nanašajo na bolezni, ki so pogojene s hrano. Mikrobiološki model odvisnosti učinka od odmerka opisuje verjetnost specifičnega odgovora na izpostavitve določenemu patogenemu mikroorganizmu (ali njegovemu toksinu), v določeni populaciji, kot posledice zaužitja določenega odmerka. Za biološke dejavnike tveganja se modelira odnos odvisnosti učinka od odmerka, v kolikor je možno pridobiti relevantne podatke (CAC, 2004).

Biološka osnova za modele odvisnosti učinka od odmerka izhaja iz glavnih stopenj bolezni: izpostavitve, okužba, bolezen in posledice (okrevanje, posledice ali smrt). Vprašanje odzivnosti izhaja iz medsebojnega vplivanja med patogenim mikroorganizmom, gostiteljem in živilom.

Trenutno mišljenje je, da je okužba lahko posledica preživetja enega samega nalezljivega patogenega organizma, sposobnega za življenje (*the »single-hit concept«*) (FAO/WHO, 2003). Matematična verjetnost okužbe ali bolezni ni nična, kadar je gostitelj izpostavljen nalezljivemu patogenemu organizmu. Tak model nima praga učinka (*non-threshold model*), je previdnejši in bolj primeren pristop kot model s pragom učinka, ki za merilo nalezljivosti patogenega mikroorganizma uporablja minimalno infektivno dozo (MID). MID izraža najnižje število organizmov, ki so v danih okoliščinah potrebni za sprožitve okužbe pri posamezniku. Premišljena javno-zdravstvena strategija pri oceni mikrobnege odnosa odvisnosti učinka od odmerka potrebuje pristope brez praga učinka.

Modeli odvisnosti učinka od odmerka podajajo verjetnost bolezni glede na količino zaužitih patogenih mikroorganizmov. Opisani so bili različni modeli (Buchanan et al., 2000; Buchanan et al., 2009; Teunis et al., 1996; Teunis et al., 1999; Zwietering in Havelaar, 2006). Ob domnevi, da nalezljivost ni konstantna, temveč variabilna, lahko uporabimo model »Beta-Poisson« (Haas et al., 1999). Če pa je vključena tudi variabilnost gostitelja, je primeren model »Weibull-Gamma« (Buchanan et al., 2000).

1.5.4 Modeli za karakterizacijo tveganja

Verjetnost in resnost tveganja za zdravje za dano populacijo ali skupino proizvodov, je določena z združevanjem informacij, ki izhajajo iz identifikacije in karakterizacije nevarnosti ter izpostavljenosti. Za karakterizacijo tveganja za zdravje se ne uporabljajo specifični modeli.

1.6 PROGRAMSKA ORODJA ZA MIKROBIOLOŠKO OCENO TVEGANJA

Na razpolago je pestra izbira programskih orodij za podporo mikrobiološki oceni tveganja. Programska oprema za modeliranje tveganja vključuje: orodja za identifikacijo nevarnosti (dejavnikov tveganja), za razvrščanje oz. razporejanje tveganj in postavljanje prioritet, za napovedovalno modeliranje, za specifične ocene tveganja ter druga orodja.

Programska orodja za modeliranje tveganja lahko razdelimo na tri glavne kategorije:

1. Programska oprema na osnovi razpredelnic Excel ali druga specifična programska oprema, razvita za oceno tveganja in stohastično simulacijo.
2. Splošna programska oprema za simulacijo, programski jeziki, programska oprema za matematično modeliranje in statistična programska oprema.
3. Specifična programska oprema za Bayesovo⁷ analizo.

1.6.1 Orodja za identifikacijo dejavnikov tveganja, razvrščanje/razporejanje tveganja in postavljanje prioritet

Risk Ranger

<http://www.foodsafetycentre.com.au/riskranger.php> (Ross in Sumner, 2002)

Risk Ranger je enostavno orodje, ki je namenjeno izračunu relativnega tveganja različnih kombinacij med živilom, patogenim mikroorganizmom in postopkom obdelave. Omogoča enostaven in hiter razvoj začetne ocene relativnega tveganja ter osredotoča pozornost uporabnika na vzajemno delovanje faktorjev, ki prispevajo k nastanku bolezni. To orodje lahko uporabimo tudi pri vrednotenju učinkovitosti različnih strategij za zmanjševanje tveganja. Risk Ranger je namenjen upravljavcem tveganja in drugim brez izdatnih izkušenj pri modeliranju, lahko pa ga uporabimo tudi kot pomoč pri usposabljanju oz. izobraževanju.

⁷ Bayesova analiza (*Bayesian analysis*). Thomas Bayes (1702-1761), angleški statistik in filozof je definiral »pogojno verjetnost«. Bayesovo formulo za izračunavanje pogojne verjetnosti se pogosto uporablja za verjetnostna induktivna sklepanja od opaženih posledic k hipotezam o možnih vzrokih teh posledic. Ker gre v tem smislu za vzvratni sklep, je takšna pogojna verjetnost v anglosaškem svetu dobila tudi ime inverzna verjetnost (*inverse probability*). Uporaba verjetnostnega sklepanja je na področju umetne inteligence od nekdaj zelo pogosta. Bayesove verjetnostne mreže so ena od tovrstnih metodologij, ki v zadnjem času doživlja razcvet. Ideja sicer ni nova, očitno pa so šele sedaj nastopili pogoji (hitrejši računalniki, porazdeljeni sistemi), ki omogočajo njeno uporabo na večjem številu praktičnih problemov.

sQMRA tool

<http://www.foodrisk.org/exclusives/sQMRA/> (Evers in Chardon, 2010)

Orodje sQMRA lahko uporabimo za hitro pridobitev relativne ocene tveganja za kombinacije patogeni mikroorganizem-živilo. Upravljavcem tveganja pa lahko pomaga pri izboru kombinacij za izvedbo tradicionalne ocene tveganja.

Foodborne Illness Risk Ranking Model (FIRRM)

<http://www.thefsrc.org/firm.htm#Installing%20the%20Model>

Model FIRRM je orodje za odločitve in vrednoti javno-zdravstveno breme, kot posledico mikrobioloških dejavnikov tveganja, ki izhajajo iz hrane. Uporabnik lahko razvršča kombinacije med patogenimi mikroorganizmi, živali, različnimi ukrepi javnega zdravja, predvidenimi stroški bolezni in izgubljenimi leti zdravega življenja (*Quality-adjusted life year* - QALY).

FDA's fresh produce risk ranking tool

<http://www.foodrisk.org/exclusives/RRT/> (US Food and Drug Administration)

Gre za semi-kvantitativno orodje za razvrščanje tveganj, ki je osnovano na natančnih podatkih za kriterije tveganja in je namenjeno identifikaciji prioriteten kombinacij patogeni mikroorganizem-živilo. Predstavlja prilagodljivo in sistematično orodje za postavljanje prioritet zaradi njihovega potencialnega vključevanja v temeljitejšo kvantitativno pristope.

1.6.2 Orodja za napovedovalno/prediktivno modeliranje (za oceno izpostavljenosti)

pathogen Modeling program

<http://pmp.arserrc.gov/PMPOne.aspx>

Program »pathogen Modeling« (PMP) sestoji iz skupka modelov, namenjenih napovedi rasti in inaktivacije nekaterih patogenih mikroorganizmov pod različnimi okoljskimi pogoji.

ComBase

www.combase.cc

ComBase je podatkovna baza, ki sestoji iz številnih krivulj mikrobne rasti in preživetja, ki predstavljajo osnovo za mikrobiološke modele, ki so predstavljeni v stebru »ComBase Predictor«. Podatkovna baza ComBase vsebuje tudi aplikacijo »Perfringens predictor« (za napovedovanje rasti mikroorganizma *Clostridium perfringens* med ohlajevanjem mesa) z možnostjo prilagajanja podatkov, ki jih določa uporabnik.

DMFit

www.ifr.ac.uk/safety/DMFit

DMFit je programsko orodje za napovedovanje specifičnih stopenj rasti mikroorganizmov z Baranyjevim modelom (Baranyi in Roberts, 1994) na podlagi eksperimentalnih podatkov. DMFit je bilo glavno orodje pri razvoju modelov za ComBase Predictor.

Microbial Response Viewer

<http://mrv.nfri.affrc.go.jp/#/Home>

Spletna baza vsebuje podatke o bakterijski rasti/ne-rasti, ki so ob uporabi specifičnih kriterijev razvrščeni iz podatkovne baze ComBase. Del podatkov oblikuje osnovo za mikrobnne modele *Clostridium perfringens* (Koseki, 2009).

Sym'previus

<http://www.symprevius.net>

Sym'previus je zbirka orodij za nadzor varnosti hrane, oblikovana za sektorje živilskih dejavnosti. Namenjena je izboljšavam HACCP načrtov, razvoju novih živilskih proizvodov, boljšemu poznavanju mikroorganizmov, določanju rokov uporabnosti in izboljšanju varnosti hrane.

Seafood Spoilage and Safety predictor (SSSP)

<http://sssp.dtuaqua.dk>

Programsko orodje SSSP je bilo razvito za pomoč pri praktični uporabi matematičnih modelov pri napovedovanju rokov uporabnosti, rasti patogenih mikroorganizmov in bakterij kvarjenja v morski hrani; orodje je namenjeno tudi ovrednotenju vpliva konstantnih in nihajočih temperatur na pogoje shranjevanja.

Forecast

<http://www.campden.co.uk/services/predictive-microbiological-models.pdf>

Forecast je napovedovalno orodje za modeliranje rasti mikroorganizmov, povzročiteljev kvarjenja živil, ki ga je razvil Campden BRI. Vključuje modele za ribe, meso, sveže proizvode in kvasovke v sadju in pijačah ter vrsto modelov, ki se nanašajo na okisana živila.

MLA refrigerator index calculator

<http://www.foodsafetycentre.com.au/refrigerationindex.php> (Meat and Livestock Australia – MLA)

Indeks hlajenja (*refrigeration index* – RI) je pokazatelj logaritmične rasti *E. Coli*. Napoveduje pričakovano rast *E. Coli* v mesu glede na temperaturo in druge podatke. Glavna ideja indeksa hlajenja je meritev zmogljivosti hladilnih postopkov – prikaza učinkovitosti hladilnih sistemov in ne napovedovanje števila *E. coli* v živilskem proizvodu.

MLA *E. coli* inactivation in fermented meats model

<http://www.foodsafetycentre.com.au/fermenter.php> (Meat and Livestock Australia – MLA)

Model za inaktivacijsko stopnjo *E. Coli* izhaja iz analize in združevanja podatkov o vlogi *E. coli* v surovem in mletem mesu ter fermentiranih mesnih izdelkih oz. analognih okoljih, kjer obstaja nizka aktivnost vode ali pH oz. oboje.

GInaFit

<http://cit.kuleuven.be/biotec/downloads.php> (Geeraerd et al., 2005)

GInaFit je orodje za preizkušanje devetih različnih modelov preživetja mikroorganizmov na osnovi specifičnih eksperimentalnih podatkov uporabnika, ki se nanašajo na evolucijo mikrobne populacije v določenem času. Orodje seznanja uporabnika z učinkovitostjo izvedbe postopkov konzerviranja.

AMI process lethality determination spreadsheet

<http://www.amif.org/ht/d/sp/i/26870/pid/26870> (American Meat Institute (AMI) Foundation)

Orodje za potrjevanje učinkovitosti specifičnega toplotnega postopka, namenjenega redukciji zaskrbljujočih mikroorganizmov na osnovi časovno-temperaturnega profila.

1.6.3 Orodja za specifične ocene tveganja

JEMRA *Enterobacter sakazakii* in powdered infant formula model

www.mramodels.org/ESAK/RunModel.aspx (Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbial Risk Assessment – JEMRA)

Model je uporabniku prijazno orodje za oceno tveganja dehidriranih mlečnih formul za dojenčke, ki so onesnažene s *Cronobacter spp.* (nekdaj poznan kot *E. sakazakii*). Ta ocena tveganja natančno preiskuje vpliv različnih strategij priprave in rokovanja z mlečnimi formulami na *Cronobacter spp.* in podaja oceno relativnega tveganja za dojenčke.

Australian risk assessment model for *L. monocytogenes* in ready-to-eat meats

http://www.foodrisk.org/exclusives/models/AU_listeria.cfm (Ross et al., 2009)

Model za mikrobiološko oceno tveganja ob uporabi podatkov industrije in drugih raziskav napoveduje koncentracije *L. monocytogenes* v gotovih živilih v času zaužitja.

JEMRA (FAO/WHO) risk management tool for control of *Campylobacter* and *Salmonella spp.* In chicken meat

<http://www.mramodels.org/poultryRMTool/> (Joint FAO/WHO Expert Meetings on Microbial Risk Assessment – JEMRA)

Simulacijsko orodje za upravljanje tveganja, ki je osnovano na Smernicah za nadzor kampilobaktra in salmonele v piščančjem mesu (*Codex Guidelines for the Control of Campylobacter and Salmonella in chicken meat*) in opisuje celotno proizvodnjo do potrošnje. Orodje je namenjeno izračunu

(pre)ostalega oz. rezidualnega tveganja med osnovnim procesom in procesom, ki vključuje izbrane intervencije, kot je opisano v Smernicah. Ukrepi za obvladovanje rezidualnih tveganj se lahko uporabijo za presojo skupne učinkovitosti uporabljenih intervencij.

1.6.4 Viri informacij za oceno tveganja

FoodRisk.org

<http://www.foodrisk.org> (Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition – JIFSAN)

Spletna stran FoodRisk.org je namenjena pomoči strokovnjakom, vključenim v razne aspekte analize tveganja. Spletna stran vsebuje podatke, vaje/seminarje, orodja in povezave do mnogih virov informacij.

1.6.5 Druga orodja

ICMSF sampling plan tool

<http://www.icmsf.org/> (International Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF)

Je preglednica orodij za preiskovanje priporočil glede mikrobioloških načrtov vzorčenja, mednarodne komisije za mikrobiološke specifikacije za živila (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF*), ki temelji na sedmi knjigi ICMSF (ICMSF, 2002; van Schothorst e al. 2009).

Food Handling practices Model

<http://www.foodrisk.org/exclusives/FHPM/>

Model FHPM je računalniška simulacija, ki uporabniku omogoča predvideti oz. oceniti, kako ena ali več sprememb pri ravnanju z živili v trgovinah, gostinskih lokalih ali domačem okolju vpliva na letno število bolezni v povezavi s hrano v ZDA. Model deluje s simulacijo sledenja in štetja porcij hrane, ki postanejo onesnažene z eno ali več patogenimi bakterijami, temu sledi preživetje in rast patogenih mikroorganizmov ter zaužitje hrane, kar ima za posledico bolezni. Model ne sledi in ne šteje obrokov, ki niso onesnaženi s patogenimi mikroorganizmi.

FARE Microbial

http://www.exponent.com/fare_software/ (Exponent Inc)

FARE Microbial je programska oprema za izvedbo probabilistične mikrobiološke ocene tveganja. Program, ki je bil razvit ob sodelovanju Exponent Inc. in US FDA, sestoji iz modulov onesnaženja, rasti in izpostavitve. Program povezuje prehranske vzorce s porazdelitvami izpostavitve. Vključuje algoritme, ki jih je razvila FDA za oceno *L. monocytogenes*, zmožen pa je izvesti oceno tveganja za različne patogene mikroorganizme v povezavi s hrano.

ICRA

<http://www.foodrisk.org>.

Spletno orodje ICRA (*Interactive Catalogue for Risk Assessment*) je vir informacij za oceno tveganja, ki omogoča podrobno primerjalno informacijo o objavljenih ocenah tveganja.

1.7 POMEMBNI KONCEPTI PRI INTERPRETACIJI REZULTATOV MIKROBIOLOŠKE OCENE TVEGANJA

Odvisno od konteksta, kompleksnosti in namena ocene tveganja lahko obseg ovrednotenja vključuje celotno oceno tveganja ali pa tudi ne; metode in orodja se lahko razlikujejo. Kot je bilo že opisano, so rezultati lahko kvalitativni, semi-kvantitativni ali kvantitativni ter lahko predstavljajo izide specifičnih orodij (npr. PMP, programskih orodij za razvrščanje tveganj), posameznih elementov ocene tveganja (npr. ocene izpostavljenosti) ali pa celotne mikrobiološke ocene tveganja.

1.7.1 Kvalitativne in kvantitativne ocene

Uporabljata se dve glavni vrsti ocene tveganja: kvalitativna in kvantitativna mikrobiološka ocena tveganja (Wooldridge, 2008). Za obe vrsti ocen veljajo glede kakovosti enake zahteve v smislu podatkov, modelov, dokumentacije in transparentnosti (Lammerding, 2007), kar pa velja tudi za kvalitativne sheme ocene tveganja, ki so bile razvite v obliki matric. Čeprav so matrice zaradi očitne enostavnosti atraktivne in uporabniku prijazne, je potrebna previdnost zaradi njihovih možnih omejitev. Prepoznane omejitve vključujejo zahtevo po temeljitem in relevantnem znanju uporabnika, probleme pri določanju kategorij in matematične izzive pri združevanju kategorij verjetnosti in resnosti (Lammerding, 2007; Cox, 2008).

1.7.2 Variabilnost in negotovost

Pri ocenah tveganja obstaja več vrst negotovosti, kot npr. negotovost procesa, negotovost modela, negotovost parametrov, statistična negotovost in celo negotovost v variabilnosti (FAO/WHO, 2008). Negotovost procesa se nanaša na negotovost odnosa med živilsko verigo (kot je dokumentirana v oceni tveganja) in procesi, ki se odvijajo v realnosti. Npr. redki, nedokumentirani dogodki pri proizvodnji hrane ali pri vedenjskih vzorcih potrošnikov imajo lahko relevanten vpliv na izpostavitve, ne da bi bili podrobno obravnavani v modelu. Negotovost modela je povezana z načinom, kako je kompleksnost živilske verige poenostavljena in pravilnostjo uporabe pod-modelov, ki so uporabljeni za oceno izpostavitve. Za prikaz živilske verige v modelu je poenostavitev neizogibna; nivo primerne poenostavitve pa je subjektiven. Negotovost parametrov vključuje negotovosti v zvezi z napakami, ki izhajajo iz uporabljenih metod za spremljanje parametrov, npr. napake meritev in vzorčenj. Statistične negotovosti so posledica nepredvidljivih nihanj, ki izhajajo iz dejstva, da je meritev osnovana na omejeni seriji opazovanj (vzorcu).

Veliko vrst negotovosti je težko meriti (npr. negotovost modela). V nekaterih primerih so samo tiste negotovosti, ki jih realno lahko merimo, vključene v oceno; torej je nepravilno zaključevati, da je bila negotovost kvantificirana. Pogosto se za to negotovost potem domneva, da je edini vir negotovosti, medtem ko so bile druge negotovosti enostavno zapostavljene ali izključene.

Pomembno se je zavedati, da se variabilnost pojavlja na mnogih nivojih. Variabilnost je lahko v genski zasnovi, celicah, času, prostoru, eksperimentalnih pogojih. Ključno je, da je skupni imenovalec variabilnosti definiran in da variabilnosti iz različnih virov niso združene brez natančne obravnave (FAO/WHO, 2008).

Za oceno tveganja je variabilnost pomembna, saj je tveganje za zdravje končne populacije izraženo s povprečnim tveganjem kot izračunom iz porazdelitve, ki opisuje variabilnost zaužitih odmerkov. Torej bo povprečno tveganje določilo tveganje za zdravje populacije potrošnikov ali tveganost živilskih proizvodov. Zaradi ločitve variabilnosti in negotovosti pri oceni tveganja je pomembno, da so rezultati prevedeni oz. interpretirani upravljavcem tveganja na način, da bodo njihove odločitve jasne oz. nedvoumne. Individualna variabilnost je lahko specifično relevantna za upravljavca tveganja, ki hoče zaščititi specifične občutljive skupine. Z ozirom, da ocena variabilnosti ne razkrije tveganja za populacijo, negotovost vedno obstaja, kar mora upravljavec pri komuniciranju svojih odločitev vzeti v obzir.

1.7.3 Analiza občutljivosti in negotovosti

Za interpretacijo rezultatov ocene tveganja je pomembno, da so prikazani vplivi parametrov in predpostavke rezultatov (CAST, 2006). Za kvantitativno oceno tveganja se za ta namen uporabljata analizi občutljivosti in negotovosti, ki sta orodji za informiranje upravljavcev tveganja z izidi ocene.

Analiza občutljivosti določa stopnjo vpliva določenega vložka (*input*) ali variabilnosti vložka, na vrednost ali variabilnost izhoda (*output*) in tako pomaga določiti stopnje v procesu, kjer je zbiranje dodatnih podatkov najbolj koristno, kje v procesu ima spremljanje kritičnih stopenj največjo vrednost in kje bodo omilitvene strategije najbolj učinkovite. Metode analize občutljivosti so bile revidirane in ovrednotene (Frey in Patil, 2002).

Analiza negotovosti je namenjena ugotavljanju prispevka negotovosti v povezavi z vhodnim parametrom k stopnji negotovosti pri karakterizaciji tveganja. Stopnjo, do katere vhodna negotovost v modelu vpliva na izhodno negotovost, lahko uporabimo za razvrščanje oz. rangiranje negotovosti. Ta informacija je lahko koristna za osredotočanje raziskav ali zbiranja podatkov, kar lahko bolj učinkovito zmanjša izhodno negotovost modela.

1.7.4 Viri variabilnosti in negotovosti v napovedovalni (prediktivni) mikrobiologiji

Pri kvantitativni mikrobiološki oceni tveganja se pogosto uporabljajo prediktivni modeli za zapolnjevanje podatkovnih vrzeli, za kar bi drugače potrebovali bolj obsežne zbirke podatkov. Npr. - čeprav je število patogenih bakterij v živilu na nivoju prodaje oz. v prometu morda znano, število bakterij takoj pred zaužitjem po navadi ni. Pomembno je razumeti, da imajo prediktivni mikrobiološki modeli omejitve; npr. negotovosti, ki spremljajo napovedi, niso vedno dane in napovedane vrednosti nujno ne predstavljajo dejanske situacije, v kolikor modeli niso bili potrjeni/validirani (FAO/WHO, 2008). Omejitve izhajajo iz metodoloških omejitev, omejitev zasnove modela in odnosa živilo/mikroorganizem, ki ga modeliramo (Ross, 1999). Najpomembnejše metodološke napake, ki prispevajo k skupni napaki prediktivnega modela, so napake homogenosti in popolnosti. Napake homogenosti se pojavljajo, ker večina živil ni homogena v smislu pogojev za mikroorganizme, česar večina sedanjih modelov ne upošteva. Napake popolnosti se pojavljajo, ker model predstavlja poenostavitev realnosti in zaradi praktičnih razlogov vključuje le omejeno število okoljskih faktorjev, npr. modeli lahko ne vključujejo učinkov mikrobne ekologije (npr. kompetitivnosti), kar je težko kvantificirati (Ross, 1999). Dodatne vrste napak, ki prispevajo k skupni napaki modela, so napake v delovanju modela, napake meritev in napake izračunov.

1.7.5 Primernost za namen: uporabnost in utemeljenost

Najpomembnejši atribut mikrobiološke ocene tveganja je, da služi svojemu namenu (*»Fit for purpose«*), tj. da v sprejemljivem času odgovarja na vprašanja upravljavcev tveganja in izboljša proces odločanja (Lammerding, 2007; Dennis et al., 2008). Najprimernejši pristop in vrsta mikrobiološke ocene tveganja se bo razlikovala glede na naravo problema, njegovega konteksta in kompleksnosti, uporabnosti izidov, urgentnosti odločitev upravljavcev tveganja, vpletenost deležnikov in drugih faktorjev. Kompleksni (npr. probabilistični, kvantitativni) pristopi ocene tveganja niso po definiciji boljši kot enostavni (npr. deterministični, kvalitativni), oboji imajo namreč svoje prednosti (Zwietering, 2009). Analiza naj bo čim enostavnejša, s tem, da ohranja primeren prikaz problema in podaja smiselno oceno tveganja (Morgan in Henrion, 1990).

Časovni okviri in razpoložljivi viri vplivajo na ovrednotenje, kar lahko vpliva na kakovost mikrobiološke ocene tveganja, zato je nujno učinkovito vzajemno delovanje med upravljavci in ocenjevalci tveganja. V proces zagotavljanja kakovosti ocene oz. orodja za oceno se je treba usmerjati vnaprej. Ključna načela in koncepti se nanašajo na transparentnost, jasnost, konsistentnost, razumnost, uporabnost in utemeljenost (EFSA, 2009; USEPA, 2000; Lammerding, 2007). *»Uporabnost«* se nanaša na namen ocene tveganja, medtem ko se *»utemeljenost«* nanaša na resničnost ali pravilnost mikrobiološke ocene tveganja.

1.7.6 Interpretacija rezultatov ocene tveganja

Standardni nabor navodil za interpretacijo rezultatov ocene tveganja oz. nevarnosti trenutno ne obstaja. Zaradi različnih vrst ocen in orodij je navodila težko normirati. Ne glede na to pa se mora postopek interpretacije rezultatov osredotočiti na aktivnosti za ovrednotenje uporabnosti in utemeljenosti ocene tveganja (Lammerding, 2007).

Enostavno povedano, za interpretacijo rezultatov mora ovrednotenje odgovoriti na tri vprašanja:

1. Kaj je namen ali cilj ocene?
2. Kako je ocena izvedena?
3. Kaj rezultati pomenijo oz. nakazujejo uporabniku?

Relevantna informacija kot tudi obseg ovrednotenja tveganja bo odvisna od izidov popolne ocene tveganja, dela ocene tveganja, prediktivnega mikrobiološkega modela ali orodja za razvrščanje/rangiranje tveganj.

Interpretacijo rezultatov ocene tveganja predstavlja zadnja stopnja – karakterizacija tveganja; združuje informacije predhodnih faz ocene tveganja in sintetizira zaključek o tveganju, ki je celosten, informativen in uporaben za upravljavce tveganja. Karakterizacija tveganja v svojem bistvu pojasnjuje presojo ocenjevalca o naravi in obstoju tveganja za zdravje (USEPA, 2000). Nujni element kakovostne ocene tveganja je uporaba dobre prakse pri podatkih, modelih in postopkih ter obravnavi negotovosti in variabilnosti. Pri promociji kakovosti rezultatov pa je ključna transparentnost ocene, ki mora zagotavljati, da uporabnik razume posamezne korake, logiko razvoja ocene, ključne predpostavke ter omejitve in odločitve, ki vodijo k izidu (CAST, 2006).

Čeprav izidov in rezultatov ocene tveganja ali orodij za oceno tveganja ne moremo obravnavati kot absolutnih in odločitev ne moremo osnovati izključno na teh izidih, je jasno, da ta orodja izpolnijo pomembno vlogo in izboljšajo proces odločanja. Negotovost napovedovanja ali ocenjevanja tveganja je lahko velika; v večini primerov je to posledica narave vprašanj in obstoječega znanja in ni posledica »orodij«. Poleg tega je znanje o dimenziji negotovosti, čeprav veliki, koristna informacija za marsikatero odločitev.

1.8 VIRI

Baranyi, J., Roberts, T.A. in McClure, P. (1993). A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiology*, 10(1), str. 43-59.

Baranyi, J. in Roberts, T.A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3-4), str. 277-294.

Bassett, J., Nauta, M., Lindqvist, R. in Zwietering, M. (2012). *Tools for Microbiological risk assessment*. ILSI Europe. (ILSI Europe Report Series).

- Brynstad, S., Braute, L., Luber, P., Braute, L. in Bartelt, E. (2008). Quantitative microbiological risk assessment of campylobacteriosis cases in the German population due to consumption of chicken prepared in home. *International Journal of Risk Assessment and Management*, 8(3), str. 194-213.
- Buchanan, R.L., Whiting, R.C. in Damert, W.C. (1997). When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, 14(4), str. 313-326.
- Buchanan, R.L., Smith, J.L. in Long, W. (2000). Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 58(3), str. 159-172.
- Buchanan, R.L., Havelaar, A.H., Smith, M.A., Whiting, R. C. in Julien, E. (2009). The key events dose-response framework: its potential for application to foodborne pathogenic microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(8), str. 718-728.
- CAC (1999). Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. Document CAC/GL-30. [na spletu] Rome: FAO. Dostopno 7. 6. 2016 na: <http://www.fao.org/docrep/005/y1579e/y1579e05.htm>.
- CAC (2004). Procedural manual, fourteenth edition. Rome: FAO.
- Calistri, P. in Giovannini, A. (2008). Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis related to the consumption of chicken meat in two Italian regions. *International Journal of Food Microbiology*, 128(2), str. 274-287.
- Cassin, M.H., Lammerding, A.M., Todd, E.C., Ross, W., in McColl, R.S. (1998). Quantitative risk assessment for Escherichia coli O157:H7 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology*, 41(1), str. 21-44.
- CAST (2006). Using risk analysis to inform microbial food safety decisions. Issue Paper 31. Ames, Iowa: CAST.
- Chen, Y., Jackson, K.M., Chea, F.P. in Schaffner, D.W. (2001). Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food service tasks. *Journal of Food Protection*, 64(1), str. 72-80.
- Cooke, R.M. (1991). Experts in uncertainty: Opinion and subjective probability in science. New York: Oxford University Press.
- Cooke, R.M. in Goossens, L.H.J. (2000). Procedures guide for structured expert judgment. Report EUR18820. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Cox, L.A. Jr. (2008). What's wrong with risk matrices?. *Risk Analysis*, 28(2), str. 497-512.
- de Jong, A.E.I., Verhoeff-Bakkenes, L., Nauta, M.J. in De Jonge, R. (2008). Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *Journal of Applied Microbiology*, 105(2), str. 615-624.
- den Aantrekker, E.D., Beumer, R.R., van Gerwen, S.J., Zwietering, M.H., van Schothorst, M. in Boom, R. M. (2003). Estimating the probability of recontamination via the air using Monte Carlo simulations. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1-2), str. 1-15.

Dennis, S.B., Kause, J., Losikoff, M., Engeljohn, D.L. in Buchanan, R.L. (2008). Using risk analysis for microbial food safety regulatory decision making. In: D. Schaffner, ur., *Microbial Risk Analysis of Foods*. Washington, DC: ASM Press, str. 137-175.

EFSA (2009). Transparency in risk assessment – scientific aspects. Guidance of the Scientific Committee on Transparency in the scientific aspects of risk assessments carried out by EFSA. Part 2: General principles. *The EFSA Journal*, 1051: 1–22.

Evers, E.G. in Chardon, J.E. (2010). A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool. *Food Control*, 21(3), str. 319-330.

FAO/WHO (2003). Hazard characterization for pathogens in food and water: Guidelines. Microbiological Risk Assessment Series 3. Geneva: WHO Press.

FAO/WHO (2008). Exposure assessment of microbiological hazards in foods: Guidelines. Microbiological Risk Assessment Series No. 7. Geneva: WHO Press.

Fazil, A.M. (2005). A primer on risk assessment modelling: focus on seafood products. FAO Fisheries Technical Paper, 462: 56.

FDA (2005). Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters.

FDA/USDA/CDC. (2003) Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health from Foodborne *Listeria monocytogenes* Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN), USDA Food Safety and Inspection Service (FSIS), and Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Washington, DC.

Christopher Frey, H. in Patil, S.R. (2002). Identification and review of sensitivity analysis methods. *Risk Analysis*, 22(3), str. 553-578.

Geeraerd, A.H., Valdramidis, V.P. in Van Impe, J.F. (2005). GlnaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102(1), str. 95-105.

Haas, C.N., Rose, J.B. in Gerba, C.P. (1999). *Quantitative microbial risk assessment*. New York: John Wiley and Sons.

ICMSF (2002). *Microorganisms in foods 7: Microbiological testing in food safety management*. New York: Kluwer Academic/Plenum.

Koseki, S. (2009). Microbial responses viewer (MRV): A new ComBase derived database of microbial responses to food environments. *International Journal of Food Microbiology*, 134(1-2), str. 75-82.

Kusumaningrum, H.D., Van Asselt, E.D., Beumer, R.R. in Zwietering, M.H. (2004). A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surfaces. *Journal of Food Protection*, 67(9), str. 1892-1903.

Lammerding, A. (2007). Using microbiological risk assessment (MRA) in food safety. Summary report of a workshop in Prague, Czech Republic, October 2006. ILSI Europe Report Series. ILSI Europe, Brussels.

- Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K. in Bartelt, E. (2006). Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(1), str. 66-70.
- McKellar, R.C. in Lu, X. (2004). *Modeling microbial responses in food*. Boca Raton: CRC.
- McMeekin, T.A., Chandler, R.E., Doe, P.E., Garland, C.D., Olley, J., Putro, S. et. al. (1987). Model for combined effect of temperature and salt concentration/water activity on the growth rate of *Staphylococcus xylosum*. *Journal of Applied Bacteriology*, 62(6), str. 543-550.
- Montville, R., Chen, Y. in Schaffner, D.W. (2001). Glove barriers to bacterial cross-contamination between hands to food. *Journal of Food Protection*, 64(6), str. 845-849.
- Morgan, M.G. in Henrion, M. (1990). *Uncertainty: A guide to dealing with uncertainty in quantitative risk and policy analysis*. New York: Cambridge University Press.
- Nauta, M.J. (2005). Risk assessment modelling of the food handling processes mixing and partitioning. *International Journal of Food Microbiology*, 100, str. 311-322.
- Nauta, M.J., Fischer, A.R., Van Asselt, E.D., De Jong, A. E., Frewer, L. J. in De Jonge, R. (2008). Food safety in the domestic environment: the effect of consumer risk information on human disease risks. *Risk Analysis*, 28(1), str. 179-192.
- Nauta, M., Hill, A., Rosenquist, H., Brynestad, S., Fetsch, A., van der Logt, et al. (2009). A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *International Journal of Food Microbiology*, 129(2), str. 107-123.
- Ratkowsky, D.A. (1990). *Handbook of nonlinear regression models*. New York: Marcel Dekker, str. 181-192.
- Reij M.W., den Aantrekker E.D. in ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *International Journal of Food Microbiology*, 91(1): 1–11.
- Ross, T. (1999). *Predictive microbiology for the meat industry*. Meat and Livestock Australia, Sydney.
- Ross, T. in Sumner, J. (2002). A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. *International Journal of Food Microbiology*, 77(1-2), str. 39-53.
- Ross, T in Dalgaard, P. (2004). Secondary models. In: McKellar, R.C. in Lu, X., ur., *Modeling microbial responses in food*. Boca Raton: CRC, str. 63-150.
- Ross, T., Rasmussen, S. in Sumner, J. (2009). Using a quantitative risk assessment to mitigate risk of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 131: 128-137.
- Rosso, L., Lobry, J.R. in Flandrois, J.P. (1993). An unexpected correlation between cardinal temperatures of microbial growth highlighted by a new model. *Journal of Theoretical Biology*, 162(4), str. 447-463.

Rosso, L., Lobry, J.R., Bajard, S. in Flandrois, J.P. (1995). Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2), str. 610-616.

Rosso, L. in Robinson, T.P. (2001). A cardinal model to describe the effect of water activity on the growth of moulds. *International Journal of Food Microbiology*, 63(3), str. 265-273.

Schaffner, D.W. (2004). Mathematical frameworks for modelling *Listeria* cross- contamination in food-processing plants. *Journal of Food Science*, 69(6), str. R155-R159.

U.S. Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) in U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (2012). Microbial Risk Assessment Guideline: Pathogenic Organisms with Focus on Food and Water. FSIS Publication No. USDA/FSIS/2012-001; EPA Publication No. EPA/100/J12/001.

USEPA (2000). Risk characterization. Science Policy Council handbook. [na spletu] Washington, DC: USEPA, Office of Research and Development. Dostopno 7. 6. 2016 na: <http://www.epa.gov/spc/pdfs/rchandbk.pdf> .

Teunis, P.F.M., Heijden, O.G., van der Giessen, J.W.B. in Havelaar, A.H. (1996). The dose-response relation in human volunteers for gastro-intestinal pathogens. Rapport number 284550002, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven.

Teunis, P.F., Nagelkerke, N.J in Haas, C.N. (1999). Dose response models for infectious gastroenteritis. *Risk Analysis*, 19(6), str. 1251-1260.

Van Asselt, E.D., de Jong, A.E.I., de Jonge, R. in Nauta, M. J. (2008). Cross-contamination in the kitchen: Estimation of transfer rates for cutting boards, hands and knives. *Journal of Applied Microbiology*, 105(5), 1392-1401.

Van der Fels-Klerx, H.J., Cooke, R.M., Nauta, M.N., Goossens, L. H. in Havelaar, A. H. (2005). A structured expert judgment study for microbiological risk assessment on campylobacter transmission during broiler chicken processing. *Risk Analysis*, 25(1), str. 109-124.

Van Gerwen, S.J.C., de Wit, J.C., Notermans, S. in Zwietering M.H. (1997). An identification procedure for foodborne microbial hazards. *International Journal of Food Microbiology*, 38(1), str. 1-15.

Van Schothorst, M., Zwietering, M.H., Ross, T., Buchanan, R.L. in Cole, M. B. (2009). Relating microbiological criteria to food safety objectives and performance objectives. *Food Control*, 20(11), str. 967-979.

Wooldridge, M. (2008). Qualitative risk assessment. In: D. Schaffner, ur., *Microbial risk analysis of foods*. Washington, DC: ASM Press, str. 1-28.

Zwietering, M.H., Wijtzes, T., de Wit, J.C. in van't Riet, K. (1992). A decision support system for prediction of the microbial spoilage in foods. *Journal of Food Protection*, 55(12), str. 973-979.

Zwietering, M.H. in Havelaar, A.H. (2006). Dose-response relationships and foodborne disease. In: M. Potter, ur., *Food consumption and disease risk: Consumer-pathogen interactions*. Cambridge: Woodhead Publishing, str. 422-439.

Zwietering, M.H. (2009). Quantitative risk assessment: is more complex always better? Simple is not stupid and complex is not always more correct. *International Journal of Food Microbiology*, 134(1-2), str. 57-62.

2 SPLOŠNA NAVODILA ZA TOKSIKOLOŠKO OCENO TVEGANJA

Lucija Perharič, Mateja Bolčič Tavčar, Tanja Fatur

2.1 UVOD

Toksikologija – veda o strupih – je stara toliko kot človeški rod. V preteklosti je bila pretežno veščina uspešnega zastrupljanja z rastlinskimi, živalskimi ali mineralnimi strupi, bodisi pri lovu, v vojnah ali pa v vsakdanjem življenju. Dandanes je ključna naloga toksikologije zagotavljanje čim varnejše uporabe kemikalij. Od druge polovice 19. stoletja smo priče strmo naraščajoči uporabi kemikalij na praktično vseh področjih človekovega delovanja in bivanja. Z naraščajočo uporabo kemikalij je postajalo vse pomembnejše zavedanje o njihovih morebitnih neželenih učinkih, ugotavljanju le teh, razumevanje osnovnih mehanizmov strupenosti in iskanje ukrepov za zmanjšanje morebitne škode. Posledično se je razvijala sodobna toksikologija. Pomemben mejnik je tragedija s talidomidom. Talidomid so v 50. letih prejšnjega stoletja predpisovali za lajšanje slabosti v prvem tromesečju nosečnosti. Izkazalo se je, da je talidomid teratogen (lahko poškoduje zarodek v zgodnji nosečnosti, ne da bi škodoval nosečnici), zato so se rodili številni otroci s pohabljenimi udi. Posledično je bil uveden strog nadzor zdravil, ki mu je sledil nadzor aditivov v živilih, pesticidov in industrijskih kemikalij (STD, 2010).

Kemikalije so sestavine zraka, vode, kamnin, prsti, živil, zdravil, mamil, gnojil, sredstev za zatiranje škodljivcev in predmetov splošne rabe, npr. barv in lakov, čistil, črnil, električnih in elektronskih naprav, embalaže, gradbenih materialov, igrač, kozmetike in sredstev za osebno higieno, kuhinjskih pripomočkov, lepil, oblačil in obutve, orodja, orožja, papirja, pohištva, talnih in stenskih oblog, topil, vozil, plovil itd. Zaradi naravnih danosti ter antropogenih dejavnosti, npr. industrije, energetike, gradbeništva, kmetijstva, kulturne in umetniške produkcije, prometa, rudarstva, strojništva, šolstva in športa, trgovanja, vojskovanja, zabave, zdravstva, znanstvenega raziskovanja ter s temi dejavnostmi povezanega ustvarjanja in odlaganja odpadkov, so kemikalije v našem širšem in ožjem bivalnem okolju, v ljudeh in v drugih organizmih.

Kemikalije so različnih oblik in velikosti, izhajajo iz različnih naravnih in umetnih virov, z njimi prihajamo v stik v različnih okoliščinah. Naravne in umetne kemikalije so kot elementi, izotopi, anorganske in organske spojine, zlitine in zmesi prisotne povsod. Kemikalije so celosten del organizmov in življenjskih procesov. Kemikalije so preproste, kot so ogljik, kisik, voda, kuhinjska sol ali zapletene, kot so beljakovine in deoksiribonukleinska kislina. Vse kemikalije iz kateregakoli vira, naravne ali umetno izdelane, so pri nekem odmerku potencialno varne in vse so pri nekem odmerku potencialno strupene. To je temelj toksikologije, ocene tveganja in varne uporabe kemikalij (Timbrell, 2008).

Toksikološka ocena tveganja (TOT) je sestavni del analize tveganja, ki poleg ocene tveganja vključuje tudi upravljanje s tveganji in komunikacijo tveganja. TOT je znanstveni postopek, s katerim kvalitativno ali kvantitativno ocenimo verjetnost za nastanek škodljivih posledic na zdravje zaradi izpostavljenosti kemikalijam. Namen TOT je varna uporaba kemikalij ter preprečevanje in zmanjševanje bolezni in poškodb, ki lahko nastanejo kot posledica izpostavljenosti kemikalijam. Ker so popolne informacije o

določeni kemikalij redko na voljo, se za varovanje javnega zdravja TOT izvaja na način, ki tveganje preceni (IPCS, 2010), iz česar sledi, da je previdnostni princip sestavni del TOT.

Predno nove kemikalije in njihovi pripravki dobijo dovoljenje za uporabo, je njihovo varnost potrebno preveriti z oceno nevarnosti in oceno tveganja za zdravje pri predvideni izpostavljenosti. Za nove kemikalije se tveganje oceni v omejeni obliki že v procesu raziskovanja in razvoja z namenom varovanja zdravja delavcev v proizvodnji. Ne glede na to kako obširne so študije, preden se kemikalija pojavi v široki uporabi, je nemogoče natančno predvideti vse možne škodljive posledice, njihov obseg in pogostost. Poleg novih kemikalij smo preko različnih segmentov okolja, hrane in predmetov splošne rabe izpostavljeni tudi velikemu številu obstoječih kemikalij. Zato je potrebno budno spremljanje in ukrepanje, tkim. toksikovigilanca. Toksikovigilanca je obsežen proces, ki vključuje: zbiranje informacij o kemikalijah, njihovih morebitnih učinkih, informacij o izpostavljenosti, ocenjevanje tveganja, pripravo predlogov za aktivnosti, ki izboljšajo kemijsko varnost, spremljanje učinkovitosti tovrstnih aktivnosti ter posredovanje informacij strokovni in splošni javnosti (STD, 2010).

Ocenjuje se, da je v uporabi približno 100.000 kemikalij, od tega jih je skoraj 80.000 brez ustreznega toksikološkega profila (Simon, 2014). Po podatkih Ameriškega kemijskega društva je bilo leta 2015 znanih 100 milijonov kemikalij (CAS, 2015), zato pričakujemo nadaljnji intenzivni razvoj metodoloških pristopov za izvedbo TOT.

2.1.1 Opredelitev problema in načrt izvedbe

Pred začetkom ocenjevanja opredelimo (potencialni) zdravstveni problem v povezavi z določeno kemikalijo in ga umestimo v javnozdravstveni kontekst, namen in cilj določene ocene tveganja, pravno podlago, kot tudi možnosti ukrepov za zmanjševanje morebitnega tveganja. Pri načrtovanju pristopa in obsega je nujno sodelovanje upravljalcev s tveganji in komunikatorjev tveganja (van Leeuwen, 2007).

Nezadostno sodelovanje med ocenjevalci tveganja in upravljalci s tveganji ter neusklajeno komuniciranje lahko povzroči nepotrebno zaskrbljenost, kot se je zgodilo v primeru odkritja ostankov nelegalno izdelanih veterinarskih zdravil za zdravljenje varoe v slovenskem medu. Pri tem dogodku je bila glavno gonilo ocene tveganja neprimerna in strokovno pomanjkljiva začetna komunikacija (Fatur et al., 2016a).

Razpoložljivi človeški in tehnični viri za izvedbo ocen tveganja so pogosto omejeni, zato je nujno, da se jih čim bolj racionalno uporabi, k čemur pomembno prispeva dober načrt izvedbe vključno z načrtom komuniciranja. Še tako ustrezno izvedena ocena tveganja in upravljanje s tveganji bosta manj učinkovita, kot bi bila ob ustreznem komuniciranju, zato mora biti komunikacija pravočasna, redna, temeljita, nedvoumna, nepristranska, vzajemna in resnična (Fatur et al., 2016b).

Pri načrtu izvedbe določimo obseg ocene, nujne podatke in informacije, način pridobivanja le teh, število in vrsto strokovnjakov, ki jih vključimo v posamezno oceno in časovni okvir za izdelavo ocene. Za zagotavljanje preglednosti in kompletnosti predlagamo uporabo enotnega formata (Priloga 2).

2.1.2 Zakonske podlage, strokovne podlage, drugi viri podatkov in informacij

2.1.2.1 Zakonske podlage

Prvotne zakonske podlage ocen tveganja kemijskih dejavnikov iz okolja so bile v EU in ZDA zasnovane v 60. in 70. leta prejšnjega stoletja (ECB-IHCP, 2003; Simon, 2014). Zakonodaja s področja kemijske varnosti je obsežna. Na tem mestu navajamo krovne pravne akte, medtem ko so specifični navedeni v posameznih poglavjih:

- Direktiva 2001/95/ES Evropskega parlamenta in sveta z dne 3. decembra 2001 o splošni varnosti proizvodov;
- Uredba Evropskega Parlamenta in Sveta št. 850/2004 z dne 29. aprila 2004 o obstojnih organskih onesnaževalih in spremembi Direktive 79/117/EGS;
- Uredba št. 1907/2006 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 18. decembra 2006 o registraciji, evalvaciji, avtorizaciji in omejevanju kemikalij (REACH),
- Uredba št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, o spremembi in razveljavitvi direktiv 67/548/EGS in 1999/45/ES ter spremembi Uredbe št. 1907/2006 oz. CLP uredba s spremembami.
- Uredba št. 1107/2009 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 21. oktobra 2009 o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet in razveljavitvi direktiv Sveta 79/117/EGS in 91/414/EGS;
- Uredba št. 1223/2009 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 30. novembra 2009 o kozmetičnih izdelkih,
- Uredba št. 528/2012 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 22. maja 2012 o dostopnosti na trgu in uporabi biocidnih proizvodov.

2.1.2.2 Strokovne podlage

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) že desetletja pripravlja in objavlja strokovne, neodvisne in na znanstvenih dokazih temelječe osnovne in specifične metodološke pristope v zvezi z različnimi elementi TOT

(<http://inchem.org/>, http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/methodology_alphabetical/en/, <http://publications.iarc.fr/>, <http://www.who.int/topics>).

Med temeljne strokovne podlage za TOT sodijo še smernice in mnenja:

- Evropskega urada za kemikalije in Inštituta za zdravje in zaščito potrošnikov (ECB-IHCP, 2003), Evropske agencije za kemikalije (ECHA, 2017), odbora za oceno tveganja (RAC) pri ECHA (<https://echa.europa.eu/about-us/who-we-are/committee-for-risk-assessment>),
- Evropske agencije za okolje (EEA) (<https://www.eea.europa.eu/>),
- Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) (<https://www.efsa.europa.eu/>),
- Evropske agencije za varnost in zdravje pri delu (<https://osha.europa.eu/>),
- Evropske agencije za zdravila (<http://www.ema.europa.eu/ema/>),
- Raziskovalnega vozlišča EU (<https://ec.europa.eu/jrc/en>),
- Organizacije za ekonomsko sodelovanje in razvoj (OECD) za testiranje kemikalij (OECD, 2012).
- Znanstvenih odborov evropske komisije, kot sta npr. Znanstveni odbor za zdravje, okolje in porajajoča se tveganja (SCHEER) in Znanstveni odbor za varstvo potrošnikov (SCCS) (https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/latest_opinions_en).

2.1.2.3 Drugi viri podatkov in informacij

Poleg dokumentov navedenih v 2.1.2.1 in 2.1.2.2 lahko izvirajo vhodni podatki in informacije za izdelavo TOT iz različnih drugih virov, kot so:

- izvidi, npr. strokovnih mnenj, zdravniških pregledov, analitskih preizkušanj, ki jih predložijo naročniki,
- rezultati eksperimentalnih študij, ki jih predložijo vlagatelji,
- znanstveni, strokovni in pregledni članki iz recenziranih revij (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>),
- monografije, knjige, učbeniki in enciklopedije;
- dokumenti nacionalnih inštitucij pristojnih za TOT, npr. iz
 - Avstrije (<https://www.ages.at/en/healthy-life-for-humans-animals-and-plants/>, <http://www.umweltbundesamt.at/en/>),
 - Avstralije (<http://www.sgs.com.au/en-gb/consumer-goods-retail/hardgoods/stationery-and-office-supplies/testing/toxicological-risk-assessment-tra>),
 - Danske ([http://orbit.dtu.dk/en/organisations/division-of-toxicology-and-risk-assessment\(66f1bf91-fab3-4ade-b60d-a35eaebb5ec9\).html](http://orbit.dtu.dk/en/organisations/division-of-toxicology-and-risk-assessment(66f1bf91-fab3-4ade-b60d-a35eaebb5ec9).html)),
 - Francije (<https://www.anses.fr/en>),
 - Kanade (<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/canada-approach-chemicals/risk-assessment.html>),
 - Nemčije (<http://www.bfr.bund.de/en/home.html>, <https://www.umweltbundesamt.de/en>),
 - Nizozemske (<http://www.rivm.nl/en/>),
 - Slovenije (<http://www.nijz.si/>, <http://www.nlzoh.si>, <https://www.onko-i.si/rrs/>, <http://www.uk.gov.si/>, <http://www.uvhvvr.gov.si/>, <http://www.arso.gov.si/>, <http://www.tox.si/>, <http://ktf.si/center-za-klinicno-toksikologijo-in-farmakologijo/>),
 - Švedske (<http://www.kemi.se/en>),
 - Združenega kraljestva (<http://www.food.gov.uk/>, <http://www.hse.gov.uk/>),
 - ZDA (<http://www.atsdr.cdc.gov/>, <https://www.epa.gov/iris/>, <https://www.epa.gov/risk>, <https://www.osha.gov/>, <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/default.htm>, <http://toxnet.nlm.nih.gov/>, <https://toxtutor.nlm.nih.gov/06-003.html>).

Številni viri s področja ocenjevanja tveganja se redno posodabljaajo, zato priporočamo ustrezno sprotno spremljanje.

Pridobivanje podatkov in informacij je ena od kritičnih dejavnosti, saj je kakovost TOT odvisna od kakovosti vhodnih podatkov in informacij. Zato je pomembno, da se zbiranja podatkov in informacij lotimo sistematično in da uporabljamo zanesljive vire.

Pri izbiri vhodnih podatkov in informacij je potrebno le te pregledati in presoditi njihovo kakovost (Glej 2.2.4), saj je na voljo ogromno podatkov in informacij, ki niso nujno z dokazi podprti, znanstveno utemeljeni in zanesljivi.

2.2 TOKSIKOLOŠKA OCENA TVEGANJA

Tveganje je verjetnost, da se zaradi izpostavljenosti kemikaliji pojavi škodljivi učinek. Ocena tveganja je znanstveni proces, s pomočjo katerega sta določeni stopnja in narava tveganja. Če kemikaliji nismo izpostavljeni, ni tveganja. Tveganje lahko zmanjšamo, če zmanjšamo izpostavljenost. Izpostavljenost lahko zmanjšamo tako, da zmanjšamo odmerek ali skrajšamo trajanje izpostavljenosti. Če kemikalija ni škodljiva (nevarna), kar pomeni, da je količina, potrebna za povzročitev škode, izredno velika, potem je pri običajni izpostavljenosti tveganje nadvse majhno, dejansko nikakršno. Za oceno tveganja moramo poznati nevarnost (škodljivost) kemikalije in količino, ki smo ji izpostavljeni v danem časovnem obdobju. Matematično to lahko zapišemo takole: tveganje = nevarnost x izpostavljenost (Timbrell, 2008).

2.2.1 Fizikalno kemijske lastnosti

Identiteto kemikalije (kemične snovi, substance, učinkovine) opredelimo s kemijskim imenom, CAS številko, molekulsko in strukturno formulo. Smernice OECD za testiranje kemikalij podrobno opisujejo postopke določanja fizikalno-kemijskih lastnosti (OECD, 2012).

Poznavanje fizikalno-kemijskih lastnosti, kot so molekulska masa, oblika, barva, vonj, relativna gostota, plamenišče, eksplozivne in oksidacijske lastnosti, pH in pK_a , topnost v vodi in drugih topilih, porazdelitveni količnik oktanol/voda ($\log P_{o/w}$), hlapnost, Henryjeva konstanta, viskoznost, površinska napetost, čistota itd., je potrebno tako za oceno nevarnosti kot za oceno izpostavljenosti. Na podlagi fizikalno kemijskih lastnosti lahko predvidimo poti vnosa in obnašanje v organizmih, ocenimo emisije in predvidimo obnašanje in usodo kemikalije v okolju. Informacije o fizikalno kemijskih lastnostih potrebujemo tako za načrtovanje eksperimentalnih študij kot scenarijev izpostavljenosti (ECB-IHCP, 2003). Izčrpen prikaz uporabe informacij o fizikalno kemijskih lastnostih kemikalij za napoved poti izpostavljenosti in toksikokinetike tudi v primeru, ko nimamo na voljo eksperimentalnih podatkov, je v prilogi 4 Tehničnih smernic ECB-IHCP (2003).

2.2.2 Ocena nevarnosti

Nevarnost je inherentni potencial kemikalije, da povzroči škodljivi učinek (strupenost). Podatki o nevarnosti neke kemikalije ne pomenijo, da avtomatično obstaja tveganje za zdravje. Vsaka kemikalija je pri dovolj velikem odmerku nevarna, ali kot je pred pol stoletja zapisal Paracelsus: »Vse je strup. Nič ni, kar ni strup. Le odmerek loči strup od zdravila.« (Timbrell, 2008).

Ocena nevarnosti (angl. *hazard assessment*) ima dva koraka, identifikacijo nevarnosti (angl. *hazard identification*) in karakterizacijo nevarnosti (angl. *hazard characterisation*). Ocena nevarnosti je podlaga za razvrstitev kemikalije in za določitev referenčnih (varnih) odmerkov, ki so izhodišče za karakterizacijo tveganja.

2.2.2.1 Identifikacija nevarnosti

Identifikacija nevarnosti je ugotavljanje vrste škodljivega učinka v odvisnosti od načina stika oziroma poti vnosa kemikalije v organizem ter od velikosti odmerka. Učinki kemikalije so lahko lokalni, omejeni na posamezne organe ali organske sisteme, lahko pa so sistemski. Organ, ki ga kemikalija poškoduje, imenujemo tarčni organ (angl. *target organ*). Stik s kemikalijo je lahko lokalni, to je stik s kožo, očmi ali dihali. Vnos v organizem lahko poteka preko prebavil, dihal, kože, oči ali parenteralno, to je z injiciranjem v podkožje, mišičje, žilni sistem ali direktno v telesne votline. Do parenteralnega vnosa pride v primeru onesnaževal iz okolja in hrane le izjemoma.

Po definiciji SZO je škodljivi učinek (ang. *adverse effect*) sprememba v morfologiji, rasti, razvoju, razmnoževanju ali življenjski dobi organizma ali (sub)populacije, ki vodi v zmanjšano funkcionalno kapaciteto ali zmanjšano kompenzacijsko rezervo ob dodatnem stresu ali večjo občutljivost za druge vplive (WHO/IPCS, 2009).

Nevarnost ugotavljamo na podlagi vseh dostopnih podatkov in informacij o učinkih glede na pot vnosa, odmerek, vrsto organizma, spol, življenjsko obdobje in trajanje izpostavljenosti (ECB-IHCP, 2003). Najpogosteje so osrednji vir podatkov in informacij za ugotavljanje nevarnosti eksperimentalne študije na laboratorijskih sesalcih (*in vivo*), na posameznih celicah, celičnih kulturah ali izoliranih organih (*in vitro*), in sicer študije:

- toksikokinetike (absorpcija, porazdelitev, metabolizem, izločanje)
- lokalnih učinkov (draženja) na kožo, oči in dihala
- preobčutljivosti pri stiku s kožo in dihali
- učinkov pri akutni izpostavljenosti (enkratni odmerek)
- učinkov pri kratkoročni in srednjeročni izpostavljenosti (večkratni odmerki od 28 –90 dni)
- učinkov pri dolgotrajni izpostavljenosti (po navadi 1,5 – 2 leti) in rakotvornost
- genotoksičnosti (glej poglavje 7)
- učinkov na razmnoževanje (večgeneracijske študije, plodnost, teratogenost, razvojna strupenost)
- učinkov na živčevje (akutna, kronična in razvojna nevrotoksičnost)
- učinkov na imunski sistem (imunotoksičnost)
- učinkov na endokrini sistem (glej poglavje 8)
- toksičnosti metabolitov
- mehanizmov strupenosti.

Testne strategije in v zgornjem odstavku navedene vrste študij so opisane v Tehničnih smernicah (ECB-IHCP, 2003). Obširnejša predstavitev namena posamezne študije, priporočenih pogojev za izvedbo, priporočene metodologije, kot so npr. število, vrsta in sorta živali, vrsta in pogostost opazovanj (splošni in specialni klinični pregledi, spremljanje telesne mase, hematološke, biokemijske in druge laboratorijske preiskave, makropatološke, citološke in histopatološke preiskave) in izbira primerne statistične metode, je opisana v smernicah za testiranje kemikalij (OECD, 2012).

Pri načrtovanju študij je potrebno upoštevati načelo 3R (iz angl. *reduction, refinement, replacement*), to je uporabo čim manjšega števila živali in skrbno pretehtati nujnost vsakega poskusa, pri katerem se uporabljajo živali; izboljšanje metod, da se zmanjša uporaba živali in njihovo trpljenje; nadomeščanje

in vivo metod, kjer je to mogoče (Timbrell, 2008). Z razvojem digitalizacije se vse bolj uveljavlja uporaba *in silico* metod (glej 10.3).

Pri ugotavljanju nevarnosti kemikalij upoštevamo tudi izsledke epidemioloških študij (observacijskih in kliničnih), zdravstvenega spremljanja zaposlenih v proizvodnji kemikalij ali njihovi poklicni uporabi in kliničnih primerov zaradi naključnih ali namernih zastrupitev, vendar so tovrstni podatki in informacije navadno na voljo le za obstoječe kemikalije (ECB-IHCP, 2003).

Nevarnost je poleg lastnosti kemikalije, njenega odmerka in poti vnosa v organizem oziroma načina stika odvisna tudi od genetske občutljivosti, starosti, spola, poklica, prehranskih navad, razvad in bolezenskih stanj izpostavljenega organizma.

2.2.2.2 Karakterizacija nevarnosti

2.2.2.2.1 Odnos med odmerkom in učinkom (odzivom)

Ključni element karakterizacije nevarnosti je analiza odnosa med odmerkom in učinkom (odzivom) in njegov matematični opis. Analiza odnosa med odmerkom in učinkom (odzivom) nam pomaga oceniti, kakšen potencial za izzivanje (škodljivih) učinkov ima določena kemikalija. Analiza odnosa med odmerkom in učinkom najpogosteje temelji na izsledkih študij pri laboratorijskih živalih (Glej 2.2.2.1). Namen teh študij je ugotoviti, ali kemikalija povzroča (škodljivi) učinek in pri katerem odmerku, zato se v študijah poleg kontrolne skupine, uporablja serija odmerkov, od katerih se vsaj za največjega pričakuje, da bo povzročil učinek. Iz tega sledi, da se pri eksperimentalnih študijah uporabljajo relativno veliki odmerki v primerjavi z odmerki, ki smo jim izpostavljeni v vsakdanjem življenju.

Z analizo odnosa med odmerkom in učinkom okarakteriziramo tudi stopnje učinka, to je od odmerka, ki ne povzroča učinka, do odmerkov, ki povzročajo blage, zmerne, hude in zelo hude učinke ali celo smrt (Simon, 2014).

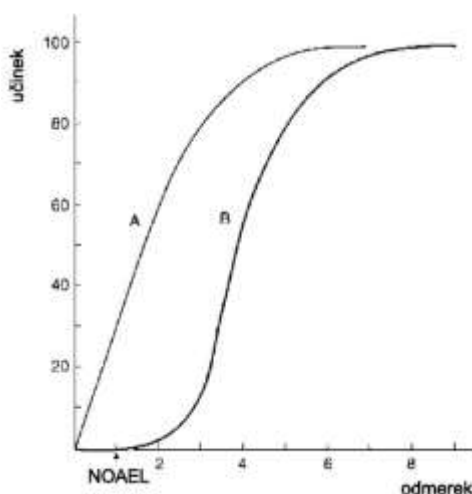
Odnos med količino kemikalije in njenimi škodljivimi učinki je zelo pomemben za razumevanje delovanja kemikalij in nevarnosti za zdravje. Krivulja odnosa med odmerkom in učinkom nam pokaže delež skupine posameznikov (ljudi ali poskusnih živali), ki so prejeli različne odmerke snovi, pri katerih lahko zaznamo učinke, ali pa stopnjo učinka snovi na posameznika. Poznavanje oblike krivulje nam omogoča napoved učinka kemikalije pri poljubnem odmerku. Odnos med odmerkom in učinkom omogoča določitev praga, pri katerem ni škodljivega učinka, kar je ključno za pravilno oceno nevarnosti. Pražna točka, ki jo imenujemo NOAEL (angl. *no observed adverse effect level*), pomeni odmerek, pri katerem ni opaznega škodljivega učinka (Timbrell, 2008; Simon, 2014).

NOAEL je eksperimentalni prag, pod katerim učinki niso opaženi, medtem ko je biološki prag, odmerek, pod katerim snov ne povzroči nobenih škodljivih učinkov, matematični prag pa odmerek, pod katerim je učinek nič. Vendar v živih sistemih odmerek, pri katerem je učinek matematično večji od nič, ni avtomatično biološko relevanten, oziroma je biološka relevantnost prej izjema kot pravilo (Slob, 1999). To potrjujejo bogate izkušnje z zdravili, živili in številnimi drugimi kemikalijami, pri katerih je za doseg želenih oziroma toksičnih učinkov treba vzdrževati dovolj veliko koncentracijo kemikalije dovolj dolgo.

Tradicionalno se pristop določitve eksperimentalnega praga učinka uporablja za ne rakotvorne učinke (Rhombert et al., 2011).

Za genotoksične rakotvorne kemikalije se predpostavlja, da ena sama molekula lahko povzroči raka, torej da prag učinka ne obstaja, čeprav je verjetnost da bo samo ena molekula vstopila v telo in dosegla svoj cilj ter povzročila zadostno škodo, praktično nična (Timbrell, 2008). Krivulji odnosa med odmerkom kemikalije in učinkom brez praga ter učinkom s pragom sta prikazani na sliki 2.1.

Slika 2.1: Shematski prikaz odnosa med odmerkom in učinkom brez praga (krivulja A) in s pragom učinka (krivulja B) – povzeto po Timbrell (2008)



Na odnos med odmerkom in učinkom pomembno vpliva moč kemikalije, in sicer bo kemikalija z večjo močjo določeni učinek (odziv) izzvala pri nižjem odmerku kot kemikalija z manjšo močjo. Z močjo kemikalije označujemo relativno strupenost določene kemikalije v primerjavi z drugimi kemikalijami ali z izbrano referenčno kemikalijo (EHT, 2016).

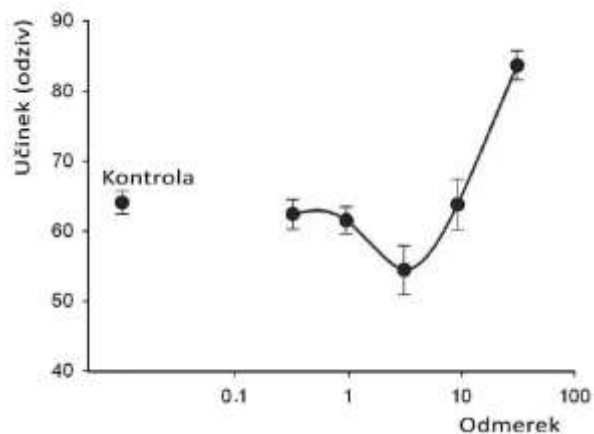
Poleg monotonega odnosa med odmerkom in učinkom, lahko krivulja učinka spreminja smer od pozitivne k negativni in obratno (Slika 2.2). Tovrstni odnos med odmerkom in učinkom, ki ga imenujemo nemonotoni (bifazični, hormetični, v obliki črke U ali obrnjenega U) je dobro poznan v fiziologiji, farmakologiji in toksikologiji, saj je opisan pri več kot 1600 substancah. Vzroki nemonotonega odnosa so lahko vpletenost podtipov receptorjev na različnih ravneh organskega sistema, blage hiperkompensacije ob začetni motnji homeostaze ali neposredne stimulacije (Connolly in Lutz, 2004; Calabrese, 2008; Perharič et al., 2013). Nemonotoni odnos ne izključuje obstoja biološkega praga.

Kot alternativa NOAEL ali v primeru nezanesljivega NOAEL se vse bolj uveljavlja koncept izračunanega mejnega odmerka (angl. *Benchmark dose*, BMD). To je odmerek pridobljen na podlagi matematičnih modelov upoštevajoč vse podatke odnosa med odmerkom in učinkom pridobljene v eksperimentalnih ali epidemioloških študijah (EFSA, 2017a).

2.2.2.2.2 Način delovanja in mehanizem delovanja

Način delovanja (ang. *mode of action*) je z robustnimi eksperimentalnimi opazovanji in mehanističnimi podatki podprto biološko verjetno sosledje ključnih dogodkov, začenši z interakcijo kemikalije s celico, ki preko funkcionalnih in anatomskih sprememb vodi v opazovane učinke. Ključni dogodek (ang. *key event*) je definiran kot empirično opažen prvi korak, ki je nujni element načina delovanja, oziroma je označevalec nujnega elementa (Boobis et al., 2009).

Slika 2.2: Shematski prikaz nemonotone (bifazične ali hormetične) krivulje odmerek učinek (povzeto po Perharič et al., 2013)



Za razliko od načina delovanja implicira mehanizem delovanja (ang. *mechanism of action*) natančnejše razumevanje molekularnih osnov toksičnega učinka (Seed et al., 2005). Kot navaja Simon (2014), je za razumevanje načina in mehanizma delovanja določenega škodljivega učinka potrebno poznavanje vzročnih in časovnih odnosov na različnih ravneh biološke organizacije, ki jih lahko opredelimo, če poznamo:

- vpliv metabolizma in razporeditve kemikalije v organizmu na odmerek, ki doseže molekularno mesto biološkega delovanja;
- molekularne tarče biološkega delovanja;
- biokemične poti, na katere vpliva interakcija kemikalije z mestom biološkega delovanja;
- posledice na ravni celic in organov;
- tarčne organe ali tkiva, v katerih so molekularna mesta delovanja in v katerih pride do biokemičnih učinkov;
- fiziološke odzive na biokemične in celične učinke;
- odzive tarčnih organov na biokemične, celične in fiziološke učinke;
- celoten učinek na organizem;
- verjetnost vzročnih in časovnih odnosov med posameznimi koraki;
- odnose med odmerki in učinki v povezavi s posameznimi koraki.

2.2.2.3 Razvrščanje in označevanje kemikalij

Ocena nevarnosti je podlaga za razvrstitev (angl. *classification*) v skladu z Uredbo 1272/2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju (CLP) snovi ter zmesi, ki temelji na globalno harmoniziranem sistemu (GHS) Združenih narodov. Namen GHS je varovanje zdravja in okolja ob prostem pretoku snovi, zmesi in predmetov (<https://echa.europa.eu/regulations/clp>). Pri razvrstitvi in označevanju se uporabljajo standardni piktogrami (Slika 2.3) in nevarnostni H (iz angl. *hazard*) stavki (Priloga 16.3). Piktograme in nevarnostne stavke najdemo tudi na etiketi, v navodilih za uporabo in varnostnih listih kemikalij in pripravkov. Obrazložitev piktogramov in primerjava GHS označevanja s prejšnjim načinom označevanja je v Prilogi 16.4. Smernice za uporabo CLP kriterijev podajajo natančen opis postopkov razvrščanja (ECHA, 2017). Razvrstitev in označitev posameznih kemikalij je dostopna na spletnem inventarju Evropske agencije za kemikalije (<https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/cl-inventory-database>).

**Slika 2.3. Standardni piktogrami za označevanje nevarnih kemikalij
(povzeto po ECHA in EU-OSHA, 2013)**



2.2.2.4 Referenčni odmerki

Referenčni odmerek (RO) kemikalije imenovan tudi na zdravju temelječa smerna vrednost (angl. *Health-Based Guidance Value*) je izračun dnevne izpostavljenosti izražen na enoto telesne mase, pri katerem ni pričakovati škodljivih posledic za zdravje, torej predstavlja varni odmerek kemikalije. Referenčni odmerki za različna trajanja izpostavljenosti se določijo v sklopu karakterizacije nevarnosti in so izhodišče za oceno tveganja. Uporabimo podatke in informacije študij, za katere menimo, da so najboljše razpoložljive študije. To so študije, ki najbolj ustrezajo sprejemljivim znanstvenim standardom.

Pri tradicionalnem pristopu za določitev referenčnega odmerka se za izhodiščno točko uporabi odmerek, pri katerem na podlagi eksperimentalnih podatkov ni bil ugotovljen (škodljivi) učinek, to je NO(A)EL.

V zadnjem času se kot izhodiščni odmerek vse bolj uveljavlja koncept matematično določenega odmerka brez učinka, tkim. BMD. Pri BMD se na podlagi prilaganja matematičnega modela vsem eksperimentalnim podatkom odnosa med odmerkom in učinkom ob upoštevanju intervalov zaupanja določi odmerek, pri katerem se s 95% zaupanjem pričakuje, da je verjetnost učinka manjša od 5% (BMDL iz angl. *Benchmark Dose Lowest*). Metoda je primerna za vse učinke in omogoča kvantifikacijo negotovosti podatkov, ki je izražena z intervali zaupanja. Za izračun BMD so na voljo računalniški programi, npr. BMDS (www.epa.gov/bmds) in PROAST (www.rivm.nl/proast) (EFSA,2017).

Upoštevajoč vse znane podatke in informacije o nevarnosti določene kemikalije izberemo kritični učinek. NO(A)EL oz. BMDL kritičnega učinka je izhodišče za določitev RO. NO(A)EL najpogosteje temelji

na izsledkih eksperimentalnih študij pri laboratorijskih živalih. Zaradi negotovosti se pri določanju referenčnih odmerkov uporabljajo varnostni faktorji (VF), imenovani tudi faktorji negotovosti ali faktorji ocenjevanja.

Čeprav ni nujno, da smo ljudje občutljivejši za učinke kemikalij, se na splošno privzame, da je občutljivost ljudi večja. Pri ekstrapolaciji informacij od poskusnih živalih (najpogosteje so to laboratorijski glodavci in psi) na človeka in upoštevajoč raznolikosti znotraj človeške vrste, ki so pogojene s starostjo, spolom, genetsko občutljivostjo, življenjskim slogom itd., tradicionalno uporabljamo VF 100, in sicer 10 za negotovosti v zvezi z razlikami med poskusnimi živalmi in človekom in 10 za razlike med populacijami ljudi. VF 10 za razlike med vrstami je zmnožek raznolikosti pri toksikodinamiki (2,5) in toksikokinetiki (4), medtem ko je v zvezi z razlikami znotraj vrste VF 10 zmnožek 3,2 za toksikodinamiko in 3,2 za toksikokinetiko (IPCS, 2005a).

VF je zaradi drugih negotovosti, kot so raznolikost eksperimentalnih podatkov, narava in stopnja učinka, kvantitativnih in kvalitativnih razlik pri izpostavljenosti, občutljivosti subpopulacij, oblike krivulje med odmerkom in učinkom, posebnosti izpostavljenih populacij, zaupanja v podatke itd., lahko tudi večji ali manjši od 100. Posamezni parametri se presojujejo od primera do primera na podlagi teže dokazov. Čeprav igra pri izbiri VF pomembno vlogo ekspertna presoja, mora biti vsaka odločitev strokovno utemeljena (IPCS, 2005a). Velikost VF odseva raven negotovosti in je pomembna varovalka pri določanju referenčnih odmerkov.

Primeri nekaterih referenčnih odmerkov so navedeni v nadaljevanju tega poglavja (glej 2.2.5).

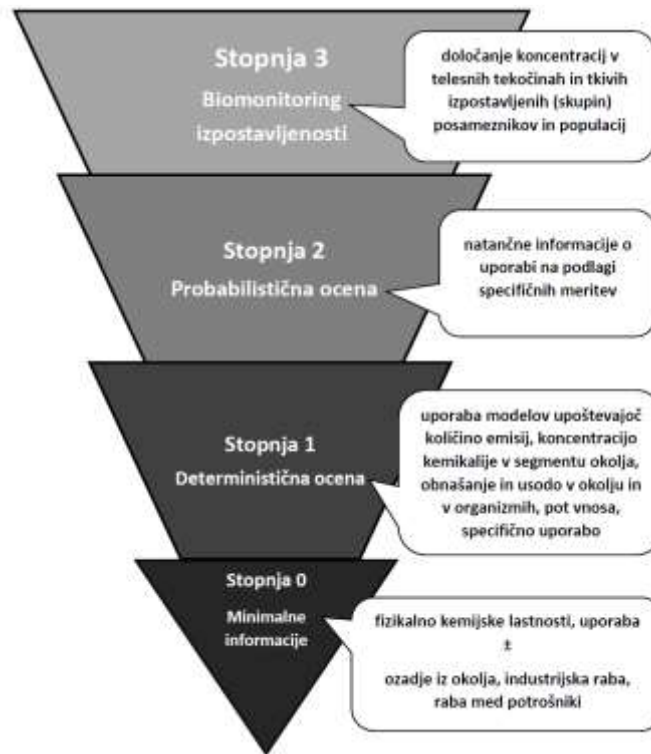
2.2.3 Ocena izpostavljenosti

Do izpostavljenosti kemičnim snovem pride namerno, naključno ali akcidentalno iz različnih segmentov širšega (zunanji zrak, tla, vode) in ožjega okolja (zrak v notranjih prostorih, hišni prah), z uživanjem hrane vključno s pitno vodo in preko predmetov splošne rabe. Pomemben primarni vir je izpostavljenost na delovnem mestu ali poklicna izpostavljenost. Ob neupoštevanju principov dobre higienske prakse pri delu je s prenosom ostankov kemikalij v ožje bivalno okolje tudi sekundarni vir. Najpogostejše poti vnosa so preko dihal, kože in z zaužitjem, redkeje preko oči, medtem ko je parenteralna pot vnosa (pod kožo, v mišičje, žile ali telesne votline) z izjemo zdravil, mamil in kemikalij, ki prehajajo iz medicinskih pripomočkov (kompletov za dajanje parenteralnih tekočin, drenov, tubusov, vsadkov ipd.) redka. Po trajanju je izpostavljenost lahko kratkoročna, srednjeročna ali dolgoročna.

Metodološki principi ocene izpostavljenosti so podrobno opisani v številnih dokumentih, npr. tehničnih smernicah (ECB-IHCP, 2003b), mednarodnih kriterijih in stališčih (IPCS, 2005b, EFSA, 2011; ECHA, 2013; EFSA, 2014), učbenikih (Simon, 2014).

K oceni izpostavljenosti pristopimo stopenjsko glede na opredelitev problema, vir izpostavljenosti, način izpostavljenosti, tarčno populacijo, specifični namen in cilj določene ocene, glede na količino dostopnih podatkov, pravno podlago, kot tudi možnosti za zmanjševanje izpostavljenosti. Shema stopenjskega pristopa je prikazana na sliki 2.4.

Slika 2.4 Shema stopenjskega pristopa k oceni izpostavljenosti (povzeto po HESI, 2011)



2.2.3.1 Izračunana izpostavljenost

2.2.3.1.1 Scenariji izpostavljenosti

Za izračun izpostavljenosti je potrebno zasnovati scenarij izpostavljenosti. Odvisno od stopnje ocene pridejo v poštev podatki in informacije o različnih parametrih, kot so:

- uporaba kemikalije (trajanje, pogostost, način)
- količina kemikalije
- fizikalno-kemijske lastnosti
- obnašanje in usoda kemikalije v okolju
- fiziološke značilnosti populacije
- toksikokinetične značilnosti kemikalije
- prehranske navade
- vedenjske navade
- koncentracije kemikalij
 - na delovnem mestu
 - v različnih segmentih bivalnega okolja
 - v živilih
 - v predmetih splošne rabe.

Izpostavljenost se v prvi fazi oceni za najslabši možni scenarij. Razumen najslabši možni scenarij vključuje zgornjo mejo normalne uporabe pri majhnem odstotku primerov v celotnem spektru okoliščin uporabe (ECB-IHCP, 2003b).

2.2.3.1.2 Modeli izpostavljenosti

Za kvantifikacijo izpostavljenosti uporabimo različne matematične modele. Relevantni so vsi modeli, ki ustrezno opišejo scenarij, ne glede na to ali gre za *ad hoc* zasnovani »hišni model« ali za računalniške modele priporočene v smernicah in tehničnih dokumentih EU oz. mednarodno priznanih nacionalnih in mednarodnih organizacij. Različni scenariji in modeli izpostavljenosti so podrobneje predstavljeni v poglavjih 4.2.2, 5.2.2, 6.2.2., 9.2.3, 11.2.4, 13.2.2, 14.2.2 in 15.3.

V ilustracijo navajamo nekaj računalniških modelov primernih za izračun izpostavljenosti:

- Poklicna izpostavljenost
 - EFSA AOEM (<http://www.fao.org/pesticide-registration-toolkit/registration-tools/assessment-methods/method-detail/en/c/1187029/>)
 - German model
https://www.bfr.bund.de/en/application_safety_of_plant_protection_products-198164.html
 - UK POEM (<http://www.hse.gov.uk/pesticides/topics/pesticide-approvals/pesticides-registration/data-requirements-handbook/operator-exposure.htm>)
 - ECETOC TRA tool (<http://www.ecetoc.org/tra>)
 - MEASE (<https://www.reach-metals.eu/reach/em-guidance-documents-and-tools/mease>)
 - EMKG Expo Tool (<https://www.baua.de/EN/Service/Publications/Guidance/EMKG-Expo-Tool-2.html>)
- Izpostavljenost potrošnikov
 - Hrana (glej 4.2.2)
 - Predmeti splošne rabe
 - ConsExpo (<https://www.rivm.nl/en/consexpo>
in <https://www.consexponano.nl/>)
 - CEM (<https://www.epa.gov/tsc-screening-tools/consumer-exposure-model-cem-version-20-users-guide>)
 - Širše in ožje bivalno okolje
 - Zrak – APEX/TRIM.Expo_{Inhalation} (<https://www.epa.gov/fera/human-exposure-modeling-air-pollutants-exposure-model>)
 - Tla (glej 15.3)
 - Hišni prah (<https://www.dustex.nl/>)
 - Kopalne vode – SWIMODEL (<https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/swimmer-exposure-assessment-model-swimodel>)
 - Fitofarmacevtska sredstva
EFSA AOEM (glej povezavo pod poklicna izpostavljenost)

2.2.3.2 Izmerjena izpostavljenost

Z določanjem ravni kemikalij v telesnih tekočinah in tkivih organizmov pridobimo natančnejše podatke in informacije o toksikokinetiki kemikalije, torej kolikšen delež kemikalije se je dejansko absorbiral v telo, kako se je kemikalija v telesu porazdelila, presnovila in izločila. Tako lahko nedvomno bolj verodostojno presodimo kako velik odmerek je dosegel tarčne organe. Meritve lahko potekajo *in vitro*, npr. določanje dermalne absorpcije na tkivnih kulturah in izoliranih organih (EFSA, 2017b), *in vivo* ali *post mortem* (OECD,2012).

2.2.3.2.1 Humani biomonitoring

Biomonitoring pomeni merjenje in spremljanje sprememb v živih organizmih, tkivih, tekočinah, celicah oziroma biokemičnih procesih, ki so nastale zaradi izpostavljenosti neki kemični snovi, humani biomonitoring (HBM) pa merjenje in spremljanje naštetih sprememb pri ljudeh. Meritve, tkim. biomarkerji, lahko določajo izpostavljenost – biomarkerji izpostavljenosti, učinek – biomarkerji učinka ali občutljivost – biomarkerji občutljivosti (IPCS, 1993).

Biomonitoring v ožjem smislu oziroma biomonitoring izpostavljenosti pomeni merjenje koncentracij kemičnih snovi v krvi, serumu, plazmi, urinu, semenski tekočini, izdihanem zraku, materinem mleku, laseh, nohtih in tkivih, npr. podkožnem maščevju in je pomembno orodje za oceno izpostavljenosti.

Začetki HBM segajo v pozno 19. stoletje, in sicer kot spremljanje zdravljenja s salicilno kislino pri bolnikih z revmatizmom. V širšem kontekstu se je HBM najprej uporabljal za spremljanje poklicne izpostavljenosti kemikalijam. Leta 1976 so v ZDA v 2. sklopu *National Health and Nutrition Survey* (NHANES II) začeli določati koncentracije svınca in obstojnih pesticidov v krvi ter neobstojnih pesticidov in njihovih metabolitov v urinu (Pirkle et al, 1995). V naslednjih desetletjih so sistematični HBM izpostavljenosti z vse večjim naborom kemikalij iz okolja in njihovih metabolitov postopoma vpeljali v številnih drugih državah (Choi et al., 2014; WHO, 2015).

V Sloveniji že več kot 15 let spremljamo izpostavljenost otrok svincu v Zg. Mežiški dolini z določanjem svınca v krvi (Ivartnik et al., 2016). Na nacionalni ravni smo HBM začeli razvijati 2007 (Perharič in Vračko, 2012) in del rezultatov uporabili za zasnovo okoljskega kazalca Dioksini v materinem mleku (Perharič, 2013). Tudi pri poglobljeni oceni tveganja za zdravje otrok na območju občine Zagorje ob Savi smo izpostavljenost arzenu ocenili s pomočjo HBM (Perharič et al., 2017).

HBM je najprimernejše orodje za določanje celokupne izpostavljenosti določeni(m) kemikaliji(am) iz različnih virov, še posebej za opredelitev izpostavljenosti nizkim odmerkom. Obširne prospektivne HBM študije zavzemajo pomembno mesto v kontekstu vse bolj uveljavljenega koncepta eksposoma, to je naboru vseh okoljskih dejavnikov, ki ob zadostni izpostavljenosti lahko škodujejo zdravju. Nameni in cilji, etični vidiki, metodološki pristopi, interpretacija in komunikacija rezultatov s pregledom dostopnih HBM podatkov iz EU in širše evropske regije so pregledno predstavljeni v dokumentu *SZO Human biomonitoring: facts and figures* (WHO, 2015).

2.2.4 Presoja kakovosti virov

Pri ocenjevanju nevarnosti in izpostavljenosti je potrebno preučiti kakovost izbranih virov (ECB-IHCP, 2003a, b, c). Posebno pozornost je potrebno nameniti parametrom, kot npr.:

- navedbi čistote snovi in opredelitvi morebitnih nečistot
- natančnosti opisov testnih metod
- skladnosti s splošno sprejetimi znanstvenimi standardi
- navedbi historičnih podatkov pri kontrolnih skupini
- izvedbi v skladu z dobro laboratorijsko prakso
- skladnosti s predpisanimi testnimi smernicami⁸ oziroma opisu odstopanj
- konzistentnosti z že znanimi dejstvi v zvezi s kemikalijo, ki je predmet ocene
- variabilnosti ali napakam pri vzorčenju in meritvah
- ustreznosti scenarijev in modelov izpostavljenosti
- koncentraciji kemikalije v matriksu
- parametrom uporabe (namen, pogostost, trajanje, količina, mesto uporabe)
- fizična oblika (npr. prah, gel, aerosol)
- velikosti kontaktne površine.

2.2.4.1 Eksperimentalne študije

Za presojo kakovosti eksperimentalnih študij se priporočajo Klimischevi kriteriji (Klimisch et al., 1997), v skladu s katerimi opredelimo:

- zanesljivost, to je kakovost podatkov glede na standardizirano metodologijo, jasnost in verodostojnost predstavitev rezultatov (Tabela 2.1.);
- bistvenost (tehtnost), to je obseg prikladnosti podatkov in testov za določeno identifikacijo nevarnosti ali karakterizacijo tveganja;
- primernost (zadostnost), to je uporabnost za oceno tveganja

V primeru, da je na voljo več nizov podatkov za posamezen učinek se večja teža se pripiše najzanesljivejšim in najbistvenejšim podatkom (Tabela 2.1).

Tabela 2.1: Zanesljivost študij v skladu s Klimischevimi kriteriji (Klimisch et al., 1997)

Kategorija	Lastnosti študij
1 Zanesljivo brez omejitev	Študije (objavljene in neobjavljene) izvedene v skladu z veljavnimi in/ali mednarodno sprejetimi smernicami, v skladu z DLP; opisani parametri izpolnjujejo metodološke usmeritve
2 Zanesljivo z omejitvami	Študije niso izvedene v skladu z DLP, opisani parametri so zadostni, a metodoloških usmeritev ne izpolnjujejo povsem, vendar so dobro dokumentirane in znanstveno sprejemljive
3 Nezanesljivo	Študije niso izvedene v skladu z metodološkimi usmeritvami, dokumentacija je nezadostna za prepričljivo presojo
4 Nedodeljivo	Študije, ki niso podrobno opisane, npr. izvlečki, pregledni članki, učbeniki

⁸ OECD testne smernice (OECD, 2012) so mednarodno sprejeti standard, ki se redno posodoblja. Za študije izvedene v skladu s temi smernicami velja vzajemno priznavanje podatkov v vseh državah članicah OECD.

2.2.4.2 Epidemiološke študije

V epidemioloških študijah proučujemo različne populacije ljudi in razširjenost bolezni primerjamo z dejavniki tveganja, da bi ugotovili kako, kdaj in kje se bolezni pojavijo. Epidemiološke študije so observacijske ali intervencijske (klinične študije), vendar so zaradi etičnih razlogov klinične študije v toksikologiji relativno redke. Večina bolezni ima več vzrokov, zato z epidemiološkimi študijami težko dokažemo vzrok, lahko pa opredelimo stopnjo povezanosti med posameznim dejavnikom in boleznijo. V pomoč pri sklepanju ali so povezave ugotovljene v epidemioloških študijah vzročne, je Austin Bradford Hill pred dobrimi 50 leti predlagal smernice za vrednotenje epidemioloških študij (Hill, 1965):

- i. Skladnost in nepristranost ugotovitev: različni raziskovalci v različnih populacijah ljudi potrdijo učinek.
- ii. Povezanost: pogostost odkritja dejavnika pri obolelih in pogostost, s katero se pojavlja v populaciji zdravih osebkov.
- iii. Časovno zaporedje: izpostavljenost nekemu dejavniku se mora pojaviti pred pojavom bolezni. Obstajati mora povezava med izpostavljenostjo povzročitelju in pogostostjo bolezni.
- iv. Razmerje med odmerkom in odzivom: dokazano mora biti kvantitativno razmerje med obsežnostjo izpostavljenosti dejavniku in pogostostjo ali stopnjo bolezni (blaga, zmerna, huda, zelo huda).
- v. Specifičnost: dejavnik mora biti ločen od drugih dejavnikov; biti mora potrjeno, da prav njegova prisotnost povzroča spremembe pri pojavu bolezni.
- vi. Koherenca (soodvisnost): dokazi morajo biti znanstveno potrjeni.
- vii. Biološka verodostojnost: predlagana povezava mora biti v skladu z biološkim znanjem.
- viii. Podobne okoliščine: okoliščine morajo biti primerljive z drugimi.
- ix. Eksperimentalni dokazi: ali odstranitev povzročitelja vodi do izboljšanja bolezni oziroma bolezenskih znakov?

Napredek na področju genetike, molekularne biologije, toksikologije, ugotavljanju izpostavljenosti in statističnih metod nam omogoča temeljitejšo analizo odnosov med vzroki in posledicami ter boljše razumevanje zapletenih povezav med vzroki za nastanek in razvoj bolezni. Kljub za znanost častitljivi starosti so Bradford Hillovi kriteriji z modifikacijami, kot so jih predlagali Fedak et al. (2015), še vedno temeljni pripomoček pri sklepanju o vzročnosti na podlagi izsledkov epidemioloških študij.

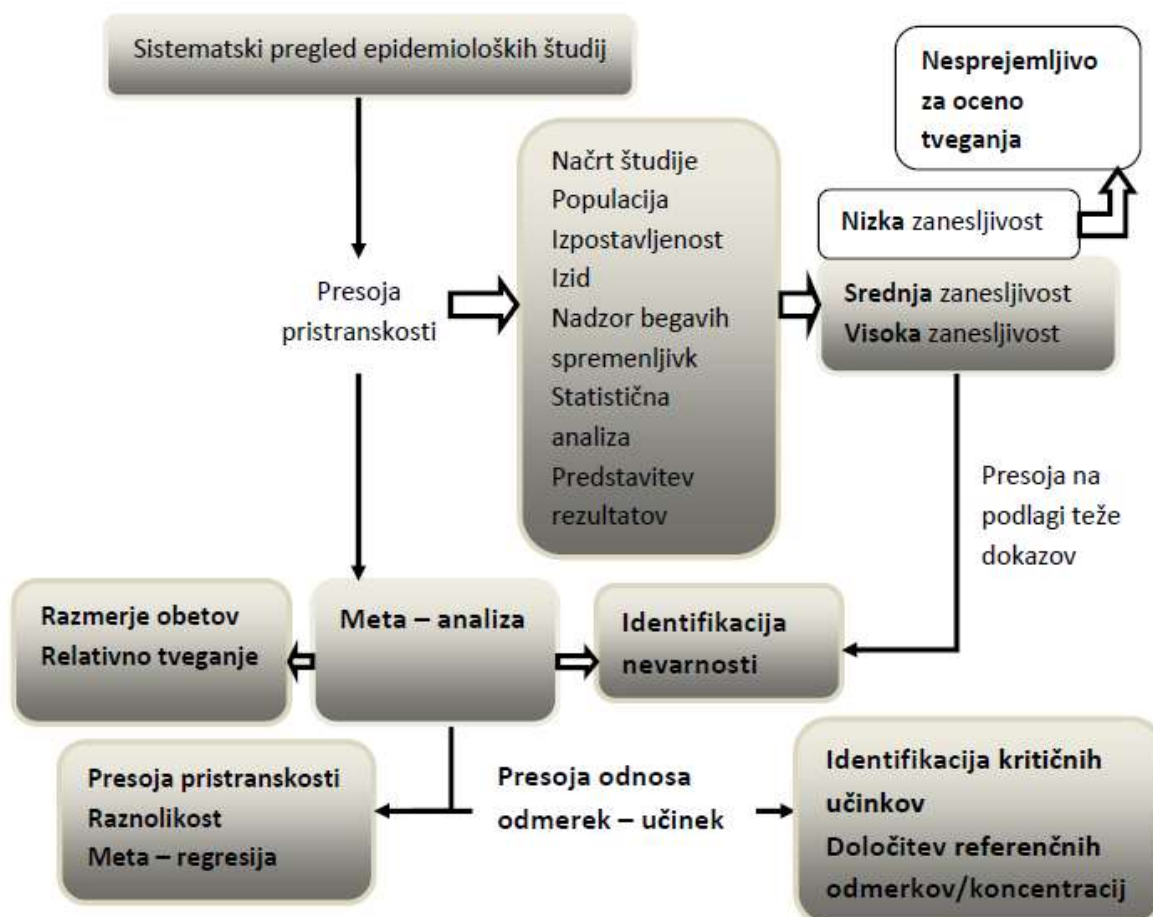
Nedavno je EFSA v osnutku smernic za pregled epidemioloških študij, ki povezujejo izpostavljenost pesticidom z učinki na zdravje, zavzela stališče, da so za potrebe TOT najprimernejši sistematični pregledi in meta-analize observacijskih študij z ustrezno opredelitvijo izpostavljenosti, določitvijo primernih biomarkerjev, na podlagi česar je možno veljavno in zanesljivo oceniti izid upoštevajoč potencialne begave spremenljivke in analizirati odnose med odmerki in učinki. Osnutek smernic navaja korake, kako pristopiti k vrednotenju epidemioloških študij in kako jih uporabiti za TOT, predstavi njihove prednosti in pomanjkljivosti, priložnosti in nevarnosti (EFSA, 2017c). Shematski prikaz vrednotenja je na sliki 2.5, praktični opis pa v poglavju 5.

2.2.4.3 Drugi zdravstveni podatki

Podatke o posledicah izpostavljenosti kemikalijam pridobimo tudi z rutinskim spremljanjem zdravstvenega stanja poklicno izpostavljenih oseb in obravnavo naključnih ali namernih zastrupljenec. Verjetnost povezave med izpostavljenostjo in posledicami za zdravje presojamo z uveljavljenimi farmakoepidemiološkimi algoritmi (Jones, 2006):

- Ali obstaja časovna povezanost med izpostavljenostjo in pojavom simptomov in znakov?
- Ali simptome in znake lahko povežemo s kakšnim drugim vzrokom?
- Ali se zdravstveno stanje izboljša, ko izpostavljenost preneha?
- Ali se simptomi in znaki ponovijo pri ponovni izpostavljenosti?
- Ali je izpostavljenost možno potrditi z laboratorijskimi analizami?
- Ali obstaja biološka verjetnost za povezavo?

Slika 2.5: Pristop k vrednotenju epidemioloških študij (povzeto po EFSA, 2017c)



2.2.5 Karakterizacija tveganja

Tveganje okarakteriziramo tako, da primerjamo referenčne odmerke z ocenjeno oz. izmerjeno izpostavljenostjo. Glede na raven ocene nevarnosti in ocene izpostavljenosti je tveganje možno okarakterizirati kvalitativno, semikvantitativno ali kvantitativno. Bolj ko je čas za pripravo ocene tveganja omejen, manj ga je na voljo za iskanje, pridobivanje, analizo in interpretacijo podatkov in informacij. Posledično je karakterizacija tveganja v tovrstnih primerih bolj kvalitativna in vsebuje več negotovosti.

Nujni element vsake karakterizacije tveganja je identifikacija, transparentna predstavitev in opredelitev negotovosti. Negotovosti lahko izvirajo iz vrzeli v zvezi z nevarnostjo ali izpostavljenostjo, npr. zaradi vrzeli v poznavanju razlik v toksikodinamiki in toksikokinetiki med poskusnimi živalmi in ljudmi ter razlik v toksikodinamiki in toksikokinetiki med posameznimi ljudmi, kot tudi vrzeli v zvezi s količino in kvaliteto študij (IPCS, 2017).

Če pri najbolj črnem scenariju ni upoštevanja vrednega tveganja, nadaljnje bolj kompleksne ocene niso potrebne. Potrebno se je namreč zavedati, da z naraščajočo stopnjo kompleksnosti narašča količina in kakovost potrebnih podatkov in informacij, število in raven ekspertnosti ocenjevalcev in čas za izvedbo, za kar so potrebni tudi znatno večji finančni viri.

2.2.5.1 Kemikalije s pragom učinka

Pri kemikalijah s pragom učinka se kot izhodišče za določitev referenčnih odmerkov uporablja eksperimentalno določeni NO(A)EL ali matematično izračunani BMDL. Z analizo podatkov in informacij vseh razpoložljivih študij določimo kritični učinek (glej 2.2.2.1 in 2.2.2.2.1). Kemikalija lahko povzroči več različnih učinkov, pri eni ali več vrstah organizmov, v različnih življenjskih obdobjih ali pri različnem trajanju izpostavljenosti. Zato ima ista kemikalija lahko več različnih NOAEL. Kritični učinek je učinek pri najnižjem NOAEL oziroma pri najnižjem LOAEL (angl. *lowest observed adverse effect level*), v primeru, da NOAEL ni bilo možno določiti. Izbrane kritične odmerke delimo z vrednostjo VF (glej 2.2.2.4) in tako izračunamo referenčne odmerke, ki jih uporabimo pri karakterizaciji tveganja.

- Akutni referenčni odmerek (ARfD iz angl. *Acute Reference Dose*) predstavlja količino kemične snovi izraženo na kg telesne mase, ki jo lahko vnesemo v telo v krajšem časovnem obdobju po navadi v enem dnevu, in ki na podlagi vseh znanih podatkov ne predstavlja upoštevanja vrednega tveganja za zdravje.
- Sprejemljivi dnevni vnos pri poklicni izpostavljenosti (AOEL iz angl. *Acceptable Operator Exposure Level*) je količina kemične snovi izražene na kg telesne mase, ki mu je uporabnik (delavec) lahko izpostavljen po vseh možnih poteh vnosa (po navadi preko kože in z vdihavanjem) in ne predstavlja upoštevanja vrednega tveganja za zdravje, tudi če mu je delavec izpostavljen dnevno skozi vso delovno dobo. Sprejemljivi vnosi pri poklicni izpostavljenosti se lahko določijo tudi za krajša obdobja.

- Sprejemljivi dnevni vnos (TDI iz angl. *Tolerable Daily Intake* oz. ADI iz angl. *Acceptable Daily Intake*) je ocena dnevnega vnosa kemične snovi skozi vse življenje, ki na podlagi vseh znanih podatkov ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi.
- Za kemične snovi, ki se iz telesa izločijo počasi, oziroma se akumulirajo, se namesto sprejemljivega dnevnega vnosa uporablja sprejemljivi tedenski vnos (TWI iz angl. *Tolerable Weekly Intake*). V primeru podatkovnih vrzeli pa začasni sprejemljivi tedenski vnos (PTWI iz angl. *Provisional Tolerable Weekly Intake*).
- Za onesnaževala, ki se jim ne moremo izogniti, se lahko uporablja koncept minimalne ravni tveganja (MRL⁹ iz ang. *Minimal Risk Level*). MRL je ocena dnevne izpostavljenosti nevarni snovi (v mg/kg tm/dan), pri kateri je malo verjetno, da bo prišlo do škodljivih učinkov za zdravje. Uporablja se predvsem kot pomagalo pri oceni morebitnih učinkov na zdravje in ne kot vrednost, pri kateri so potrebni ukrepi.

Tveganje je zanemarljivo majhno, če je referenčni odmerek večji ali enak ocenjeni izpostavljenosti.

Drugi možni način karakterizacije tveganja je izračun roba (razpona) varnosti (angl. Margin of Safety - MOS). Pri tem pristopu mora biti razmerje med eksperimentalnim ali izračunanim odmerek brez učinka in ocenjeno izpostavljenostjo najmanj 100.

2.2.5.2 Kemikalije brez praga učinka

Pri kemikalijah, za katere velja da nimajo praga učinka (genotoksične rakotvorne snovi) oziroma je ta prag zelo težko določiti, se lahko uporabi zgolj na oceni nevarnosti temelječi pristop ALARA (angl. *As Low As Reasonably Practicable*). To pomeni, da se priporoča zmanjšanje izpostavljenosti, kot je še razumno izvedljivo.

V ZDA so razvili kvantitativni pristop na podlagi principa linearne ekstrapolacije pri nizkih odmerkih na krivulji odnosa med odmerkom in učinkom. Iz naklona krivulje in ocene izpostavljenosti se izračuna število dodatnih primerov raka na število izpostavljenih. Ukrepe za zmanjšanje tveganja se priporoči pri tveganju, ki je večje od 10^{-4} , kar pomeni več kot 1 dodaten primer raka na 10 000 izpostavljenih, v določenih primerih lahko tudi pri manjšem tveganju 10^{-5} ali celo 10^{-6} , to je 1 dodaten primer raka na 100 000 oziroma 1 000 000 izpostavljenih (US EPA, 2005).

Barlow et al. (2006) so za karakterizacijo tveganja genotoksičnih rakotvornih snovi v hrani postulirali kvantitativni princip roba (količnika) izpostavljenosti ali MOE (angl. *Margin of Exposure*). Pri tem principu se odmerek, običajno je to BMDL (glej 2.2.2.4 in 4.2.1.), primerja z ocenjeno izpostavljenostjo. Upoštevajoč, da izhodiščni odmerek ni odmerek brez učinka, ampak odmerek pri merljivem učinku in

⁹ POZOR: Kratica (angl. *Maximum Residue Level*) MRL se uporablja tudi za največjo dovoljeno količino ostankov v hrani in krmi, npr. biocidov, fitofarmaceutskih sredstev in zdravil v veterinarski medicini izražena v mg na utežno ali volumsko enoto. Največja dovoljena količina ostankov se lahko določi na podlagi ocene tveganja upoštevajoč vse možne vire izpostavljenosti. Lahko pa je določena kot trenutno najnižja analitsko določljiva koncentracija, ki je skoraj po pravilu nižja od toksikoloških referenčnih vrednosti. Majhno preseganje največjih dovoljenih količin ostankov je neskladno z veljavno zakonodajo, vendar pogosto ne pomeni tveganja za zdravje.

da gre za zelo hud učinek, je sprejemljivi MOE 10 000 ali več. Ta pristop je prevzela tudi EFSA (glej poglavje 4).

2.2.5.3 Drugi relevantni pristopi

Pri oceni tveganja mešanic istovrstnih kemikalij, npr. dioksinov, se pri karakterizaciji tveganja uporabljajo faktorji ekvivalenčne strupenosti (TEF iz angl. *Toxicity Equivalence Factors*), ki temeljijo na razlikah v moči (angl. *potency*) posameznega kongenerja (Glej tudi 4.2.1.1).

Za kemikalije z znano kemično strukturo in zanesljivo okarakterizirano izpostavljenostjo, a pomanjkljivo okarakterizirano nevarnostjo se uporablja princip praga toksikološkega tveganja (TTC iz angl. *Threshold of Toxicological Concern*). Ta princip je podrobneje obrazložen v poglavju 10.

2.2.5.3.1 Karakterizacija tveganja na podlagi HBM

Za interpretacijo rezultatov humanega biomonitoringa v kontekstu ocene tveganja je potrebno integrirati klasične toksikološke referenčne odmerke, kritične učinke, način delovanja neke kemikalije s fiziološkimi in farmakokinetičnimi podatki ter jih upoštevajoč negotovosti pretvoriti v odgovarjajoče koncentracije v telesnih tekočinah in tkivih.

V ta namen so v ZDA razvili koncept biomonitorinških ekvivalentov (BE), v Nemčiji pa koncept biomonitorinških vrednosti, HBM-I in HBM-II.

BE je koncentracija oziroma razpon koncentracij kemikalije v biološkem mediju, ki je skladen z obstoječimi referenčnimi vrednostmi za izpostavljenost. BE se izračuna na podlagi razpoložljivih podatkov o odmerkih, ki ne povzročajo učinka, oz. najnižjih odmerkih, ki povzročajo učinek in razpoložljivih farmakokinetičnih podatkov za določeno kemikalijo in na fiziologiji temelječega toksikokinetičnega in toksikodinamskega modeliranja. BE je presejalno orodje pri interpretaciji rezultatov biomonitoringa (Hays in Aylward, 2008).

HBM-I je koncentracija kemikalije v humanih telesnih tekočinah in tkivih, pod katero na podlagi dosedanjega znanja in presoje ne pričakujemo škodljivih učinkov za zdravje. HBM-II je koncentracija kemikalije v humanih telesnih tekočinah in tkivih, nad katero obstaja verjetnost škodljivih učinkov in so zato potrebni ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti. Pri koncentracijah kemikalije med HBM-I in HBM-II verjetnosti škodljivih učinkov ni možno izključiti, zato je priporočljivo spremljanje (UBA, 2014).

2.3 OVREDNOTENJE TVEGANJA IN PREDLOGI RELEVANTNIH UKREPOV

Pri ovrednotenju tveganja na kratko opišemo vse ključne korake, ovrednotimo kvaliteto in zanesljivost podatkov, negotovosti in utemeljimo odločitve na jasn način. Osredotočimo se na za človeka relevantne učinke, ki jih utemeljeno pričakujemo pri ocenjeni izpostavljenosti.

Navedemo ali so potrebni ukrepi za zmanjševanje tveganja oziroma ali so potrebni dodatni podatki:

- 4V primeru, da tveganja ni možno oceniti zaradi pomanjkanja relevantnih podatkov in informacij, priporočimo, da se le ti pridobijo.
- Če pri predvideni uporabi določene kemikalije ne ugotovimo upoštevanja vrednega tveganja, navedemo, da ni potrebe po dodatnih podatkih in informacijah.
- Če ugotovimo tveganje za zdravje, priporočimo, da je potrebno tveganje zmanjšati.

Za izvedbo TOT je potrebna ekspertna presoja vseh dostopnih podatkov in informacij na podlagi teže dokazov (WoE iz angl. *Weight of Evidence*) upoštevajoč zanesljivost, bistvenost in doslednost (EFSA, 2017d).

2.4 ZAKLJUČEK

Poglavje 2 smo posvetili toksikološki oceni tveganja. Interpretacija študij za opredelitev nevarnosti, zahteva ekstrapolacijo iz visokih odmerkov na odmerke, ki smo jim izpostavljeni v vsakdanjem življenju. Skrb za dobrobit poskusnih živali in posledično zmanjševanje *in vivo* študij, tehnična zahtevnost, dolgotrajnost in visoki stroški eksperimentalnih študij, veliko število kemikalij s slabo opredeljenimi ali neznanimi toksikološkimi lastnostmi, pomanjkanje zanesljivih informacij o učinkih nizkih odmerkov, naraščajoča uporaba *in vitro* ter *in silico* metod in matematičnega modeliranja, hitro naraščajoča količina informacij s področja genomike, epigenomike, transkriptomike, proteomike in metabolomike botrujejo razvoju novih sistemskih pristopov.

Ocena nevarnosti se bo najverjetneje razvila v smeri povezovanja motenj relevantnih biokemičnih, bioloških in fizioloških poti od začetnega molekularnega dogodka preko ključnih dogodkov do patološkega odziva, tkim. koncepta poti škodljivega odziva (AOP iz angl. *Adverse Outcome Pathway*). AOP so ključna vez med izpostavljenostjo in tveganjem, vendar le če obstaja mehanistična povezava.

Pričakujemo, da bodo nova spoznanja o mehanizmih delovanja, natančnejše opredelitve izpostavljenosti in sistematični pregledi z namenom smiselne integracije dostopnih podatkov in informacij vodilo nadaljnjega razvoja TOT 21. stoletja.

2.5 VIRI

Barlow, S., Renwick, A.G., Kleiner, J., Bridges, J.W., Busk, L., Dybing, E., Edler, L., Eisenbrandt, G., Fink-Gremmels, J., Knaap, A., Kroes, R., Liem, D., Mueller, D.J.G., Page, S., Roland, V., Schlatter, J., Tristscher, A., Tueting, W., Wuertzen G. (2006) Risk assessment of substances that are both genotoxic and carcinogenic. Report of an International Conference organized by EFSA and WHO with support of ILSI Europe. *Food and Chemical Toxicology*, 44, str. 1636-1650.

Boobis, A.R., Datson, G.P., Preston, R.J. in Olin, S. S. (2009). Application of key events analysis to chemical carcinogens and noncarcinogens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, str. 690–707.

Calabrese, E.J. (2008). Hormesis and medicine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 66, str. 594-617.

CAS (2015). CAS assigns the 100 Millionth CAS Registry Number® to a substance designed to treat acute myeloid leukemia. [na spletu]. Dostopno 29. 6. 2015 na: <http://support.cas.org/news/media-releases/100-millionth-substance>.

Choi, J., Aarøe Mørck, T., Polcher, A., Knudsen, L. E., Joas, A. (2015). *Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety*. EFSA supporting publications, str: 1-321. [na spletu]. Dostopno 7. 11. 2017 na <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2015.EN-724>.

Connolly, R.B. in Lutz, W.K. (2004). Nonmonotonic dose-response relationships: Mechanistic basis, kinetic modelling, and implications for risk assessment. *Toxicological Sciences*, 77, str. 151-157.

EHT (Environmental health and toxicology). 2016. U.S. Department of health and human services. IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology [na spletu] Dostopno 10. 5. 2016 na: <https://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryp.html>

ECB-IHCP. (2003a) *Technical Guidance Document on Risk Assessment. Part I*. [na spletu] Ispra: European Commission. Joint Research Centre, str. 1-311. Dostopno 10. 1. 2011 na: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart1_2ed_en.pdf

ECB-IHCP. (2003b). Exposure Assessment. V: *Technical Guidance Document on Risk Assessment. Part I*. [na spletu] Ispra: European Commission. Joint Research Centre, str. 35-83. Dostopno 10. 1. 2011 na: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart1_2ed_en.pdf

ECB-IHCP. (2003c). Risk Characterisation. V: *Technical Guidance Document on Risk Assessment. Part I*. [na spletu] Ispra: European Commission. Joint Research Centre, str. 179-188. Dostopno 10. 1. 2011 na: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart1_2ed_en.pdf

ECHA in EU-OSHA. (2013). Nevarnost: kemikalije! Razlaga piktogramov za nevarnost. [na spletu] Dostopno 10. 5. 2016 na https://echa.europa.eu/documents/10162/2621167/eu-osh_chemical_hazard_pictograms_leaflet_sl.pdf/727fa2b6-4ebe-42a6-94ce-d376c4470b21.

ECHA (2013). *Guidance for human health risk assessment. Volume III, Part B, Guidance on regulation (EU) No 528/2012 concerning making available on the market and use of biocidal products. Version 1*. Helsinki: ECHA, str. 213-317. [na spletu]. Dostopno 16. 6. 2017 na: https://echa.europa.eu/documents/10162/23492134/biocides_guidance_vol_iii_part_b_v10_supersedes_en.pdf/8ce06b02-2a0b-a348-7a44-162a8c83e633

ECHA. (2017). *Guidance on the application of the CLP Criteria. Version 5.0*. [na spletu] Helsinki: ECHA, str. 1-647. Dostopno 27. 11. 2017 na: https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/clp_en.pdf/58b5dc6d-ac2a-4910-9702-e9e1f5051cc5.

EFSA. (2011). Use of the EFSA comprehensive European food consumption database in exposure assessment. [na spletu] *EFSA Journal*; 9(3): 2097. Dostopno 8. 1. 2016 na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2011.2097/epdf>.

EFSA (European Food Safety Authority). 2012. Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal*; 10(3): 2579.

EFSA (2014). Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment for plant protection products. [na spletu] *EFSA Journal*; 12(10), 3874. Dostopno 23.4.2015 na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2014.3874/epdf>.

EFSA (2017a). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. [na spletu] *EFSA Journal*; 15(1), str. 1-41. Dostopno 27. 12. 2017 na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2017.4658/pdf>.

EFSA (2017b). Guidance on dermal absorption. [na spletu] *EFSA Journal*; 15(6), str. 4873. Dostopno 27.12.2017 na <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4873>.

EFSA (2017c) Scientific Opinion of the PPR Panel on the follow-up of the findings of the External Scientific Report "Literature review of epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects". [na spletu] *EFSA Journal* (v javni razpravi). Dostopno 24. 9. 2017 na: <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/engage/170612.pdf>.

EFSA (2017d). Guidance on the use of the weight of evidence approach in scientific assessments. [na spletu] *EFSA Journal*. ; 15(8):4971, 69 str. Dostopno 27. 12. 2017 na: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2017.4971>

Fatur, T., Kužner, J., Jeretin B., Štajnbaher, D., Peterlin-Mašič, L., Kržan, M., Filipič, M., Perharič, L. (2016a). Risk assessment driven by inadequate and inappropriate communication: [na spletu]. *Toxicology Letters*, vol. 258S, str. S317. Dostopno 14. 9. 2016 na: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427416322299>.

Fatur, T., Blaznik, U., Perharič, L. (2016b). Nauk medenega škandala. V: Kraigher, A., Berger, T., Nikolič, S., ur. *Javno zdravje - povezovanje za zdravje: zbornik izvlečkov*. [na spletu] Ljubljana: Sekcija za preventivno medicino Slovenskega zdravniškega društva, str. 24-25. Dostopno 20. 1. 2017 na: <http://www.spm.si/wp-content/uploads/2016/12/Zbornik-prispevkov-2016.pdf>.

Fedak, K.M., Bernal, A., Capshaw, Z.A. in Gross, S. (2015). Applying the Bradford Hill criteria in the 21st century: how data integration has changed causal inference in molecular epidemiology. *Emerging Themes in Epidemiology*, 12, str. 14-23.

Hays, S.M. in Aylward, L.L. (2008). Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *Journal of Applied Toxicology*, 29, str. 275-288.

HEEG (Human Exposure Expert Group) Opinion, 2013. Default human factor values for use in exposure assessments for biocidal products, European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Chemical assessment and testing. Privzeto 17.12.2015 s spletne strani http://echa.europa.eu/documents/10162/19680902/heeg_opinion_17_default_human_factor_values_en.pdf

HESI Health and Environmental Sciences Institute (2011). *HESI®- RISK21® Roadmap*. [na spletu] Washington DC: HESI. Dostopno 26.10. 2017 na: <https://risk21.org/>

Hill, A.B. (1965). The environment and disease: association or causation? *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 58, str. 295–300.

IPCS (1993). *Biomarkers and risk assessment. Concepts and principles*. Environmental Health Criteria 155, [na spletu] Geneva: WHO, str. 1-86. Dostopno 13. 6. 2016 na <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39037/9241571551-eng.pdf>.

IPCS (2005a) *Chemical-specific adjustment factors for interspecies difference and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment*. Harmonization Project Document No. 2. [na spletu] Geneva: WHO, str. 1-100. Dostopno 13.4.2012 na: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43294/9241546786_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

IPCS (2005b). *Principles of characterizing and applying human exposure models*. Harmonization project document No.3. [na spletu] Geneva: World Health Organization, str, 1-76. Dostopno 21. 12. 2015 na http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43370/1/9241563117_eng.pdf.

IPCS (2008). *Part I: Guidance document on characterizing and communicating uncertainty in exposure assessment*. Harmonization Project Document No. 6. [na spletu] Geneva: World Health Organization, str. 1-140. Dostopno 4. 12. 2017 na: <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/uncertainty%20.pdf>.

IPCS (2009). *Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food*. Environmental Health Criteria Series 240. Food and Agriculture Organization of the United Nation and World Health Organization. Geneva.

IPCS (2010). WHO *Human health. Risk assessment toolkit: chemical hazards*. IPCS harmonization project document; no.8. [on line]. Geneva: WHO, str. 1-87. Dostopno 23. 4. 2016 na: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44458/1/9789241548076_eng.pdf?ua=1

IPCS (2017). *Guidance document on evaluating and expressing uncertainty in hazard characterization – 2nd edition. Harmonization Project Document No. 11*. [na spletu] Geneva: World Health Organization, str. 1-184. Dostopno 4. 12. 2017 na: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259858/1/9789241513548-eng.pdf?ua=1>.

Ivartnik, M., Pavlič, H. in Hudopisk, N. (2016) *Vsebnost svinca v krvi otrok na območju Zgornje Mežiške doline*. [na spletu] Ljubljana: Agencija RS za okolje. Dostopno 6. 11. 2016 na: http://kazalci.arso.gov.si/?data=indicator&ind_id=807.

Jones, J. K. (2006). Determining Causation from Case Reports. V Strom, B.L. *Pharmacoepidemiology*, 4th Edition. (ed B. L. Strom), Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, str. 525–538.

Klimisch, H.J., Andreae, M., Tillmann, U. (1997). A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 25, str. 1-5.

OECD. (2012) OECD Guidelines for the testing of chemicals. [na spletu] Paris: OECD. Dostopno 27. 12. 2017 na: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>.

Perharič, L. (2012). Ocena tveganja dejavnikov iz okolja na Inštitutu za varovanje zdravja. *Isis*, 21. št. 1, str. 25-28.

Perharič, L. (2013). *Vsebnost dioksinov v materinem mleku. ZD 16* [na spletu] Ljubljana: Agencija RS za okolje. Dostopno 13. 2. 2013 na: http://kazalci.arso.gov.si/?data=indicator&ind_id=511.

Perharič, L., Ažman-Juvan, K., Stanovnik, L. (2013). Acute effects of a low-dose atropine/scopolamine mixture as a food contaminant in human volunteers. *Journal of Applied Toxicology*, 33, str. 980-990.

Perharič, L., Pollak, P. (2013). Identifikacija ocenjevalcev tveganja okoljskih dejavnikov. *Enboz*, 3, št. 10, str. 15-22. Dostopno 31. 1. 2014 na http://www.ivz.si/enboz?pi=5& 5_Filename=attName.png& 5_MediaId=7508& 5_AutoResize=false&pl=223-5.3.

Perharič, L., Martinčič, M., Uršič, S., Kukec, A., Zadnik, V., Mazej, D., Šlejkovec, Z., Šter, M., France Štiglic, A. in Eržen, I. (2017). *Poglobljena ocena tveganja za zdravje otrok zaradi izpostavljenosti arzenu v občini Zagorje ob Savi*. [na spletu]. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje. Dostopno 8. 4. 2017 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/poro_ilo_arzen_7_4_2017-kv.pdf.

Pirkle, J. L., Sampson, E. J., Needham, L. L., Patterson, Jr., D. G., Ashley, O. L. (1995). Using biological monitoring to assess human exposure to priority toxicants. *Environmental Health Perspectives* 103 (supplement 3), str.: 45-48.

Rhomberg, L.R., Goodman, J.E., Haber, L.T., Dourson, M., Andersen, M.E., Klaunig, J.E. et al. (2011). Linear low-dose extrapolation for noncancer health effects: the exception, not the rule. *Critical Reviews in Toxicology*, 41, str. 1-19.

Seed, J., Carney, E.W., Corley, R.A., Crofton, K.M., DeSesso, J.M., Foster, P.M.D., Kavlock, R., Kimmel, G., Kimmel, G., Klaunig, J., Meek, M.E., Preston, R.J., Slikker Jr., W., Tabacova, S., Williams, G.M., Wiltse, J., Zoeller, R.T., Fenner-Crisp, P. in Patton D.E. (2005). Overview: Using Mode of Action and Life Stage Information to Evaluate the Human Relevance of Animal Toxicity Data. *Critical. Reviews in Toxicology*, 35(8-9), str. 663–672.

Simon. T., (2014). *Environmental risk assessment. A toxicological Approach*. Boca Raton: CRC Press, str. 1-384.

Slob, W. (1999). Thresholds in toxicology and risk assessment. *International Journal of Toxicology*, 18, str. 259-268.

STD (2010). Toksikologija in toksikovigilanca. [na spletu]. Ljubljana: Slovensko toksikološko društvo. Dostopno 23. 4. 2016 na: <http://www.tox.si/predstavitev-drustva/o-toksikologiji>.

Timbrell, J. (2008). *Paradoks strupa – Kemikalije kot prijatelji in sovražniki*. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja, Ljubljana, str: 1-334.

UBA (Umweltbundesamt). 2014. Grundsatzpapier zur Ableitung von HBM-Werten. *Bundesgesundheitsblatt*; 57, str. 138–147.

van Leeuwen, C.J. (2007). General introduction. V van Leeuwen, C.J. in Vermeire, T.G. *Risk assessment of chemicals: An introduction. 2.izdaja*. Dordrecht: Springer, str. 1-36.

WHO/IPCS. (2009). *Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food, EHC 240, Annex I, Glossary of terms*. [na spletu] Geneva: WHO, str. A3-A42. Dostopno 14. 12. 2012 na: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/>.

WHO. (2015). *Human biomonitoring: facts and figures*. [na spletu] Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, str: 1-88. Dostopno 10. 3. 2016 na: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0020/276311/Human-biomonitoring-facts-figures-en.pdf.

3 METODOLOŠKI PRISTOP K OCENI TVEGANJA PITNE VODE

Ivanka Gale, Bonia Miljavac

3.1 UVOD

Ovrednotenje ustreznosti pitne vode se izvede ob upoštevanju vseh razpoložljivih elementov: mikrobiološke, fizikalne in kemijske skladnosti vzorcev, zdravstvene ustreznosti pitne vode, razglasitve ukrepov prekinitev in/ali omejitve uporabe pitne vode, pojava hidričnih izbruhov, števila in trajanja prekinitev dobave pitne vode, od tega ali so določena vodovarstvena območja vira pitne vode, kakovost in vrsta vira pitne vode (podzemna, površinska, ali površinska nanjo vpliva), nevarnosti na zajetju, nevarnosti glede uporabljenih snovi in postopkov pri pripravi vode, nevarnosti v distribuciji pitne vode (stanje omrežja v povezavi z indikatorji slabega stanja omrežja), nevarnosti v hišnem/internem vodovodnem omrežju (npr. svinčena napeljava, slepi rokavi, biofilmi), idr.

3.1.1 Zakonske in strokovne podlage

Kvaliteto in zdravstveno ustreznost pitne vode ureja Pravilnik o pitni vodi, Ur. l. RS, št. 19/04, 35/04, 26/06, 92/06, 25/09, 74/15 in 51/17 (MZ a), ki določa zahteve za zagotavljanje skladne in zdravstveno ustrezne pitne vode. Pravilnik povzema smernico Sveta 98/83/EC (CEU, 1998) in smernico Komisije 2015/1787 (EC, 2015). Navodila za spremljanje stanja iz Direktive Komisije (EU) 2015/1787 so bila septembra 2017 prenesena v naš pravni red s Pravilnikom o spremembah Pravilnika o pitni vodi (Uradni list RS, št. 51/17 z dne 19. 9. 2017), ki v Prilogi II MONITORING, DEL C, predpisuje:

»Ocena tveganja:

1. Nosilec monitoringa lahko na podlagi ocene tveganja, kot je opisana v nadaljevanju, v letnem programu monitoringa pitne vode predlaga odstopanje od parametrov in pogostnosti vzorčenja iz Dela B te priloge.
2. Ocena tveganja iz prejšnje točke temelji na splošnih načelih ocenjevanja tveganja, določenih glede na mednarodne standarde.
3. Pri oceni tveganja se upoštevajo rezultati državnih monitoringov površinskih in podzemnih voda, kot jih določa zakonodaja o varstvu okolja.
4. Na podlagi rezultatov ocene tveganja se razširi seznam parametrov iz 2. točke Dela B oziroma poveča pogostnost vzorčenja iz 3. točke Dela B, če so izpolnjeni kateri koli od naslednjih pogojev:
 - a) seznam parametrov ali pogostnosti iz te priloge ne zadostuje za izpolnjevanje obveznosti v skladu z 11. členom tega pravilnika;
 - b) obstaja domneva, da pitna voda vsebuje mikroorganizme ali snovi, ki niso navedeni v Prilogi I tega pravilnika, v številu ali koncentraciji, ki bi predstavljala nevarnost za zdravje ljudi;
 - c) treba je predložiti potrebna zagotovila iz točke 1a) Dela A te priloge.
5. Na podlagi rezultatov ocene tveganja se lahko seznam parametrov iz 2. točke Dela B in pogostnost vzorčenja iz 3. točke Dela B te priloge zmanjšata, če so izpolnjeni kateri koli od naslednjih pogojev:

- a) pogostnost vzorčenja za bakterijo *E. coli* v nobenem primeru ne sme biti manjša od tiste, določene v 3. točki Dela B te priloge;
- b) za vse parametre:
 - lokacija in pogostnost vzorčenja se določita glede na izvor parametra ter glede na spremenljivost in dolgoročno gibanje koncentracije ob upoštevanju 8. člena tega pravilnika;
 - za zmanjšanje najmanjše pogostnosti vzorčenja parametra iz 3. točke Dela B te priloge morajo vsi rezultati, pridobljeni iz vzorcev, ki so bili z mest vzorčenja, reprezentativnih za celotno oskrbovalno območje, zbrani v rednih intervalih v obdobju vsaj treh let, doseči manj kot 60 % mejne vrednosti parametra;
 - za črtanje parametra s seznama parametrov, ki jih je treba spremljati, iz 2. točke Dela B te priloge, morajo vsi rezultati, pridobljeni iz vzorcev, ki so bili z mest, reprezentativnih za celotno oskrbovalno območje, zbrani v rednih intervalih v obdobju vsaj treh let, doseči manj kot 30 % mejne vrednosti parametra;
 - črtanje določenega parametra iz 2. točke Dela B s seznama parametrov, ki jih je treba spremljati, temelji na rezultatih ocene tveganja in rezultatih spremljanja virov pitne vode, ki potrjujejo, da je v skladu s 1. členom tega pravilnika zdravje ljudi zaščiteno pred škodljivimi vplivi vsakršnega onesnaženja pitne vode;
 - pogostnost vzorčenja se lahko zmanjša in določen parameter se lahko črta s seznama parametrov, ki jih je treba spremljati, kot je določeno v drugi in tretji alineji te točke, samo, če ocena tveganja potrdi, da ni verjetno, da bi kateri koli dejavnik, ki ga je mogoče razumno predvideti, povzročil poslabšanje vrednosti parametrov pitne vode.

6. Ministrstvo, pristojno za zdravje:

- a) s sprejetjem predloga letnega programa monitoringa pitne vode, kot je določeno v 12. členu tega pravilnika, potrdi oceno tveganja; in
- b) z objavo poročila o monitoringu pitne vode poda informacije, ki kažejo, da je bila opravljena ocena tveganja, in kakšni so njeni rezultati.«

Smernice Svetovne zdravstvene organizacije o kvaliteti pitne vode (WHO, 2011) upoštevamo v celoti, zlasti pa poglavja o mikrobioloških vidikih, kemijskih vidikih, vidikih sprejemljivosti za uporabnike (okus, vonj, videz), mikrobiološke liste (povzetki za mikroorganizme) in kemijske liste (povzetki za kemikalije).

V pripravi je nacionalna Uredba o pitni vodi (MZb), za katero smo pripravili Načrt za zagotavljanje varnosti pitne vode. Opis obveznih delov Načrta je predviden v Prilogi IV Uredbe o pitni vodi, celotni načrt v razširjeni verziji pa bo po sprejemu Uredbe o pitni vodi objavljen na spletni strani NIJZ.

Obvezni deli Načrta so:

1. oblikovanje skupine za pripravo in izvajanje Načrta za zagotavljanje varnosti pitne vode
2. opis oskrbovalnega območja
3. prepoznavanje in vrednotenje nevarnosti in nevarnih dogodkov z oceno tveganja
4. določitev in preverjanje (validacija) učinkovitosti preventivnih ukrepov, ponovna ocena tveganja in določitev prioriternih tveganj
5. priprava, implementacija in vzdrževanje plana izboljšav
6. program spremljanja učinkovitosti preventivnih ukrepov (operativni monitoring)
7. verifikacijski monitoring in drugi načini verifikacije Načrta

8. opisi postopkov (standardni operativni postopki)
9. podporni programi
10. pregled in posodobitev načrta (revizija).

3.2 OCENA TVEGANJA

Ocena tveganja temelji na splošnih načelih ocene tveganja, kot je opisano v poglavju 2. Pri oceni tveganja za pitno vodo uporabljamo najmanj naslednje dokumente: "Smernice o kakovosti pitne vode" (https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/en/) (WHO, 2011 s posodobitvami), metodologijo za izvajanje načrta za zagotavljanje varnosti pitne vode (WHO, 2009), informacije o toksikologiji in statusu registracije pesticidov v EU (<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>).

Pri ocenjevanju tveganja si pomagamo tudi z dokumenti mednarodnih in nacionalnih strokovnih institucij, kot so:

- Mnenja Evropske agencije za varnost hrane (EFSA, 2010)
- avstralske in severno ameriške smernice za pitno vodo
<https://www.nhmrc.gov.au/about-us/publications/australian-drinking-water-guidelines>,
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/water-quality/drinking-water/canadian-drinking-water-guidelines.html>
<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water>,
<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>
- Angleški Inšpektorat za pitno vodo (<http://www.dwi.gov.uk/>),
- Nemški Zvezni inštitut za ocenjevanje tveganj (http://www.bfr.bund.de/en/a-z_index/drinking_water-130147.html#fragment-2).

V skladu z veljavno zakonodajo je potrebno v pitni vodi določati mikrobiološke, kemijske in indikatorske parametre. Mikrobiološki parametri nam pokažejo obseg in stopnjo onesnaženosti pitne vode z mikroorganizmi (NIJZ, 2014a). Preskušanje vzorca pitne vode na posamezne kemijske parametre pokaže obseg in stopnjo onesnaženosti pitne vode s kemičnimi snovmi, ki lahko predstavljajo tveganje za zdravje ljudi. Kljub velikemu številu kemikalij v okolju so v normative vključene le nekatere, s katerimi si pomagamo pri oceni (NIJZ, 2014b). Za indikatorske parametre mejne vrednosti niso določene na osnovi neposredne nevarnosti za zdravje, ampak nam dajo informacijo o urejenosti celotnega sistema in nas opozarjajo, zlasti ob spremembah, da se z vodo nekaj dogaja in jih je treba raziskati (NIJZ, 2014c).

Izvedba ocene tveganja za dva kemijska dejavnika, svinec in atrazin je prikazana v poglavjih 11 oziroma 12.

3.3 VIRI

CEU – Council of the European Union. (1998). Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities*, L330/32. [na spletu] Dostopno 8. 9. 2016 na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:330:0032:0054:EN:PDF>.

EC – European Commission. 2015 Commission Directive (EU) 2015/1787 of 6 October 2015 amending Annexes II and III to Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption; *Official Journal of the European Union* L260/6. [na spletu]. Dostopno 8. 9. 2016 na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015L1787&from=EN>.

EP in ES (Evropski parlament in Evropski Svet). (2000). Direktiva Evropskega Parlamenta in Sveta 2000/60/ES z dne 23. oktobra 2000 o določitvi okvira za ukrepe Skupnosti na področju vodne politike. *Uradni List Evropskih Skupnosti*. L 327/1. [na spletu] Dostopno 8. 9. 2016 na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32000L0060&from=SL>.

EFSA (2010). Scientific Opinion on dietary reference values for water. *EFSA Journal*; 8(3):1459 [na spletu] Dostopno 8. 9. 2016 na: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1459>

MZ (a). Pravilnik o pitni vodi. *Uradni List Republike Slovenije*, št. 19/04, 35/04, 26/06, 92/06, 25/09, 74/15 in 51/17. [na spletu] Dostopno 2. 10. 2017 na: <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV3713>

MZ (b v pripravi). Uredba o pitni vodi. [na spletu] Dostopno 28. 12. 2017 na: <https://e-uprava.gov.si/.download/edemokracija/datotekaVsebinska/253364?disposition>

NIJZ. (2014a) *Opisi mikrobioloških parametrov, ki jih najdemo v pitni vodi*. [na spletu] Dostopno 8. 9. 2016 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/mikrobioloski_parametri.pdf.

NIJZ. (2014b). *Opisi kemijskih parametrov, ki jih najdemo v pitni vodi*. [na spletu] Dostopno 8. 9. 2016 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/kemijski_parametri.pdf.

NIJZ. (2014c). *Opis indikatorskih parametrov, ki jih najdemo v pitni vodi*. [na spletu] Dostopno 8.9. 2016 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/indikatorski_parametri_0.pdf

WHO. (2009). *Water Safety Plan Manual. Step-by-step risk management for drinking-water suppliers*. [na spletu] Geneva: WHO. Dostopno 8. 9. 2016 na: http://www.who.int/water_sanitation_health/publication_9789241562638/en/

WHO. (2011). *Guidelines for drinking-water quality*. 4. izdaja. [na spletu] Geneva: WHO. Dostopno 8. 9. 2016 na: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/.

4 METODOLOŠKI PRISTOP K OCENI KEMIJSKIH DEJAVNIKOV TVEGANJA V HRANI

Urška Blaznik in Stanislava Kirinčič

4.1 UVOD

Hrana, vključno s tekočino, je sama po sebi zmes kemikalij, hkrati pa predstavlja pomembno pot vnosa neželenih kemikalij v telo. Prisotnost kemičnih snovi v živilih, ki predstavljajo tveganje za zdravje, je lahko naravnega izvora, posledica onesnaženja okolja (zraka, vode in prsti) in namerne uporabe različnih kemikalij v pridelavi, predelavi ter skladiščenju živil.

Med kemijske dejavnike tveganja v hrani primarno uvrščamo onesnaževala, ki so lahko okoljska (npr. kovine, dioksini, poliklorirani bifenili) ali procesna (npr. policiklični aromatski ogljikovodiki, akrilamid, furani), posledica bioloških procesov (npr. mikotoksini in biogeni amini) ter različne rastlinske toksine. Mednje sodijo tudi ostanki pesticidov kot posledica načina kmetovanja, nekateri aditivi, ostanki veterinarskih zdravil ter alergeni in druge snovi, ki povzročajo preobčutljivost pri ljudeh.

Snovi lahko prehajajo v hrano tudi posredno, preko živalske krme v živila živalskega izvora ali preko materialov v stiku z živili, ki so podrobneje predstavljeni v poglavjih 5 in 14. Z večanjem števila prepoznanih kemikalij v okolju bi se lahko povečevalo tudi tveganje za njihovo prisotnost v hrani. Med novejša morebitna dejavnika tveganja v živilih spadajo nanodelci, ki so podrobno predstavljeni v poglavju 9.

4.1.1 Kratka predstavitev nekaterih kemijskih dejavnikov tveganja v hrani

4.1.1.1 Onesnaževala

Glede na izvor onesnaževala delimo na okoljska, procesna, biogena in naravne toksine (Moy in Todd, 2014).

Dioksini, furani ter PCB (poliklorirani bifenili) so različne halogenirane organske spojine s podobnimi kemičnimi in biološkimi značilnostmi. V naravi se razgrajujejo zelo počasi in so razvrščeni med najbolj škodljiva obstojna organska onesnaževala. V prehrabeno verigo prehajajo zaradi onesnaženega okolja kot stranski produkti gorenja različnih snovi, vulkanske aktivnosti in emisij industrije ter prometa. Najdemo jih v zemlji, zraku in vodi, vežejo se na različne organske snovi v rastlinah in živalih, zlasti se kopičijo v maščobnih tkivih, zato najvišje koncentracije najdemo v živilih živalskega izvora.

Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) so snovi, ki nastajajo pri nepopolnem izgorevanju, naravno jih najdemo v nafti, premogu in katranu. Nastajajo tudi med obdelavo živil med odsotnostjo kisika pri visokih temperaturah, predvsem pri razgradnji maščob in pri postopkih dimljenja živil.

3-MCPD (3-monokloro-1,2-diol) je procesno onesnaževalo iz skupine kloropropanolov, ki nastajajo pri kislinski (HCl) hidrolizi tehnološke obdelave živil kot posledica reakcije kisline z rezidualnimi maščobami pri visokih temperaturah in nizki vsebnosti vode. Prisotni so lahko v različnih predelanih živilih kot je sojina omaka, predelano sadje in zelenjava, jedi iz žitaric in pekovski izdelki, mesni izdelki, prekajene ribe, pivo.

Akrlamid je procesno onesnaževalo, ki nastaja pri obdelavi rastlinskih živil z veliko vsebnostjo ogljikovih hidratov nad 120 °C, pri nizki vlažnosti. Začne nastajati, ko se živilo zlatorumeno zapeče, bolj je barva zapečenja intenzivna, več ga živilo vsebuje. Največ ga določamo v pečenem in praženem krompirju, čipsu, pomfriju, toastu, keksih, krekerjih, kruhu, krepkih, koruznih kosmičih in praženi kavi.

Kovine/elementi (npr. arzen (As), kadmij (Cd), svinec (Pb), živo srebro (Hg) idr.) se v živilih nahajajo kot posledica naravne prisotnosti v zemeljski skorji, industrijskega onesnaževanja, gnojenja s fosfatnimi gnojili in uporabe blata iz čistilnih naprav za gnojenje kmetijskih površin in odlaganja odpadkov. Živo srebro (Hg) se v živilih nahaja kot posledica njegove naravne prisotnosti v zemeljski skorji. Njegova v okolju najbolj strupena oblika je metilno živo srebro, ki se nahaja v prehranjevalnih verigah vodnih ekosistemov, zato so skupine prebivalstva, ki zaužijejo veliko količino rib in morske hrane še posebej ogrožene. Kositer (Sn) se nahaja v notranosti pločevink in ima funkcijo ohranjanja barve konzerviranega sadja in zelenjave, npr. ananasa in beluši. V visokih koncentracijah ga najdemo v tistih živilih iz pločevink, kjer je notranja plast nelakirane pločevinke korodirana ali poškodovana oziroma kadar je lakirana plast pločevinke tanka in poškodovana.

Nitrati so naravno prisotni v okolju. V obdelani zemlji se vsebnost nitratov poveča z uporabo naravnih in predvsem umetnih gnojil, prisotnost v živilih rastlinskega izvora je odvisna od vrste rastline (višje koncentracije vsebuje npr. špinača in rukola), od temperature in vlažnosti ter sezone pridelave. Nitrati se v živilih in v prebavnem sistemu pretvarjajo v nitrite in nitrozamine.

Mikotoksini (npr. aflatoksini, ohratoksin A, patulin, deoksinivalenol (DON), zearalenon, fumonizini in toksina T-2 in HT-2) so sekundarni metaboliti različnih plesni, ki se pojavljajo v živilih zaradi neugodnih pogojev pridelave in skladiščenja pridelkov oziroma živil. Značilna je točkovna razporeditev plesni in posledično mikotoksinov v živilih. Mikotoksine proizvajajo različne vrste plesni v različnih živilih: oreški, fige in drugo suho sadje, začimbe, surova rastlinska olja, kakavova zrna, kava, žita, mleko in mlečni proizvodi, sadje.

Histamin je biogeni amin in snov preobčutljivosti, ki povzroča alergijam podobne simptome. Velikokrat ga najdemo v ribah kot posledica pretvorbe aminokisline histidina v histamin zaradi previsokih temperatur shranjevanja surovih rib takoj po ulovu in nadaljnjem skladiščenju. Histamin se nahaja tudi v svežih jagodah, črnem vinu, nekaterih sirih, prekajenem mesu, v konzerviranem mesu tun.

Alkaloidi so sekundarni rastlinski metaboliti, ki imajo pomembno funkcijo pri interakciji rastlin z okoljem, npr. pri obrambi proti boleznim, škodljivcem in plenilcem. Alkaloidi so bazične organske

spojine, ki vsebujejo dušik, najpogosteje vezan v heterociklično strukturo. Mednje spadajo kofein, solanin, pirolizidinski alkaloidi (retronecin, senecionin), tropanski alkaloidi (atropin, skopolamin) in številni drugi. Zastrupitve s hrano zaradi prisotnosti alkaloidov so bile opisane že v antičnih časih.

4.1.1.2 Ostanki pesticidov

Pesticid je kemikalija za uničevanje škodljivih organizmov. Za zatiranje žuželk se uporabljajo insekticidi, pršic akaricidi, polžev limacidi, škodljivih rastlin (plevela) herbicidi, škodljivih plesni fungicidi. Ostanki pesticidov so ostanki aktivnih snovi, metabolitov in razkrojnih ali reakcijskih produktov aktivnih snovi, ki so se uporabili v pripravkih za zaščito rastlin, zdravilih v veterinarski medicini ali kot biocidni pripravki in so prisotni v ali na hrani rastlinskega in živalskega izvora.

4.1.1.3 Aditivi za živila

Aditiv za živila je vsaka snov, ki se običajno ne uporablja oziroma ne uživa kot živilo in ne predstavlja običajne, tipične sestavine živila, ne glede na to ali ima hranilno vrednost, se pa namensko dodaja živilu iz tehnoloških razlogov v proizvodnji, predelavi, pripravi, obdelavi, pakiranju, transportu, hrambi in se zato nahaja v živilu ali v stranskem proizvodu živila in s tem posredno ali neposredno postane sestavina živila. Aditivi se uporabljajo v živilih npr. za ohranjanje hranilne vrednosti, zagotavljanje mikrobiološke varnosti in podaljšanje obstojnosti, za izboljšanje določenih senzoričnih lastnosti živila (videz, vonj, okus, konsistenca).

Konzervansi (npr. sorbinska kislina in benzojska kislina ter njune soli, nitriti/nitrati) so snovi, ki podaljšajo obstojnost živilu tako, da ga ščitijo pred kvarom in razvojem patogenih mikroorganizmov. Dodatek nitrita v mesne izdelke in žveplovega dioksida v izdelke iz sadja ima poleg funkcije konzerviranja tudi funkcijo oblikovanja barve.

Sladila (npr. aspartam, acesulfam K, steviolni glikozidi, ciklomat, saharin) so snovi z nižjo energijsko vrednostjo od navadnega sladkorja. Uporabljajo se za slajenje živil oziroma kot namizno sladilo.

Antioksidanti (npr. butilhidroksianizol (BHA) in butilhidroksitoluol (BHT)) so snovi, ki podaljšajo obstojnost živil tako, da jih ščitijo pred kvarom, ki ga povzroča oksidacija; slednja se kaže v obliki žarkosti maščobe in spremembe barve.

Barvila (npr. E102 – tartrazin in E104 – kinolinsko rumeno) so snovi, ki dodajo ali obnovijo barvo živila. Lahko so naravnega izvora, pridobljena s selektivno ekstrakcijo pigmentov ali sintetično pridobljene spojine (umetna barvila). V preteklosti so se občasno v živilih nahajali tudi nedovoljeni pigmenti kot so Sudan red: I, II, III, IV in Para red.

Emulgatorji (npr. lecitin) so snovi, ki omogočajo nastanek in ohranjanje homogene mešanice dveh ali več medsebojno nezdružljivih faz, npr. maščobe in vode.

4.1.1.4 Alergeni

Različna živila in sestavine živilskih proizvodov rastlinskega in živalskega izvora lahko pri določenih ljudeh povzročijo alergijske reakcije ali druge reakcije preobčutljivosti. Sestavine, ki lahko povzročijo alergije oziroma reakcije preobčutljivosti, izvirajo predvsem iz sledečih živil: žita, ki vsebujejo gluten, raki, jajca, arašidi (kikiriki), soja, mleko (vključno z mlečnim sladkorjem laktozo), lupinasto sadje (oreščki), listna zelena, gorčično seme, sezamovo seme, žveplov dioksid in sulfiti, volčji bob in mehkužci.

4.1.2 Zakonski okvir in zahteve

V Evropski uniji daje podlago za zagotavljanje visoke ravni varovanja zdravja ljudi v zvezi z živilni Uredba (ES) št. 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 28. januarja 2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane. V Uredbi je poudarjeno, da živilska zakonodaja temelji na analizi tveganja, katere del je ocena tveganja. Ocena tveganja je osnovana na razpoložljivih znanstvenih dognanjih in se izvaja na neodvisen, objektiven in pregleden način. Pri odločanju, ali je živilo škodljivo za zdravje, se upoštevajo verjetni takojšnji in/ali kratkoročni in/ali dolgoročni učinki živila na zdravje osebe, ki živilo uživa, pa tudi na poznejše rodove, verjetni kumulativni toksični učinki in posebna zdravstvena preobčutljivost posebnih skupin potrošnikov, kadar je živilo namenjeno tej skupini. Živilo, ki je v skladu s posebnimi določbami Unije, ki urejajo varnost živil, se šteje, da je varno, kolikor gre za vidike, ki so zajeti s posebnimi določbami Unije ali v skladu s posebnimi določbami živilske zakonodaje države članice. Evropska agencija za varno hrano (EFSA, ang. *European Food Safety Authority*) zagotavlja znanstveno svetovanje in znanstveno tehnično podporo zakonodaji in politikam Unije, prav tako države članice sodelujejo med seboj in z EFSA, med drugim tudi, da zagotovijo učinkovito povezanost pri ocenjevanju tveganja. Uredba tudi določa, da se v primeru razhajanj znanstvenih mnenj (ocen tveganj) med nacionalnimi službami, ki izvajajo podobne naloge in EFSA, s sodelovanjem razrešijo morebitna znanstvena vprašanja in pripravi enoten dokument. Zato si med državami članicami preko Svetovalnega foruma EFSA delimo informacije o vseh ocenah tveganja, ki jih nacionalno izvajamo na področju hrane.

4.1.3 Viri informacij in podatkov za pripravo ocene tveganja

Agencija EFSA je zaradi določil Uredbe (ES) št. 178/2002 za pristojne organe držav članic EU najbolj pomemben vir informacij o metodologiji ocenjevanja tveganja preko znanstvenih mnenj, priporočil in napotkov s področja ocene kemijskih dejavnikov tveganja v hrani (EFSA, 2017b).

Metodološka znanstvena mnenja in napotki so prosto dostopni na spletnih straneh EFSA. Med njimi navajamo nekaj splošnih, temeljnih:

- *Scientific Opinion on Risk Assessment Terminology* (EFSA, 2012a),
- *Risk assessment of contaminants in food and feed* (Alexander et al., 2012)
- *Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data* (EFSA, 2012b),

- *Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making* (EFSA, 2010a),
- *Guidance on human health risk-benefit assessment of food* (EFSA, 2010b),
- *Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment* (EFSA, 2011),
- *Modern methodologies and tools for human hazard assessment of chemicals* (EFSA, 2014a),
- *Data Representativeness: Issues and Solutions* (EFSA, 2015)
- *Guidance on the use of the benchmark dose approach in risk assessment* (EFSA, 2017a).

Pogosto so dober vir informacij in pristopov k oceni tveganja tudi nekatere nacionalne agencije za varnost hrane kot so npr. Agencija za živilske standarde Združenega kraljestva, FSA (*Food Standards Agency, United Kingdom*) (FSA, 2017), Nemški zvezni inštitut za oceno tveganja, BfR (*Bundesinstitute für Risikobewertung*) (BfR, 2017), Francoska agencija za hrano, okolje in zdravje na delovnem mestu (*French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety*) (ANSES, 2017), Norveški znanstveni odbor za varnost živil (*Norwegian Scientific Committee for Food Safety*) (VKM, 2017) ali Hrvaška agencija za hrano (HAH, 2017).

Od leta 1995 je uporaba ocene tveganja pri zagotavljanju varnosti živil obvezna za vse države članice Svetovne trgovinske organizacije, STO (*World Trade Organisation, WTO*) (Moy, 2014). Standardi, vodila in priporočila Komisije Codex Alimentarius (Codex) so prepoznane kot mednarodne reference za oceno tveganja in upravljanja s tveganji na področju varnosti živil. V imenu Codexa in držav članic Svetovne zdravstvene organizacije, SZO (*World Health Organization, WHO*) in Organizacije za prehrano in kmetijstvo Združenih narodov, OPK (*Food and Agriculture Organization, FAO*), ocene tveganja za kemikalije v hrani izvajajo v glavnem v dveh mednarodnih strokovnih telesih, to je v Skupnem strokovnem odboru FAO/WHO za aditive v živilih, JECFA (*Joint FAO/WHO Committee on Food Additives*), ki ocenjuje živilske aditive, onesnaževala in ostanke veterinarskih zdravil v živilih in v Skupnih FAO/WHO srečanjih o pesticidnih ostankih, JMPR (*Joint FAO/WHO Meetings on Pesticide Residues*), kjer ocenjujejo insekticide, herbicide, fungicide in sorodne kemikalije. Ocene tveganja so prosto dostopne na njihovih spletnih straneh.

Načela in metode ocenjevanja tveganja kemikalij, ki jih uporabljata JECFA in JMPR so opredeljene v Zdravstveno ekoloških merilih, EHC (*Environmental Health Criteria*) številka 240 (WHO, 2002), ki jih pripravlja Mednarodni program za kemijsko varnost, IPCS (*International Programme on Chemical Safety*).

Informacije o toksikoloških profilih kemijskih onesnaževal najdemo v različnih mednarodnih podatkovnih virih: INCHEM (WHO/IPCS, 2017), eChemPortal (OECD, 2017), Toxicology Data Network, TOXNET (NLM, 2017), Agency for Toxic Disease Registry, ATSDR (ATSDR, 2017). Ameriška agencija za varovanje okolja, EPA (*US Environmental Protection Agency*) ima na spletu dostopen Informacijski sistem za celostne ocene tveganja, IRIS (*Integrated Risk Information System*), kjer je opisana strupenost kemikalij za zdravje in okolje (EPA, 2017). Mednarodna agencija za raziskave raka, IARC (*International Agency for Research on Cancer*) ima na spletu objavljene monografije o rakotvornih snoveh (IARC, 2017).

4.2 OCENA TVEGANJA

4.2.1 Ocena nevarnosti

Za vse več kemijskih dejavnikov tveganja, za katere je verjetno, da se pojavijo v živilih, obstajajo v navedenih virih podatkov in informacij (glej tudi 2.1.2) že izdelane ocene nevarnosti. V takšnih primerih se informacije potrebne za karakterizacijo tveganja povzeti. V primeru, da za kemikalijo ne obstajajo že izdelane ocene nevarnosti, je potrebno proučiti primarne vire in izdelati oceno nevarnosti po principih opisanih v poglavju 2.2.2 in v nadaljevanju.

Učinki na zdravje zaradi izpostavljenosti kemijskim dejavnikom tveganja v hrani so lahko takojšnji (zastrupitve ob enkratnem oziroma kratkotrajnem uživanju nevarnih snovi), srednjeročni in dolgoročni (posledica uživanja v daljšem časovnem obdobju), nekateri učinki pa se lahko izrazijo šele z zakasnitvijo ali celo v naslednjih generacijah. Stopnja absorpcije, metabolizma in odstranitve iz organizma je kompleksna in povezana tako s fizikalno-kemijskimi lastnostmi snovi, kot tudi s hranilnimi sestavinami živil, kot so beljakovine, maščobe, ogljikovi hidrati, vitamini, minerali in elementi v sledovih. V zadnjem času naraščajo dokazi o povezanosti kemijskih dejavnikov tveganja v hrani s kroničnimi boleznimi kot so bolezni srca in ožilja, debelost in rak (Kazancioğlu, 2013; Alissa in Ferns, 2011). Kljub temu, da so kemijski dejavniki tveganja v živilih razlog za zaskrbljenost v vseh življenjskih obdobjih, je ta največja pri otrocih. Otroci, ki s hrano zaužijejo več energije na enoto telesne mase kot odrasli, so bolj občutljivi predvsem v zgodnjem življenjskem obdobju in so zaradi nepopolno razvitih organskih sistemov za presnovo in izločanje bolj občutljivi za škodljive vplive številnih kemikalij (Vogt et al., 2012; NRC, 1993).

Oceno nevarnosti sestavljata identifikacija in karakterizacija nevarnosti. Oceno nevarnosti kemikalij, ki niso genotoksične in rakotvorne, v živilih izrazimo v obliki na zdravju temelječe smerne vrednosti, HBGV (*Health-Based Guidance Value*) oziroma referenčnega odmerka (Alexander et al., 2012). Pri izpeljavi HBGV, je potrebno upoštevati vse dostopne toksikološke informacije, vključno s študijami na ljudeh, poskusnih živalih, na celičnih in drugih sistemih. HBVG je definirana kot raven izpostavljenosti pri kateri ni nobenih občutnih tveganj za zdravje. Konkretni primer HBGV je dopustni dnevni vnos, TDI (*Tolerable Daily Intake*). Najprej se določi takoimenovana referenčna točka, RP (*Reference Point*), ki je po možnosti osnovana na matematičnem modeliranju razmerja med odmerkom in učinkom. EFSA pri tem priporoča uporabo takoimenovanega referenčnega odmerka pri spodnji meji zaupanja, BMDL (*Bench Mark Dose Lower Confidence Limit*). BMDL je ocena najmanjšega odmerka, ki s 95 % gotovostjo ne povzroči več kot določene spremembe odziva glede na ozadje. V primeru, da matematično modeliranje ne pride v poštev, se kot RP lahko uporabi odmerek brez opaznega škodljivega učinka, NOAEL (*No Observed Adverse Level*) ali odmerek najmanjšega opaznega škodljivega učinka, LOAEL (*Lowest Observed Adverse Level*). HBVG se nato izračuna z deljenjem RP s faktorji negotovosti, ki upoštevajo ekstrapolacijo z živali na ljudi in variabilnost občutljivosti med ljudmi (glej tuid 2.2.2.4).

Pristop HBGV ni primeren za genotoksične in rakotvorne snovi, ker predpostavlja postavitev praznega odmerka. Snovem (kot so npr. aflatoksini, etil karbamati in policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH)), ki kažejo genotoksični potencial preko mehanizma reakcije z deoksiribonukleinsko kislino, ni mogoče

določiti praga učinka. EFSA je za ta namen vpeljala pristop roba (količnika) izpostavljenosti, MOE (*Margin of Exposure*) za oceno tveganja snovi, ki so tako genotoksične kot tudi rakotvorne (glej 2.2.5.2).

4.2.1.1 Mešanice kemikalij

Kemikalije se v hrani ne pojavljajo posamezno, pač pa v obliki mešanic. Za oceno nevarnosti pri mešanicah velja, da je v določenih razmerah učinek mešanice kemikalij drugačen kot učinek posamezne kemikalije. Kemikalije z enakimi načini delovanja delujejo tako, da pride do kombinacije učinkov, ki so večji kot učinki posamezne kemikalije, in sicer bo učinek odvisen od vsote odmerkov, tkim. aditivni učinek. Za kemikalije z različnimi načini delovanja (neodvisno delovanje) ne obstajajo trdi dokazi, da pride do škodljivih učinkov, v kolikor je odmerek posamezne kemikalije v zmesi enak oziroma nižji, kot je odmerek brez učinka. Ob tem se je potrebno zavedati, da se referenčni odmerki določajo na podlagi odmerkov brez učinka ob upoštevanju faktorjev ocenjevanja, iz česar sledi, da so referenčni odmerki zelo konzervativni. A vendar je potrebno proučiti negotovosti pri določanju referenčne vrednosti za posamezno kemikalijo v mešanici. Ta pristop ni primeren za snovi, ki nimajo praga učinka. Poleg načina delovanja in velikosti izpostavljenosti je potrebo upoštevati tudi potencialno kopičenje kemikalij, odnos med strukturo in aktivnostjo kemikalije ter morebitne znane interakcije. Do interakcij (antagonizma, potenciranja oz. sinergije) navadno pride pri srednje visokih oziroma visokih odmerkih, medtem ko so pri nizkih odmerkih te interakcije malo verjetne oziroma toksikološko nepomembne. Glede na neskončno število možnih kombinacij, ki smo jim izpostavljeni, se je smiselno osredotočiti na potencialno zaskrbljujoče mešanice. V zvezi z oceno tveganja mešanice sta ključna izziva pomanjkanje podatkov o izpostavljenosti in pomanjkanje podatkov o mehanizmih delovanja. Zaenkrat ne obstaja seznam mehanizmov delovanja niti kriteriji za opredelitev oz. napoved načina delovanja za kemikalije, o katerih obstaja malo podatkov. Če ne poznamo mehanizma delovanja, se priporoča uporaba aditivnega pristopa. Za napoved učinkov mešanic se priporoča ekspertna presoja za vsak primer posebej.

Pri kemikalijah z različnimi mehanizmi delovanja se priporočajo še presoje v zvezi z vprašanji, ali katera od snovi v mešanici pomembno poveča absorpcijo druge/ih, ali katera od snovi v mešanici pomembno zavre izločanje/klirens druge(ih), ali je strupenost katere od snovi v mešanici odvisna od metabolne aktivacije in ali katera od snovi v mešanici inducira presnovne encime, ki so potrebni za metabolno aktivacijo, ali lahko dve ali več snovi v mešanici delujejo na različne encime na pomembni presnovni poti in ali lahko dve ali več snovi v mešanici delujejo na različne elemente zaščitnih in popravljivih mehanizmov v celicah (Fatur et al., 2016).

Primer mešanice kemikalij v živilih so npr. dioksini, furani in poliklorirani bifenili. Svetovna zdravstvena organizacija in druge institucije so za izračun strupenosti oziroma toksičnega ekvivalenta (TEQ) posameznih komponent v mešanici dioksinov in dioksinom podobnih PCB privzele uporabo faktorjev ekvivalenčne strupenosti (TEF). V tem konceptu je strupenost mešanice dioksinov in dioksinom podobnih PCB izračunana kot vsota strupenosti posameznih komponent glede na predstavnika z najvišjo ugotovljeno strupenostjo 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8-tetraklorodibenzo-para-dioksin), ki mu je dodeljena TEF vrednost 1,0. Vsem ostalim komponentam PCDD (poliklorirani dibenzo-p-dioksini) in PCDF (poliklorirani dibenzofurani) so dodeljene nižje TEF vrednosti, ki predstavljajo njihovo strupenost (Schrenk, 2012; EFSA, 2012e).

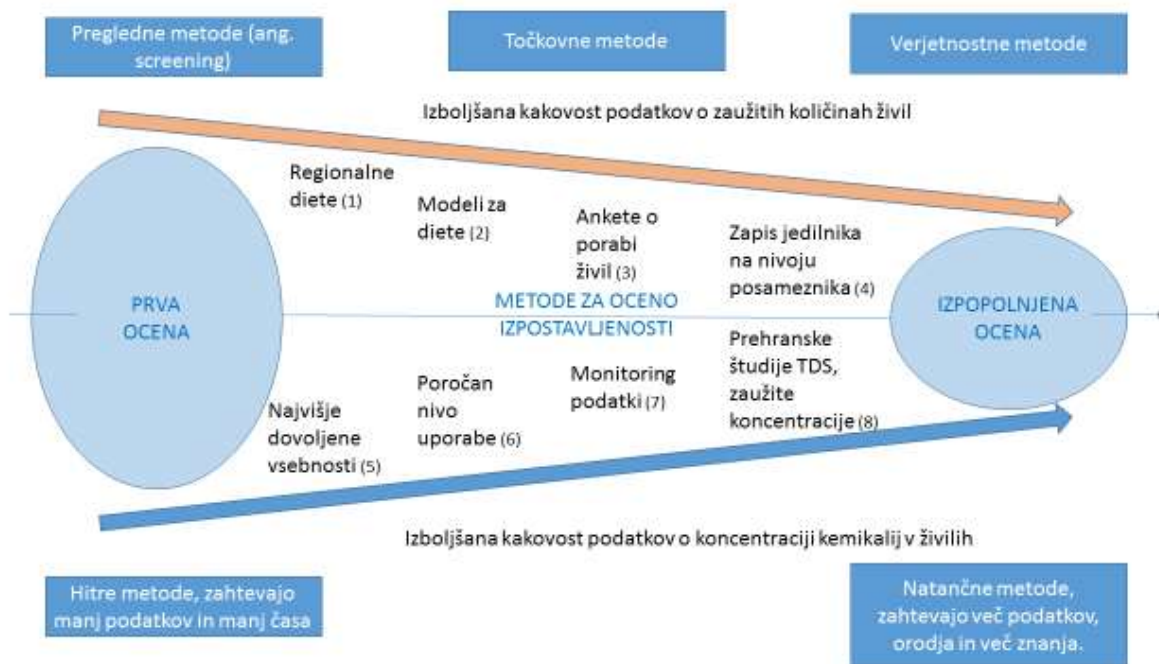
Poleg dioksinov, furanov in dioksinom podobnih PCB, pri katerih se zaradi njihove podobne strukture predpostavlja, da imajo podoben škodljivi učinek na organizem, obstajajo mešanice, ki so si strukturno različne, vendar delujejo na isto tarčo v organizmu npr. organofosforni in karbamatni pesticidi na encim acetilholinesterazo. Združujemo jih v tako imenovane CAG skupine (ang. *cumulative assessment group*). Za identifikacijo spojin, ki spadajo v isto CAG skupino je treba natančno poznati njihove mehanizme delovanja, kar je zahteven proces in je trenutno zaključen le za nekaj skupin pesticidov (EFSA, 2013).

Za normalizacijo strupenosti kemikalij, ki pripadajo isti CAG skupini obstaja več pristopov, eden od njih je pristop z relativnimi potenčnimi faktorji, ki temelji na podobnih odzivih na odmerke spojin znotraj CAG skupine in zahteva predpostavko, da so krivulje odmerka-učinek vseh spojin znotraj CAG skupine vzporedne. Strupenost spojin znotraj CAG skupine se izraža glede na indeksno substanco, ki se jo izbere med spojinami znotraj CAG skupine z najbolj popolno toksikološko podatkovno zbirko (Boon et al., 2015).

4.2.2 Ocena izpostavljenosti

V tem delu ocenimo količino in trajanje vnosa kemikalije za določeno populacijsko skupino. Ocena izpostavljenosti temelji na različnih scenarijih za vse potrošnike ali samo za porabnike, po potrebi pa tudi za bolnike, nosečnice/doječe matere, posebne populacijske skupine ipd., vedno pa tudi glede na njihovo starost in telesno maso. Svetovna zdravstvena organizacija je definirala »oceno izpostavljenosti« kot kvalitativno ali kvantitativno oceno verjetnega vnosa kemijskega, biološkega ali fizikalnega dejavnika preko hrane ali drugih virov in kot del ocene tveganja za zdravje ljudi (WHO, 2009). Izpostavljenost kemijskemu dejavniku tveganja preko hrane (prehranski vnos) za določeno populacijo ocenimo z uporabo podatkov o pojavnosti dejavnika tveganja v živilih in podatkov o zaužitih količinah teh živil. Poleg tega upoštevamo tudi prehranjevalne navade izbrane populacije in vse dodatne informacije o pojavljanju kemijskega dejavnika v hrani (homogenost, ostanke v hrani). Prehranski vnos določamo za kratkotrajno ali dolgotrajno izpostavljenost kemikaliji, pri čemer kratkotrajna izpostavljenost pokriva obdobje do 24 ur in dolgotrajna izpostavljenost pokriva povprečno izpostavljenost preko daljšega obdobja ali vse življenje. Prehranski vnos kemikalije je odvisen od koncentracije kemikalije v živilu in zaužite količine živila. Idealno bi prehranski vnos kemikalije za posameznika določili tako, da bi določali koncentracijo kemikalije v živilu, ki ga posameznik dejansko zaužije. To so t.i. prehranske raziskave z duplikati, ki pa so zelo redke. Z izjemo omenjenih prehranskih raziskav, pa podatki o zaužitih količinah živil in koncentracijah kemikalije v živilu niso neposredno povezani, zato je za opis realnega stanja potrebno modeliranje in integracija obstoječih podatkovnih zbirk. Na voljo je več metod za oceno vnosa kemikalij s hrano in izbira je odvisna od dostopnih podatkov in zahtev glede natančnosti in podrobnosti analize (Kroes, 2002). Metode si sledijo od najbolj enostavnih, tako imenovanih preglednih, do zahtevnejših verjetnostnih (probabilističnih) porazdelitvenih metod (Slika 4.1, povzeto po van Klaveren, 2014).

Slika 4.1: Pregled uporabe različnih metod in nivojev podatkov za oceno izpostavljenosti, od prve do izpopolnjene ocene izpostavljenosti



Legenda

- (1) SZO, GEMS Food consumption database http://www.who.int/nutrition/landscape_analysis/nlis_gem_food/en/
- (2) EFSA, The Comprehensive Food Consumption Database <https://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>
- (3) SURS, Poraba gospodinjstev, http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Dem_soc/08_zivljenjska_raven/03_poraba_gospodinjstev/05_08787_porab_sred_kol/05_08787_porab_sred_kol.asp
- (4) EU Menu Slovenija Zapis jedilnika na nivoju posameznika, <http://www.nijz.si/sl/eu-menu-slovenija>
- (5) Najvišje zakonsko dovoljene vsebnosti izbranih kemijskih dejavnikov tveganja, standardi in zakonodaja <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/>, in <https://ec.europa.eu/food/safety>
- (6) Podatki industrije
- (7) Podatki Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin http://www.uvhvvr.gov.si/si/delovna_podrocja/zivila/ in http://www.uvhvvr.gov.si/si/delovna_podrocja/zivila/pesticidi/ ter podatki Zdravstvenega inšpektorata RS http://www.zi.gov.si/si/delovna_podrocja/varnost_zivil_in_hrane/
- (8) SZO, TDS Total diet study http://www.who.int/foodsafety/publications/tds_guidance/en/

4.2.2.1 Točkovne (deterministične) metode za eno kemikalijo

Točkovni model vnosa se običajno uporablja kot prva stopnja ocene vnosa kemikalije v populaciji. Predpostavke takega izračuna so, da vsi posamezniki zaužijejo enake količine ocenjevanega živila, da je v njem vedno prisotna kemikalija (npr. ostanek pesticida) in to v povprečni ali najvišji ugotovljeni koncentraciji. Za oceno skrajnega vnosa kemikalije se točkovno uporabi zgornje percentile (P 90, 95, 97,5, 99) porazdelitve zaužitih količin živila vseh porabnikov, kar pogosto vodi v precenjene ocene vnosa. Tak pristop ne omogoča vpogleda v porazdelitev vseh možnih vnosov, točkovne ocene pa lahko pokažejo na tiste kombinacije kemijskih dejavnikov tveganja in živil, ki jih je treba obravnavati bolj podrobno.

Matematični model vnosa za eno kemikalijo lahko ponazorimo s sledečo enačbo:

$$E = \frac{c \times Q}{tm}$$

E	=	vnos kemikalije z živilom (v mg/kg tm/dan) - izpostavljenost,
c	=	koncentracija (povprečna, najvišja, mediana) kemikalije v živilu (v mg/kg),
Q	=	zaužita količina živila (povprečna, mediana, P90, P95, P97,5,..) (v kg/dan),
tm	=	telesna masa (lahko tudi povprečna telesna masa v populaciji) (v kg).

Primer najbolj osnovne točkovne ocene izpostavljenosti je spremljanje vnosa aditivov. Za spremljanje prehranskega vnosa aditivov v državah članicah Evropske Unije je predlagan nivojski pristop. Ocenjevanje na prvem nivoju poteka na ravni Unije že ob avtorizaciji posameznega aditiva tako, da se združuje podatke o zaužitih količinah živil z največjo predlagano vsebnostjo aditiva v živilih. Na drugem nivoju združujemo aktualne nacionalne podatke o zaužitih količinah živil z največjimi dovoljenimi vsebnostmi posameznega aditiva v živilih (TMDI metoda, ang. *theoretical maximum daily intake*). TMDI predstavlja teoretični največji dnevni vnos aditiva za živila, ki ga izražamo v mg aditiva /kg tm/dan (Codex, 2014). V primeru, da izračuni na drugem nivoju pokažejo na možnost preseganja referenčnih sprejemljivih dnevnih vnosov iz točke 2.1 se ocena izpostavljenosti izpopolni na tretjem nivoju tako, da se združuje aktualne nacionalne podatke o zaužitih količinah živil z dejanskimi ugotovljenimi vsebnostmi aditiva v živilih.

Ocena prehranskega vnosa z izračunavanjem teoretičnega največjega dnevnega vnosa (TMDI) s podatki porabe živil v gospodinjstvu - t.i. »budget« metoda, se v zadnjem času opušča, če so na voljo bistveno boljši podatki o zaužitih količinah živil. V ta namen so v zadnjih letih razvili različna orodja in pristope. Evropska komisija je v okviru evropskega raziskovalnega programa FACET pri Joint Research Centre za oceno vnosa aditivov razvila orodje za izračun ocene izpostavljenosti na drugem nivoju (<http://expofacts.jrc.ec.europa.eu/facet/>). Orodje omogoča souporabo podatkovnih zbirk glede vsebnosti aditivov v različnih kategorijah živil in glede zaužitih količin živil. Dobra lastnost orodja je v tem, da sledi kategorizaciji živil po Uredbi o aditivih v živilih št. 1333/2008 in je primerno tako za aditive kot arome, vendar ga je možno uporabljati le s primerno podatkovno zbirko o zaužitih količinah živil. Podobno je z orodjem, ki ga je razvila Evropska agencija za varnost hrane – FAHM (<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/566e>) za pomoč proslcem pri presoji varnosti novih aditivov v živilih

4.2.2.2 Verjetnostne (probabilistične) metode za eno kemikalijo

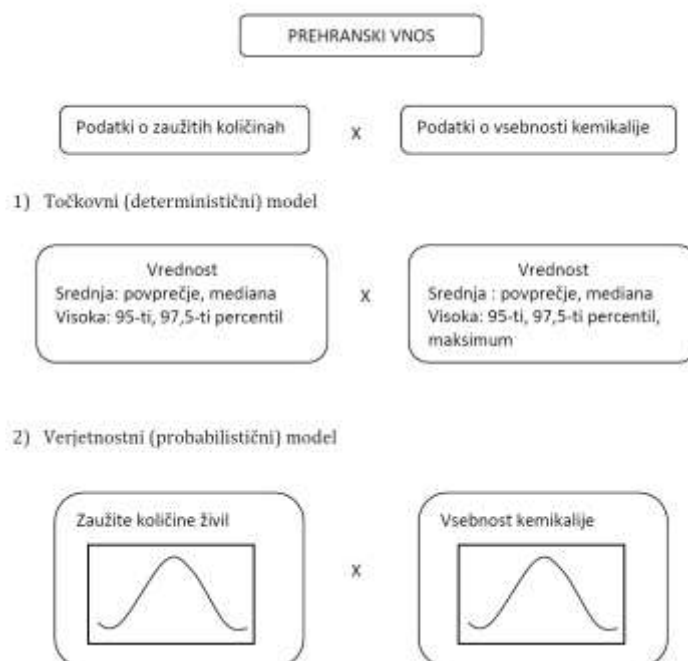
Verjetnostna (probabilistična) metoda je komplementarna točkovni metodi. Shematsko so razlike v modelih prikazane na Sliki 4.2. Vnos kemijskega dejavnika tveganja s hrano v populaciji bolj realno opišemo s porazdelitvijo vrednosti vnosa v primerjavi s povprečnimi vrednostmi ali vrednostmi mediane. Verjetnostni pristopi so bolj kompleksni, zato se zanje odločimo v tistih primerih, ko točkovne ocene ne zadostujejo za odločitve glede upravljanja s tveganji, ko točkovne ocene pokažejo na možnost tveganja in v primerih, ko razmišljamo o verjetnosti in velikosti izpostavljenosti nad referenčnimi mejami za posamezno kemikalijo. Verjetnostna metoda omogoča tudi kvantifikacijo negotovosti, ki vplivajo na oceno izpostavljenosti. Ena od pomembnih virov negotovosti je variabilnost uporabljenih podatkov. K variabilnosti porazdelitve vnosa prispeva tako variabilnost zaužitih količin živil v populaciji (prehranjevalne navade) kot telesna masa posameznika ter variabilnost vsebnosti kemikalije v živilih, zato je vsaj ena od spremenljivk vnosa v obliki porazdelitvene funkcije. Z verjetnostno metodo generiramo porazdelitve vnosov kemikalije in verjetnost, da se taki vnosi pojavijo v preiskovani populaciji. Principi, teorija in metodologija verjetnostnih (probabilističnih) pristopov pri oceni

izpostavljenosti v hrani je zbrana v virih (Cullen in Frey, 1999; Vose, 2008; IPCS/WHO, 2008; Van der Voet et al., 2009; Bosgra et al., 2009; Van Klaveren in Boon, 2009; Van der Voet in Slob, 2007; Boon in Van Klaveren, 2003; Pieters et al., 2005; Codex Committee on Pesticide Residues, 2002), napotki za uporabo pa v dokumentu EFSA (EFSA, 2012c).

Verjetnostne ocene izpostavljenosti ni možno izračunavati brez ustrezne programske opreme. V Evropi najpogosteje uporabljena programska oprema za probabilistično oceno izpostavljenosti je programska oprema »MCRA« - Monte Carlo Risk Assessment, ki je bila razvita na Biometris, Wageningen University & Research Center za nizozemski Nacionalni inštitut za javno zdravje in okolje (RIVM). Orodje je dostopno na spletu (<https://mcra.rivm.nl>).

Posebej za kemijske dejavnike tveganja je Ciper v sodelovanju z EFSA razvil model in orodje »IMPRORISK« (<https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/AF/160608a/160608-p12.2.pdf>), ki je primerno za analizo podatkovnih zbirk vsebnosti kemijskih parametrov zbranih v okviru uradnega nadzora.

Slika 4.2: Točkovni (deterministični) in verjetnostni (probabilistični) model prehranskega vnosa kemikalije (povzeto po Dorne s sod., 2009)



V podatkovni zbirki o zaužitih količinah živil, ki jo ureja EFSA, so zbrani rezultati doslej opravljenih nacionalnih prehranskih raziskav v EU. Raziskave se sicer trenutno še razlikujejo glede pristopov in metodologij (EFSA, 2011). Slovenija je v zbirko posredovala podatke, pridobljene skladno z napotki (EFSA, 2014 b) na vzorcu 407 prebivalcev Slovenije v starosti od 18 do 65 let za en raziskovalni dan (Gabrijelčič Blenkuš et al., 2009). V podatkovni bazi, ki je dostopna na spletnih straneh EFSA (<https://www.efsa.europa.eu/en/data/food-consumption-data>), je prikazana povzeta statistika za združene kategorije živil. Statistika vključuje povprečne vrednosti porabe, mediano in tudi 95-ti, 97,5-

ti in 99-ti percentil porabe posameznih kategorij živil. Višji percentili so zaradi majhne velikosti vzorca pri več kategorijah živil združeni z veliko negotovostjo. Z novo prehransko raziskavo, katere rezultate pričakujemo do konca leta 2018, bomo pridobili reprezentativne podatke o zaužitih količinah živil pri dojenčkih, malčkih, mladostnikih, odraslih in starejših. Do takrat si pomagamo tudi s podatki drugih držav. Pri tem presodimo, ali so prehranjevalne navade prebivalcev države, ki jo uporabljamo za vir podatkov, podobne prehranjevalnim navadam prebivalcev Slovenije za ocenjevano kategorijo živil.

4.2.2.3 Kumulativni prehranski vnos oz. ocena izpostavljenosti za mešanice

Z obroki dnevne prehrane posameznik v krajšem obdobju isto kemikalijo zaužije iz več različnih kategorij hrane, prav tako pa z isto kategorijo hrane lahko zaužije več različnih kemikalij. Če imajo posamezne kemikalije v organizmu podobne mehanizme delovanja, bi uveljavljeni način ocenjevanja vnosa vodil v podcenjeno tveganje za zdravje ljudi (Boobis, 2008; EFSA, 2011). Agencija za zaščito okolja iz Združenih držav Amerike je prva določila nekaj pristopov za kumulativni vnos organofosfornih, N-metilkarbamatnih, triazinskih, kloroacetanilidinskih in piretrinskih/piretroidinskih pesticidov, za katere je ugotovila, da imajo enak mehanizem delovanja na človeški organizem (EPA, *2003).

Matematični model vnosa za mešanico kemikalij lahko ponazorimo s sledečo enačbo:

$$E_{ijs} = \frac{\sum_{f=1}^F Q_{ijf} \times c_{ijfs}}{tm} \times RPF_s$$

E_{ijs}	=	vnos kemikalije s pri posamezniku i na dan j ,
c_{ijfs}	=	koncentracija kemikalije s v živilu f , ki ga zaužije posameznik i na dan j ,
Q	=	zaužita količina živila f pri posamezniku i na dan j ,
tm	=	povprečna telesna masa v populaciji, za katero ocenjujemo vnos (v kg),
RPF	=	faktor relativne moči.

Primere kumulativne ocene izpostavljenosti za različne pesticide (karbamate, organofosforne, triazole) so opisani v van Klaveren et al.(2010), Blaznik et al. (2015) in van der Voet et al.(2015).

4.2.3 Karakterizacija tveganja

Tveganje za zdravje zaradi zaužitih kemikalij preko živil največkrat izražamo kvantitativno kot razmerje med najbolj primerno, na zdravju temelječo, smerno vrednostjo oziroma referenčnim odmerkom in ocenjeno izpostavljenostjo (Schwela, 2014). Glej tudi 2.2.2.4 in 2.2.5.1.

Za kemikalije, ki niso genotoksične in rakotvorne, velja, da ocenjena izpostavljenost kemikaliji iz hrane in drugih virov, ki je manjša od HBGV, ne predstavlja velikega tveganja za človekovo zdravje (Alexander et al., 2012).

Pri genotoksičnih in rakotvornih snoveh se za karakterizacijo tveganja uporabi pristop MOE (glej 2.2.5.2) tako, da se izračuna razmerje med RP (npr. BMDL) in ocenjeno izpostavljenostjo (Alexander et al., 2012, EFSA, 2005). EFSA je mnenja, da MOE enak ali večji od 10.000 in ki je osnovan na BMDL₁₀

predstavlja nizko zaskrbljenost za javno zdravje (EFSA, 2012d). Pomembno je poudariti da MOE kaže le na raven zaskrbljenosti in ne kvantificira tveganja.

Prikaz primera ocene tveganja za policiklične aromatske ogljikovodike (PAH) v živilih je v poglavju 13.

Primere ocen tveganja kemikalij v živilih najdete tudi v prispevkih eNboz in druge znanstvene literature med naštetimi referencami: Kirinčič et al., 2013; Kirinčič in Pirnat, 2013; Kirinčič et al., 2015; Kirinčič, 2015; Kirinčič in Blaznik, 2016a,b,c; Perharič et al., 2013.

4.3 OVREDNOTENJE TVEGANJA

V ovrednotenju tveganja povzamemo vse dimenzije ocene tveganja:

- opišemo populacijo ali dele populacije, ki je lahko ogrožena,
- izrazimo verjetnost in če je potrebno frekvenco in trajanje neželenih dogodkov,
- ocenimo vrsto in stopnjo škodljivih učinkov za zdravje,
- presodimo o reverzibilnosti možnih škodljivih učinkov,
- opišemo empirične dokaze o vzročni povezavi med ugotovljenimi dejavniki tveganja in škodljivimi učinki na zdravje,
- opišemo kakovost in verodostojnost dostopnih podatkov, na katerih temelji ocena tveganja,
- opišemo variabilnost in vpliv uporabljenih podatkov in postopkov na negotovost ocene tveganja.

4.4 VIRI

ALEXANDER, J., BENFORD, D., BOOBIS, A., ESKOLA, M., FINK-GREMMELS, J., FÜRST, P., HEPPNER, C., SCHLATTER, J. & VAN LEEUWEN, R. 2012. Risk assessment of contaminants in food and feed. EFSA Journal, 10, s1004-n/a.

ALISSA, E. M. & FERNS, G. A. 2011. Heavy metal poisoning and cardiovascular disease. J Toxicol, 2011, 870125.

ANSES. 2017. French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety. Spletna stran pridobljena 15. 5. 2017: <https://www.anses.fr/en>.

ATSDR. 2017. Agency for Toxic Disease Registry Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://www.atsdr.cdc.gov/>.

BfR. 2017. Bundesinstitut für Risikobewertung. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://www.bfr.bund.de/en/home.html>.

BLAZNIK, U., YNGVE, A., ERŽEN, I., HLASTAN RIBIČ, C. 2016. Consumption of fruits and vegetables and probabilistic assessment of the cumulative acute exposure to organophosphorus and carbamate

pesticides of schoolchildren in Slovenia. [Public Health Nutr.](#) Feb;19(3):557-63. doi: 10.1017/S1368980015001494.

BOSGRA, S., VAN DER VOET, H., BOON, P.E., SLOB, W. 2009. An integrated probabilistic framework for cumulative risk assessment of common mechanism chemicals in food: An example with organophosphorus pesticides. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* (54) 124-133.

BOON, P.E., VAN DONKERSGOED, G., CHRISTODOULOU, D., CRÉPET, A., D'ADDEZIO, L., DESVIGNES, V., et al. Cumulative dietary exposure to a selected group of pesticides of the triazole group in different European countries according to the EFSA guidance on probabilistic modelling. *Food Chem Toxicol.* 2015 May;79:13-31. doi: 10.1016/j.fct.2014.08.004.

BOON, P.E., VAN KLAVEREN, J.D. 2003. Guidelines regarding probabilistic exposure assessment in the safety evaluation of pesticides in the EU Market. Study on Probabilistic Assessment Consumer Training. Rikilt Institute of Food Safety, B1-3330/SANCO/2002584.

CODEX ALIMENTARIUS. 2014. Guidelines for the simple evaluation of dietary exposure to food additives. Spletna stran pridobljena 15. 5. 2017: www.codexalimentarius.org.

CODEX COMMITTEE ON PESTICIDE RESIDUES. 2002. The Probabilistic approach to acute dietary exposure analysis and its applicability at the international level (Annex). Thirty-fourth Session, The Hague, 13-18 May 2002.

CULLEN, A.C., FREY, H.C. 1999. The use of probabilistic techniques in exposure assessment: A handbook for dealing with variability and uncertainty in models and inputs. New York, NY, Plenum Press.

DORNE, J.C.L.M., BORDAJANDI, L.R., AMZAL, B., FERRARI, P., VERGER, P. Combining analytical techniques, exposure assessment and biological effects for risk assessment of chemicals in food. *Trends Anal Chem* 2009; 28: 695-707. doi:10.1016/j.trac.2009.03.008.

EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic. *EFSA Journal*, 3.

EFSA. 2010a. European Food Safety Authority; Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making. *EFSA Journal* 2010; 8(6):1637. [90 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1637.

EFSA. 2010b. EFSA Scientific Committee; Guidance on human health risk-benefit assessment of food.

EFSA Journal 2010; 8(7)1673. [41 pp.]. doi:10.2093/j.efsa.2010.1673.

EFSA. 2011. European Food Safety Authority; Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment. EFSA Journal 2011;9(3):2097. [34 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2097.

EFSA 2012a. EFSA Scientific Committee; Scientific Opinion on Risk Assessment Terminology. EFSA Journal 2012;10(5):2664. [43 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2664.

EFSA. 2012 b. EFSA Scientific Committee; Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. EFSA Journal 2012;10(3):2579. [32 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2579.

EFSA. 2012 c. EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR); Guidance on the Use of Probabilistic Methodology for Modelling Dietary Exposure to Pesticide Residues. EFSA Journal 2012;10(10):2839. [95 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2839.

EFSA. 2012 d. European Food Safety Authority; Statement on the applicability of the Margin of Exposure approach for the safety assessment of impurities which are both genotoxic and carcinogenic in substances added to food/feed. EFSA Journal, 10, 2578-n/a.

EFSA. 2012 e. European Food Safety Authority; Update of the monitoring of dioxins and PCBs levels in food and feed. EFSA Journal 2012.

EFSA.2013. EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), 2014. Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile (2014 update). EFSA Journal 2013;11(7):3293, 131 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3293 .

EFSA. 2014a. European Food Safety Authority, 2014. Modern methodologies and tools for human hazard assessment of chemicals. EFSA Journal 2014;12(4):3638, 87 pp.

EFSA. 2014b. European Food Safety Authority, 2014. Guidance on the EU Menu methodology.

EFSA Journal 2014;12(12):3944, 77 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3944

EFSA. 2015. European Food Safety Authority ; Elasma Milanzi, Edmund Njeru Njagi, Liesbeth Bruckers, Geert Molenberghs, 2015. Data Representativeness: Issues and Solutions. EFSA supporting publication 2015 : EN 759, 159pp.

EFSA. 2017a. EFSA Scientific Committee; Hardy A, Benford D, Halldorsson T, Jeger MJ, Knutsen KH, More S, Mortensen A, Naegeli H, Noteborn H, Ockleford C, Ricci A, Rychen G, Silano V, Solecki R, Turck D, Aerts M, Bodin L, Davis A, Edler L, Gundert-Remy U, Sand S, Slob W, Bottex B, Abrahantes JC, Marques DC, Kass G and Schlatter JR, 2017. Update: Guidance on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. EFSA Journal 2017;15(1):4658, 41 pp. doi:10.29 03/j.efsa. 2017.4658

EFSA.2017b. European Food Safety Authority. Spletna stran pridobljena 29.03.2017: <http://www.efsa.europa.eu/>.

EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL. 2002. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. [Online]. Official Journal of the European Union. 2002; L 31: 1–2. [Accessed].

FSA.2017. Food Standards Agency. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <https://www.food.gov.uk/>.

Fatur T., Kužner J, Peterlin Mašič L, Kržan M, Filipič M, Perharič L. 2016. Ocena tveganja za zdravje potrošnikov zaradi izpostavljenosti ostankom zdravil za uporabo v veterinarski medicini v medu in satju. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje. Pridobljeno s spletne strani 15. 5. 2017: http://tox.si/attachments/article/198/Ocena%20tveganja%20za%20med_VKoncna10_02_2016.pdf.

GABRIJELČIČ BLENKUŠ, Mojca, GREGORIČ, Matej, TIVADAR, Blanka, KOCH, Verena, KOSTANJEVEC, Stojan, FAJDIGA TURK, Vida, ŽALAR, Aleksandra, LAVTAR, Darja, KUHAR, Doroteja, ROZMAN, Uroš. Prehrabene navade odraslih prebivalcev Slovenije z vidika varovanja zdravja. Ljubljana: Pedagoška fakulteta, 2009. 183 str., graf. prikazi, tabele.

HAH. 2017. Hrvatska agencija za hranu. Spletna stran pridobljena 15. 5. 2017: <https://www.hah.hr/>.

IARC. 2017. International Agency for Research on Cancer. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://www.iarc.fr/>.

IPCS/WHO (International Program of Chemical Safety/World Health Organization), 2008. Uncertainty and data quality in exposure assessment. Harmonisation Project Document No. 6. WHO, Geneva.

KAZANCIOĞLU, R. 2013. Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Kidney International Supplements*, 3, 368-371.

KIRINČIČ, S. & BLAZNIK, U. 2016a. Opredelitev nevarnosti kemijskih onesnaževal, ki se lahko nahajajo v ribah in školjkah. *Enboz*, jun. 2016, letn. 6, št. 6, str. 16-28. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_junij_2016_0.pdf.

KIRINČIČ, S. & BLAZNIK, U. 2016b. Povzetek analize podatkov biomonitoringa sladkovodnih rib iz prostega ulova (BIOTA 2012-2013) glede vsebnosti onesnaževal s presojo tveganja za zdravje ljudi. *Enboz*, apr. 2016, letn. 6, št. 4, str. 16-25. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_april_2016.pdf.

KIRINČIČ, S. & BLAZNIK, U. 2016c. Povzetek analize podatkov biomonitoringa školjk klapavic (*Mytilus galloprovincialis*) iz slovenskega morja glede vsebnosti onesnaževal s presojo tveganja za zdravje ljudi (vzorčenje 2011-2014). *Enboz*, maj 2016, letn. 6, št. 5, str. 9-19. http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_maj_2016.pdf.

KIRINČIČ, S., PERHARIČ, L. & PIRNAT, N. 2013. Ocena nevarnosti potencialno strupenih elementov, ki se lahko nahajajo v zelenjavi, pridelani na onesnaženih vrtovih. Enboz, jul-avg 2013, letn. 3, št. 7, str. 4-11.

<http://www.ivz.si/enboz?pi=5& 5 Filename=attName.png& 5 MediaId=7124& 5 AutoResize=false &pl=223-5.3>.

KIRINČIČ, S., SKRJANC, B., KOS, N., KOZOLC, B., PIRNAT, N. & TAVCAR-KALCHER, G. 2015. Mycotoxins in cereals and cereal products in Slovenia - Official control of foods in the years 2008-2012. Food Control, 50, 157-165.

KIRINČIČ, S. & PIRNAT, N. 2013.. Presoja varnosti potencialno strupenih elementov v vzorcih solate in rdeče pese z vrtov celjske kotline, vzorčenje leta 2012. Enboz, jul-avg 2013, letn. 3, št. 7, str. 12-18.

<http://www.ivz.si/enboz?pi=5& 5 Filename=attName.png& 5 MediaId=7124& 5 AutoResize=false &pl=223-5.3>.

KIRINČIČ, S. 2015. Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) v hrani in njihov vpliv na zdravje. Enboz, januar 2015, št. 1, str. 14-19. <http://www.nijz.si/enboz>.

KROES, R., MULLER, D., LAMBE, J., LOWIK, M.R.H., VAN KLAVEREN, J., KLEINER, J. et al. Assessment of intake from the diet. Food Chem Toxicol 2002; 40: 327-85.

MOY, G. G. 2014. Risk Analysis: Risk Assessment: Chemical Hazards A2 - Motarjemi, Yasmine. Encyclopedia of Food Safety. Waltham: Academic Press.

MOY, G. G. & TODD, E. C. D. 2014. Foodborne Diseases: Overview of Chemical, Physical, and Other Significant Hazards A2 - Motarjemi, Yasmine. Encyclopedia of Food Safety. Waltham: Academic Press.

NLM. 2017. US National Library of Medicine. TOXNET – Toxicology Data Network. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://toxnet.nlm.nih.gov/>.

NRC. 1993. National Research Council. Measuring Lead Exposure in Infants, Children and Other Sensitive Populations. Washington, DC: National Academy Press, 1993. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <https://www.nap.edu/read/2232/chapter/1#xv>.

OECD. 2017. The Organization for Economic Co-operation and Development. eChemPortal: Global Portal to Information on Chemical Substances. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/echemportalglobalportaltoinformationonchemicalsubstances.htm>.

PERHARIČ, L., KOŽELJ, G., DRUŽINA, B. & STANOVNIK, L. 2013. Risk assessment of buckwheat flour contaminated by thorn-apple (*Datura stramonium* L.) alkaloids: a case study from Slovenia. Food Additives & Contaminants: Part A, 30, 321-330.

PIETERS, M.N., OSSENDORP, B.C., BAKKER, M.I., SLOB W. 2005. Probabilistic modelling of dietary intake of substances. The risk management question governs the method. RIVM report 320011001/2005.

SCHRENK, D., CHOPRA, M. 2012. 5 - Dioxins and polychlorinated biphenyls in foods. In: Schrenk D, editor. Chemical Contaminants and Residues in Food: Woodhead Publishing; 2012. p. 101-23.

SCHWELA, D. 2014. Risk Assessment, Human Health A2 - Wexler, Philip. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Oxford: Academic Press.

US EPA. 2002. Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity. [na spletu] Washington DC: US Environmental Protection Agency, str. 1-90. Pridobljeno 15. 5. 2017 s spletne strani: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/guidance_on_common_mechanism.pdf

US EPA. 2017. US Environmental Protection Agency. IRIS-Integrated Risk Information System. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <https://www.epa.gov/iris/basic-information-about-integrated-risk-information-system>.

VAN DER VOET, H., VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M., BOS, P.M.J., BOSGRA, S., BOON, P.E., MURI, S.D., BRÜSCHWEILER, B.J. 2009. A model for probabilistic health impact assessment of exposure to food chemicals. Food and Chemical Toxicology, 47, 2926-2940.

VAN DER VOET, H., AND SLOB, W. 2007. Integration of probabilistic exposure assessment and probabilistic hazard characterization. Risk Anal. 27: 351-371.

VAN DER VOET, H., DE BOER, W.J., KRUISSSELBRINK, J.W., GOEDHART, P.W., VAN DER HEIJDEN, G.W., KENNEDY, M.C., BOON, P.E., VAN KLAVEREN J.D. 2015. The MCRA model for probabilistic single-compound and cumulative risk assessment of pesticides. [Food Chem Toxicol.](#) 2015 May; 79:5-12. doi: 10.1016/j.fct.2014.10.014.

VAN KLAVEREN, J.D., BOON, P. 2009. Probabilistic risk assessment of dietary exposure to single and multiple pesticide residues or contaminants: Summary of the work performed within SAFE FOOD project. Food and Chemical Toxicology, 47, 2879-2882.

VAN KLAVEREN, J.D., VAN DONKERSGOED G., VAN DER VOET, H., STEPHENSON, C., BOON, P.E. 2010. Scientific / Technical Report submitted to EFSA. Cumulative Exposure Assessment of Triazole Pesticides. RIKILT – Institute of Food Safety, Wageningen University and Research Centre.

VAN KLAVEREN, J. 2014. Exposure assessment methodology (interno gradivo): European Commission. Workshop on the monitoring of the consumption and the use of food additives and flavourings, Brussels, 2014.

VKM. 2017. Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Spletna stran pridobljena: 15. 5. 2017: <http://www.english.vkm.no/>.

VOGT, R., BENNETT, D., CASSADY, D., FROST, J., RITZ, B. & HERTZ-PICCIOTTO, I. 2012. Cancer and non-cancer health effects from food contaminant exposures for children and adults in California: a risk assessment. *Environ Health*, 11, 83.

VOSE, D. 2008. *Risk Analysis: A Quantitative Guide*. Third edition. John Wiley and Sons.

WHO. 2009. World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria, 240. Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food, Chapter 6. Dietary exposure assessment of chemicals in food. Stuttgart: World Health Organization (WHO), 2009.

WHO/IPCS. 2017. World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. Spletna stran pridobljena 29. 3. 2017: <http://www.inchem.org/>.

5 METODOLOŠKI PRISTOP K TOKSIKOLOŠKI OCENI TVEGANJA MATERIALOV NAMENJENIH STIKU Z ŽIVILI

Viviana Golja

5.1 UVOD

Materiali namenjeni stiku z živili (MNSŽ) so raznolika skupina materialov, ki pri pridelavi, proizvodnji, shranjevanju, pripravi, serviranju in uživanju živil prihajajo z njimi v stik. Predmeti namenjeni stiku z živili, npr. industrijski stroji za predelavo in proizvodnjo hrane, posode za shranjevanje in transport, embalaža, kuhinjski pripomočki, posode in pribor za serviranje in uživanje hrane so iz številnih materialov: kovin in zlitin, lesa, plastičnih mas, tekstila, papirja in lepenke, stekla, keramike, plute, gume, regenerirane celuloze. Vsebujejo tudi premaze, voske, tiskarske barve, lepila, smole za ionsko izmenjavo itd. V zadnjem času se uveljavljajo aktivni in inteligentni materiali. Aktivni materiali in izdelki imajo lastnosti, ki podaljšajo rok uporabnosti ali vzdržujejo oz. izboljšajo stanje pakiranih živil. Inteligentni materiali in izdelki imajo lastnosti, ki spremljajo stanje pakiranih živil ali okolja, ki živila obdaja (NIJZ, 2016). Snovi iz MNSŽ v običajnih ali predvidljivih pogojih uporabe ne smejo prehajati (migrirati) v živila v količinah, ki bi lahko ogrožale zdravje ljudi.

5.1.1 Zakonske in strokovne podlage

Temeljni pravni dokument je Uredba 1831/2003 (EP in ES, 2003). Seznam ostalih, bolj specifičnih dokumentov, ki pravno urejajo področje MNSŽ, je dostopen na spletni strani ZIRS: http://www.zi.gov.si/si/zakonodaja_in_dokumenti/veljavni_predpisi/materiali_in_izdelki_namenjeni_za_stik_z_zivili/. Pri izvedbi ocene tveganja se opiramo predvsem na smernice Znanstvenega odbora za hrano (SCF, 2001), Ekspertnega odbora za živilsko embalažo in farmacevtske izdelke (P-SC-EMB, 2013) in Znanstvenega odbora EFSA CEF (EFSA, 2016). V skladu s smernicami SCF (2001) je za oceno tveganja snovi v MNSŽ količina potrebnih toksikoloških informacij odvisna od migracije snovi v živila ali njihove simulante in posledične izpostavljenosti.

5.2 OCENA TVEGANJA

5.2.1 Ocena nevarnosti

K oceni nevarnosti pristopimo stopenjsko. Pri visoki migraciji, od 5 do 60 mg/kg živila, je potreben jedrni nabor toksikoloških študij. Pri migracijah od 0,05 do 5 mg/kg živila zadostuje zmanjšan nabor, pri migraciji pod 0,05 mg/kg živila pa omejeni nabor toksikoloških študij (SCF, 2001).

Toksikološke študije morajo biti izvedene po EU ali OECD smernicah z uporabo DLP. Če toksikološke študije ali druge informacije pokažejo, da so možni tudi drugi toksikološki učinki činki, kot npr. nevrotoksičnost, imunotoksičnost, endokrinološki učinki, prroliferacija peroksisomov, so potrebne še dodatne študije.

5.2.1.1 Jedrni nabor toksikoloških študij

Pri migraciji kemikalije od 5 do 60 mg/kg živila so potrebne naslednje študije:

- 3 študije genotoksičnosti *in vitro*
 - pojav genskih mutacij v bakterijskih celicah (Amesov test)
 - pojav genskih mutacij v sesalskih celicah
 - pojavljanje kromosomskih aberacij v sesalskih celicah
- 90 dnevno študijo toksičnosti pri peroralnem vnosu na dveh vrstah poskusnih živali
- študije absorpcije, distribucije, metabolizma in izločanja
- študije toksičnosti za razmnoževanje na eni vrsti in študije razvojne toksičnosti na dveh vrstah
- dolgoročne študije peroralne toksičnosti in/ali rakotvornosti na dveh vrstah

5.2.1.2 Zmanjšani in omejeni nabor toksikoloških študij

Pri migraciji od 0,05 do 5 mg/kg živila zadošča zmanjšani nabor:

- 3 študije genotoksičnosti *in vitro* (glej 5.2.1.1)
- 90 dnevna študija oralne toksičnosti na dveh sesalskih vrstah
- podatke, ki dokazujejo, da se snov pri človeku ne kopiči .

Če je migracija pod 0,05 mg/kg živila se zahtevajo samo 3 študije genotoksičnosti *in vitro*.

Oceno nevarnosti izvedemo, kot je opisano v poglavju 2.2.2.

5.2.2 Ocena izpostavljenosti

5.2.2.1 Prehajanje kemikalije iz MNSŽ v živila

Prvi korak pri oceni izpostavljenosti je določitev koncentracij snovi iz MNSŽ in ocena največjega dnevnega vnosa snovi (nečistot in reakcijskih produktov). Če podatkov o koncentracijah snovi v živilih ni na voljo, uporabimo informacije o migraciji v simulantne za živila, ki so pridobljene s standardnimi migracijskimi preskusi z uporabo najslabšega scenarija.

5.2.2.2 Ocena vnosa kemikalij iz MNSŽ

Ocenijo se povprečni in veliki uporabniki pri različnih populacijskih skupinah, na osnovi podatkov o prehranskih vnosih. Po možnosti se oceni tudi, sub populacije, pri katerih pričakujemo visoko izpostavljenost.

Znanstveni odbor EFSA za MNSŽ, encime arome in predelovalne pripomočke (EFSA CEF, 2016) predlaga razdelitev uživanja živil v dodatne štiri kategorije poleg osnovnega scenarija izpostavljenosti, ki predvideva, da človek s povprečno tm zaužije 1 kg hrane na dan (to je 17 g/kg tm/dan):

1. Dojenčki do 1 leta starosti, ki uživajo vodo in živila v stekleničkah (mlečne formule), zaužijejo 150 g/kg tm/dan.
2. Malčki od enega leta do treh let starosti zaužijejo 80 g/kg tm/dan, in sicer mleka, mlečnih izdelkov, sadnih in zelenjavnih sokov. ocenjeno, da jih zaužijejo.
3. Predviden vnos trdih živil namenjenih za dojenčke in malčke je 50 g/kg tm/dan.
4. Predviden vnos živil namenjenih malčkom, ki niso zajeta v kategorijah 1, 2 ali, je 20 g/kg tm/dan.

Če poznamo dejanski vnos živil, scenarij izpostavljenosti ustrezno prilagodimo (glej Poglavje 4.2.2).

5.2.2.3 Model FACET

V sklopu projekta FACET je bil razvit matematični model za migracijo v živila, ki omogoča oceno koncentracij migrantov v živilih. Model FACET omogoča povezavo med živilom in migranti iz embalaže. Če želimo ta model uporabiti in določiti izpostavljenost migrantom pri vsakem obroku, moramo poznati vrsto embalaže živila (obliko, velikost in strukturo), sestavo embalaže (komponente, plasti, sestavine) in pod kakšnimi pogoji se embalaža uporablja (pogoje polnjenja, shranjevanja in uporabe, trajanje in temperaturo). Poznati moramo tudi vrsto migrantov prisotnih v embalaži in njihovo koncentracijo. Za uporabo modela je treba zagotoviti še druge informacije, npr. kombinacijo pogojev uporabe in gostoto materiala embalaže. Uporabnik izbere določen migrant, program pa določi vse vrste embalaže, ki ta migrant vsebujejo, vse vrste živil, ki so embalirana v tej embalaži, izračuna koncentracijo migrantov v teh živilih, poišče pri katerih obrokih se ta živila zaužijejo in oceni izpostavljenost migrantu pri vsakem obroku in nato zbere izpostavljenost pri vsakem obroku ter poda porazdelitev izpostavljenosti migrantu za določeno populacijo. Program je po obvezni registraciji dosegljiv na spletni strani: <http://expofacts.irc.ec.europa.eu/facet/>.

5.2.3 Karakterizacija tveganja

5.2.3.1 Klasični pristop

Če so podatki o nevarnosti in izpostavljenosti ustrezno opredeljeni, izvedemo karakterizacijo tveganja za snovi iz MNSŽ, kot je opisano v poglavju 2 (glej 2.2.5) in v poglavju 14 (glej 14.2.3).

5.2.3.2 Stopenjski pristop na podlagi izpostavljenosti

Po nedavnih priporočilih EFSA (EFSA, 2016) se lahko karakterizacije tveganja snovi iz MNSŽ lotimo po stopnjah glede na raven izpostavljenosti.

Stopnja I: Če znaša izpostavljenost < 1,5 µg/kg tm/dan ali če je snov v razredu I po Cramerju (Glej 10.2.2) in izpostavljenost manjša od 30 µg/kg tm/dan, se zahtevajo študije genotoksičnosti in pregled obstoječe literature. Če na podlagi obstoječih informacij sklepamo na vplive na endokrini sistem, ali živčni sistem so potrebne dodatne študije. Slednje so potrebne tudi za snovi s potencialom za kopičenje in za nanomateriale, četudi je ne-nano oblika ocenjena in odobrena za uporabo v materialih v stiku z živili.

Stopnja II: Če znaša izpostavljenost od 1,5 µg/kg tm/dan do 80 µg/kg tm/dan se poleg navedenga v stopnji 1 zahteva še razširjena 90 dnevna študija toksičnosti na glodavcih pri peroralnem vnosu. Če obstaja potencial kopičenja v telesu, so potrebne tudi toksikokinetične študije. Če obstoječi podatki nakazujejo vpliv na endokrini sistem pri prenatalni izpostavljenosti, je potrebno izvesti študijo kronične toksičnosti, ki vključuje prenatalno obdobje ali podaljšano 1-generacijsko študijo strupenosti za razmnoževanje (Glej tabelo 8.1 v poglavju 8).

Stopnja III: Če je izpostavljenost > 80 µg/kg tm/dan se poleg študij navedenih v stopnjah 1 in 2 zahteva še toksikokinetične študije, študije reprodukcijske in razvojne strupenosti ter študijo dolgoročne študije peroralne toksičnosti in/ali rakotvornosti. Če obstoječi podatki nakazujejo vpliv na endokrini sistem, je potrebna študija kronične toksičnosti, ki vključuje prenatalno obdobje ali podaljšana 1-generacijska študija strupenosti za razmnoževanje.

5.2.3.3 Nenamerno dodane snovi

Za snovi, ki MNSŽ niso namerno dodane (angl. *non-intentionally added substances* ali NIAS), kot so nečistote), reakcijske in razgradne produkte, kot so oligomeri je potrebno zagotavljati enako stopnjo varnosti, kot za izhodiščne snovi EFSA priporoča, da se pri oceni tveganja NIAS uporabljajo čim več ne-testne metode (EFSA, 2012; EFSA, 2016). Ne-testne metode so podrobneje opisane v poglavju 10.

5.3 VIRI

EFSA Scientific Committee (2012) *Scientific Opinion on Exploring options for providing advice about possible human health risks based on the concept of Threshold of Toxicological Concern (TTC)*. [na spletu]. Dostopno 1. 3. 2016 na: <http://EFSA.europa.eu/en/press/news/120702.htm>.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing aids (CEF). (2016). Recent developments in the risk assessment of chemicals in food and their potential impact on the safety assessment of substances used in food contact materials. *EFSA Journal*, [na spletu] Volumen 14(1), str. 1-28. Dostopno 1. 3. 2016 na: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out82_en.pdf.

EP in ES (2004). Uredba Evropskega parlamenta in Sveta (ES) št. 1935/2004 z dne 27. oktobra 2004 o materialih in izdelkih, namenjenih za stik z živil, in o razveljavitvi direktiv 80/590/EGS in 89/109/EGS. *Uradni list Evropske unije*, [na spletu] L338/4. Dostopno 1. 3. 2016 na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R1935&qid=1478074290992&from=EN>.

NIJZ. (2016). Sodobni načini pakiranja živil. [na spletu] Dostopno 20. 12. 2016 na: <http://www.nijz.si/sl/sodobni-nacini-pakiranja-zivil-0>.

P-SC-EMB (Committee of Experts on Packaging Materials for Food and Pharmaceuical Products). (2013). *Metals and alloys used in food contact materials and articles*. 1 izdaja. [na spletu] Strasbourg: Council of Europe, str. 1-213. Dostopno 1. 3. 2016 na: <https://www.edqm.eu/en/food-contact-materials>.

SCF (Scientific Committee on Food) (2001). *Guidelines of the Scientific Committee on Food for the presentation of an application for safety assessment of a substance to be used in food contact materials prior to its authorisation*. Brussels: European Commission. Health and consumer protection directorate –general, str. 1-6. [na spletu] Dostopno 17. 2. 2016 na https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out82_en.pdf.

6 UPORABA OCENE TVEGANJA ZA ONESNAŽEN ZUNANJI ZRAK V KONTEKSTU EPIDEMIOLOŠKIH PROSTORSKIH RAZISKAV NA POPULACIJSKI RAVNI

An Galičič, Andreja Kuček

6.1 KAKOVOST ZUNANJEGA ZRAKA KOT DETERMINANTA ZDRAVJA

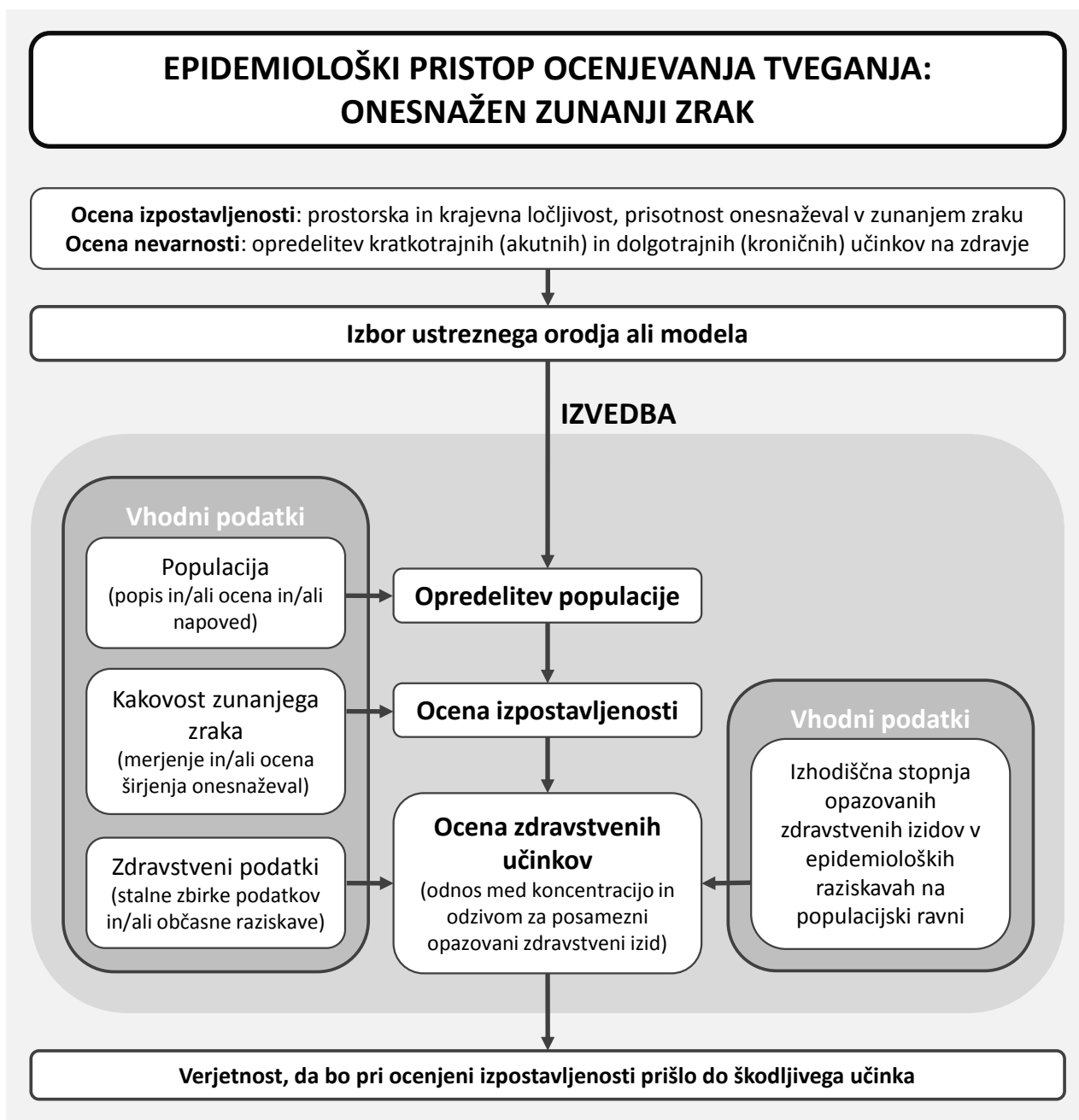
Zdrava odrasla oseba dnevno vdihne povprečno med 10 in 20 m³ zraka, natančna vrednost je odvisna od konstitucije posameznika in njegove telesne aktivnosti. Dnevna količina vdihanega zraka je tako relativno velika glede na količino zaužite vode in hrane (Yassi et al., 2001). V zunanjem zraku je prisotna mešanica različnih snovi, ki jih dnevno vdihavamo in se jim ni mogoče izogniti (Künzli et al., 2010). Epidemiološke raziskave so pokazale pozitivno in statistično značilno povezanost med onesnaženim zunanjim zrakom in številnimi škodljivimi učinki na zdravje. Škodljivi zdravstveni učinki, ki so pripisani kratkotrajni izpostavljenosti so: povišano število obiskov nujne medicinske pomoči, sprejemov v bolnišnico, obiskov zdravnika na primarni ravni zdravstvenega varstva in uporaba zdravil zaradi boleznih dihal in obtočil, dnevna umrljivost, število dni z zmanjšano aktivnostjo, odsotnost z dela in od pouka, simptomi (sopenje, kašljanje, okužbe dihal) in fiziološke spremembe. Dolgotrajni izpostavljenosti onesnaženemu zraku so pripisane naslednje zdravstvene težave: umrljivost zaradi boleznih dihal in obtočil, povišani incidenca in prevalenca kroničnih boleznih dihal (astma, kronična obstruktivna pljučna bolezen, kronične patološke spremembe), kronične spremembe v fiziološkem delovanju, pljučni rak, kronične bolezni obtočil in znotrajmaternični zastoj rasti ploda (SZO, 2006). Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) zaradi onesnaženega zunanjega zraka letno umrlo 3 milijone ljudi (SZO, 2016a). Kakovost zunanjega zraka zaradi navedenih dejstev opredeljujemo kot najpomembnejšo okoljsko determinanto zdravja (SZO, 2006, 2016b).

Ocena tveganja za onesnažen zunanji zrak je lahko kvantitativna ali kvalitativna. Kvantitativne ocene učinkov na zdravje zaradi onesnaženega zunanjega zraka so pomemben vir informacij za prebivalce ter različne deležnike, ki sodelujejo v procesu oblikovanja in izvajanja učinkovitejših lokalnih, nacionalnih in globalnih politik za zmanjševanje onesnaženosti zunanjega zraka (SZO, 2016b). V tem poglavju bomo prikazali uporabo ocene tveganja za onesnažen zunanji zrak v kontekstu epidemioloških prostorskih raziskav na populacijski ravni, kar ne predstavlja klasične ocene tveganja. Pri oceni tveganja za onesnažen zunanji zrak je potrebno upoštevati, da smo izpostavljeni mešanici različnih onesnaževal v zunanjem zraku. V zadnjem desetletju so številne epidemiološke raziskave ocenjevale vpliv izpostavljenosti delcem različnih velikosti v zunanjem zraku in njihovo kemijsko sestavo na zdravje (Künzli et al., 2010). Glede kemijske sestave so lahko na delce vezane anorganske in organske komponente, ki so odvisne od vira onesnaževanja (SZO, 2013a; ARSO, 2015). Posledično delce v zunanjem zraku uvrščamo med fizikalne, kemične in biološke dejavnike tveganja. Na podlagi opredeljenih dejstev je ocena tveganja za onesnažen zunanji zrak obravnavana v tej monografiji.

6.2 PROCES OCENE TVEGANJA Z EPIDEMIOLOŠKIM PRISTOPOM ZA ONESNAŽEN ZUNANJI ZRAK NA POPULACIJSKI RAVNI

V procesu ocenjevanja tveganja ocenjujemo verjetnost, ali bo zaradi izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku prišlo do škodljivih posledic na zdravje. Priprava tovrstne ocene tveganja z epidemiološkim pristopom je kompleksen proces, ki zahteva interdisciplinarno sodelovanje (Slika 6.1).

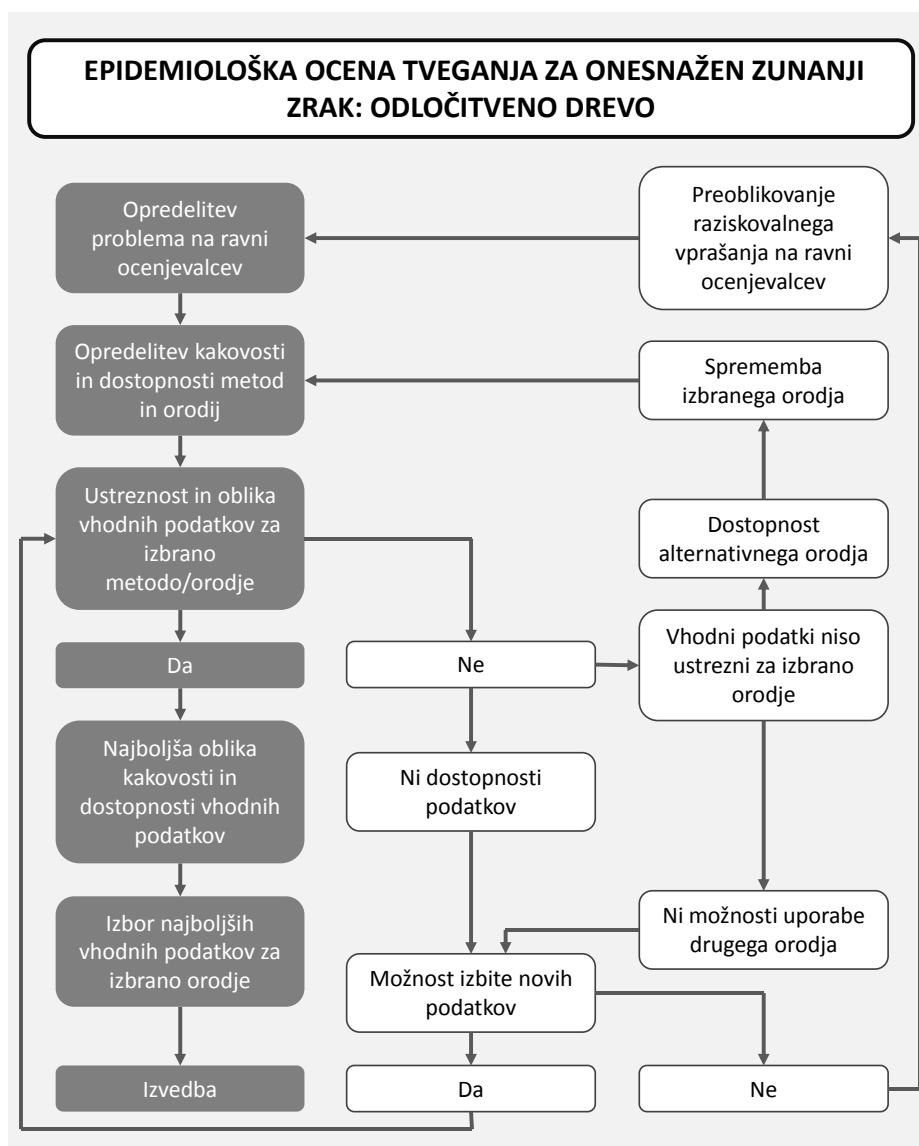
Slika 6.1: Epidemiološki pristop ocenjevanja tveganja za onesnažen zunanji zrak na populacijski ravni (prilagojeno po SZO, 2016b)



6.2.1 Priprava ocene tveganja z epidemiološkim pristopom za onesnažen zunanji zrak na populacijski ravni

Ocena tveganja z epidemiološkim pristopom za onesnažen zunanji zrak na populacijski ravni temelji na pripravi vhodnih podatkov kot ključnem koraku pri pripravi ocene. Vhodne podatke predstavljajo zdravstveni podatki oziroma opazovani zdravstveni izidi, okoljski podatki oziroma ocena izpostavljenosti ter potencialni moteči dejavniki. Potencialni moteči dejavniki so dejavniki, ki poleg onesnaženega zunanjega zraka tudi vplivajo na opazovani zdravstveni izid. Pri pripravi vhodnih podatkov se moramo zavedati, da je le s kakovostnimi vhodnimi podatki mogoče pripraviti kakovostno oceno tveganja. Pri pripravi vhodnih podatkov in izbiri metod ter orodij si lahko pomagamo z odločitvenim drevesom (Slika 6.2) (SZO, 2016b).

Slika 6.2: Odločitveno drevo za pripravo vhodnih podatkov in izbor metod ter orodij pri pripravi ocene tveganja z epidemiološkim pristopom za onesnažen zunanji zrak (prilagojeno po SZO, 2016b)



6.2.1.1 Zdravstveni podatki – ocena velikosti opazovanih zdravstvenih izidov

Pri pridobivanju in zbiranju zdravstvenih podatkov za oceno velikosti opazovanih zdravstvenih izidov je potrebno najprej opredeliti populacijsko skupino, za katero bomo zbirali podatke. Nato sledi opredelitev, na kakšen način jih bomo pridobili, katere zdravstvene izide bomo opazovali ter kako bomo oblikovali zdravstveni kazalnik (oblika zapisa zdravstvenih podatkov za povezovanje z okoljskimi podatki), da ga bomo lahko povezali z onesnaženostjo zunanjega zraka.

V epidemioloških raziskavah so dokazali, da izpostavljenost onesnaženemu zunanjemu zraku različno vpliva na posamezne populacijske skupine. Te razlike lahko pripišemo izpostavljenosti različnim dejavnikom tveganja v naravnem in družbenem okolju, genetski predispoziciji in poklicni izpostavljenosti. Prav tako so nekatere skupine prebivalstva kot so otroci, starejši, nosečnice in kronični bolniki bolj dovzetni za razvoj ali poslabšanje določenih bolezenskih stanj zaradi izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku (SZO, 2006). Pri oceni tveganja za onesnažen zunanji zrak je potrebno upoštevati, da sodijo otroci med najbolj ogrožene populacijske skupine zaradi večje dovzetnosti za razvoj in poslabšanje bolezni, poleg tega otroci prejmejo tudi večje količine onesnaževal iz zunanjega zraka zaradi posebnosti v njihovi fiziologiji. Vzrok zato lahko pripišemo dejstvu, da imajo otroci v primerjavi z odraslimi večjo površino pljuč in vdihnejo 50 % več zraka na kilogram telesne teže kot odrasli. Poleg tega otroci v primerjavi z odraslimi preživijo več časa v zunanjem okolju (SZO, 2006; Künzli et al., 2010).

Zdravstvene podatke za pripravo ocene tveganja lahko pridobimo iz stalnih zbirk zdravstvenih podatkov, ki se zbirajo rutinsko (Maheswaran et al., 2012; Galičič in Kranjec, 2015; Halonen et al., 2016) ali iz posameznih epidemioloških raziskav (Kukec et al., 2013; Dibben in Clemens, 2015; Wang et al., 2015). Rutinsko zbrani podatki se za namene zdravstvene statistike redno in sistematično beležijo v nacionalne sisteme oziroma baze. V primeru izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku se zdravstveni podatki v Sloveniji najpogosteje pridobivajo iz informacijskih sistemov zdravstvenih domov in iz podatkovnih zbirk Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ), najpogosteje Prijava smrti in Spremljanje bolnišničnih obravnav, ki sta skupaj s preostalimi zbirkami dosegljivi tudi na spletnem podatkovnem portalu NIJZ (NIJZ, 2017a), ter Onkološkega inštituta, ki vodi slovensko epidemiološko podatkovno zbirko o raku Slovenija in rak (SLORA) (Register raka RS, 2017). Občasno zbrani zdravstveni podatki so večinoma pridobljeni s presečnimi raziskavami, ki se lahko izvajajo redno ali pa z namenom povezovanja z okoljskimi podatki. Tovrstne raziskave lahko zajemajo celotno populacijo ali posamezne populacijske skupine glede na demografske in druge značilnosti (NIJZ, 2017a). Za pridobitev trdnih dokazov, kako izpostavljenost onesnaženemu zunanjemu zraku vpliva na opazovane zdravstvene izide pri določenih populacijskih skupinah je potrebno izvesti kohortne in/ali klinične raziskave (Künzli et al., 2010). V primeru ocenjevanja povezanosti med onesnaženostjo zunanjega zraka in učinki na zdravje na populacijski ravni se uporabljajo ekološke časovne in prostorske raziskave (Briggs et al., 1996).

Za pripravo ocene tveganja je potrebno zbrane zdravstvene podatke primerno pripraviti in oblikovati v zdravstvene kazalnike za opazovani zdravstveni izid. Zdravstveni kazalnik pri ocenjevanju vpliva onesnaženega zunanjega zraka na zdravje najpogosteje predstavljajo prevalenca (Pikhard et al., 2001; Kukec et al., 2013), število prvih obiskov na primarni ravni zdravstvenega varstva (Oyana in Rivers, 2005; Castro et al., 2007; Kukec et al., 2014a, b), hospitalizacije (Oyana in Rivers, 2005; Leem et al., 2015; Halonen et al., 2016), umrljivost (Elliot et al., 2007; Choi et al., 2009; Orru et al., 2009; Leem et

al., 2015; Halonen et al., 2016) in dnevno število smrti (Hua et al., 2014; Kuček et al., 2014a; Galičič in Kranjec, 2015) zaradi opazovanega zdravstvenega izida. Opazovani zdravstveni izidi predstavljajo diagnoze po Mednarodni klasifikaciji bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov za statistične namene (MKB) (SZO, 2011). Zdravstveni kazalnik mora biti pripravljen v enaki časovni in prostorski ločljivosti kot ocena izpostavljenosti, saj le tako lahko v nadaljevanju ocene tveganja ocenjujemo vpliv onesnaženega zunanjega zraka na opazovane zdravstvene izide.

6.2.2 Okoljski podatki - ocena izpostavljenosti

Potrebni vhodni podatki za oceno tveganja v zunanjem zraku niso vedno na voljo, zato ocena izpostavljenosti pogosto temelji na ocenjenih in/ali modeliranih vrednostih onesnaženosti zunanjega zraka (SZO, 2010). Pri pripravi ocene tveganja za onesnažen zunanji zrak se je potrebno zavedati, da prebivalci onesnaževalom v zunanjem zraku niso enakomerno izpostavljeni. Stopnja onesnaženosti je dinamičen proces, ki je odvisen od oddaljenosti točkovnih, linijskih in razpršenih virov emisij, hkrati pa tudi od ekoloških in meteoroloških parametrov ter od fizikalno-kemičnih procesov v atmosferi (Künzli et al., 2010).

Izpostavljenost je mogoče opredeliti kot »dogodek, ko pride oseba v stik z določenim onesnaževalom v zunanjem zraku v določenem časovnem obdobju« (Ott, 1982). Izpostavljenost onesnaževalom v zunanjem zraku je potrebno ločiti od koncentracije teh onesnaževal. Koncentracija poda le količinsko vrednost onesnaževala v zunanjem zraku, ne opredeli pa tudi izpostavljenosti posameznika tej koncentraciji. Visoke koncentracije onesnaževal v zunanjem zraku ne predstavljajo vedno tudi visoke izpostavljenosti tem onesnaževalom (SZO, 2006).

Glavni dejavniki ravni izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku so koncentracija in časovni hodi onesnaževal, trajanje izpostavljenosti in pot vnosa onesnaževala v telo (DHAHC, 2002).

Ocena izpostavljenosti onesnaženemu zunanjem zraku je lahko pripravljena z direktno ali indirektno metodo. Direktno metodo predstavljata osebni monitoring (vzorčenje zraka z osebnim dozimetrom) in humani (vzorčenje in merjenje vrednosti onesnaževal iz zraka v bioloških vzorcih človeka) ter ekološki biomonitoring (vzorčenje in merjenje vrednosti onesnaževal v živalih in rastlinah v okolju). Indirektno metodo izpostavljenosti predstavljajo okoljski monitoring (sistematično časovno spremljanje vrednosti onesnaževal v zraku na stalnih merilnih mestih državnih mrež kakovosti zunanjega zraka), modeliranje izpostavljenosti (ocenjevanje izpostavljenosti z matematičnimi modelirnimi sistemi širjenja onesnaževal v zunanjem zraku) in okoljska anamneza (vprašanja zdravnika oboleli osebi v povezavi z izpostavljenostjo onesnaževalom v zunanjem zraku) (DHAHC, 2002). Najpogosteje se za oceno izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku, zaradi lastnosti najpogostejših onesnaževal v zunanjem zraku, uporabljata metodi okoljskega monitoringa in modeliranja izpostavljenosti (Kuček et al., 2016).

Okoljski monitoring predstavljajo meritve imisijskih vrednosti (izmerjene vrednosti onesnaženosti zunanjega zraka) onesnaževal zunanjega zraka. Meritve se izvajajo na stalnih merilnih mestih, kar zagotavlja periodične in natančne podatke o vrednostih onesnaževal v zunanjem zraku na točki merilnega mesta (Kuček et al., 2016). Oceno izpostavljenosti onesnaževalom v zunanjem zraku z

metodo okoljskega monitoringa v Sloveniji predstavljajo podatki zbrani iz Državne merilne mreže za spremljanje kakovosti zunanjega zraka (DMKZ), ki jo upravlja Agencija Republike Slovenije za okolje. Poleg DMKZ se izvajajo tudi meritve na stalnih merilnih mestih v okolici večjih energetskih in industrijskih objektov ter dodatne meritve, ki jih zagotavljajo nekatere lokalne skupnosti (Turšič in Žabkar, 2016).

Podatki o onesnaženem zunanjem zraku na posameznem merilnem mestu ne predstavljajo izpostavljenosti posameznika, saj ne upoštevajo prostorske variabilnosti in se lahko zaradi različnih virov emisij (izmerjene vrednosti posameznega onesnaževala na izpustu) ter meteoroloških vplivov izpostavljenost onesnaženemu zunanjemu zraku močno razlikuje (SZO, 2006). Pred uporabo podatkov okoljskega monitoringa je potrebno zavedanje, da določen delež podatkov manjka zaradi popravila in umerjanja merilnih naprav na stalnih merilnih mestih. Poleg tega v določenem časovnem obdobju obstaja tudi možnost ukinjanja posameznih stalnih merilnih mest (Kukec et al., 2016). Omejitev, ki jo predstavljajo podatki okoljskega monitoringa, je tudi spremljanje zgolj najpogostejših onesnaževal v zunanjem zraku na vseh stalnih merilnih mestih, vrednosti manj pogostih onesnaževal v zunanjem zraku pa se spremlja le na nekaterih stalnih merilnih mestih (ARSO, 2015).

Bolj natančno oceno izpostavljenosti onesnaženega zunanjega zraka je mogoče pripraviti z okoljskim modelirnim sistemom širjenja onesnaževal v zunanjem zraku. Okoljski model ali modelirni sistem je matematično orodje, s katerim ocenimo širjenje onesnaževal v zunanjem zraku na opazovanem območju z opredeljeno prostorsko in časovno ločljivostjo. Za pripravo tovrstnega okoljskega modela za oceno izpostavljenosti potrebujemo naslednje vhodne podatke:

1) Krajevna ločljivost opazovanega območja

Za opazovano območje je potrebno pripraviti čim natančnejšo krajevno ločljivost okoljskega modela. Krajevno ločljivost predstavljajo enakomerno velike celice znotraj opazovanega območja (FAIRMODE, 2016; SZO, 2016b).

2) Geografski podatki opazovanega območja

V okoljski model je potrebno vključiti geografske podatke, ki natančneje opišejo lastnosti terena, kot so: podatki o nadmorskih višinah, s katerimi v model vključena razgibanost terena, podatki o rabi tal in zemljišč ter podatki o vrsti rastlinja (FAIRMODE, 2016; SZO, 2016b)

3) Emisijski podatki

V okoljski model je potrebno vključiti antropogene (nastanejo zaradi človekovega delovanja) in biogene vire emisij (nastanejo zaradi naravnih procesov). Antropogeni viri emisij so točkovnega, linijskega in razpršenega tipa, medtem ko so biogeni viri emisij točkovnega in razpršenega tipa. Točkovni vir emisij predstavljajo objekti, ki na enem mestu izpustijo v zunanji zrak večje količine emisij, to so najpogosteje tovarne, odlagališča odpadkov itd. Linijski vir emisij predstavljajo viri, ki spuščajo emisije v zunanji zrak med svojim gibanjem, to so vse vrste prometa (cestni, železniški, ladijski in zračni). Razpršene vire emisij predstavljajo individualna kurišča z malimi kurilnimi napravami (gospodinjstva). Poleg emisij antropogenih in biogenih (vulkani, cvetni prah itd.) virov na določenem območju k skupni količini onesnaževal v zunanjem zraku prispevajo tudi emisije, ki se širijo na daljše razdalje (čezmejne emisije) (FAIRMODE, 2016; SZO, 2016b). Pri točkovnih, razpršenih in linijskih virih emisij je potrebno upoštevati čim več različnih onesnaževal in njihove emisije v zunanji zrak. Podatki o izpušeni količini onesnaževal v zunanji zrak naj bodo pridobljeni v ustrezni časovni ločljivosti, saj to omogoča pripravo ocene izpostavljenosti za krajša časovna obdobja, npr.: na dnevni ali tedenski ravni. Podatki o količini emisij v zunanji zrak so slabo dostopni.

Podatki o izpuščenih količinah emisij točkovnih virov so dostopni le s strani upravljalca točkovnega vira (tovarne, itd). Podatke o izpuščenih količinah emisij linijskih virov je mogoče pripraviti na podlagi podatkov o prometu (povprečni dnevni promet, povprečna hitrost vozil in dnevna obremenitev), ki jih zbirajo na Direkciji Republike Slovenije za infrastrukturo. Podatki o izpuščenih količinah emisij razpršenih virov (gospodinjstva) v Republiki Sloveniji niso izmerjeni, zato so dostopni le v ocenjeni obliki za posamezna območja v državi.

4) Meteorološki podatki

Vključitev meteoroloških podatkov v okoljski model širjenja onesnaževal v zunanjem zraku omogoča upoštevanje dejanskih meteoroloških razmer na opazovanem območju, ki pomembno vplivajo na koncentracije in širjenje onesnaževal v zunanjem zraku. V okoljski model je potrebno vključiti podatke o temperaturi in relativni vlažnosti zunanjega zraka, hitrosti in smeri vetra, vertikalnem meteorološkem profilu itd. (FAIRMODE, 2016; SZO, 2016b).

Obliko izbranih vhodnih podatkov za pripravo ocene izpostavljenosti narekuje okoljski model, s katerim bo pripravljena ocena izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku. Pri izbiri okoljskega modela je ključnega pomena upoštevanje razgibanosti terena. Priporočila oziroma kriterije za izbiro in pripravo okoljskega modela je pripravil forum FAIRMODE, ki sta ga ustanovili Evropska komisija in Evropska okoljska agencija (FAIRMODE, 2016).

Okoljski model širjenja onesnaževal v zunanjem zraku kot rezultat poda ocenjeno vrednost onesnaževal v zunanjem zraku posamezne celice znotraj opazovanega območja. Zaradi zanesljivosti ocenjenih vrednosti je okoljski model potrebno validirati (FAIRMODE, 2016). Validacijo okoljskega modela se lahko izvede s podatki vrednosti onesnaževal v zunanjem zraku stalnih zbirk podatkov o kakovosti zunanjega zraka pridobljenih s stalnih merilnih mest (Kukec et al., 2016).

Ocena izpostavljenosti pripravljena z metodo modeliranja izpostavljenosti ima zaradi celovitega in interdisciplinarnega pristopa več omejitev, ki vplivajo tudi na kakovost rezultatov ocene izpostavljenosti. Prvič, omejeni sta kakovost in dostopnost vhodnih emisijskih in meteoroloških podatkov. Drugič, omejeno dostopnost predstavljajo vhodni emisijski podatki kakovosti zunanjega zraka stalnih merilnih mest za izvedbo validacije okoljskega modela širjenja onesnaževal v zunanjem zraku (Galičič, 2016). Tretjič, omejitev za oceno tveganja predstavlja morebitna uporaba neustreznega modelirnega sistema za širjenje onesnaževal v zunanjem zraku zaradi neupoštevanja razgibanosti terena opazovanega območja (FAIRMODE, 2016).

Zadnji korak pri pripravi ocene izpostavljenosti onesnaženosti zunanjega zraka ne glede na izbrano metodo ocene izpostavljenosti je priprava okoljskega kazalnika. Okoljski podatki morajo biti pripravljene v enaki časovni in prostorski ločljivosti kot zdravstveni podatki, saj le tako lahko v nadaljevanju ocene tveganja ocenjujemo vpliv onesnaženega zunanjega zraka na opazovane zdravstvene izide.

6.2.3 Potencialni moteči dejavniki

Pri oceni tveganja je potrebno upoštevati, da na pojavljanje bolezni in stanj, ki so povezana z izpostavljenostjo onesnaženemu zunanjemu zraku, ne vpliva samo onesnažen zunanji zrak, temveč

tudi drugi dejavniki naravnega in družbenega okolja, ki jih imenujemo potencialni moteči dejavniki (Künzli et al., 2010; Zaletel-Kragelj et al., 2007). Najpogosteje upoštevani potencialni moteči dejavniki pri oceni vpliva onesnaženega zunanjega zraka na zdravje so prikazani v Tabeli 6.1 (Galičič, 2016), kazalniki socialno-ekonomskega dejavnika tveganja pa so prikazani v Tabeli 6.2 (Galičič, 2016). Podatki o potencialnih motečih dejavnikih morajo biti pripravljene v enaki enoti opazovanja kot zdravstveni in okoljski podatki, saj le tako lahko v nadaljevanju ocene tveganja ocenjujemo vpliv onesnaženega zunanjega zraka na opazovane zdravstvene izide.

6.2.4 Karakterizacija tveganja

Pri karakterizaciji tveganja vpliva onesnaženosti zunanjega zraka na opazovane zdravstvene izide pridobljene rezultate v obliki mer povezanosti (npr. relativno tveganje, razmerje obetov, razmerje ogroženosti).

Pri oceni stopnje onesnaženosti zunanjega zraka s posameznimi onesnaževali upoštevamo veljavne pravne akte, ki veljajo za to področje ter smernice SZO za oceno kakovosti zunanjega zraka (Tabela 6.3). Smernice SZO za oceno kakovosti zraka se uporabljajo po vsem svetu z namenom varovanja zdravja ljudi. Priporočene mejne vrednosti, kjer lahko ocenimo, da obstaja tveganje za zdravje pri vrednostih posameznih onesnaževal v zunanjem zraku, so opredeljene na podlagi najnovejših znanstvenih dokazov. Na drugi strani pa posamezna država določi zahteve in določbe glede kakovosti zunanjega zraka za ohranjanje javnega zdravja s posameznimi zakonskimi in podzakonskimi pravnimi akti (SZO, 2006).

Prav tako je pri karakterizaciji tveganja potrebno opredeliti vse negotovosti, ki so nastale v procesu ocene velikosti zdravstvenih pojavov, ocene izpostavljenosti ter pri uporabi metode za oceno povezanosti med izpostavljenostjo in posledicami za zdravje.

Tabela 6.1: Najpogosteje upoštevani potencialni moteči dejavniki pri oceni vpliva onesnaževal v zunanjem zraku na zdravje (Galičič, 2016)

Skupina potencialnih motečih dejavnikov	Potencialni moteči dejavniki	Raziskava
vedenjski dejavniki	pasivna izpostavljenost otrok cigaretnemu dimu	Pikhard et al., 2001
	izobrazba matere	Pikhard et al., 2001; Wilhelm in Ritz, 2003; Dibben in Clemens, 2015; Wang et al., 2015; Coker et al., 2016
	starost matere ob porodu	Wilhelm in Ritz, 2003; Coker et al., 2015; Dibben in Clemens, 2015
	kajenje matere med nosečnostjo	Dibben in Clemens, 2015; Wang et al., 2015
	dojenje	Wang et al., 2015
	kajenje (prevalenca)	Maheswaran et al., 2005a, b; Wang et al., 2015
podatki o opazovanem in morebitnih predhodnih porodih	letni čas rojstva	Wilhelm in Ritz, 2003; Dibben in Clemens, 2015
	število predhodnih rojstev	Wilhelm in Ritz, 2003
	čas od prejšnjega poroda	
	stopnja prenatalne oskrbe	
	gestacijski dnevi	Wilhelm in Ritz, 2003; Coker et al., 2015
spol novorojenca	Pikhard et al., 2001; Wilhelm in Ritz, 2003; Coker et al., 2015	
družinska anamneza	genetska predispozicija za alergijske bolezni	Pikhard et al., 2001
	relativno tveganje umrljivosti zaradi pljučnega raka	Halonen et al., 2016
demografski podatki	spol	Reynolds et al., 2003; Scoggins et al., 2004; Maheswaran et al., 2005a, b; Elliott et al., 2007; Maheswaran et al., 2012
	starost	Pikhard et al., 2001; Hwang in Chan, 2002; Wolf, 2002; Reynolds et al., 2003; Scoggins et al., 2004; Maheswaran et al., 2005a, b; Oyana in Rivers, 2005; Elliott et al., 2007; Orru et al., 2009; Maheswaran et al., 2012; Leem et al., 2015; Wang et al., 2015
	starostna struktura družine	Pikhard et al., 2001; Wolf, 2002
	etnična pripadnost	Pikhard et al., 2001; Reynolds et al., 2003; Wilhelm in Ritz, 2003; Scoggins et al., 2004; Coker et al., 2015; Dibben in Clemens, 2015; Wang et al., 2015; Halonen et al., 2016
	oddaljenost od bolnišnice	Wolf, 2002
	urbano oz. ruralno območje bivanja	Scoggins et al., 2004
zdravstveno stanje	trenutne respiratorne infekcije	Wang et al., 2015
	alergije staršev	
dejavniki tveganja v notranjem okolju	način kuhanja in ogrevanja stanovanja	Pikhard et al., 2001
	prekomerna vlaga v stanovanju	Pikhard et al., 2001; Wang et al., 2015
	dlakasti hišni ljubljenci	Wang et al., 2015

Tabela 6.2: Kazalniki socialno-ekonomskega statusa, ki so najpogosteje upoštevani v oceno vpliva onesnaževal v zunanjem zraku na zdravje (Galičič, 2016)

Potencialni moteči dejavnik	Kazalnik potencialnega motečega dejavnika	Raziskava	
socialno-ekonomski status	Townsend indeks prikrajšanosti	delež gospodinjstev, ki živijo v lastnem stanovanju	Maheswaran et al., 2005a, b
		delež nezaposlenih prebivalcev	Maheswaran et al., 2005a, b; Elliott et al., 2007; Halonen et al., 2016
		delež gospodinjstev z avtomobilom	
		delež prenatrpanih stanovanj	
	nižji družbeni sloj	Carstairs indeks prikrajšanosti	Elliott et al., 2007; Halonen et al., 2016
	Stopnja kriminala (The New Zealand indeks prikrajšanosti)	delež kaznivih dejanj nasilja	Scoggins et al., 2004
		delež spolnega nasilja	
		delež nasilja v družini	
		delež vandalizma	
		delež nezakonite prodaje drog	
		delež skupinskih napadov	
	indeks večdimenzionalne prikrajšanosti	Maheswaran et al., 2012	
	škotski indeks večdimenzionalne prikrajšanosti	Dibben in Clemens, 2015	
	dohodek na prebivalca	Wilhelm in Ritz, 2003	
	mediana starostne strukture		
delež otrok, ki živijo v revščini			
mediana bruto najemnine			
mediana vrednosti bivališča			
mediana prihodka gospodinjstva			
delež prejemnikov dodatka za iskanje zaposlitve	Huang et al., 2015		
povprečna cena nepremičnin	Huang et al., 2015		

Tabela 6.3: Mejne vrednosti onesnaževal zunanjega zraka (Uredba o kakovosti zunanjega zraka, 2011 s spremembo; Uredba o arzeniu, kadmiju, živem srebru, niklju in policikličnih aromatskih ogljikovodikih v zunanjem zraku, 2006) in priporočene vrednosti Svetovne zdravstvene organizacije (SZO, 2006)

Onesnaževalo	Čas povprečenja	Predpisana vrednost ¹	Priporočilo SZO ²
PM ₁₀	dnevna mejna vrednost	50 µg/m ³ (ne sme biti presežena več kot 35-krat v letu)	50 µg/m ³
	letna mejna vrednost	40 µg/m ³	20 µg/m ³
PM _{2,5}	dnevna mejna vrednost	/	25 µg/m ³
	letna ciljna vrednost	25 µg/m ³	10 µg/m ³
	letna mejna vrednost	25 µg/m ³	/
	mejna vrednost za izpostavljenost (temelji na 3-letnem povprečju)	20 µg/m ³	/
O ₃	največje dnevno 8-urno povprečje, ciljna vrednost za zagotavljanje zdravja ljudi	120 µg/m ³ (ne sme biti preseženo več kot 25-krat v koledarskem letu 3-letnega povprečja)	100 µg/m ³
	največje 8-urno dnevno povprečje, dolgoročni cilj za zagotavljanje zdravja ljudi	120 µg/m ³	/
	urna vrednost, informacijska vrednost	180 µg/m ³	/
	urna vrednost, alarmna vrednost	240 µg/m ³	/
NO ₂	urna mejna vrednost za zagotavljanje zdravja ljudi	200 µg/m ³ (ne sme biti presežena več kot 18 ur na leto)	200 µg/m ³
	letna mejna vrednost za zagotavljanje zdravja ljudi	40 µg/m ³	40 µg/m ³
	urna alarmna vrednost	400 µg/m ³	/
BaP	letno povprečje	1 ng/m ³	*0,12 ng/m ³
SO ₂	10-minutna vrednost	/	500 µg/m ³
	urna mejna vrednost za zaščito zdravja ljudi	350 µg/m ³ (ne sme biti presežena več kot 24 ur v koledarskem letu)	/
	dnevna mejna vrednost za zaščito zdravja ljudi	125 µg/m ³ (ne sme biti presežena več kot 3 dni v koledarskem letu)	20 µg/m ³
	alarmna vrednost	500 µg/m ³	/
CO	urna vrednost	/	30 mg/m ³
	največja dnevna, 8-urna vrednost	10 mg/m ³	10 mg/m ³
Arzen	letna ciljna vrednost	6 ng/m ³	*6,6 ng/m ³
Kadmij	letna ciljna vrednost	5 ng/m ³	5 ng/m ³
Nikelj	letna ciljna vrednost	20 ng/m ³	*25 ng/m ³
Svinec	letna mejna vrednost	0,5 µg/m ³	0,5 µg/m ³
Benzen	letna mejna vrednost	5 µg/m ³	*1,7 ng/m ³

Legenda

PM₁₀ - trdni delci z aerodinamskim premerom do 10 µm; PM_{2,5} - trdni delci z aerodinamskim premerom do 2,5 µm; O₃ - ozon; NO₂ - dušikov dioksid; BaP - benzo(a)piren; SO₂ - žveplov dioksid; CO - ogljikov dioksid; * referenčna vrednost, ki se nanaša na ocenjeno vrednost izpostavljenosti kemikaliji ali mešanici kemikalij zaradi potencialne nevarnosti razvoja rakavega obolenja; SZO – Svetovna zdravstvena organizacija; / - vrednost ni določena; ¹ Uredba o kakovosti zunanjega zraka, 2011 s spremembo; Uredba o arzeniu, kadmiju, živem srebru, niklju in policikličnih aromatskih ogljikovodikih v zunanjem zraku, 2006; ² SZO, 2006

6.2.5 Ovrednotenje tveganja in predlog javnozdravstvenih ukrepov

V procesu ovrednotenja tveganja ocenimo stopnjo tveganja za opazovano območje in opazovano populacijsko skupino glede na dobljene rezultate v procesu ocene tveganja. Pri tem moramo upoštevati vse pomanjkljivosti, ki smo jih opredelili v procesu ocene tveganja. Na področju ocene kakovosti zunanjega zraka se pogosto soočamo z nedostopnostjo in slabo kakovostjo vhodnih podatkov za pridobitev ocene izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku. Prav tako pogosto niso v enaki časovni in prostorski ločljivosti na voljo zdravstveni podatki in podatki o motečih dejavnih tveganja, ki vplivajo na opazovani zdravstveni izid (Kukec et al., 2016).

V Tabeli 6.4 so zbrana relativna tveganja za nekatere zdravstvene kazalnike zaradi vrednosti PM_{2,5} in NO₂ za celo leto in O₃ za poleti, ki presegajo priporočene mejne vrednosti SZO (Tabela 6.4).

Tabela 6.4: Relativno tveganje za nekatere zdravstvene kazalnike zaradi vrednosti PM_{2,5} in NO₂ za celo leto in O₃ za poleti, ki presegajo priporočene mejne vrednosti s strani Svetovne zdravstvene organizacije

Onesnaževalo	Zdravstveni kazalnik	Vrednost onesnaževala v zunanjem zraku	Relativno tveganje (95 % interval zaupanja)	Vir
PM _{2,5}	umrljivost zaradi vseh naravnih vzrokov (MKB-10, A00-R99)	> 10 µg/m ³	1,07 (1,04-1,09)	SZO, 2014
	umrljivost zaradi bolezni obtočil (MKB-10, I00-I99)		1,10 (1,05-1,15)	SZO, 2014
	umrljivost zaradi bolezni dihal (MKB-10, J00-J99)		1,10 (0,98-1,24)	SZO, 2014
	umrljivost zaradi maligne neoplazme bronhija in pljuč (MKB-10, C34)		1,09 (1,04-1,14)	Hamra et al., 2014
	incidenca ishemične bolezni srca (MKB-10, I25)		1,26 (0,97-1,60)	Cesaroni et al., 2014
NO ₂	umrljivost zaradi vseh naravnih vzrokov (MKB-10, A00-R99)	> 20 µg/m ³	1,05 (1,03-1,08)	Hoek et al., 2013
O ₃ poleti	umrljivost zaradi bolezni dihal (MKB-10, J00-J99)	> 70 µg/m ³	1,01 (1,01-1,02)	SZO, 2013b

Legenda: PM_{2,5} - trdni delci z aerodinamskim premerom do 2,5 µm; NO₂ - dušikov dioksid; O₃ - ozon

Pri predlogu javnozdravstvenih ukrepov na področju zmanjšanja učinkov na zdravje zaradi izpostavljenosti onesnaženemu zunanjemu zraku smo delno omejeni, saj se na določenih območjih zaradi prisotnosti posameznih virov onesnaževanja (npr. promet), značilnih meteoroloških značilnosti (npr. temperaturna inverzija) in geografskih značilnosti (npr. ozke doline in kotline) onesnaženosti kljub izvajanju javnozdravstvenih ukrepov težko izognemo. Zaradi navedenih razlogov so na področju zagotavljanja kakovosti zunanjega zraka za zmanjšanje učinkov na zdravje ključni ukrepi na ravni vira onesnaženosti - emisija (tehnični in tehnološki ukrepi) in na ravni izpostavljenosti prebivalcev – emisija (ozaveščenost prebivalstva) (Künzli et al., 2010).

Javnozdravstveni ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti onesnaženemu zraku morajo biti oblikovani in implementirani na populacijski ravni. Naloga javnozdravstvene stroke je, da prebivalstvu, še zlasti

ogroženim populacijskim skupinam, posreduje preventivne ukrepe, kako ravnati v primeru povečanega tveganja. Primer javnozdravstvenih ukrepov predstavljajo naslednja priporočila NIJZ: Povišane ravni delcev PM₁₀ v zraku - priporočila za prebivalce (NIJZ, 2017b), Priporočila za vrtce in šole za ravnanje ob dneh s povečanimi vrednostmi delcev PM₁₀ v zunanjem zraku (NIJZ, 2016a), Povišane koncentracije troposferskega ozona - priporočila za prebivalce (NIJZ, 2016b) in Notranji zrak - Priporočila za prebivalce (NIJZ, 2017c). Prav tako je pomembno, da se z epidemiološkimi raziskavami pridobiva informacije o povezanosti med onesnaženostjo zunanjega zraka in učinki na zdravje ter na ta način opredeli najbolj onesnažena območja.

Če na podlagi ocene tveganja ne moremo ustrezno oceniti učinkov na zdravje predlagamo nadaljnje raziskave na populacijski ali individualni ravni. Protokol nadaljnjega raziskovanja mora temeljiti na zbranih dokazih o ocenjevanju povezanosti med onesnaženostjo zunanjega zraka in učinki na zdravje.

6.3 VIRI

Agencija Republike Slovenije za okolje (ARSO) (2015). *Kakovost zraka v Sloveniji v letu 2014*. Ljubljana: Agencija Republike Slovenije za okolje, str. 7–13.

Briggs, D. (ur.), Corvalan, C. (ur.), Nurminen, M. (ur.) (1996). *Linkage methods for environment and health analysis*. General guidelines. Geneva, Švica: Svetovna zdravstvena organizacija.

Castro, A.H., Hacon, S., Argento, R., JungerII, W.L., de MelloI, C.F., Castiglioni, N. et al. (2007). Air pollution and respiratory diseases in the Municipality of Vitória, Espírito Santo State, Brazil. *Cad Saúde Pública*, 23, str. 5630–5642.

Cesaroni, G., Forastiere, F., Stafoggia, M., Andersen, Z.J., Badaloni, C., Beelen, R., et al. (2014). Long term exposure to ambient air pollution and incidence of acute coronary events: prospective cohort study and meta-analysis in 11 European cohorts from the ESCAPE Project. *BMJ*, 14, str. 348–349.

Choi, J., Fuentes, M., Reich, B.J. (2009). Spatial-temporal association between fine particulate matter and daily mortality. *Computational Statistics & Data Analysis*, 53(8), str. 2989–3000.

Coker, E., Ghosh, E., Jerrett, M., Gomez-Rubiod, V., Beckermanc, B., Cockburne, M. et al. (2015). Modeling spatial effect of PM_{2.5} on term low birth weight in Los Angeles County. *Environmental Research*, 142, str. 354–364.

Department of Health and Ageing and Health Council (DHAHC) (2002). *Environmental health risk assessment. Guidelines for assessing human health risk from environmental hazards*. Canberra, Avstralia, str. 50–51.

Dibben, C. in Clemens, T. (2015). Place of work and residential exposure to ambient air pollution and birth outcomes in Scotland, using geographically fine pollution climate mapping estimates. *Environmental Research*, 140, str. 535–541.

Elliott, P., Shaddick, G., Wakefield, J.C., de Hoogh, C., Briggs, D.J. (2007). Long-term associations of outdoor air pollution with mortality in Great Britain. *Thorax*, 62(12), str. 1088–1094.

FAIRMODE (Forum for Air quality Modelling in Europe) (2016). Dostopno (2. 11. 2016) na: <http://fairmode.ew.eea.europa.eu/>.

Galičič, A. (2016). *Izboljšanje metodologije prostorskega povezovanja zdravstvenih in okoljskih podatkov na razgibanem terenu Zasavja*. Magistrsko delo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, 68 str.

Galičič, A. in Kranjec, N. (2015). *Vpliv ultrafinih delcev v ozračju na bolezni dihal pri prebivalcih Mestne občine Ljubljana*. Raziskovalna naloga. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, 73 str.

Galičič, A., Zaletel-Kragelj, L., Božnar, M., Grašič, B., Mlakar, P., Kuček, A. (2015). Methodology for defining the effects of outdoor air pollution on children's health at the population level: a systematic review. *Sanitarno inženirstvo*, 9(1), str. 35–49.

Halonen, J.I., Blangiardo, M., Toledano, M.B., Fecht, D., Gulliver, J., Ghosh, R. et al. (2016). Is long-term exposure to traffic pollution associated with mortality? A small-area study in London. *Environmental Pollution*, 208(Pt A), str. 25–32.

Hamra, G.B., Guha, N., Cohen, A., Laden, F., Raaschou-Nielsen, O., Samet, J.M., Vineis, P., Forastiere, F., Saldiva, P., Yorifuji, T., Loomis, D. (2014). Outdoor particulate matter exposure and lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*, 122(9), str. 906–911.

Hoek, G., Krishnan, R.M., Beelen, R., Peters, A., Ostro, B., Brunekreef, B., Kaufman, J.D. (2013). Long-term air pollution exposure and cardio-respiratory mortality: a review. *Environmental Health*, 12(1): str. 43–59.

Hua, J., Yinc, Y., Pengb, L., Dua, L., Geng, F., Zhua, L. (2014). Acute effects of black carbon and PM_{2.5} on children asthma admissions: A time-series study in a Chinese city. *Science of the Total Environment*, 481, str. 433–438.

Huang, G., Lee, D., Scott, M. (2015). An integrated Bayesian model for estimating the long-term health effects of air pollution by fusing modelled and measured pollution data: A case study of nitrogen dioxide concentrations in Scotland. *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology*, 14–15, str. 63–74.

Hwang, J.S., Chan, C.C. (2002). Effects of air pollution on daily clinic visits for lower respiratory tract illness. *American Journal of Epidemiology*, 155(1), str. 1–10.

Kuček, A., Erzen, I., Farkas, J., Zaletel-Kragelj, L. (2014a). Impact of air pollution with PM₁₀ on primary health care consultations for respiratory diseases in children in Zasavje, Slovenia: a time-trend study. *Zdravstveno Varstvo*, 53(1), str. 55–68.

Kuček, A., Farkaš-Lainščak, J., Eržen, I., Zaletel-Kragelj, L. (2013). A prevalence study on outdoor air pollution and respiratory diseases in children in Zasavje, Slovenia, as a lever to trigger evidence-based environmental health activities. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 64(1), str. 9–22.

Kuček, A., Galičič, A., Kranjec, N., Zaletel-Kragelj, L., Eržen, I. (2016). Metode ocene izpostavljenosti onesnaženosti zraka z delci različnih velikosti za zdravje: dostopnost in kakovost podatkov. V: Lipič, K. (ur.), Rižnar, K. (ur.), Novak, P. (ur.). *Gospodarno z viri za sonaravni razvoj Slovenije: strokovno posvetovanje 2016, Moravske Toplice, Hotel Ajda, 7. in 8. april 2016*. Ljubljana: Zveza ekoloških gibanj Slovenije, str. 181–186.

- Kukec, A., Zaletel-Kragelj, L., Farkaš-Lainščak, J., Eržen, I., Herakovič, A., Božnar, M.Z. et al. (2014b). Health geography in case of Zasavje: linking of atmospheric air pollution and respiratory diseases data. *Acta geographica Slovenica*, 54(2), str. 345–362.
- Künzli, N., Perez, L., Rapp, R. (2010). *Air quality and health*. Lausanne: European Respiratory Society.
- Leem, J.H., Kim, S.T., Kim, H.C. (2015). Public-health impact of outdoor air pollution for 2nd air pollution management policy in Seoul metropolitan area, Korea. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 27, str. 7–18.
- Maheswaran, R., Haining, R.P., Brindley, P., Law, J., Pearson, T., Fryers, P.R., Wise, S., Campbell, M.J. (2005a). Outdoor Air Pollution and Stroke in Sheffield, United Kingdom: A Small-Area Level Geographical Study. *Stroke*, 36(2), str. 239–243.
- Maheswaran, R., Haining, R.P., Brindley, P., Law, J., Pearson, T., Fryers, P.R., Wise, S., Campbell, M.J. (2005b). Outdoor air pollution, mortality, and hospital admissions from coronary heart disease in Sheffield, UK: a small-area level ecological study. *European Heart Journal*, 26, str. 2543–2549.
- Maheswaran, R., Pearson, T., Smeeton, N.C., Beevers, S.D., Campbell, M.J., Wolfe, C.D. (2012). Outdoor air pollution and incidence of ischemic and hemorrhagic stroke: a small-area level ecological study. *Stroke*, 43(1), str. 22–27.
- Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) (2016a). Priporočila za vrtce in šole za ravnanje ob dneh s povečanimi vrednostmi delcev PM₁₀ v zunanjem zraku. Ljubljana, Slovenija. Dostopno (3. 3. 2017) na: <http://www.nijz.si/sl/priporocila-za-vrtce-in-sole-za-ravnanje-ob-dneh-s-povecanimi-vrednostmi-delcev-pm10-v-zunanjem>.
- Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) (2016b). Povišane koncentracije troposferskega ozona - priporočila za prebivalce. Ljubljana, Slovenija. Dostopno (3. 3. 2017) na: <http://www.nijz.si/sl/povisane-koncentracije-troposferskega-ozona-priporocila-za-prebivalce>.
- Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) (2017a). *Podatkovne zbirke in raziskave*. Dostopno (2. 11. 2016) na: <http://www.nijz.si/sl/podatki/podatkovne-zbirke-in-raziskave>.
- Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) (2017b). Povišane ravni delcev PM₁₀ v zraku - priporočila za prebivalce. Ljubljana, Slovenija. Dostopno (3. 3. 2017) na: <http://www.nijz.si/sl/povisane-ravni-delcev-pm10-v-zraku-priporocila-za-prebivalce>.
- Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) (2017c). Notranji zrak - Priporočila za prebivalce. Ljubljana, Slovenija. Dostopno (3. 3. 2017) na: <http://www.nijz.si/sl/notranji-zrak-priporocila-za-prebivalce>.
- Orru, H., Teinmaa, E., Ali, T., Tamm, T., Kaasik, M., Kimmel, V. et al. (2009). Health impact assessment of particulate pollution in Tallinn using fine spatial resolution and modeling techniques. *Environmental Health*, 8, str. 7–16.
- Oyana, T.J. in Rivers, P.A. (2005). Geographic variations of childhood asthma hospitalization and outpatient visits and proximity to ambient pollution sources at a U.S.-Canada border crossing. *International Journal of Health Geographics*, 4, str. 14–25.
- Ott, W.R. (1982). Concepts of human exposure to air pollutants. *Environment International*, 7, str. 179–196.

Pikhart, H., Bobak, M., Gorynski, P., Wojtyniak, B., Danova, J., Celko, M.A. et al. (2001). Outdoor sulphur dioxide and respiratory symptoms in Czech and Polish school children: a small-area study (SAVIAH). Small-Area Variation in Air Pollution and Health. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 74(8), str. 574–578.

Register raka Republike Slovenije. SLORA (2017). Slovenski podatki. Ljubljana, Slovenija. Dostopno (3. 3. 2017) na: <http://www.slora.si/analizaslo>.

Reynolds, P., Von Behren, J., Gunier, R.B., Goldberg, D.E., Hertz, A., Smith, D.F. (2003). Childhood cancer incidence rates and hazardous air pollutants in California: an exploratory analysis. *Environmental Health Perspectives*, 111(4), str. 663–668.

Scoggins, A., Kjellstrom, T., Fisher, G., Connor, J., Gimson, N. (2004). Spatial analysis of annual air pollution exposure and mortality. *Science of the Total Environment*, 321(1-3), str. 71–85.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2006). *Air Quality Guidelines. Global Update 2005*. Copenhagen, Danska: Regionalni urad Svetovne zdravstvene organizacije za Evropo, str. 61–110.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2010). *WHO human health risk assessment toolkit: chemical hazards. IPCS harmonization project document; no.8*. Geneva, Švica: Svetovna zdravstvena organizacija.

Svetovna zdravstvena organizacija (2011). *International Classification of Diseases (ICD)*. <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>. <28. 12. 2015>

Svetovna zdravstvena organizacija (2013a). *Health effects of particulate matter: Policy implications for countries in eastern Europe, Caucasus and central Asia*. Copenhagen, Danska: Regionalni urad Svetovne zdravstvene organizacije za Evropo.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2013b). *Health risks of air pollution in Europe – HRAPIE project. Recommendations for concentration–response functions for cost–benefit analysis of particulate matter, ozone and nitrogen dioxide*. Copenhagen, Danska: Regionalni urad Svetovne zdravstvene organizacije za Evropo.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2014). *WHO Expert Meeting: Methods and tools for assessing the health risks of air pollution at local, national and international level. Meeting report Bonn, Germany, 12-13 May 2014*. Copenhagen, Danska: Regionalni urad Svetovne zdravstvene organizacije za Evropo.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2016a). *Ambient air pollution: a global assessment of exposure and burden of disease*. Geneva, Švica: Svetovna zdravstvena organizacija.

Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) (2016b). *Health risk assessment of air pollution – general principles*. Copenhagen, Danska: Regionalni urad Svetovne zdravstvene organizacije za Evropo.

Turšič, J. in Žabkar, R. (2016). Stanje na področju kakovosti zunanega zraka v Sloveniji. V: Kukec, A. (ur.) in Zaletel-Kragelj, L. (ur.). *Kakovost zunanega zraka: interdisciplinarni pristop k oceni stanja in oblikovanju ter izvajanju ukrepov: zbornik recenziranih znanstvenih prispevkov*. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje, str. 12–18.

Uredba o kakovosti zunanega zraka (Ur. l. RS, št. 9/11, 8/15).

Uredba o arzeniu, kadmiju, živem srebru, niklju in policikličnih aromatskih ogljikovodikih v zunanjem zraku (Ur. l. RS, št. 56/06).

Wang, M., Gehring, U., Hoek, G., Keuken, M., Jonkers, S., Beelen, R. et al. (2015). Air Pollution and Lung Function in Dutch Children: A Comparison of Exposure Estimates and Associations Based on Land Use Regression and Dispersion Exposure Modeling Approaches. *Environmental Health Perspectives*, 123(8), str. 847–851.

Wilhelm, M., Ritz, B. (2003). Residential Proximity to Traffic and Adverse Birth Outcomes in Los Angeles County, California, 1994–1996. *Environmental Health Perspectives*, 111(2), str. 207–216.

Wolf, C. (2002). Urban air pollution and health: an ecological study of chronic rhinosinusitis in Cologne, Germany. *Health & Place*, 8(2), str. 129–139.

Yassi, A., Kjellstroem, T., Kok, T., Guidotti, T.L. (2001). *Basic environmental health*. New York: Oxford University Press, str. 180–208.

Zaletel-Kragelj, L., Eržen, I., Premik, M., Pahor, M. (2007). *Uvod v javno zdravje*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta.

7 DOLOČANJE GENOTOKSIČNOSTI V OKVIRU OCENE NEVARNOSTI

Tanja Fatur

7.1 UVOD

Genotoksično ali mutageno delovanje sta možna škodljiva učinka kemikalij, ki lahko imata hude posledice za organizem ali njegove potomce, saj pomembno vpliva na nastanek raka. Določanje genotoksičnosti je nujni element ocene nevarnosti kemikalij.

Mutacija je trajna sprememba strukture ali količine genskega materiala celice. Mutacija pomeni spremembo gena ali skupine genov, spremembo strukture kromosoma ali števila kromosomov (EFSA, 2011). Klastogene snovi so vzrok nastanka strukturnih sprememb kromosomov, saj povzročijo prelome in prerazporeditve predelov kromosomov. Anevgene snovi povzročijo povečanje ali zmanjšanje števila kromosomov v celici (kot npr. trisomijo 21. kromosoma pri ljudeh z Downovim sindromom).

Genotoksičnost je širši pojem kot mutagenost in vključuje procese, ki sprožijo spremembe strukture deoksiribonukleinske kisline (DNK) in informacij, ki jih le-ta vsebuje in vpliv na segregacijo DNK.

Genotoksičen dejavnik se lahko veže neposredno na DNK ali na beljakovine, ki sodelujejo pri popravljanju nastalih poškodb DNK (v organizmu nenehno spontano nastajajo mutacije, ki se večinoma popravijo brez škode za organizem). Lahko pa mutagena snov vpliva na beljakovine, ki zagotavljajo pravilno podvajanje DNK (npr. topoizomeraze) in tako povzroči ohranitev mutacije v genomu. Če se veže na delitveno vreteno celice, se po celični delitvi kromosomi ne razdelijo pravilno med hčerinskima celicama, posledica česar je premajhno število kromosomov v eni novo nastali celici in povečano število kromosomov v drugi (aneuploidija) (Palus s sod., 2003, ECHA, 2014a). Eksogena snov lahko preseže obrambno kapaciteto organizma proti oksidativnim poškodbam ali sposobnost ohranjanja homeostaze posameznih endogenih snovi v celicah (ECHA, 2014a).

Posledica mutagenega delovanja snovi v telesnih celicah je lahko transformacija normalne celice v rakavo in pojav tumorjev, saj je mutacija prvi korak v procesu razvoja raka (Tannock in Hill, 2005). Tudi proces staranja je delno posledica kopičenja mutacij v telesnih celicah. Mutacije v spolnih celicah se lahko prenesejo na potomce (EFSA, 2011). Včasih te mutacije ne omogočajo preživetja zarodka, zato ta odmre. Lahko pa mutacija pri potomcih povzroči pojav različnih bolezni – npr. fenilketonurijo, sivo mreno in cistično fibrozo ali mozaicizem. Aneuploidijo (spremenjeno število kromosomov) povezujejo s spontanimi splavi, prirojenimi napakami, transformacijo celic in napredovanjem tumorjev.

7.1.1 Testiranje genotoksičnosti

Zaradi hudih posledic genotoksičnega in mutagenega delovanja zakonodaja določa testiranje tovrstnih učinkov za različne skupine kemikalij (npr. zdravila, pesticidi, njihovi metaboliti in razgradni produkti, biocidi, prehranski dodatki, nekatere industrijske kemikalije) (ECHA; 2014a, 2014b, Uredba 283/2013). Teste s katerimi določamo genotoksični potencial snovi izvajamo zato, da identificiramo snovi, ki lahko povzročajo dedne spremembe DNK pri ljudeh, z njimi pa lahko tudi pojasnimo mehanizme rakotvornega delovanja snovi.

7.2 DOLOČANJE GENOTOKSIČNEGA DELOVANJA KEMIKALIJ

Kemikalije, ki delujejo genotoksično lahko že pri zelo nizkih odmerkih povzročijo spremembe dednega materiala. Za snovi, ki se vežejo neposredno na DNK velja, da nimajo praga delovanja in da potencialno lahko že ena sama molekula snovi povzroči mutacijo.

Za vsako snov, katere genotoksični potencial želimo določiti, moramo oceniti ali povzroča **mutacije genov** in **strukturne** ali **številčne spremembe kromosomov**. Z enim samim testom ne moremo zajeti vseh parametrov, ki so tarča genotoksičnega delovanja snovi, zato je potrebno opraviti določen sklop testov, s katerimi lahko zaznamo čim več potencialnih genotoksičnih učinkov (EFSA, 2011, ICH, 2011, COM, 2000). Testi za določanje genotoksičnega potenciala snovi vključujejo uporabo bakterij in sesalskih celic v sistemih *in vitro*, ter glodalcev v *in vivo* sistemih. Izvedeni morajo biti v skladu z dobro laboratorijsko prakso in veljavnimi smernicami, če te obstajajo ali vsaj z mednarodno priznanimi protokoli.

Testiranje genotoksičnosti poteka v *in vitro* in *in vivo* sistemih in se praviloma izvaja postopno.

7.2.1 Študije genotoksičnosti *in vitro*

V prvi fazi je potrebno izvesti *in vitro* študije. Standardna baterija *in vitro* testov za določanje genotoksičnosti vključuje tri študije (Uredba 283/2013, 2011; COM, 2000): študijo, v kateri opazujemo pojav genskih mutacij v bakterijskih celicah (Amesov test), študijo, v kateri določamo nastanek genskih mutacij v sesalskih celicah in študijo pojava kromosomskih aberacij ali mikrojedr na sesalskih celicah, s katero določimo ali preiskovana snov povzroči strukturne ali številčne spremembe kromosomov.

Evropska agencija za varno hrano (EFSA) je objavila znanstveno mnenje v katerem navaja, da sta za določitev genotoksičnosti *in vitro* zadostna že Amesov test, s katerim določimo genske mutacije, in določanje pojava mikrojedr *in vitro*, s katerim zaznamo numerične in strukturne kromosomske aberacije (EFSA, 2011). Tako že z dvema priporočenima testoma zajamemo vse potrebne parametre za določitev genotoksičnega delovanja snovi.

Da bi bilo dogajanje v testnih sistemih čim bolj podobno tistemu v človeškem organizmu, je teste genotoksičnosti *in vitro* potrebno izvesti v prisotnosti sistema za metabolno aktivacijo. Metabolna

aktivacija je proces, ki poteka predvsem v jetrih in kjer se organizmu tuje snovi pretvorijo v tako obliko, da se čim lažje in s čim manj škodljivimi posledicami izločijo iz organizma. V procesu metabolne razgradnje večkrat nastajajo snovi, ki so bolj genotoksične kot izhodiščna snov. Iz tega razloga je potrebno testiranje genotoksičnosti izvesti v prisotnosti in odsotnosti metabolnega aktivatorja. Najpogosteje se za to uporablja encimska mikrosomalna frakcija iz podganjih jeter, S9, ki jo pridobijo iz jeter podgan po indukciji encimov z Aroclor 1254 ali kombinacijo fenobarbitala in β -naftoflavona (OECD, 1997).

7.2.1.1 Test povratnih mutacij na bakterijskih celicah (Amesov test)

Test povratnih mutacij *in vitro* se izvaja na bakterijah sevov *Salmonella typhimurium* in *Escherichia coli*, ki ne proizvajajo določene esencialne aminokislina in se torej ne razmnožujejo na gojišču brez specifične aminokislina (npr. histidina) (OECD, 1997). S temi sevi bakterij določimo pojav točkovnih mutacij, ki se zgodijo zaradi zamenjave baznih barov, adicije ali delecije posamezne baze ali večih baz v DNK. Zaradi sprememb v DNK so bakterije sposobne tvoriti posamezno aminokislino, ki je njene vrstnice brez mutacij niso zmožne in tako zaznamo mutante kot kolonije, ki zrastejo na gojišču. Na vrsto mutacije lahko sklepamo glede na povišanje števila povratnih mutant pri posameznem sevu. Prav zaradi specifičnosti mutacij pri posameznih sevih je vedno potrebno uporabiti vsaj 5 sevov bakterij:

- *S. typhimurium* sevi TA 1535, TA 1537 ali TA 97a ali TA 97, TA 98 in TA 100,
- *E. coli* sev WP2 *uvr2* ali *S. typhimurium* TA 102, ki zaznata nekatere oksidirajoče mutagene, agense, ki povzročajo navzkrižne povezave DNK in hidrazina. Teh s predhodno naštetimi sevi namreč ni moč zaznati.

Kulturi bakterijskih celic dodamo testno snov, v prisotnosti in odsotnosti metabolnega sistema. Mešanici takoj dodamo primerno gojišče in jo razlijemo v petrijevko, lahko pa najprej določen čas inkubiramo bakterijsko kulturo in testno snov, šele kasneje dodamo tekoče gojišče in mešanico razlijemo v petrijevke. Po dveh do treh dneh inkubacije preštejemo kolonije bakterij na gojišču.

Test je enostaven, hiter in poceni. Izveden mora biti v skladu s smernico OECD 471 (OECD, 1997).

Kriteriji za pozitiven rezultat:

- povišanje števila povratnih mutacij dva- ali trikrat,
- v test mora biti vedno vključena tudi kontrola topila, ki pokaže spontano pojavljanje mutacij v posameznem sevu, in pozitivna kontrola,
- v laboratoriju, kjer je bil test izveden mora biti za določen sev število povratnih mutant v kontroli topila znotraj historičnih kontrolnih vrednosti,
- pozitivna kontrola mora povzročiti večkratno povišanje števila povratnih mutacij v določenem sevu in tako potrdimo, da je bil test pravilno izveden ter da bi z njim lahko zaznali morebitno genotoksičnost testne snovi.

7.2.1.2 Določanje genskih mutacij v sesalskih celicah *in vitro*

S to metodo zaznamo genske mutacije, ki so posledica zamenjave baznih parov ali premika bralnega okvirja. Za ta namen se najpogosteje uporabljajo ovarijske celice kitajskega hrčka (CHO), ki imajo vključen reporterski gen za hipoksantin – gvanin fosforibozil transferazo (HPRT) (OECD, 2016b). Celice, v katerih je prišlo do mutacij v reporterskem genu HPRT, so odporne na 6-tiogvanin in se lahko v njegovi prisotnosti množijo ter tvorijo kolonije na gojišču. Celice, kjer ni prišlo do mutacij, na 6-tiogvanin niso odporne in se v njegovi prisotnosti ne razmnožujejo.

Celice izpostavimo testni snovi v prisotnosti in odsotnosti sistema za metabolno aktivacijo. Testno snov odstranimo in celice presadimo na sveže gojišče, da določimo toksičnost in da se fenotipsko izrazijo nastale mutacije, kar traja 7–9 dni. Po tem obdobju znano število celic presadimo in v gojišče dodamo selektivni agens (6-tiogvanin), v katerem se množijo le celice, ki so nanj odporne. Kolonije mutiranih celic pobarvamo in jih preštejemo. Test mora biti izveden v skladu s smernico OECD 476 (OECD, 2016a). Enak princip za odkrivanje mutacij je uporabljen tudi v drugi *in vitro* metodi, ki se uporablja za določanje genskih mutacij *in vitro*, to so mutacije v lokusu, ki nosi gen za timidin kinazo (tk), celične linije mišjega limfoma L5178Y in jo opisuje OECD smernica 490 (OECD, 2016b).

Kriteriji za pozitiven rezultat:

- v študijo je vedno potrebno vključiti kontrolo topila in pozitivno kontrolo. Pojav genskih mutacij pri obeh mora biti znotraj historičnih vrednosti za kontrolo topila in pozitivno kontrolo v laboratoriju, ki je izvedel test,
- povišanje števila mutant mora biti večje kot vnaprej določena vrednost GEF (iz ang. *Global Evaluation Factor*) pri vsaj eni koncentraciji testne snovi,
- povišanje števila mutant je odvisno od koncentracije testne snovi,
- na povišano pojavljanje genskih mutacij lahko vpliva tudi citotoksičnost, zato moramo pri interpretaciji upoštevati tudi ta vidik.

7.2.1.3 Določanje kromosomskih aberacij v sesalskih celicah *in vitro*

Kromosomske aberacije so spremembe kromosomov, ki so lahko strukturne ali numerične. Strukturne spremembe kromosomov zajemajo vrzeli, delecije, duplikacije, translokacije dela kromosoma, inverzije, insercije in kroge. Lahko prizadenejo kromatido ali kromosom.

S tem testom zaznamo pojavljanje kromosomskih aberacij v celičnih linijah (npr. CHO, pljučnih celicah kitajskega hrčka (V79)), primarnih kulturah človeških limfocitov iz periferne krvi ali primarnih glodalskih celic (OECD, 2016c).

Celice, ki se množijo (celične kulture so tega sposobne same, primarne celice pa stimuliramo) izpostavimo testni snovi v prisotnosti ali odsotnosti sistema za metabolno aktivacijo. Po času, ki je potreben, da poteče en delitveni cikel in pol, celice požanjemo. Ker prisotnost kromosomskih aberacij lahko določimo v celicah v obdobju metafaze, je potrebno celični cikel delitve v tej fazi ustaviti, kar dosežemo z dodatkom inaktivatorja delitvenega vretena, uro do tri pred žetvijo celic. Požete celice pomočimo v hipotonično raztopino zaradi česar se napihnejo, kar omogoči porazdelitev kromosomov

po večjem prostoru in lažje opazovanje le-teh. Napihnjene celice fiksiramo na stekelca, jih pobarvamo in kromosome opazujemo pod mikroskopom.

Pri pregledu kromosomov je potrebno določiti ali testna snov povzroča kromatidne ali kromosomske aberacije in za kakšno vrsto aberacije gre. Da test zazna nastale spremembe kromosomov je potrebno vključiti kontrolo topila in pozitivno kontrolo. Pojav kromosomskih aberacij je lahko posledica citotoksičnosti testne snovi, zato je vedno potrebno določiti tudi vpliv testne snovi na preživetje in delitev celic. V primeru uporabe celičnih linij je primerno merilo za to relativno povečanje števila celic (RICC iz ang. *Relative Increase in Cell Count*) ali relativna podvojitev populacije (RPD iz ang. *Relative Population Doubling*), če uporabljamo primarne kulture pa mitotski indeks (MI iz ang. *Mitotic Index*).

Kriteriji za pozitiven rezultat testa:

- pojavljanje kromosomskih aberacij vsaj pri eni od koncentracij testne snovi je statistično povišano,
- s primerno statistično metodo lahko določimo trend povečanega pojavljanja kromosomskih aberacij,
- pojavljanje kromosomskih aberacij v kontroli topila in pozitivni kontroli je znotraj historičnih vrednosti.

Test mora biti izveden v skladu s smernico OECD 473 (OECD, 2016c).

7.2.1.4 Določanje pojava mikrojedrer v sesalskih celicah *in vitro*

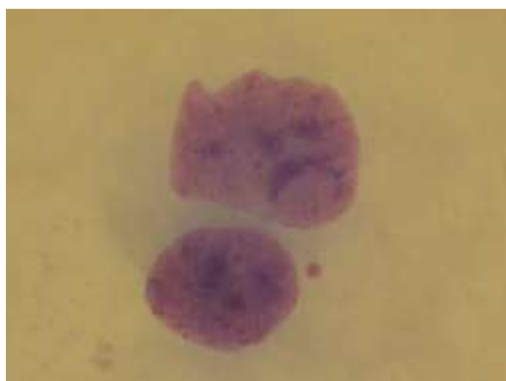
Mikrojedra so delci kromosoma ali cel kromosom, ki se po podvojitvi dednine niso razporedili v jedri novonastlih hčerinskih celic (Slika 7.1). Vzroki za to so lahko:

- prelom kromosoma, ki ne nosi centromerne regije na katero se pripenjajo mikrotubuli delitvegenega vretena, ki razporedijo DNK med novonastale celice,
- mutacija v centromerni regiji kromosoma, zaradi katere ne pride do povezave z delitvenim vretenom,
- sprememba strukture ali delovanja delitvenega vretena.

V testu je potrebno uporabiti celice, ki se delijo, saj pojav mikrojedrer določamo v dvojedrnih celicah, ker nadaljnjo delitev ustavimo z inhibicijo polimerizacije aktina (s citohalazinom B). Test se lahko izvaja na velikem številu glodalskih celičnih kultur (npr. CHO, V79, L5178Y), humanih celičnih linijah (npr. TK6, primarni limfociti iz periferne krvi) in celičnih linijah, ki so sposobne metabolne aktivacije (npr. HepG2, Caco-2). Celice izpostavimo testni snovi v prisotnosti in odsotnosti zunanjega metabolnega sistema. Za določitev klastogenega in anevgenega delovanja snovi je praviloma dovolj 3–6 urna izpostavljenost celic testni snovi. Po času, ki je potreben za potek enega in pol do dveh ciklov celične delitve, celicam dodamo inhibitor polimerizacije aktina in celice požanemo. Eno skupino celic izpostavimo testni snovi za ves čas trajanja študije (trajanje enega in pol do dveh ciklov celične delitve). Požete celice speremo v hipotonični raztopino, da se napihnejo, kar omogoča lažji pregled pod mikroskopom. Nato jih fiksiramo, nanesimo na stekelca in pobarvamo (OECD, 2016d).

V celicah, ki so bile izpostavljene testni snovi preštujemo število dvojedrnih celic z mikrojedri in jih primerjamo s številom mikrojedrer v kontrolnih celicah.

Slika 7.1: Dvojedrna celica HepG2 z mikrojedrom, pobarvana s 5% raztopino barvila po Giemsi, 1000x povečava (Fatur, 2005)



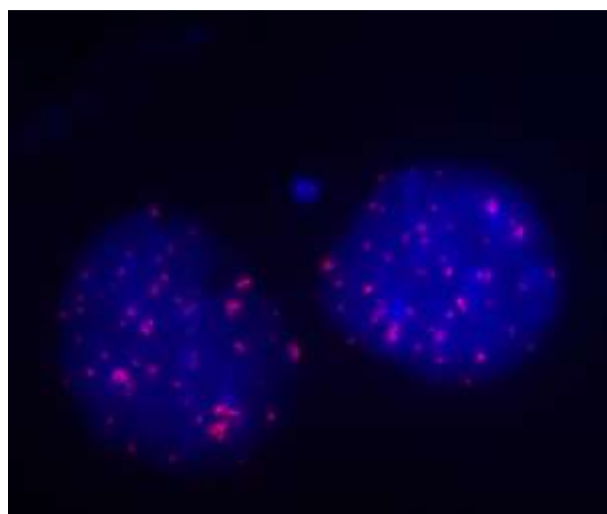
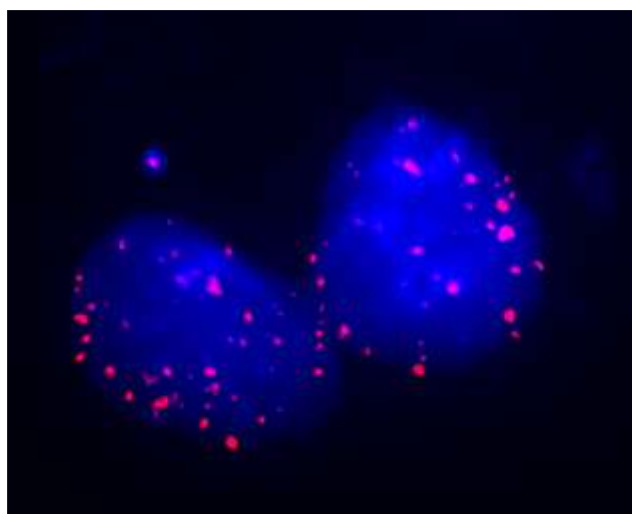
Kriteriji, ki določajo pozitiven rezultat so:

- statistično značilno povišano pojavljanja celic z mikrojedri pri vsaj eni koncentraciji testne snovi v primerjavi s celicami, ki testni snovi niso bile izpostavljene,
- s primerno statistično metodo določen trend povečanega pojavljanja,
- pojavljanje kromosomskih aberacij v celicah kontrole topila in pozitivne kontrole mora biti znotraj historičnih vrednosti.

Test mora biti izveden v skladu s smernico OECD 487 (OECD, 2016d).

V test določanja mikrojedrov lahko vključimo tudi uporabo in situ fluorescenčnih sond (FISH), ki se vežejo na centromerne regije kromosomov in tako lahko vidimo ali mikrojedro sestavlja cel kromosom ali le njegov del (Slika 7.2). Na tak način razlikujemo med anevgenim ali klastogenim delovanjem snovi. Za snovi, ki delujejo anevgenno namreč velja, da imajo prag delovanja (ECHA, 2014a).

Slika 7.2: Dvojedrni celici HepG2 z mikrojedrom, ki vsebuje centromerno regijo kromosoma (levo) in mikrojedrom brez nje (desno), jedra so obarvana za barvilom DAPI, sonda za centromerno DNK je označena z avidin Texas rdečim, 1000x povečava (Fatur, 2005)



7.2.1.5 Drugi testi za določanje genotoksičnosti *in vitro*

Za določanje genotoksičnosti *in vitro* obstajajo tudi druge metode, ki pa se bolj redko uporabljajo. To so označevanje aduktov DNK z radioaktivnim fosforjem (P^{32}) in določanje kovalentne vezave snovi na DNK (COM, 2000).

V kolikor so rezultati vseh *in vitro* testov določanja genotoksičnosti negativni lahko zaključimo, da snov nima genotoksičnega potenciala *in vitro* (EFSA, 2011).

Rezultate *in vitro* študij genotoksičnosti, ki so neprepričljivi, nejasni ali so si celo nasprotujoči, je potrebno potrditi ali ovreči s ponovitvijo določenega testa ali z izvedbo dodatnih študij.

Na podlagi pozitivnih rezultatov *in vitro* študij genotoksičnosti zaključimo, da je snov genotoksična *in vitro*. V tem primeru je potrebno preučiti njeno delovanje tudi v *in vivo* pogojih.

7.2.2 Študije genotoksičnosti na somatskih (telesnih) sesalskih celicah *in vivo*

Zakonodaja za nekatere skupine kemikalij (npr. zdravila, sredstva za zaščito rastlin, biocidi) določa, da morajo biti preiskovane tudi v študijah genotoksičnosti v sesalskih organizmih (ECHA, 2014b; Uredba 283/2013). Za ostale snovi (npr. razgradne ali presnovne produkte pesticidov v živilih ali podtalnici) je potrebno ugotoviti ali delujejo genotoksično *in vivo*, le v primeru, če je bil v *in vitro* testih zaznan pozitiven rezultat (EFSA, 2011; EC, 2003).

Ni namreč nujno, da snov, ki deluje genotoksično v *in vitro* sistemu, deluje tako tudi v organizmu, kajti snov se v organizmu lahko presnovi v razgradne produkte, ki nimajo genotoksičnega potenciala. V celico pa snov morda vstopa v manjšem obsegu, ki še ne povzroča škodljivih učinkov. Presnovki snovi so morda tako veliki, da v celice sploh ne pridejo in se ne vežejo na DNK, ali pa imajo tako kratko razpolovno dobo, da razpadejo, še preden bi lahko učinkovali na DNK. Nasprotno pa lahko snov, ki v *in vitro* študijah ne deluje mutageno, povzroči nastanek mutacij v somatskih celicah poskusnih živali, vendar je to zelo redko.

Izbira testa genotoksičnosti *in vivo* je odvisna od tega, v kateri od *in vitro* študij je bil rezultat pozitiven, torej kako ali na kaj snov deluje. Za testiranje genotoksičnosti *in vivo* se odločamo po korakih. Če je prvi test pozitiven, zaključimo, da je snov genotoksična tudi *in vivo*. Če je negativen, lahko zaključimo, da snov *in vivo* ne deluje genotoksično, razen v primerih, ko smo pozitiven rezultat opazili v več testih genotoksičnosti *in vitro* in je snov učinkovala na več nivojih.

V kolikor smo v *in vitro* testu opazili pojav kromosomskih aberacij po izpostavljenosti testni snovi, je potrebno *in vivo* določiti klastogeno/anevgenno delovanje snovi z opazovanjem pojava mikrojedrer v kostnem mozgu ali eritrocitih izpostavljenih glodalcev.

Snov, ki je v *in vitro* študiji povzročila pojav genskih mutacij, je potrebno testirati s testom komet ali jo preiskovati v transgenih miših, da ovržemo oz. potrdimo tovrstno toksično delovanje *in vivo* (EFSA, 2016; Uredba 283/2013).

7.2.2.1 Določanja pojava mikrojedr v kostnem mozgu ali eritrocitih glodalcev

Test temelji na opazovanju pojava mikrojedr v celicah kostnega mozga ali eritrocitih po izpostavljenosti poskusnih živali, miši ali podgan, testni snovi (OECD, 2016e).

Določanje pojava mikrojedr v kostnem mozgu miši je primerna metoda za določanje genotoksičnosti le v primeru, ko testna snov pride do kostnega mozga. Indikator izpostavljenosti kostnega mozga je lahko znižano razmerje med polikromatskimi in normokromatskimi eritrociti v kostnem mozgu kontrolne skupine in skupine izpostavljene testni snovi. Tudi znaki sistemske toksičnosti so dobri pokazatelji izpostavljenosti kostnega mozga, prav tako tudi izmerjena radioaktivnost v kostnem mozgu ali kosti v študijah toksikokinetike (EFSA, 2016; OECD, 2016e).

Živali za določen čas izpostavimo testni snovi. Po času, potrebnem za delitev celic kostnega mozga ali eritrocitov živali usmrtijo, izolirajo celice kostnega mozga ali eritrocite, jih pobarvajo in preštejejo nastala mikrojedra.

Rezultat testa je pozitiven, če:

- opazimo statistično značilno povišano pojavljanje celic z mikrojedri v skupini izpostavljeni testni snovi v primerjavi s celicami, ki testni snovi niso bile izpostavljene,
- je povišano pojavljanje mikrojedr odvisno od odmerka testne snovi,
- zaznamo trend povečanega pojavljanja mikrojedr s primerno statistično metodo,
- je pojavljanje kromosomskih aberacij v kontrolni skupini in skupini izpostavljeni pozitivni kontroli in pozitivni kontroli znotraj historičnih vrednosti.

V kolikor ni moč dokazati izpostavljenosti celic kostnega mozga testni snovi, ne moremo zaključiti, da snov ne deluje genotoksično *in vivo*, tudi če ni opaziti povečanega pojavljanje mikrojedr v izpostavljenih živalih. Test mora biti izveden v skladu s smernico OECD 474 (OECD, 2016e).

7.2.2.2 Test določanja genskih mutacij v transgenih glodalskih celicah

S tem testom določamo točkovne mutacije in manjše delecije DNK v različnih tkivih. Test uporabljamo za potrditev povzročanja genskih mutacij *in vivo*, če je testna snov v *in vitro* sistemu povzročila pojav genskih mutacij.

Test se izvaja na transgenih miših ali podganah, ki vsebujejo v kromosome vgrajene številne kopije bakteriofagnih ali plazmidnih vektorjev s posrednim reporterskim genom za zaznavanje mutacij ali kromosomskih prerazporeditev (OECD, 2013). Omenjeni elementi so vgrajeni v nevtralne dele genoma in kot taki ne vplivajo na preživetje živali med samim testom. Transgene živali so določeno obdobje izpostavljene testni snovi. Čas izpostavitve živali je odvisen od delitvenega časa celic tkiv, relevantnih za posamezno študijo. Glede na to katera tkiva želimo raziskati se odločimo za način vnosa testne snovi. Sledi obdobje, v katerem žival ne prejema testne snovi in v tem času pride do utrditve mutacije v genom. Po tem obdobju žival žrtvujejo in izolirajo DNK iz kateregakoli tkiva. DNK dodajo bakterijam in vektor (plazmid ali bakteriofag) se vgradi v njihov genom. Bakterije nato nacepijo na neselektivno in

selektivno gojišče, ki omogoča zaznavo reporterskega gena. Tako se določi frekvenca pojavljanja genskih mutacij v transgenih živalih.

Zaenkrat smernica OECD 488 (OECD, 2013), skladno s katero je študijo potrebno izvesti, navaja da so za izvedbo testa primerne sledeče testne živali: Muta Mouse (vsebuje bakterifag LacZ), miš s plazmidom lacZ, miš in podgana z gpt delta (gpt and Spi-) in Big Blue (miš in podgana z bakteriofagom lacZ) (Big Blue®).

7.2.2.3 Test komet

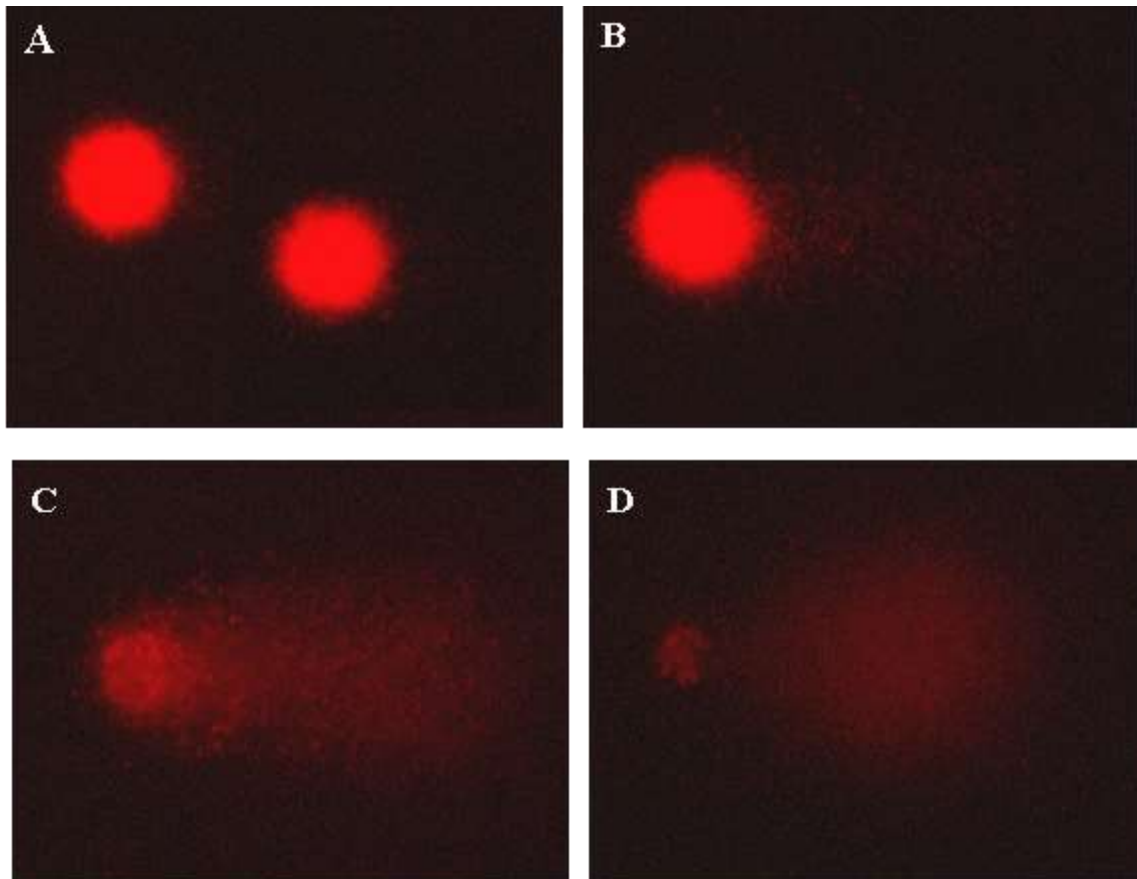
Test komet uporabljamo za določanje genotoksičnosti snovi in njihovo reaktivnost z DNK. S testom komet v alkalnem okolju ($\text{pH} > 13$) zaznamo prelome ene ali obeh verig DNK, ki so lahko posledica neposredne interakcije snovi z DNK ali predstavljajo alkalno labilna mesta. Prelomi, ki jih zaznamo s testom komet, so lahko prehodnega značaja in jih popravljalni mehanizmi lahko popravijo, povzročijo lahko smrt celice ali se fiksirajo v genom in povzročijo trajno spremembo DNK. Zaznamo pa tudi prelome kromosomov.

Poskusne živali so izpostavljene testni snovi za določen čas. Vnos testne snovi je odvisen od vrste tkiv, v katerih določamo poškodovanost DNK. Živali nato usmrtimo, odvezamo tkivo, ki nas zanima in iz njega pripravimo suspenzijo posameznih celic. Celice zmešane z agarozo naneseemo na objektna stekelca in jih potopimo v alkalno raztopino, da celične strukture lizirajo, DNK pa se odvijje. Celice nato izpostavimo električnemu polju v postopku elektroforeze. Osnovno načelo testa je namreč, da poškodovana DNK v električnem polju potuje hitreje kot nepoškodovana in zato imajo po izpostavitvi električnemu polju jedra v agarozo vključenih in liziranih celic značilno obliko kometov (OECD, 2016f) (Slika 7.3). Z razliko od nebesnih pojavov, pri katerih potuje jedro komete, v primeru poškodovanih celic potuje rep.

Test je dokaj hiter in enostaven, njegova dobra stran je tudi, da ga lahko uporabimo na večini tkiv, iz katerih lahko pripravimo suspenzijo posameznih celic. V tem testu ni potrebno, da se celice delijo in tudi ne potrebujemo veliko število celic, da test izvedemo.

Tudi za test komet je pripravljena smernica OECD 489 (OECD, 2016f).

Slika 7.3: Jedra celic HepG2 po testu komet (Fatur, 2005)



Legenda

Slika A prikazuje nepoškodovano jedro kontrolne celice, slike B, C in D prikazujejo različno poškodovana jedra celic, pobarvano z etidijevim bromidom, 400× povečava.

7.2.2.4 Določanje neplanirane sinteze DNK

Za določanje genotoksičnega potenciala *in vivo* so v preteklosti uporabljali neplanirano sintezo DNK v jetrnih celicah izpostavljenih podgan. To metodo so uporabljali kot potrditev rezultatov *in vitro* študij genskih mutacij v sesalskih celicah. V primeru, da je testna snov povzročila poškodbe DNK je prišlo do popravljanja le-teh, kar je bilo moč zaznati zaradi vgrajevanja s tritijem označenega timina v genom jetrnih celic.

Na podlagi pozitivnega rezultata ali rezultatov študij genotoksičnosti *in vivo* zaključimo, da je snov genotoksična *in vivo*, v kolikor so rezultati študij *in vivo* negativni pa, da snov ni genotoksična *in vivo*. V kolikor so rezultati študij nejasni, je potrebno študijo ponoviti. V primeru nasprotujočih si rezultatov študij, ki so narejene s primernimi odmerki, v skladu s smernicami OECD zaključimo, da genotoksičnega potenciala snovi ne moremo popolnoma izključiti in jo obravnavamo kot genotoksično *in vivo*.

7.2.2.5 Določanje genotoksičnosti v zarodnih celicah

Določanje genotoksičnega delovanja v zarodnih celic pravzaprav ni potrebno. Snov, ki v telesnih celicah organizma deluje genotoksično, zelo verjetno pride tudi do zarodnih celic in tako sklepamo, da deluje tudi nanje genotoksično ter je potencialno nevarna za sledeče generacije. Velja tudi nasprotno, da snov, ki ni genotoksična v somatskih celicah, tudi ni genotoksična v zarodnih celicah, saj zaenkrat ne poznamo nobene snovi, ki bi bila specifično mutagena za zarodne celice (EFSA, 2011).

Seveda pa obstajajo tudi metode za določanje genotoksičnega delovanja na zarodne celice v organizmih. Določamo lahko ali preiskovana snov povzroča prelome kromosomov spermatogonijskih celic ali spermatocitov in deluje klastogeno, ali pa spremeni število kromosomov spermatogonijev in spermatocitov ter tako deluje aneugeno. Omenjena učinka opazujemo z analizo celic v metafazi ali z določanjem števila nastalih mikrojedr, dominantnim letalnim testom in s transgenimi živalmi (COM, 2000).

7.2.3 Interpretacija rezultatov študij genotoksičnosti

Pri interpretaciji rezultatov študij genotoksičnosti moramo upoštevati sledeče (ECHA, 2014a):

- ali je učinek odvisen od odmerka,
- ali so bile uporabljene dovolj visoke koncentracije testne snovi; kar pri *in vitro* študijah pomeni, da so opazili določeno mero citotoksičnosti, ali je odmerek omejen s topnostjo testne snovi, v *in vivo* študijah pa dokaze o izpostavljenosti opazovanega tkiva,
- ali je bil uporabljen primeren test, glede pričakovanega vpliva na DNK,
- ali je bilo v študijo vključeno zadostno število odmerkov testne snovi, živali, ponovitev in pregledano dovolj celic,
- pri *in vitro* študijah je pomembno, ali je potekel metabolizem testne snovi in je bil pravilno uporabljen učinkovit zunanji metabolni sistem,
- pri *in vivo* študijah je potrebno vedeti, ali je bilo vzorčenje tkiva ustrezno izvedeno, ob primernem času, da bi lahko zaznali morebitni učinek.

Lahko se zgodi, da opravljeni indikatorski testi kažejo, da snov reagira z DNK (vezava ali poškodbe DNK, vpliv na popravljanje DNK, izmenjava sestrskih kromatid), teh učinkov pa ne zaznamo v pravilno izvedenih študijah genotoksičnosti *in vitro* in *in vivo*. V takem primeru imajo rezultati *in vitro* oz. *in vivo* študij večjo težo. V kolikor so rezultati študij *in vitro* pozitivni, *in vivo* pa negativni, zaključimo o genotoksičnosti za ljudi na podlagi rezultatov študij *in vivo*, pri čemer je potrebno oceniti ali je bilo za študijo uporabljeno primerno tkivo in ali je prišlo do izpostavljenosti tega tkiva.

Pri določanju genotoksičnega potenciala snovi moramo vedno upoštevati težo dokazov. Potrebno je upoštevati (EFSA, 2011; ECHA, 2014a):

- kakovost in zanesljivost podatkov o genotoksičnem delovanju,
- ponovljivost rezultatov,
- upoštevati tudi druge podatke, kot so fizikalno kemijske lastnosti snovi, povezava med strukturo in delovanjem (vključno s strukturnimi opozorili in navzkrižnim branjem rezultatov študij s kemijsko

podobnimi snovmi), biološka razpoložljivost, toksikokinetika in metabolizem ter opažanja v toksikoloških študijah s ponavljajočo izpostavljenostjo in študijah rakotvornosti.

7.2.4 Razvrščanje in označevanje kemikalij glede na genotoksični potencial

Na osnovi rezultatov študij genotoksičnosti *in vitro* in *in vivo* snov razvrstimo v razred nevarnosti v skladu s kriteriji Uredbe 1272/2009 o razvrščanju in označevanju snovi in zmesi (Uredba 1272/2008).

Ločimo sledeče kategorije mutagenosti za zarodne celice:

- kategorija 1: snovi, ki povzročajo dedne mutacije ali se obravnavajo kot povzročitelji dednih mutacij v zarodnih celicah ljudi.
- kategorija 1A: razvrstitev v kategorijo 1A temelji na pozitivnem dokazu epidemioloških študij na ljudeh. Snovi, ki se obravnavajo kot povzročitelji dednih mutacij v zarodnih celicah ljudi.
- kategorija 1B: razvrstitev v kategorijo 1B temelji na:
 - pozitivnih rezultatih testov mutagenosti dednih zarodnih celic na sesalcih *in vivo* ali
 - pozitivnih rezultatih testov mutagenosti somatskih celic na sesalcih *in vivo* v povezavi z nekaterimi dokazi, da lahko snov povzroči mutacije zarodnih celic. Ti podporni dokazi lahko izhajajo iz testov mutagenosti/genotoksičnosti zarodnih celic *in vivo* ali s prikazom zmožnosti snovi ali njenega(-ih) metabolita(-ov), da medsebojno vpliva(-jo) na genski material zarodnih celic ali
 - pozitivni rezultati testov, ki kažejo mutagene učinke v zarodnih celicah ljudi, brez prikaza prenosa na potomce; na primer pogostejša aneuploidija v moških spolnih celicah izpostavljenih oseb.
- kategorija 2: snovi, ki vzbujajo skrb zaradi morebitnega povzročanja dednih mutacij v zarodnih celicah ljudi. Razvrstitev v kategorijo 2 temelji na:
 - pozitivnih dokazih testov na sesalcih in/ali v nekaterih primerih poskusov *in vitro*,
 - testov mutagenosti somatskih celic na sesalcih *in vivo* ali
 - drugih testov genotoksičnosti somatskih celic *in vivo*, ki jih podpirajo pozitivni rezultati testov mutagenosti *in vitro*.

Opomba: Snovi, ki so pozitivne pri testih mutagenosti na sesalcih *in vitro*, in ki kažejo tudi razmerje med kemijsko strukturo in aktivnostjo opaženo pri znanih mutagenih snoveh za zarodne celice, se obravnavajo pri razvrstitvi kot mutagene snovi kategorije 2.

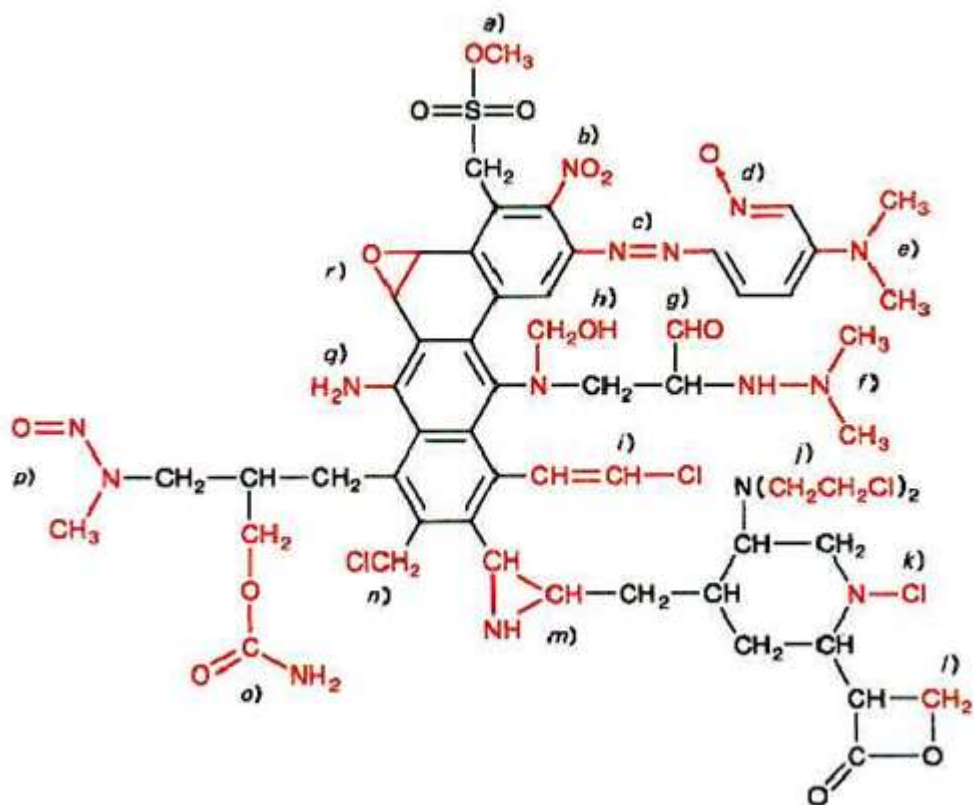
7.3 KO NIMAMO ŠTUDIJE GENOTOKSIČNOSTI

Za številne kemikalije nimamo podatkov o njihovem genotoksičnem potencialu.

Leta 1991 sta Ashby in Tennant (1991) objavila članek o primerjavi med strukturo snovi ter njenim mutagenim in rakotvornim delovanjem. V raziskavi sta preučila 301 kemikalijo in določila kemijske skupine, ki jih lahko povežemo z genotoksičnim delovanjem snovi, t.j. strukturalna opozorila. To so alkilni estri fosfonske ali sulfonske kisline (a), aromatske nitro skupine (b), aromatske azo skupine (c),

aromatski obroč N-oksido (d), aromatske mono- in dialkil amino skupine (e), alkilhidrazini (f), alkilaldehidi (g), derivati N-metilola (h), monohaloalkeni (i), N-kloroetil) i- in S-kloroetil (j), N-kloramini (k), propiolaktoni in propiosulfoni (l), artomatski in alifatski aziridini derivati (m), aromatski in alifatski substituirani alikilhalidi(n), uretanski derivati (karbamati) (o), alikil-N-nitrozamini (p), aromatski amini in njihovi N-hidroksi derivati (q), alifatski in aromatski epoksidi (r) (Slika 7.4).

Slika 7.4: Strukturna opozorila za genotoksičnost (Ashby in Tennant, 1991)



Kasneje so razvili modele, ki ocenjujejo povezavo strukture in delovanja snovi (QSAR, iz ang. *Quantitative structure–activity relationship*), ti so za napovedovanje genotoksičnega delovanja dandanes že precej zanesljivi. Primernost uporabljenega modela je seveda odvisna od nabora snovi, ki so bile uporabljene pri pripravi modela.

Za določanje genotoksičnosti se lahko uporablja tudi navzkrižno branje, kjer rezultate študij z izvorno kemikalijo uporabimo za oceno strupenosti ciljne kemikalije, ki ji je podobna. Kemikalija, za katero imamo rezultate študij genotoksičnosti in kemikalija, ki jo ocenjujemo imata lahko skupno funkcionalno skupino, sestavljajo jih lahko enake sestavine oz. spadajo v skupne kemijske razrede, podobno število ogljikovih atomov, postopne spremembe znotraj skupine (npr. število ogljikovih atomov v verigi), podobne prekursorje in razgradne produkte v fizioloških procesih (npr. podobne kemikalije kot so kislina, ester, sol).

7.4 ZAKLJUČEK

Zaradi hudih posledic genotoksičnega delovanja, to je možnost nastanka raka, je določanje genotoksičnosti kemikalij eden od prednostnih elementov ocene nevarnosti.

Obvezno se izvaja za zdravila, prehranske dodatke, fitofarmacevtska sredstva, biocidne proizvode, plastične materiale namenjene stiku z živili, sestavine kozmetičnih sredstev, industrijske kemikalije idr. Predpisane so serije *in vitro* in *in vivo* testov, ki jih je potrebno interpretirati na podlagi teže dokazov in z ekspertno presojo. Razvrstitev kemikalije kot genotoksične (mutagene) bistveno vpliva na izvedbo ocene tveganja, vendar lahko že samo po sebi pomembno vpliva na omejitve ali prepoved uporabe ter način in stopnjo osveščanja uporabnikov.

7.5 VIRI

Ashby, J. Tennant, R., W. (1991). Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the U.S. NTP. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 257(3), str. 229-306.

Committee on mutagenicity of chemicals in food, consumer products and the environment (COM), Chair Parry, J., M. (2000). *Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity*.

Dostopno 5. 10. 2016 na:

https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/315800/in_vivo_testing_of_genotoxicity_of_chemicals.pdf

ECHA (2014a). *Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.7a: Endpoint specific guidance, 7.7. Mutagenicity and Carcinogenicity*. Dostopno 2. 11. 2016 na:

https://echa.europa.eu/documents/10162/13564/ir_csa_r7a_muta_draft_caracal_201406_en.pdf

ECHA (2014b). *Guidance on the Biocidal Products Regulation, Volume III : Human health Part A: Information Requirements*, Version 1.1 dostopno 28.10.2016 na:

https://echa.europa.eu/documents/10162/15623299/bpr_guidance_ir_part_vol_iii_part_a_en.pdf.

EFSA (2011). *Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment*. EFSA Journal, 9(9), str. 2379.

EFSA (2016). *Outcome of the pesticides peer review meeting on general recurring issues in mammalian toxicology*. EFSA supporting publications, 13 (8). Dostopno 28.10.2016 na:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/efs3.2016.13.issue-8/issuetoc>.

European Commission, Health and Consumer Protection Directorate (2003). *Guidance document on the assessment of the relevance of metabolites in groundwater of substances regulated under Council Directive 91/414/EEC*. Sanco/221/2000 –rev.10- final. Dostopno 28.10.2016 na:

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_ppp_app_proc_guide_fate_metabolites-groundwtr.pdf.

Fatur, T. (2005). *Genotoksično in kogenotoksično delovanje nizkih koncentracij kadmija in njegov vpliv na metabolno aktivacijo promutagenov pri celicah HepG2*. Doktorska dizertacija. Ljubljana, Medicinska fakulteta.

Hartmann, A., Agurell, E., Beevers, C., Brendler-Schwaab, S., Burlinson, B., Clay, P., Collins, A., Smith, A., Speit, G., Thybaud, V., Tice, R., R. (2003). *Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay: 4th International Comet Assay Workshop*. *Mutagenesis*, 18(1), str. 45-51.

International Conference on harmonisation of technical requirements for registration of Pharmaceuticals for human use (2011). *Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use, S2 (R1)*. Dostopno 28.10.2016 na: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S2_R1/Step4/S2R1_Step4.pdf.

OECD (1997). *Guideline for the testing of chemicals, Bacterial Reverse Mutation Test*. Nr. 471. Dostopno 5. 10. 2016 na: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9747101e.pdf?expires=1476868735&id=id&accname=guest&checksum=DFD1D449580147F3243848D343D900EE>.

OECD (2013). *Guideline for the testing of chemicals, Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays*. Št. 488. Dostopno 28. 10. 2016 na: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9713251e.pdf?expires=1478527137&id=id&accname=guest&checksum=5D3F1F9ECE47D46948B8A2E1D77289B3>.

OECD (2016a). *Guideline for the testing of chemicals, In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xprt genes*. Št. 476. Dostopno 5. 10. 2016 na: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9716181e.pdf?expires=1476868616&id=id&accname=guest&checksum=711A8B9343E147F3BC5A84CA432C634B>.

OECD (2016b). *OECD Guideline for testing of chemicals, In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene*. Št. 490. Dostopno 5. 10. 2016 na: <http://www.oecd-library.org/docserver/download/9716211e.pdf?expires=1478526649&id=id&accname=guest&checksum=3E42C9B4C6DC1020D4F8D8AB2C5509BD>.

OECD (2016c). *Guideline for the testing of chemicals, In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test*. Št. 473. Dostopno 5.20.2016 na: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9716391e.pdf?expires=1476868694&id=id&accname=guest&checksum=BED564E886228BEAE3F96FA46AA224EE>.

OECD (2016d). *Guideline for the testing of chemicals, In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test*. Št. 487. Dostopno 5.10.2016 na: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9716421e.pdf?expires=1478526801&id=id&accname=guest&checksum=22A5FD1AF546A4E71B9A6B8687F60EC6>.

OECD (2016e). *Guideline for the testing of chemicals, Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test*. Št. 474. Dostopno 5.10.2016 na <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9716401e.pdf?expires=1478526990&id=id&accname=guest&checksum=C9ADE15D767C89F1B77A73FB5E833B27>.

OECD (2016f). *Guideline for the testing of chemicals, In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay*. Št. 489. Dostopno 28.10.2016 na: <http://www.oecd->

ilibrary.org/docserver/download/9716431e.pdf?expires=1478527243&id=id&accname=guest&checksum=33B1A5FB5340C4908356907965C01396.

Palus J., Rydzynski, K., Dziubaltowska, E., Wyszynska, K., Natarajan, A.T., Nilsson, R. (2003). Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Research*, 540, str. 19-28.

Tannock, I.F. in Hill, R.P. (2005). *The Basic Science of Oncology*. New York: Pergamon Press USA.

Uredba št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in sveta z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, Uradni list Evropske unije, L353/1.

Uredba Komisije (EU) št. 283/2013 z dne 1. marca 2013 o določitvi zahtevanih podatkov o aktivnih snoveh v skladu z Uredbo (ES) št. 1107/2009 Evropskega parlamenta in Sveta o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet, Uradni list Evropske unije, L93/1.

8 KEMIČNI MOTILCI ENDOKRINEGA SISTEMA

Lucija Perharič

8.1 UVOD

Hormon je snov, ki izvira iz določenega tkiva in učinkuje na druga tkiva, do katerih prispe preko krvotoka. Hormonski (endokrini) sistem vključuje endokrine organe in tkiva, ki uravnavajo presnovo, rast, razvoj in delovanje tkiv ter organov in tako vpliva na praktično vsako celico organizma. Pri tem sodelujejo številne telesu lastne kemične snovi, medtem ko se fiziološko ravnovesje v večini primerov uravnava z negativnimi povratnimi zankami. Vežava na hormonske receptorje povzroči spremenjeno izražanje genov ali spremembe v beljakovinah, kar vpliva na delovanje celic. Če je hormonov preveč ali premalo, oziroma če ni dovolj receptorskih vezavnih mest, lahko pride do hormonskega neravnovesja in z njim povezanih motenj in bolezni (Howlett, 2005).

V začetku 90. let prejšnjega stoletja se je za hormonsko aktivne kemične snovi iz okolja, ki so jih povezovali s škodljivimi vplivi na spolni razvoj, začel uporabljati izraz hormonski motilec, ang. *endocrine disruptor* (Colborn in Corby, 1992).

Poleg izraza hormonski motilec uporabljamo tudi izraze kemični povzročitelj hormonskih motenj, kemični hormonski motilec in kemični motilec endokrinega sistema. Ti izrazi so preciznejši od izraza hormonski motilec, saj gre za kemične snovi, ki motijo delovanje endokrinega sistema. Ravnovesje endokrinega sistema lahko zmotijo tudi številni drugi dejavniki, kot so svetloba, hrup, čustva, bolezenska stanja itd. V nadaljevanju tega prispevka bomo uporabljali izraz kemični motilec endokrinega sistema (KMES), za katerega smo se odločili po temeljiti razpravi s soavtorji Slovenskega medicinskega slovarja, s člani Slovenskega toksikološkega društva in z vodilnimi slovenskimi endokrinologinjami.

Na NIJZ proučujemo KMES v okviru toksikovigilančnih aktivnosti že več kot 15 let, in sicer pripravljamo preglede strokovne literature, nudimo strokovno svetovanje Upravi za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (UVHVVR) in Uradu Republike Slovenije za kemikalije (URSK) ter ozaveščamo in izobražujemo strokovno in splošno javnost. Podrobnejša pojasnila o delovanju endokrinega sistema, značilnostih KMES vključno z načini delovanja, negotovostmi in kontroverznostmi, smo že večkrat predstavili (Perharič, 2003; Perharič in Družina 2004; Perharič 2007; Perharič in Družina, 2007; Perharič, 2011; Černe et al., 2015; Perharič, 2016), zato jih na tem mestu ne bomo ponovno navajali.

Interpretacije podatkov o KMES so pogosto poenostavljene, površne, necelovite in zavajajoče ne le v medijih in med splošno javnostjo, ampak tudi v določenih strokovnih krogih. Zato za boljše razumevanje navajamo ključne definicije.

8.1.1 Ključne definicije

Tekom let je nastalo več definicij KMES, vendar je v strokovnih krogih najširše sprejeta definicija Svetovne zdravstvene organizacije iz leta 2002 (Damstra et al., 2002):

Kemični motilec endokrinega sistema (KMES) je od zunaj vnesena kemična snov oziroma mešanica snovi, ki preko sprememb v delovanju hormonov povzroča neželene učinke na zdravje posameznega organizma ali njegovega potomstva oziroma (sub)populacije.

Morebitni kemični motilec endokrinega sistema (morebitni KMES) je od zunaj vnesena kemična snov oziroma mešanica snovi, ki preko sprememb v delovanju hormonov morebiti povzroča neželene učinke na zdravje posameznega organizma ali njegovega potomstva oziroma (sub)populacije.

Pomembno je, da razlikujemo med KMES in kemikalijami z endokrino aktivnostjo (KEA). Endokrino aktivna snov (ang. *endocrine active substance*) je katerakoli kemikalija, ki lahko z neposredno ali posredno interakcijo z endokrinim sistemom povzroči učinek na endokrini sistem, tarčne organe in tkiva. Vendar, če so biološke spremembe tovrstne interakcije v okviru homeostatskih oziroma detoksifikacijskih kapacitet organizma, ni nujno, da bodo posledice škodljive (EFSA, 2013).

8.1.2 Pravna ureditev področja KMES

Uredbi Evropske unije 1107/2009 in 528/2012 navajata, da osnovne snovi fitofarmaceutskih sredstev (FFS) in biocidov odobrene za uporabo v Evropski uniji (EU), same po sebi ne povzročajo hormonskih motenj. Ker kriteriji za identifikacijo KMES niso bili opredeljeni, je Evropska komisija (EK) leta 2010 pričela z aktivnostmi za opredelitev jasnih in skladnih kriterijev za identifikacijo KMES. Kriteriji naj bi bili generični, tako da bi ne bili uporabni samo za urejanje področja FFS in biocidov, ampak tudi za druge kemikalije. Pri pripravi predlogov znanstvenih kriterijev za identifikacijo KMES smo aktivno sodelovali tudi stokovnjaki z NIJZ. Zagovarjali smo možnost, v skladu s katero bi kriteriji za identifikacijo KMES temeljili na definiciji SZO ob upoštevanju moči kot elementa karakterizacije nevarnosti. Prednost bi dali nadzoru, ki temelji na oceni tveganja in ne zgolj na oceni nevarnosti. Proces karakterizacije tveganja je neločljivo povezan s karakterizacijo nevarnosti. Pri karakterizaciji nevarnosti igra eno od ključnih vlog moč kemikalije. Pri snovi z večjo močjo je potrebna manjša izpostavljenost in pri snovi z manjšo močjo večja izpostavljenost za enak izid. Za izvedbo učinkovitega nadzora smo predlagali določitev prirotetnih KMES na podlagi moči, stopnje škodljivega učinka, vrsti vodilnega učinka in nepovratnosti učinka (Perharič et al., 2016).

Junija 2016 je Evropska komisija objavila dolgo pričakovani predlog dopolnitve odgovarjajoče zakonodaje s kriteriji za identifikacijo KMES pri človeku in drugih organizmih (EC, 2016). Po večkratnih dopolnitvah in popravkih je bil predlog dopolnitve uredbe 528/2012 sprejet septembra 2017, uradno objavljen decembra 2017 in začne veljati junija 2018 (EC, 2017a). Identifikacija KMES v biocidnih pripravkih bo temeljila na definiciji SZO iz 2002, nadzor pa na identifikaciji nevarnosti, vendar z določenimi izjemami, ki v primeru biocidov dopuščajo nadzor na podlagi ocene tveganja.

Predlog dopolnitve uredbe 1107/2009 (EC, 2017b) je bil izglasovan decembra 2017 na sestanku Stalnega odbora za rastline, živali, hrano in krmo ter posredovan v obravnavo poslancem evropskega parlamenta. Identifikacija aktivnih snovi, varoval in sinergistov v FFS za umestitev med KMES bo prav tako kot za biocide temeljila na definiciji SZO iz 2002, nadzor pa na identifikaciji nevarnosti. Za umestitev med KMES relevantnih za zdravje ljudi mora obravnavana snov povzročiti škodljivi učinek pri intaktnem organizmu ali njegovemu potomstvu po endokrinem načinu delovanja. Če obstajajo podatki, da način (mehanizem) delovanja ni relevanten za človeka, se takšna snov ne identificira kot KMES. Predlog navaja tudi elemente, na katere naj se presoja opira:

1. Upošteva se vse dostopne relevantne znanstvene podatke pridobljene z *in vivo* študijami ali ustrezno validiranimi drugimi testi, ki lahko napovejo škodljive učinke pri ljudeh ali živalih, kot tudi *in vivo*, *in vitro* in *in silico* študije, iz katerih je možno sklepati na način delovanja.
2. Presoja podatkov poteka po principu teže dokazov (ang. *weight of evidence approach*) upoštevajoč:
 - a) pozitivne in negativne rezultate,
 - b) relevantnost za presojo škodljivega učinka in endokrinega načina delovanja,
 - c) kvaliteto in kozistentnost podatkov vključno s koherentnostjo rezultatov med podobnimi študijami in pri različnih živalskih vrstah,
 - d) pot izpostavljenosti, toksikokinetiko in metabolizem,
 - e) koncept mejnega odmerka v skladu z mednarodnimi smernicami.
3. Povezava med škodljivim učinkom in endokrinim načinom delovanja naj temelji na biološki verjetnosti v skladu s trenutnim znanjem in ob upoštevanju mednarodno dogovorjenih smernic.
4. Ne upoštevajo se škodljivi učinki, ki so nespecifične sekundarne posledice drugih toksičnih učinkov.

8.2 OCENA TVEGANJA

Ne glede na tendenco, da naj bi nadzor nad KMES potekal pretežno na podlagi identifikacije nevarnosti, se izpostavljenosti KMES ne bo možno izogniti, npr. v določenih biocidnih pripravkih v številnih predmetih splošne rabe, v medicinskih pripomočkih kot tudi ne obstojnim organskim onesnaževalom ali KMES, ki so naravno prisotni v okolju in hrani. Preden bodo v 2017 sprejeti kriteriji za identifikacijo KMES v konetkstu uredb EU 1107/2009 in 528/2012 zaživel v drugih pravnih dokumentih s področja kemijske varnosti, bo verjetno preteklo še precej časa. Zato se bomo v vsakdanjem življenju še naprej srečevali z obstoječimi KMES. Za na dokazih podprte ukrepe za varovanje zdravja bo tudi v prihodnosti potrebno ocenjevati tveganje za zdravje v zvezi z izpostavljenostjo KMES.

8.2.1 Ocena nevarnosti

8.2.1.1 Identifikacija nevarnosti

V kriterijih za identifikacijo KMES ima poleg škodljivega učinka ključno vlogo način oziroma mehanizem delovanja kemikalije, kar vnaša v regulatorno toksikologijo pomembno novost in precejšen izziv.

Razvoj metodologije omogoča vedno boljše razumevanje dogajanj na subcelični in molekularni ravni ter posledično temeljitejše razumevanje mehanizmov strupenosti. Za organizacijo, analizo in razumevanje mehanističnih informacij z različnih ravni biološke organiziranosti je prikladen koncept »poti škodljivega izida« (ang. *Adverse Outcome Pathway* ali AOP). Gre za logičen opis patofiziološkega dogajanja, ki od začetnega molekularnega dogodka (ang. *molecular initiating event*) preko serije ključnih dogodkov (ang. *key events*) na ravni celičnega organela, celice, tkiva, organa, organizma oziroma populacije privede do škodljivega izida (angl. *adverse outcome*) (OECD, 2017).

Pri konstrukciji AOP moramo odgovoriti na vprašanja v zvezi z:

1. biološko verjetnostjo
 - Ali obstaja biološko verjeten mehanistični (strukturni ali funkcionalni) odnos med sosednjima ključnima dogodkoma?
2. nujnostjo posameznega ključnega dogodka
 - Ali lahko kasnejše ključne dogodke oziroma škodljivi izid preprečimo, če preprečimo zgodnejši ključni dogodek?
3. empiričnimi dokazi o odnosu med sosednjima ključnima dogodkoma
 - Ali obstajajo empirični dokazi, ki vodijo od enega do drugega ključnega dogodka?
 - Ali pride do zgodnejšega dogodka pri nižjih odmerkih in prej kot do kasnejšega dogodka in ali je pojavnost zgodnejšega dogodka izrazitejša kot pojavnost kasnejših ključnih dogodkov?

Na podlagi teže dokazov lahko za vsak odnos med posameznima ključnima dogodkoma ustvarimo domnevno, kvalitativno ali kvantitavno AOP (OECD, 2017).

AOP shemo možnih poti, ki lahko vodijo do razvoja tumorjev endometrija, povzeto po Hevir Kene in Lanišnik Rižner (2014) in Pecquet et al. (v tisku), zaradi izpostavljenosti brominiranemu zaviralcu gorenja, tetrabromobisfenolu A, (TBBPA) prikazuje Slika 8.1. TBBPA se uporablja v epoksi smolah, tiskanih vezjih, ohišjih in drugih delih električnih in elektronskih naprav, tekstilu, gradbenih materialih itd. (ECB, 2006).

Potek procesa identifikacije KMES je opisan v osnutku smernic Evropske agencije za kemikalije in Evropske agencije za varnost hrane (ECHA/EFSA, 2017). Tako kot identifikacija drugih nevarnih toksikoloških lastnosti kemikalij poteka stopenjsko tudi identifikacija KMES. ECHA/EFSA smernice dajejo prednost konceptualnemu okviru za testiranje in oceno KMES, to je veljavnim testnim smernicam in standardiziranim metodam za ugotavljanje motenega poteka steroidogeneze in motenega delovanja estrogena, androgena in tiroidne osi (OECD, 2010; OECD, 2012). Glej Tabelo 8.1.

Smernice obravnavajo tudi druge vire podatkov in informacij, kot so objave v strokovni literaturi, izsledki na podlagi ne-testnih metod in epidemioloških študij, mednarodne in nacionalne baze posvečene KMES. Predlagan je naslednji pristop:

1. Zberejo naj se vsi dostopni podatki in informacije.
2. Oцени naj se kvaliteta, zanesljivost, ponovljivost in konzistentnost podatkov.
3. Strokovno naj se presodi škodljivost in način delovanja snovi upoštevajoč teže dokazov.
4. Oцени naj se ali je motnja endokrinega ravnovesja posledica endokrinega načina delovanja ali gre za nespecifično sekundarno posledico drugih toksičnih učinkov.

5. Ovrednoti naj se relevantnost za človeka.
6. Naredi naj se končna presoja, in če je možno, naj se nakaže škodljivost učinka na zdravje ljudi in identificira vpleteno hormonsko os, npr. estrogeno, androgeno, tiroidno ali vpliv na steroidogenezo – EATS (ECHA/EFSA, 2017).

Slika 8.1: Shema možnih poti do škodljivega izida (angl. *Adverse outcome pathway*) za zaviralec gorenja tetrabromobisfenol A – TBBPA (povzeto po Hevir Kene in Lanišnik Rižner, 2014; Pecquet et al., v tisku)

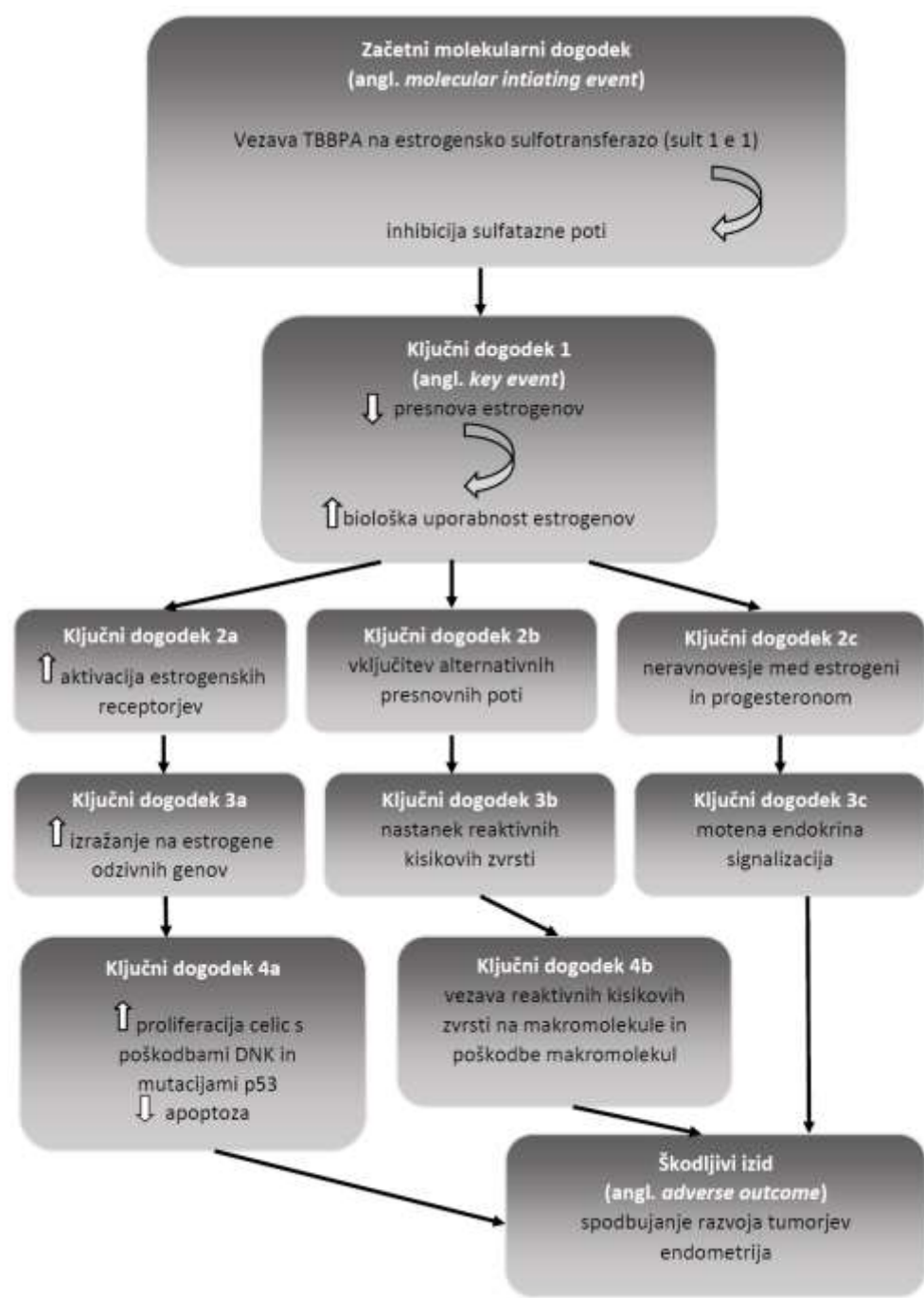


Tabela 8.1: OECD testne smernice in standardizirane metode za določanje kemičnih motilcev endokrinega sistema (OECD, 2010; OECD, 2012)

STOPNJA	VRSTA PODATKOV	TEST
1	Obstoječi podatki in informacije na podlagi ne-testnih metod	Fizikalno kemijske lastnosti
		Vsi dostopni podatki na podlagi standardiziranih in nestandardiziranih metod
		Navzkrižno branje, kategorije kemikalij, QSAR* in druge <i>in silico</i> napovedne metode, napovedne metode na podlagi ADME**
2	<i>In vitro</i> metode za določitev izbranih endokrinih mehanizmov in poti	Vezavna afiniteta za estrogenske ali androgenske receptorje (OECD TG# 493)
		Transaktivacija estrogenskih receptorjev (OECD TG 455 in TG 457)
		Transaktivacija androgenskih receptorjev (OECD TG 458)
		Steroidogeneza <i>in vitro</i> (OECD TG 456)
		Test proliferacije celic MCF-7 [§] (Ant/agonisti estrogenskih receptorjev)
Drugi primerni testi		
3	<i>In vivo</i> metode za določitev izbranih endokrinih mehanizmov in poti	Uterotrofični test (OECD TG 440)
		Hershbergerjev test (OECD TG 441)
4	<i>In vivo</i> metode za pridobitev izčrpnejših podatkov o škodljivih učinkih za ustrezne endokrine izide	28-dnevna študija (OECD TG 407)
		90-dnevna študija (OECD TG 408)
		1-generacijska študija strupenosti za razmnoževanje (OECD TG 415)
		Test pubertete pri samcih (GD 150 ^{&})
		Test pubertete pri samicah (GD 150 ^{&})
		Presejalni endokrini test pri intaktnem odraslem samcu (GD 150 ^{&})
		Prenatalna študija razvojne strupenosti (OECD TG 414)
		Študije kronične strupenosti in rakotvornosti (OECD TG 451-3)
		Presejalni test razmnoževanja (OECD TG 421)
		Kombinirani 28-dnevni presejalni test razmnoževanja (OECD TG 422)
Razvojna nevrotoksičnost (OECD TG 426)		
5	<i>In vivo</i> metode za pridobitev izčrpnejših podatkov o škodljivih učinkih za ustrezne endokrine izide v obsežnejšem delu življenjskega kroga organizma	Podaljšana 1-generacijska študija strupenosti za razmnoževanje (OECD TG 443)
		2-generacijska študija strupenosti za razmnoževanje (OECD TG 416)

Legenda: *QSAR – kvantitativni odnos med strukturo in aktivnostjo; **ADME – absorpcija, distribucija, metabolizem, ekskrecija; #TG – testna smernica; §MCF-7 – celična kultura humanega adenokarcinoma dojke; &GD 150 – (OECD, 2012)

8.2.1.2 Karakterizacija nevarnosti

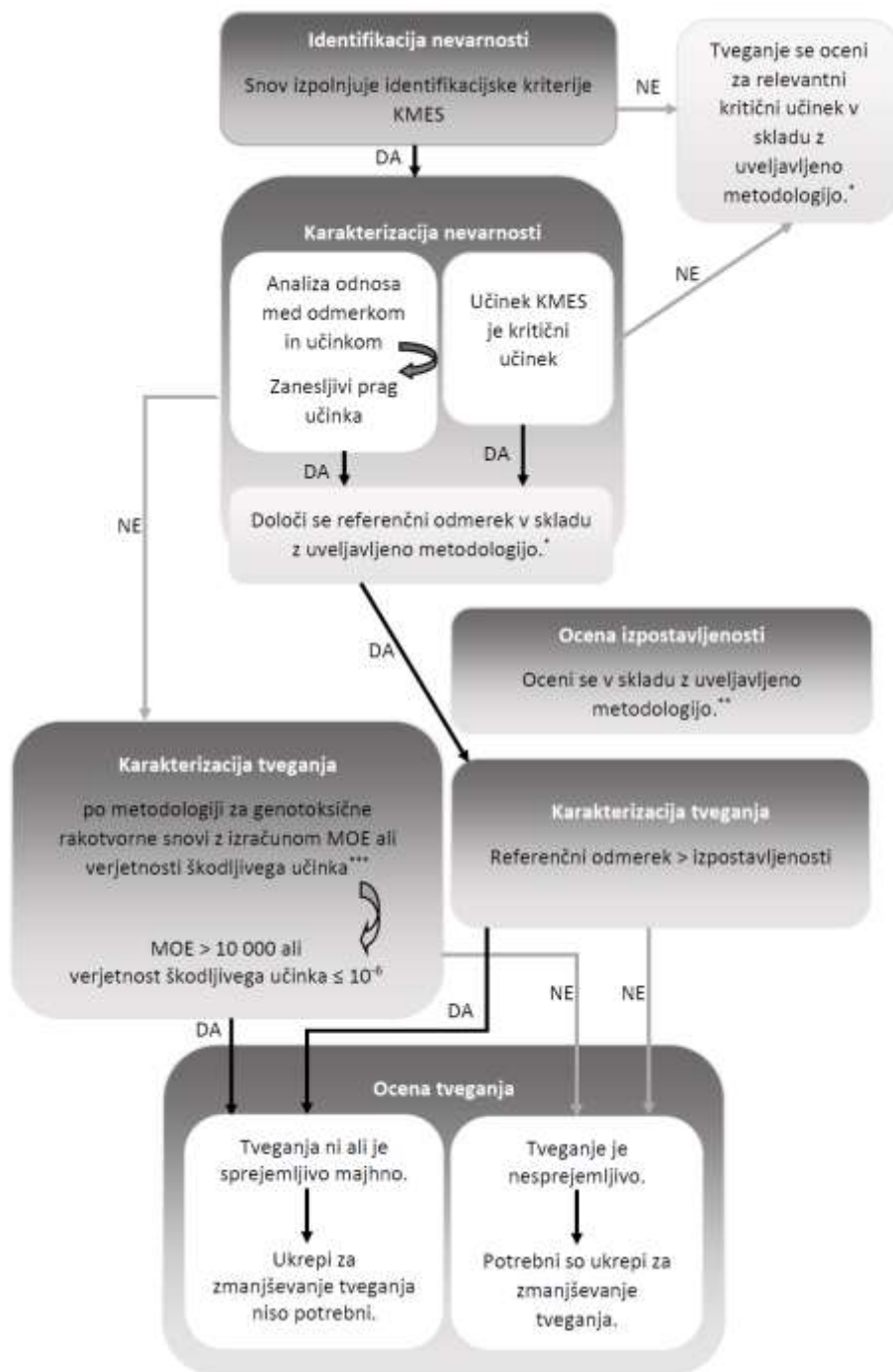
Karakterizacija nevarnosti KMES poteka na enak način kot za druge kemikalije (Glej poglavje 2.2.2.2).

8.2.2 Ocena izpostavljenosti

Izpostavljenost KMES ocenimo tako kot pri izpostavljenosti drugim kemikalijam (Glej poglavje 2.2.3).

8.2.3 Karakterizacija tveganja

Slika 6: Shema ocene tveganja kemičnih motilcev endokrinega sistema



Legenda: * Glej 2.2, ** Glej 2.2.3, *** Glej 2.2.5.2

Upoštevač v EU sprejete kriterije (EC, 2017a in 2017b) za identifikacijo KMES ter strukturirani in znanstveno utemeljeni pristop k oceni tveganja hormonsko aktivnih snovi (Bars et al., 2012), predlagamo, da se tveganje okarakterizira glede na to, ali je učinek KMES kritični učinek in ali je možno zanesljivo določiti prag učinka (Slika 8.2).

1. Če učinek KMES ni kritični učinek, okarakteriziramo tveganje po principu za relevantni kritični učinek.
2. Če je možno zanesljivo določiti prag učinka KMES, ki je hkrati kritični učinek, okarakteriziramo tveganje po principu opisanem v 2.2.5.1.
3. Če praga učinka ne moremo zanesljivo določiti, okarakteriziramo tveganje po principu za genotoksične rakotvorne kemikalije, kot je opisano v 2.2.5.2.

8.3 ZAKLJUČEK

V skladu z definicijo SZO je za umestitev eksogene kemikalije oziroma mešanice kemikalij med KMES potrebna vzročna povezava med izpostavljenostjo intaktnega organizma kemikaliji ali mešanici in škodljivim učinkom, ki nastane po hormonskem načinu delovanja. Pomembno je, da se pri oblikovanju zaključkov upošteva teža dokazov na podlagi sistematične presoje zanesljivosti raziskav, metodološkega pristopa, kvalitete podatkov, konsistentnosti, specifičnosti in ponovljivosti rezultatov, biološke verjetnosti ter ovrednotenja podatkov v luči postavljene hipoteze.

Čeprav določitev kriterijev za identifikacijo KMES predstavlja pomemben mejnik, se je potrebno zavedati, da se trenutne smernice za identifikacijo (ECHA/EFSA, 2017) nanašajo le na ugotavljanje škodljivih učinkov na EATS, ne pa tudi na preostale endokrine osi. Poleg tega se z razvojem razumevanja receptorskega signaliziranja in molekularne biologije brišejo meje med endokrinim, živčnim in imunskim sistemom, kar dodatno zapleta interpretacijo podatkov.

Predlagamo, da se ocena tveganja KMES izvaja, odvisno od posameznega primera, bodisi po klasični metodologiji, bodisi po metodologiji uveljavljeni za genotoksične rakotvorne snovi, ki se jim v vsakdanjem življenju ne moremo izogniti.

Menimo, da je ključna negotovost povezana s KMES izpostavljenost v kritičnih obdobjih razvoja, ko niti homeostatske zanke niti detoksifikacijski sistem še niso popolnoma razviti. Poleg tega so pomanjkljive tudi testne metode za ugotavljanje vplivov sprememb *in utero* na kasnejša življenjska obdobja. Zato pričakujemo, da se bo težišče raziskav v zvezi s KMES premaknilo v smeri izpostavljenosti in posledic v razvojnih obdobjih, *in utero*, v otroštvu in adolescenci.

Toksikologija postaja vse bolj mehanistično naravnana. Zato se vse več pozornosti posveča temu, kako za napoved škodljivega izida uporabiti podatke o zgodnjih dogodkih. Nadaljnja spoznanja v tej smeri bodo pripomogla k izbolšanju presoj varnosti KMES in kemikalij na sploh. Področje KMES pa ostaja pomemben raziskovalni, javnozdravstveni in nadzorni izziv.

8.4 VIRI

Bars, R., Fegert, I., Gross, M., Lewis, D., Wetje, L., Weyers, A., Wheeler J.R. in Galy-Burgos, M. (2012). Risk assessment of endocrine active chemicals: Identifying chemicals of regulatory concern. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 64, str. 143-154.

Boobis, A.R., Datson, G.P., Preston, R.J. in Olin, S. S. (2009). Application of key events analysis to chemical carcinogens and noncarcinogens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, str. 690–707.

Colborn, T. in Corby, C. (1992). Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection. *Advances in modern environmental toxicology*. Volume XXI. New Jersey: Princeton Scientific Publishing Co. Inc., str. 203-230.

Černe, K. Kužner, J., Perharič, L., Sollner Dolenc, M. in Tišler T., ur. (2015). *Kemijski povzročitelji hormonskih motenj od molekule do človeka*. [na spletu] Ljubljana: Slovensko toskološko društvo, str. 13-76. Dostopno 20. 5. 2015 na: <http://www.tox.si/>.

Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R. in Van Der Kraak, G., ur. (2002). *Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors*. Geneva: World Health Organisation, str. 1-180.

EC. (2016). *Endocrine disruptors*. [na spletu] Brussels: European Commission. Dostopno 16. 6. 2016 na: https://ec.europa.eu/health/endocrine_disruptors/next_steps_en.

EC. (2017a). Commission delegated regulation (EU) 2017/2100 of 4. 9. 2017 setting out scientific criteria for the determination of endocrine-disrupting properties pursuant to Regulation (EU) No 528/2012. [na spletu] *Official Journal of the European Union*. L301/1. [na spletu] Dostopno 7. 12. 2017 na: http://eur-lex.europa.eu/eli/reg_del/2017/2100/oj.

EC. (2017b). *Commission Regulation (EU) .../... of XXX amending Annex II to Regulation (EC) No 1107/2009 by setting out scientific criteria for the determination of endocrine- disrupting properties*. [na spletu] Brussels: Sante 11992/2017. Dostopno 7. 12. 2017 na: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/endocrine_disruptors/docs/201712_ppp_draft_en.pdf.

ECB (European Chemicals Bureau). (2006). *European Union Risk Assessment Report. 2,2',6,6'-tetrabromo-4,4'-isopropylidenediphenol (tetrabromobisphenol-A or TBBP-A) Part II – human health*. [na spletu] European Commission, str. 1-170. Dostopno 16. 5. 2012 na: <https://echa.europa.eu/documents/10162/32b000fe-b4fe-4828-b3d3-93c24c1cdd51>.

ECHA (European Chemicals Agency) in EFSA. (2017). *Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No. 528/2012 and (EC) No 1107/2009. Draft for public consultation*, str. 1-139. [na spletu] Dostopno 20. 12. 2017 na: https://comments.echa.europa.eu/comments/cms/ED_Guidance%20for%20public%20consultation_20171207.pdf.

EFSA Scientific Committee. (2013). Scientific opinion on the hazard assessment of endocrine disruptors and appropriateness of existing test methods for assessing effects mediated by these substances on human health and the environment. [na spletu] *EFSA Journal*, 11: 3132. Dostopno 14. 2. 2014 na: www.efsa.europa.eu/efsajournal.

Hevir Kene, N. in Lanišnik Rižner, T. (2014). Dvojna vloga estrogenov pri razvoju raka endometrija. *Zdravniški Vestnik* 83, str. 529-537.

Howlett TA. (2005). Endocrine Disease. V: Kumar P, Clark M, ur. *Clinical Medicine*. 6. Izdaja. London: Elsevier, str: 1035–1100.

OECD. (2010). *Guidance Document on the Assessment of Chemicals for Endocrine Disruption, Version 9 (with changes to V8 accepted, 17 November 2010)* [na spletu] Dostopno 22. 05. 2016 na: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/46436593.pdf>.

OECD (2012). *Guidance document on standardised test guidelance for evaluating chemicals for endocrine disruption*. [na spletu] Dostopno 22. 5. 2016: <http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono%282012%2922&doclanguage=en>.

OECD (2017). *Guidance Document for the Use of Adverse Outcome Pathways in Developing Integrated approaches to Testing and Assessment (IATA). Series on Testing and assessment No. 260*, Paris: OECD. str. 9-31.

Pecquet, A., Martinez, J., Vincent, M., Erraguntla, N. in Dourson M. Derivation of a No-Significant-Risk-Level (NSRL) for Tetrabromobisphenol A (TBBPA) Based on a Threshold Non- Mutagenic Cancer Mode of Action. *Journal of Applied Toxicology*, (v tisku).

Perharič, L. (2003). Povzročitelji endokrinih motenj. V: Maček, J. ur. *Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče, 4.-6. marec 2003*. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, str. 8-23.

Perharič, L. in Družina, B. (2004). Endocrine disrupting chemicals. V: Krnel, D. in Glažar, S. ur. *7th ECRICE, European Conference on Research in Chemical Education [and] 3rd ECCE, European Conference on Chemical Education, Ljubljana, 24th August - 28th August 2004. Proceedings*. [na spletu] Ljubljana: Faculty of Education, str. 63-69. Dostopno 10. 3. 2006 na: http://www.jce.divched.org/Journal/Issues/2005/Aug/Proceedings_7th_ECRICE.pdf.

Perharič, L. (2007). Motnje hormonskega ravnovesja in kemične snovi v predmetih splošne rabe. V: Zaletel-Kragelj, L., ur. *Cvahtetovi dnevi javnega zdravja. Zbornik prispevkov*. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Katedra za javno zdravje, str. 81-90.

Perharič, L. in Družina, B. (2007). PCB-ji kot povzročitelji endokrinih motenj. *Kemija v šoli*;19 (2), str. 29-35.

Perharič, L. (2011). Prepoved uporabe bisfenola A pri izdelavi stekleničk za dojenčke. [na spletu] *Enboz*, 1(2), str. 11. Dostopno 25. 3. 2011 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_feb_2011.pdf.

Perharič, L. (2016). Hormonski motilci. V: Primic Žakelj, M., Belović, B., Čemažar, M., Perharič, L., Zadnik, V. in Zdešar, A. ur. *Kemikalije v okoju in rak. Zbornik XXIV. Seminarja »In memoriam dr. Dušana Reje«*. [na spletu] Ljubljana: Zveza slovenskih društev za boj proti raku, str. 27-39. Dostopno 7. 6. 2017 na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/zbornik_reja_2016.pdf.

Perharič, L., Fatur, T. in Drogenik, J. (2016). European Union's strategy on endocrine disrupting chemicals and the current position of Slovenia. [na spletu] *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 67(2), str. 99-104. Dostopno 3. 6. 2016 na: <https://hrcak.srce.hr/159880>.

Seed, J., Carney, E.W, Corley, R.A., Crofton, K.M., DeSesso, J.M., Foster, P.M.D., Kavlock, R., Kimmel, G., Kimmel, G., Klaunig, J., Meek, M.E., Preston, R.J., Slikker Jr., W., Tabacova, S., Williams, G.M., Wiltse, J., Zoeller, R.T., Fenner-Crisp, P. in Patton D.E. (2005). Overview: Using Mode of Action and Life Stage Information to Evaluate the Human Relevance of Animal Toxicity Data. *Critical. Reviews in Toxicology*, 35(8-9), str. 663–672.

WHO/IPCS. (2009). *Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food, EHC 240, Annex I, Glossary of terms*. [na spletu] Geneva: WHO, str. A3-A42. Dostopno 14. 12. 2012 na: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/>.

9 NANOMATERIALI – OCENA TVEGANJA PROIZVEDENIH NANOMATERILOV, KI SE UPORABLJAJO NA PODROČJU ŽIVIL

Viviana Golja

9.1 UVOD

Proizvedeni nanomateriali (PNM) se uporabljajo v celotni prehranski verigi kot aditivi za živila, encimi, arome, materiali v stiku z živilo, nova živila, aditivi za krmo in pesticidi. Lahko tudi nastanejo nenamerno v postopku izdelave. Nanomaterial pomeni po definiciji navedeni v Priporočilu Komisije o opredelitvi nanomateriala (European Commission, 2011) »naravno, mešano ali umetno snov, ki vsebuje delce v nevezanem stanju ali v obliki agregatov ali aglomeratov in pri kateri je ena ali več zunanjih dimenzij – za 50 % ali več delcev pri razporeditvi snovi po velikosti glede na število – v razponu velikosti od 1 do 100 nm«. Živila in krma lahko že naravno vsebujejo strukture v nanovelikosti (npr. liposome, micle ali kristale). Te naravne komponente se obravnavajo na poseben način le v primeru, ko so proizvedene z namenom, da imajo nano lastnosti ali pa so uporabljene za enkapsuliranje bioaktivnih spojin. Nanomateriali imajo lahko drugačne lastnosti, kot kemijsko enake snovi večjih dimenzij oziroma ionske ali molekularne oblike enake snovi (ki so manjše od nano velikosti) in imajo zato lahko drugačne biološke učinke.

9.2 OCENA TVEGANJA

Pristop k oceni tveganja PNM je podrobno opisan v dokumentu EFSA (EFSA, 2011). Pri oceni tveganja proizvedenih nanomaterialov se upoštevajo kemijska sestava materiala, fizikalno-kemijske lastnosti, interakcije PNM s tkivi in potencialna izpostavljenost. Fizikalno kemijska karakterizacija je potrebna najprej zato, da ugotovimo ali je PNM sploh prisoten, ter zato, ker kemijska sestava PNM in fizikalno-kemijske lastnosti (velikost, oblika, topnost, površinski naboj, površinska reaktivnost itn.) lahko pomembno vplivajo na spremembo absorpcije, distribucije, metabolizma in izločanja v primerjavi z materialom enake kemijske sestave, ki ni nano velikosti (Nel et al., 2006; SCENIHR, 2007; Simon in Joner, 2008; Tiede et al., 2008; Nel et al., 2009; Nel et al., 2009; EFSA, 2009a, SCENIHR, 2010; JRC, 2010). Za snovi v ne-nano obliki, ki so že dovoljene za uporabo pri živilih, se je potrebno pri izvedbi toksikoloških študij osredotočiti na ugotovljene razlike med PNM in dovoljeno ne-nano obliko. Če snov v nano obliki še ni dovoljena v ne-nano obliki za uporabo pri živilih, morajo podatki o snovi vključevati študije predvidene za ne-nano obliko, podatke o fizikalno-kemijski karakterizaciji nano oblike ter specifične študije predvidene za nano obliko.

Za PNM lahko pričakujemo potencialno strupenost, če so prisotni:

- visoka reaktivnost (npr. katalitična, kemijska, biološka),
- kompleksna morfologija (npr. toge, dolge cevke ali vlakna, veliko razmerje med dolžino in širino, fulereni, kristalna struktura, poroznost),
- interakcije z biomolekulami (DNK, receptorji, učinek »trojanskega konja«),

- kompleksne transformacije (zaradi staranja, spremembe površinskih lastnosti, poroznosti) ali metaboliti,
- če so PNM, namenjeni za uporabo kot antimikrobna sredstva (npr. zaradi možnih neželenih učinkov na črevesno floro).

Proizvedenim nanomaterialom smo potencialno zelo izpostavljeni če:

- se proizvajajo v velikih količinah,
- je prisotna velika mobilnost nanooblike v organizmih (npr. transport v makrofagih, transport skozi celične membrane...),
- imajo ciljano ali kontrolirano sproščanje,
- so obstojni/stabilni (npr. v vodi, maščobah, telesnih tekočinah, niso topni/se ne razgradijo),
- je prisotna bioakumulacija.

Če snov izgubi nano lastnosti, se tveganje lahko oceni po principih, ki veljajo za konvencionalne snovi. Do izgube nano lastnosti prihaja, če se pokaže:

- povečana hitrost raztapljanja (nastanek molekularne ali ionske oblike v vodi, živilu/krmi ali v telesnih tekočinah),
- povečana hitrost razgradnje (biološke ali fotokatalitične) in nastanek razgradnih produktov v ne-nano obliki,
- da so prisotni vezani agregati, je prisotna močna vezava v matriksih (pomembna je stabilnost matriksa, tip vezi, obnašanje na koncu življenjske dobe).

9.2.1 Identiteta snovi

Temeljita karakterizacija PNM je zelo pomembna, ker različni fizikalno-kemijski parametri lahko vplivajo na potencialne biološke učinke PNM. Fizikalno-kemijski parametri se v različnih okoljih lahko tudi spreminjajo, zato je pomembno vedeti obliko PNM za katero je narejena karakterizacija.

PNM so lahko v naslednjih oblikah:

- PNM, kot je bil izdelan (v neokrnjenem stanju),
- PNM dostavljen za uporabo/v stiku z živilom/krmo,
- PNM, kot je prisoten v živilu/krmi (*in situ*),
- PNM, kot je uporabljen v študijah toksičnosti,
- PNM, kot je prisoten v bioloških tekočinah in tkivih.

Za zagotavljanje relevantnih toksikoloških podatkov sta najpomembnejši karakterizacija PNM, kot je prisoten v živilu (karakterizacija *in situ*), ter karakterizacija PNM uporabljenega v študijah toksičnosti. Metode identifikacije in karakterizacije PNM v kompleksnih matriksih so še v razvoju. Uporabljajo se zelo kompleksni postopki, kombinacije različnih analitskih metod, ki zahtevajo sofisticirano opremo. Postopki so zahtevni, ker gre za nizke koncentracije in že sama karakterizacija lahko vpliva na strukturo in lastnosti PNM.

V Tabeli 9.1 so predstavljeni parametri karakterizacije in identifikacije PNM. Vsebina tabele je povzeta po EFSA dokumentu (2).

Tabela 9.1: Parametri karakterizacije in identifikacije PNM

PARAMETER	ZAHTEVE	OPIS
Kemijska sestava/identiteta	Esencialna	Informacija o kemijski sestavi PNM vključno s čistočo, naravo nečistoč, prevlekami ali površinskimi deli, materiali za enkapsulacijo, procesnimi kemikalijami, disperganti in/ali drugimi pomožnimi sestavinami npr. stabilizatorji.
Velikost delca (primarnega/sekundarnega)	Esencialna (z dvema metodama, ena med njimi je elektronska mikroskopija)	Informacija o velikosti primarnega delca, razpon velikosti in številna porazdelitev velikosti (z oznako variacij med serijami, če so prisotne). Enake informacije so potrebne za sekundarne delce (npr. aglomerate in agregate, če so prisotni).
Fizikalna oblika in morfologija	Esencialna	Informacija o fizikalni obliki in kristalni fazi/obliki. Informacija mora pokazati ali je PNM prisoten v obliki delca, cevke, palčke, v kristalni ali amorfni obliki in ali je v obliki prostih delcev ali aglomeratov/agregatov, ter ali je pripravek v obliki prahu, raztopine, suspenzije ali disperzije.
Koncentracija delcev in masna koncentracija	Esencialna za disperzije in suhe prahove	Informacija o koncentraciji v smislu števila delcev in mase delcev na volumen pri disperziji ter na maso pri suhem prahu.
Specifična površina	Esencialna za suhe prahove	Informacija o specifični površini PNM.
Površinska kemija	Esencialna (za PNM, ki imajo modificirano površino)	Informacija o površini PNM - vključno z kakršnimi koli kemijskimi/biokemijskimi spremembami ki lahko spremenijo površinsko reaktivnost ali dodajo novo funkcionalnost.
Površinski naboj	Osnovna	Informacija o zeta potencialu PNM.
Redoks potencial	Esencialna za anorganske PNM	Informacija o redoks potencialu. Pogoji pri katerih je bil izmerjen redoks potencial morajo biti dokumentirani.
Topnost in porazdelitvene lastnosti ^a	Esencialna	Informacija o topnosti PNM v relevantnih topilih in njihova porazdelitev med vodno in organsko fazo (npr. kot $\log K_{ow}$ če je primerno)
pH	Esencialna za tekoče disperzije	pH vodne suspenzije.
Viskoznost	Esencialna za tekoče disperzije	Informacija o viskoznosti tekočih disperzij.
Gostota in gostota tečenja	Esencialna za materiale v obliki granul	Informacija o gostoti in gostoti tečenja.
Zaprašenosť	Esencialna za suhe prahove	Informacija o zaprašenosťi proizvodov v obliki prahu – kot so začimbe, praški za smetane in juhe.
Kemijska reaktivnost/katalitična aktivnost ^b	Esencialna	Informacija o relevantni kemijski reaktivnosti ali katalitski aktivnosti PNM in površinskih prevlek PNM.
Fotokatalitična aktivnost	Esencialna za fotokatalitične materiale	Informacija o fotokatalitični aktivnosti relevantnih materialov, ki se uporabljajo za embalažo za živila, premaze in tiskarska črnila in notranje reakcije.

Legenda

^a Disperzija, raztopina, raztopljen: Netopen PNM, ki se vnaša v tekoči obliki je disperzija, v kateri sta istočasno prisotni PNM in tekočina. V pravi raztopini je PNM raztopljen (in tako ni več prisoten, glej OECD ENV/JM/MONO(2010)25).

^b Če ima PNM katalitične lastnosti, lahko katalizira redoks ali druge reakcije, ki jih lahko podaljša in zato lahko povzroča dosti daljši biološki odziv tudi z majhno količino katalitično aktivnih PNM. Tako v primerjavi s konvencionalnimi biokemijskimi reakcijami, ki porabljajo substrat, PNM reakcijski centri lahko podaljšajo katalitične reakcije.

9.2.2 Identifikacija in karakterizacija nevarnosti

Za identifikacijo in karakterizacijo nevarnosti PNM veljajo v principu enake EFSA smernice, kot veljajo za ne-nano snovi na področju živil/kreme. Vendar pa je pri oceni in karakterizaciji nevarnosti potrebno upoštevati dodatne elemente, ki izhajajo iz specifičnih lastnosti PNM. Strategija izvedb toksikoloških študij je odvisna od dejanske prisotnosti PNM v živilih/krmi in, če je primerno, tudi od informacij, ki so na voljo o ne-nano snovi iste snovi. Podrobno je prikazana v dokumentu EFSA (EFSA, 2011).

Možne situacije pri identifikaciji in karakterizaciji nevarnosti PNM lahko ponazorimo s šestimi primeri:

1. Primer

PNM niso obstojni v formulacijah, ki se tržijo (se povsem razgradijo ali raztopijo). V tem primeru se uporabi pristop opisan v EFSA smernicah za ne-nano snovi.

2. Primer

Ni migracije iz materialov v stiku z žvili (ni izpostavljenosti). Če so na voljo prepričljivi dokazi, z uporabo ustreznih analitskih metod, da ni migracije, je ocena tveganja lahko osnovana na tej informaciji (izvedejo se le 3 testi mutagenosti *in vitro*).

3. Primer

PNM se povsem transformira v ne-nano obliko pred zaužitjem (v žvilu so prisotni samo razgradni produkti), uporabi se pristop opisan v EFSA smernicah za ne-nano snovi.

4. Primer

Prihaja do transformacije PNM med prebavo. Če so na voljo prepričljivi dokazi, z uporabo ustreznih analitskih metod, da se PNM med prebavo povsem transformira (raztopi/razgradi) v ne-nano obliko v prebavnem traktu, identifikacija in karakterizacija nevarnosti se lahko zanaša na podatke o snovi v ne-nano obliki (če so na voljo), potrebno pa je izključiti možnost absorpcije PNM preden je prišlo do transformacije. Če obstaja možnost absorpcije pred transformacijo je potrebno izvesti naslednje študije: genotoksičnost *in vitro*, študije lokalnih učinkov *in vivo*, in/ali druge ustrezne študije *in vivo*. Če podatki o ne-nano obliki niso na voljo, je potrebno izvesti študije opisane v EFSA smernicah za ne-nano snovi.

5. Primer

PNM so obstojni delno ali v celoti v živilih in gastrointestinalnem traktu in so na voljo informacije o ne-nano obliki. Potrebno je primerjati informacije o toksikokinetiki, o toksičnosti in genotoksičnosti ne-nano oblike z informacijami o toksikokinetiki, informacijami iz 90 dnevne študije oralne toksičnosti pri glodavcih in o genotoksičnosti nano oblike (PNM). Ugotovijo se glavne razlike med nano in ne-nano obliko snovi. Če opažene razlike pokažejo povečano nevarnost, kot za ne-nano obliko, so potrebne še dodatne študije.

6. Primer

PNM so delno ali v celoti obstojni v živilih in gastrointestinalnem traktu in ni na voljo informacij o ne-nano obliki. V tem primeru je potrebno slediti EFSA smernicam za ne-nano snovi, z upoštevanjem posebne strategije izvedb toksikoloških študij (glej dokument EFSA 2011).

Trenutno veljavne EFSA smernice za materiale v stiku z žvili dovoljujejo omejen set toksikoloških študij odvisno od vrednosti migracije. Vendar se pa zaradi omejenega znanja o obnašanju in učinkih PNM uporaba omejenega seta študij v tem trenutku ne priporoča. Če je ugotovljena migracija PNM je potrebno pridobiti podatke iz jedrnega nabora (glej poglavje o materialih v stiku z žvili).

Za oceno nevarnosti PNM za zdaj še ni na voljo validiranih *in vitro* metod. Za dokaz raztapljanja/razgradnje PNM se lahko uporabi *in vitro* postopek razklopa, ki simulira pogoje prebave v človeškem prebavnem traktu. Na voljo je več modelov takega razklopa, pravilnost modelov in razlike med različnimi modeli še niso dovolj raziskani. Za študije genotoksičnosti PNM, ki se dodajo v živila ali ki migrirajo iz materialov v živila je potrebno izvesti test genske mutacije *in vitro* v celicah sesalcev (po OECD smernici 476, OECD, 1997a), ter *in vitro* mikronukleusni test (po OECD smernici 487, OECD, 2010). Če en izmed testov pokaže pozitivne rezultate, je potrebno izvesti test *in vivo*. Enako velja, če sta oba testa negativna, obstajajo pa indikacije, da nastajajo reaktivni radikali. Na voljo so še drugi *in vitro* testi za določitev vpliva PNM na integriteto gastrointestinalne bariere, vnetnih odzivov, imunskih celic in imunskih odzivov. V primeru pozitivnih rezultatov *in vitro* testov je potrebno izvesti ustrezne *in vivo* študije ali pa znanstveno utemeljiti zakaj se študije ne bodo izvedle.

S pomočjo študij *in vivo* se identificirajo škodljivi učinki in določijo razmerja med odmerkom in učinkom. *In vivo* študije so bistvene tudi za ugotavljanje toksikokinetičnih profilov PNM. Izvedba toksikokinetičnih študij je opisana v OECD smernici 417 (OECD, 2010). Šteje se, da so porazdelitev v tkivih, akumulacija/obstojnost in eliminacija iz tkiv bolj pomembni od koncentracije PNM v krvi. Posebno pozornost pri študijah je treba posvetiti ciljnim organom (npr. jetrom, vranici...), za katere se je pokazalo, da imajo povečano kapaciteto prevzema delcev. Za oceno varnosti PNM so, tako kot za snovi večjih dimenzij, zelo pomembne tudi toksikokinetične študije. Pri vseh toksikoloških študijah je treba posebno pozornost posvetiti karakterizaciji PNM, zato da bodo znane lastnosti PNM uporabljenih za administracijo, ter lastnosti PNM prisotnih v krvi, tkivih in izločkih. Sprememba površine ima velik vpliv na toksikokinetiko, pomembna je dinamika vezave proteinov in drugih biomolekul na delce.

Za PNM, ki se zaužijejo, je treba narediti vsaj 90 dnevno oralno študijo na glodavcih (OECD smernica 408, (OECD, 1998)), ki je nekoliko modificirana (dodatni parametri, kot je opisano v OECD smernici 407 (OECD, 2008)). Dodatni parametri so povezani z endokrinimi izidi. Rezultati te študije se potem lahko uporabijo za določitev referenčnih odmerkov BMDL ali NOAEL.

S primerjanjem rezultatov študij ne-nano oblike snovi in nano oblike lahko ugotovimo ali je potrebno izvesti kronične študije PNM. Če se pokažejo strupeni učinki in/ali akumulacija proizvedenih nanomaterialov, razpadnih produktov ali metabolitov v organih in tkivih, je potrebno izvesti kronične študije, ki razkrijejo strupene učinke ali zapozneno strupenost pri kronični izpostavljenosti, ter se določi BMDL ali NOAEL. Ponavljajoča se 90 dnevna oralna študija ponuja samo omejene informacije o reproduktivni toksičnosti in nobenih informacij o razvojni toksičnosti. Izvedba reproduktivnih in razvojnih študij je opisana v OECD smernicah 414, 415 in 416 (OECD, 2001a, OECD, 1983, OECD, 2001). Izvedba študije kronične strupenosti in rakotvornosti je opisana v OECD smernici 453 (OECD, 2009).

In vivo genotoksične študije se nanašajo na genotoksične izide, ki so identificirani pri *in vitro* študijah in za ustrezne ciljne organe ali tkiva. Izbira ustreznih študij je odvisna od strokovne presoje in se izvaja od primera do primera. Lahko je primerna ena izmed naslednjih študij *in vivo* mikronukleusni test po OECD smernici 474 (OECD, 1997b), *in vivo* Comet test (ni posebne OECD smernice, so pa dogovorjeni internetni protokoli), ali test genskih mutacij na transgenih glodavcih (OECD smernica je v pripravi).

Do zdaj ni bilo narejenih veliko toksikokinetičnih študij (in še te so večinoma narejene za izpostavljenost z vdihavanjem in ne za oralni vnos). Obstoječe do zdaj objavljene oralne študije so uporabljale

nerealistično visoke odmerke, zato njihovi rezultati mogoče ne odražajo inherentne toksičnosti materiala in bo potrebno izvesti nove z realističnimi odmerki.

9.2.3 Ocena izpostavljenosti

Osnovni del ocene izpostavljenosti je določitev količine PNM v živilih, ki jih zaužijemo ter njihova karakterizacija. V večini primerov izhajamo iz začetne količine in začetnih karakteristik PNM, ki so dodani živilom, oziroma so v stiku z živilom. Trenutno še ni možno rutinsko določati PNM *in situ*, zaradi tega je negotovost pri oceni izpostavljenosti večja.

Splošni principi ocene izpostavljenosti PNM (iz hrane in krme) so enaki, kot pri izpostavljenosti ne-nano oblikam. Ocenijo se povprečni in veliki uporabniki pri različnih populacijskih skupinah, na osnovi podatkov o prehranskih vnosih. Po možnosti se oceni tudi za katere dele populacije pričakujemo visoko izpostavljenost. Za zdaj ni veliko podatkov o količinah in frekvencah vnosov PNM. Vse predpostavke, ki jih upoštevamo pri oceni izpostavljenosti lahko predstavljajo vir negotovosti.

9.2.4 Karakterizacija tveganja

Pri karakterizaciji tveganja vse informacije iz identifikacije in karakterizacije nevarnosti povežemo z oceno izpostavljenosti ter drugimi pridobljenimi informacijami (npr. z »*read across*« pristopom z uporabo podatkov drugih PNM ali ne-nano oblik -večjih delcev, ionskih oblik). Tako nastane kvalitativno, po možnosti pa tudi kvantitativno vodilo za upravljavce s tveganji - celotna ocena varnosti PNM. Karakterizacija velja za navedene parametre in negotovosti, ki so povezane z oceno. Pri karakterizaciji tveganja navedemo vse predpostavke, identificiramo vire podatkov o negotovosti, kriterije za vključitev ali izključitev podatkov, zaupnost podatkov, naravo in velikost vseh negotovosti. Navedemo morebitne pomanjkljivosti bistvenih podatkov in ocenimo kakovost podatkov, ki so bili na voljo. Če bistvenih podatkov ni na voljo, ocene tveganja ni mogoče zaključiti.

9.2.4.1 Analiza negotovosti

Pri analizi negotovosti uporabimo splošne napotke, ki so navedeni v EFSA vodilu (EFSA, 2009b). Za negotovosti povezane s prehransko oceno izpostavljenosti uporabimo principe navedene v EFSA dokumentu (EFSA, 2007). Negotovosti izhajajo še iz fizikalno-kemijske karakterizacije PNM (težavna karakterizacija, odsotnost standardnih metod), iz karakterizacije nevarnosti (študije strupenosti morda potrebujejo metodološke modifikacije, mogoče je potrebno dodati dodatne izide, kot so kardiovaskularna ali imunološka funkcija), iz izpostavljenosti pri študijah (kadar je težko okarakterizirati PNV v živilu v primerjavi z obliko PNV pri študijah), iz karakterizacije tveganja (če pomembnih podatkov ni na voljo, če je slaba kakovost podatkov). Tako, kot pri konvencionalni oceni tveganja, upoštevamo NOAEL ali BMDL vrednosti pridobljene v procesu karakterizacije nevarnosti z uporabo faktorjev negotovosti. Če ni navedeno drugače, uporabimo konvencionalne faktorje negotovosti – faktorja 10 za toksikodinamske in toksikokinetične razlike med preskusnimi živalmi in človekom razlike med vrstami in faktorja 10 za toksikodinamske in toksikokinetične razlike med ljudmi.

9.3 ZAKLJUČEK

Pri ocenah tveganja proizvedenih nanomaterialov je potrebno upoštevati specifične lastnosti proizvedenih nanomaterialov. Pomembna je njihova ustrežna in temeljita karakterizacija. Za identifikacijo in karakterizacijo nevarnosti se izvedejo študije genotoksičnosti in vitro, ter različni testi in vivo. Analiza negotovosti mora upoštevati negotovosti fizikalno-kemijske karakterizacije proizvedenih nanomaterialov, negotovosti karakterizacije nevarnosti, negotovosti ocene izpostavljenosti in negotovosti karakterizacije tveganja.

9.4 VIRI

EFSA 2007. Opinion of the Scientific Committee related to Uncertainties in Dietary Exposure Assessment. *EFSA Journal*, 5, 438-n/a.

EFSA 2009a. The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. *The EFSA Journal*, 1-39.

EFSA 2009b. Guidance of the Scientific Committee on Transparency in the Scientific Aspects of Risk Assessments carried out by EFSA. Part 2: General Principles. *EFSA Journal*, 7, 1051-n/a.

EFSA 2011. Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. *EFSA Journal*, 9, 2140-n/a.

EUROPEAN COMMISSION 2011. COMMISSION RECOMMENDATION of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial.

JRC 2010. Considerations on a definition of nanomaterial for regulatory purposes.

NEL, A., XIA, T., MADLER, L. & LI, N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311, 622-627.

NEL, A. E., MADLER, L., VELEGOL, D., XIA, T., HOEK, E. M. V., SOMASUNDARAN, P., KLAESSIG, F., CASTRANOVA, V. & THOMPSON, M. 2009. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*, 8, 543-557.

OECD 1983. *Test No. 415: One-Generation Reproduction Toxicity Study*, OECD Publishing.

OECD 1997a. *Test No. 476: In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test*, OECD Publishing.

OECD 1997b. *Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test*, OECD Publishing.

OECD 1998. *Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents*, OECD Publishing.

OECD 2001a. *Test No. 414: Prenatal Development Toxicity Study*, OECD Publishing.

OECD 2001b. *Test No. 416: Two-Generation Reproduction Toxicity*, OECD Publishing.

OECD 2008. *Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents*, OECD Publishing.

OECD 2009. *Test No. 453: Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies*, OECD Publishing.

OECD 2010a. *Test No. 417: Toxicokinetics*, OECD Publishing.

OECD 2010b. *Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test*, OECD Publishing.

SCENIHR 2007. Opinion on the scientific aspects of the existing and proposed definitions relation of the existing and proposed definitions relating to products of nanoscience and nanotechnologies.

SCENIHR 2010. Scientific basis for the definition of the term “nanomaterial” .

SIMON, P. & JONER, E. 2008. Conceivable interactions of biopersistent nanoparticles with food matrix and living systems following from their physicochemical properties. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47, 51-59.

TIEDE, K., BOXALL, A. B. A., TEAR, S. P., LEWIS, J., DAVID, H. & HASSELLOV, M. 2008. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 25, 795-821.

10 NE-TESTNE METODE PRI TOKSIKOLOŠKI OCENI TVEGANJA

Mojca Fuart Gatnik

10.1 UVOD

V vsakodnevnem življenju smo preko fizičnega okolja, v katerem živimo in delamo, hrane in pitne vode izpostavljeni številnim kemikalijam naravnega in umetnega izvora. Za pridobivanje informacij o strupenosti oziroma varnosti kemikalij je na voljo več načinov (Glej poglavje 2.1.2). Poleg klasičnega pridobivanja informacij z *in vivo* testiranjem kemikalij na poskusnih živalih ali z *in vitro* testiranjem na celičnih ali na tkivnih kulturah se vse bolj uveljavljajo ne-testne metode. Med te sodijo *in silico* metode, ki temeljijo na predpostavki, da je biološka aktivnost kemikalije (npr. strupenost) njena naravna lastnost in jo lahko napovemo iz njene kemijske strukture. Zaradi izjemno velike količine potrebnih informacij in kompleksnih statističnih obdelav, so za izvedbo ne-testnih metod potrebna računalniška orodja. Med te metode uvrščamo, razne kvantitativne in kvalitativne metode za oceno strupenosti, kot so prag toksikološkega tveganja, odnos med strukturo in aktivnostjo, iskanje strukturnih analogov in navzkrižno branje.

10.2 PRAG TOKSIKOLOŠKEGA TVEGANJA

Prag toksikološkega tveganja (ang. *Threshold of Toxicological Concern – TTC*) je pragmatični pristop k oceni tveganja za tiste kemikalije, za katere njihova nevarnost (strupenost) ni znana. Pristop je utemeljen na predpostavki, da je pod praznimi vrednostmi izpostavljenosti verjetnost za škodljivi učinek na zdravje minimalna. Načeloma to velja za vse kemikalije, pri izpostavljenosti nizkim odmerkom. Nujna elementa za uporabo principa TTC sta poznavanje kemične strukture in zanesljiva ocena izpostavljenosti.

10.2.1 Razvoj principa TTC

Paracelsus je s svojo trditvijo »Odmerek loči strup od zdravila.«¹⁰ prispeval k uveljavitvi danes pomembnega principa v toksikologiji. Na tem principu se je v 60. letih prejšnjega stoletja zaradi povečanih potreb po poznavanju toksikoloških lastnosti začela porajati ideja o pragu, pod katerim odmerek ne predstavlja toksikološkega tveganja. V 80. letih prejšnjega stoletja so na osnovi analize relativne moči (ang. *potency*) približno 340 rakotvornih kemikalij iz baze podatkov *Carcinogenic Potency Database* (CPDB) določili sprejemljivi dnevni odmerek izpostavljenosti le-tem v živilih. To prazno vrednost je v 90. letih uporabila Uprava za hrano in zdravila (*Food and Drug Administration, US FDA*) iz ZDA, kot prag nadzora (ang. *Threshold of Regulation, ToR*) za kemikalije v materialih namenjenih stiku z živali (Barlow, 2001).

¹⁰ *Dosis facit venenum; nem. Alle Dinge sind Gift und nichts ist ohne Gift. Allein die Dosis macht dass ein Ding kein Gift ist; ang. It's the dose that makes the poison* (Timbrell, 2008a).

Temu so sledila prizadevanja za razvoj principa TTC, ki temelji na kemijski strukturi in razpoložljivih podatkih o strupenosti pri vnosu z zaužitjem za posamezno kemikalijo. Izbrali so ne-rakotvorne kemikalije, pri katerih so bile toksikološke lastnosti zelo dobro opredeljene, in jih na podlagi njihove strupenosti razvrstili v tri razrede po Cramerju: I, II, III. Preverjali so podatke za različne škodljive učinke, med drugim tudi strupenost za živčni sistem (nevrotoksičnost), strupenost za zarodek in plod (teratogenost in razvojna strupenost), strupenost za imunski sistem (imunotoksičnost), alergogenost in vpliv na delovanje žlez z notranjim izločanjem (endokrinih oz. hormonskih žlez). Potrdili so veljavnost principa, z nekaterimi izjemami (Barlow, 2001; Munro et al., 2008).

10.2.1.1 Cramerjevi razredi

Razred I: Kemikalije z enostavno kemično strukturo in znanimi presnovnimi potmi, za katere se predpostavlja nizka strupenost v primeru zaužitja. Mednje sodijo na primer, enostavni alkoholi, ketoni, aldehidi. Zgornja meja izpostavljenosti je 30 µg/kg tm/dan.

Razred II: Kemikalije, za katere ni na voljo dovolj informacij glede njihove toksikinetike in toksikodinamike ter je izključena strupenost. To so na primer nekateri heterociklični in terpenki ketoni. Kemikalije iz tega razreda načeloma pripadajo dvema osnovnima skupinama kemikalije s podobno strukturo kot tiste iz Razreda I le z večjo reaktivnostjo (dialil ftalat), v drugo skupino pa so razvrščene bolj kompleksne strukture, ki so normalno prisotne v živilih (npr. beta karoteni). Zgornja meja izpostavljenosti je 9 µg/kg tm/dan.

Razred III: Kemikalije, ki ne omogočajo ustrezne ocene strupenosti ali so potencialno strupene. Primeri vključujejo heterociklične in heteroaromske kemikalije ter ciklične etre, mnoge od teh imajo dolge stranske verige z reaktivnimi skupinami. Zgornja meja izpostavljenosti je 1,5 µg/kg tm/dan.

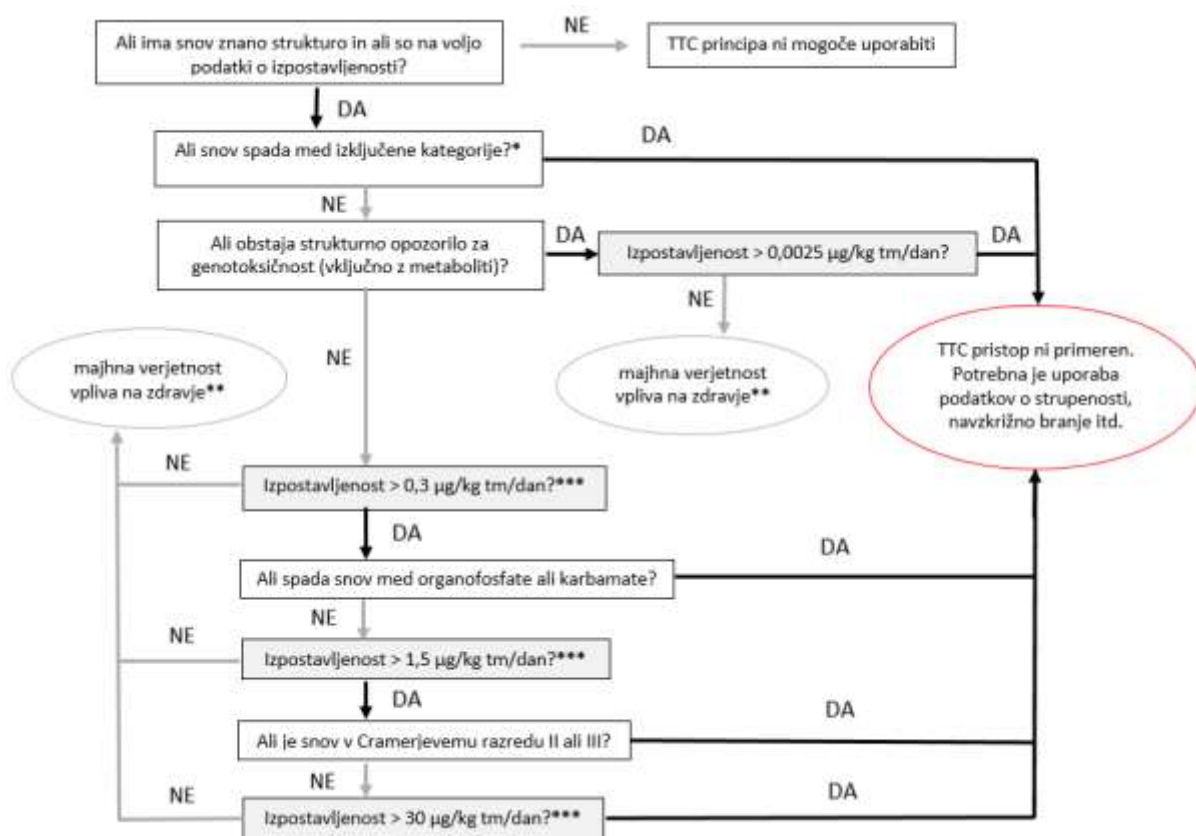
10.2.2 Uporaba principa TTC

Princip TTC je pomembno orodje v vsakem postopku prioritizacije kemikalij in sestavni del ocene tveganja, ki temelji na minimalni količini informacij o določeni kemikaliji. Uporablja se za kemikalije, pri katerih sta znani njihova kemijska struktura in izpostavljenost (Slika 10.1). TTC je pomembno orodje tako za nadzorne organe, ki ocenjujejo in upravljajo tveganja, kot tudi za industrijo, ker omogoča preusmeritev virov za tiste kemikalije, ki predstavljajo večja tveganja, to so kemikalije, ki so nevarnejše in pri katerih se pričakuje velika izpostavljenost. Uporaben je za hitre ocene tveganja kemikalij pri izpostavljenosti nizkim odmerkom. Uporaba tega principa tudi prispeva k zmanjšanju števila živali v toksikoloških študijah (Munro et al., 2008; Hennes, 2012).

TTC se uspešno uporablja pri ocenah tveganja za živila. Uprava za živila in zdravila iz ZDA (US FDA) uporablja TTC za ocenjevanje tveganja za kemikalije iz materialov namenjenih stiku z živili. Skupni odbor organizacij združenih narodov za prehrano in kmetijstvo ter svetovne zdravstvene organizacije (JECFA), kot tudi Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) uporabljajo TTC za ocenjevanje arom. Evropska agencija za zdravila (EMA) uporablja TTC za ocenjevanje nečistot v farmacevtskih pripravkih, v primeru, da imajo nečistote strukturne značilnosti genotoksičnih snovi. Prav tako se TTC uporablja tudi za oceno presnovkov fitofarmacevtskih sredstev v podtalnici (Hennes, 2012).

Zaradi velikega števila kemikalij, ki se vsakodnevno uporabljajo in njihove naraščajoče uporabe ter tendence zmanjševanja poskusov na živalih, sta tako Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) kot Generalni direktorat za zdravje in varstvo potrošnikov (DG SANTE) predvidela širitev uporabe principa TTC na nečistote, na produkte razgradnje in produkte kemičnih reakcij, presnovke in druga onesnaževala, ki so v živilih in krmi prisotna v nizkih odmerkih (EFSA, 2012) ter kozmetične proizvode in druge predmete splošne rabe (SCCS, 2012). V skladu s temi mnenji se princip TTC lahko uporablja za vsak primer posebej, za tiste kemikalije, ki so strukturno podobne kemikalijam v temeljni podatkovni bazi.

Slika 7: Generična shema za uporabo TTC principa (EFSA, 2012)



Legenda

* izključene kategorije: močno rakotvorne snovi, anorganske snovi, kovine, beljakovine, snovi, za katere vemo oziroma lahko napovemo, da se bioakumulirajo, netopni nanomateriali, radioaktivne snovi, snovi, ki bi lahko imele lokalne učinke

** v primeru izpostavljenosti dojenčkov < 6 mesecev v območju TTC → razmisliti, če je princip TTC primeren

*** v primeru kratkotrajne izpostavljenosti → upoštevati količnik med dejansko izpostavljenostjo in TTC vrednostjo

Nedavne raziskave so na osnovi razširjenih podatkovnih baz, znova potrdile ustreznost obstoječih praznih vrednosti za osnovne tri razrede. Le te ustrezajo tudi za industrijske kemikalije (Kalkhof et al., 2012) in kemijske snovi iz materialov namenjenih stiku z živali (Pinalli et al., 2011). Za industrijske kemikalije so predlagane tudi prazne vrednosti na osnovi inhalacijskih študij (Escher et al., 2010). Specifične prazne vrednosti za lokalno preobčutljivost in za razmonževanje sta predlagala Safford et al. (2011) in Bernauer et al. (2008). TTC bi se lahko uporabljal tudi pri ocenjevanju mešanic kemikalij, pri čemer je potrebno upoštevati prispevek vsake kemikalije v primeru različnega mehanizma delovanja oz. vsoto v primeru istega mehanizma delovanja.

Na podlagi uporabe principa TTC lahko zaključimo bodisi, da kemikalija ne predstavlja tveganja za zdravje bodisi, da je tveganje sprejemljivo; npr. verjetnost za razvoj raka pri vse-življenjski izpostavljenosti je manjša od 1 primera raka na milijon izpostavljenih, to je $< 10^{-6}$ bodisi, da so za oceno tveganja potrebne klasične toksikološke študije.

10.2.2.1 Neprimernost principa TTC

Uporaba principa TTC se ne uporablja za kemikalije, ki

- nimajo natančno definirane kemijske strukture;
- niso strukturno zastopane v temeljni podatkovni bazi;
- se kopičijo v organizmih (polihalogenirani dibenzo-p-dioksini, polihalogenirani dibenzofurani in polihalogenirani bifenili);
- so toksikološko dobro opredeljene ali strupene pri zelo nizkih odmerkih (kovine in organokovine, toksini rastlin in živali);
- so močno rakotvorne (aflatoksini, azoksij, nitrozo spojine, benzidini, hidrazini);
- so močni hormoni (steroidi);
- povzročajo preobčutljivost;
- imajo specifične toksikokinetične lastnosti;
- jih urejajo specifični pravni akti (npr. aktivne snovi zdravil, fitofarmaceutskih sredstev, biocidov).

Poleg že naštetih se princip TTC ne priporoča za beljakovine, anorganske snovi, radioaktivne izotope, polimere oz. kemikalije z visoko molekularno maso, netopne materiale in nanomateriale.

10.3 ODNOS MED KEMIJSKO STRUKTURO IN BIOLOŠKO AKTIVNOSTJO

10.3.1 SAR in QSAR

Teoretična *in silico* modela, ki povezujeta kemijsko strukturo molekule, z njeno biološko aktivnostjo, (ang. *Structure Activity Relationship* (SAR) in *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR)), skupno poimenovana kot (Q)SAR, sta namenjena opredelitvi fizikalno-kemijskih lastnosti, biološke aktivnosti (npr. strupenosti, genotoksičnosti) ter usode kemikalije v okolju (npr. bioakumulacije, obstojnosti). Gre za ne-testno metodo, ki temelji na predpostavki, da biološko aktivnost kemikalije lahko z uporabo programske opreme napovemo iz njene kemijske strukture.

SAR opisuje kvalitativen odnos med prisotno podstrukturo, to je med skupino sosednjih atomov, ki so lahko med seboj povezani oz. razvrščeni v specifičen vzorec, in njeno specifično lastnostjo oz. aktivnostjo.

QSAR so matematični modeli (največkrat statistični), ki povezujejo enega ali več kvantitativnih parametrov pridobljenih iz kemijske strukture s specifično lastnostjo oz. aktivnostjo.

10.3.2 Pristop na osnovi kemične kategorije in navzkrižnega branja

Kemična kategorija je skupina sorodnih kemikalij, ki imajo nekatere lastnosti skupne oz. podobne ali pa imajo podobne trende v lastnostih zaradi podobne kemične strukture. Člani kategorije so si lahko sorodni v strupenosti in/ali v mehanizmu delovanja. Skupne lastnosti dovoljujejo interpolacijo in ekstrapolacijo med kemikalijami ter tako omogočajo zapolnjevanje manjkajočih podatkov, npr. pri fizikalno kemijskih in bioloških lastnostih. Princip kemične kategorije je namenjen zanesljivejši opredelitvi nevarnosti in je tudi najpogosteje uporabljena ne-testna metoda. Navzkrižno branje, je princip, ki informacije o eni oz. več izvornih kemikalijah (pripadniki kategorije) uporabi za napoved strupenosti ciljne kemikalije.

10.3.3 Uporaba *in silico* metod pri oceni kemijskega tveganja

QSAR orodja z ustrežno oceno se v skladu z Uredbo št. 1907/2006 lahko uporabljajo tudi pri oceni nevarnosti in tveganja kemikalij v regulatorne namene (EP in ES, 2006), in sicer če:

- so rezultati pridobljeni na podlagi znanstveno veljavnega modela;
- je ocenjevana kemikalija znotraj domene aplikativnosti modela;
- so rezultati ustrezni za oceno tveganja in/ali za razvrščanje in označevanje;
- je priložena ustrezna in zanesljiva dokumentacija uporabljene metode.

10.3.3.1 *In silico* orodja

Za opredelitev nevarnosti kemikalije potrebujemo programsko opremo, ki (Q)SAR modele, iskanje analognih struktur ter navzkrižno branje, ki omogoča implementacijo na uporabniku prijazen način. S pomočjo teh orodij napovedujemo fizikalno-kemijske lastnosti, strupenost ter druge biološke učinke, kot tudi usodo kemikalije v okolju in organizmih. Posamezno orodje ponavadi vključuje modele za opredelitev večjega števila lastnosti. Nekatera orodja omogočajo tudi dodajanje lastnih modelov in/ali novega znanja.

Uporabnikom so za opredelitev nevarnosti na voljo tako komercialna orodja, kot tudi prosto dostopna orodja. Med komercialna orodja sodijo, Derek Nexus, OASIS TIMES, ACD/Tox Suite in druga.

Prosto dostopna orodja so:

- VEGA (Caesar) (<http://www.vega-qsar.eu/use-qsar.html>)
- Lazar
- Toxtree (<http://toxtree.sourceforge.net/>)
- PASS (<http://genexplain.com/pass>)
- OECD QSAR Application Toolbox.

10.4 ZAKLJUČEK

V prihodnosti pričakujemo nadaljnji razvoj in razmah uporabe ne-testnih metod, saj je klasično *in vivo* testiranje zamudno in drago, poleg tega pa uporaba ne-testnih metod pomembno pripomore k zmanjšanju testiranja kemikalij v poskusih na živalih.

10.5 VIRI

Barlow, S.M., Kozianowski, G., Wurtzen, G. in Schlatter, J., (2001) Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet. *Food Chemical Toxicology*, 39, str: 229-306.

Bernauer, U., Heinemeyer, G., Heinrich-Hirsch, B., Ulbrich, B. in Gundert-Remy, U. (2008). Exposure-triggered reproductive toxicity testing under the REACH legislation: A proposal to define significant/relevant exposure. *Toxicology Letters*, 176, str. 68-76.

Dewhurst, I. in Renwick, A.G. (2013). Evaluation of the threshold of toxicological concern (TTC) – challenges and approaches. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 65, str. 168-177.

EFSA Scientific Committee (2012) *Scientific Opinion on Exploring options for providing advice about possible human health risks based on the concept of Threshold of Toxicological Concern (TTC)*. [na spletu]. Dostopno 3. 7. 2012 na: <http://EFSA.europa.eu/en/press/news/120702.htm>

Escher, S.E., Tluczkiewicz, I., Batke, M., Bitsch, A., Melber, C., Kroese, E.D., Buist, H.E. in Mangelsdorf, I. (2010). Evaluation of inhalation TTC values with the database RepDose. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58, str. 259–274.

EC, Health & Consumer protection directorate- general, Directorate E -Food Safety: plant health, animal health and welfare, international questions. (2003). *Guidance Document on the assessment of the relevance of metabolites in groundwater of substances regulated under council directive 91/414/EEC*. [na spletu]. Dostopno 30. 7. 2012 na: http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/guidance/wrkd0c21_en.pdf.

ECHA. (2008). *Guidance on information requirements and chemicals safety assessment, Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals. Guidance for the implementation of REACH*. [na spletu]. Dostopno 18. 7. 2012 na: http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r6_en.pdf

Fuort Gatnik, M. in Worth, A. (2010). *Review of Software Tools for Toxicity Prediction. JRC Scientific and Technical Reports*. [na spletu]. Dostopno 18. 7. 2012 na: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/doc/EUR_24489_EN.pdf

Hennes, E.C. (2012). An overview of values for the threshold of toxicological concern. *Toxicology Letters* 211, str. 296-303.

Kalkhof, H., Herzler, M., Stahlmann, R. in Gundert-Remy, U. (2012). Threshold of toxicological concern values for non-genotoxic effects in industrial chemicals: re-evaluation of the Cramer classification. *Archives of Toxicology*, 86, str. 17-25.

Lapenna, S. Fuat Gatnik, M. in Worth, A. (2010). Review of QSAR Models and Software *Tools for predicting Acute and Chronic Systemic Toxicity*. JRC Scientific and Technical Reports. [na spletu]. Dostopno 2. 7. 2012 na:

http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/doc/EUR_24639_EN.pdf

Munro, J.C., Renwick, A.G. in Danielewska-Nikiel, B. (2008). The threshold of toxicological concern (TTC) in risk assessment. *Toxicology Letters*, 180, str. 151-156.

Pinalli, R., Croera, C., Theobald, A. in Feigenbaum, A. (2011). Threshold of toxicological concern approach for the risk assessment of substances used for the manufacture of plastic food contact materials. *Trends in Food Science and Technology*, 22, str. 523-534.

Safford, R.J., Aptula, A.O. in Gilmour, N. (2012). Refinement of the Dermal Sensitisation Threshold (DST) approach using a larger dataset and incorporating mechanistic chemistry domains. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*; 60, str. 218-224.

SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks), SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). (2012). *Opinion on the Use of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) Approach for Human Safety Assessment of Chemical Substances with focus on Cosmetics and Consumer Products*. [na spletu]. Dostopno 2. 7. 2012 na:

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/opinions/index_en.htm#id3

EP in ES. (2006). Uredba (ES) št. 1907/2006 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 18.decembra 2006 o registraciji, evalvaciji, avtorizaciji in omejevanju kemikalij (REACH), o ustanovitvi Evropske agencije za kemikalije ter spremembi Direktive 1999/45/ES ter razveljavitvi Uredbe Sveta (EGS) št.793/93 in Uredbe Komisije (ES) št.1488/94 ter Direktive Sveta 76/769/EGS in direktiv Komisije 91/155/EGS, 93/67/EGS, 93/105/ES in 2000/21/ES. [na spletu] *Uradni List Evropske skupnosti*, L396. Dostopno 2. 7. 2012 na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/?uri=CELEX:02006R1907-20171010&qid=1488276373982>.

11 POGLOBLJENA OCENA TVEGANJA ZA ZDRAVJE OTROK – SVINEC V PITNI VODI

Katarina Bitenc

11.1 POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD

11.1.1 Povzetek

Otroci so še posebej podvrženi večjemu tveganju za izpostavljenost svincu v okolju, škodljivi učinki svinca pa se pri njih pokažejo že pri manjših koncentracijah v krvi. Različne okoljske raziskave so opozorile, da problematika povišanih koncentracij svinca v pitni vodi obstaja predvsem v starejših objektih, kjer so vgrajeni svinčeni deli omrežja ali drugi materiali, ki vsebujejo svinec. Poleg tega na migracije svinca v pitno vodo vplivajo tudi določene lastnosti pitne vode in stanje vode v ceveh.

V ekološki študiji sem ocenila izpostavljenost svincu pri šestletnih otrocih na podlagi ocen izpostavljenosti preko zraka, vode, hrane in tal. Pri izračunu so bili upoštevani tudi dejavnike absorpcije, predviden je bil najslabši možni scenarij, za izračun sem uporabila model IEUBK.

Izračun izpostavljenosti svincu za šestletnega otroka je pokazal, da obstaja tveganje za pojav škodljivih učinkov na zdravje, kjer pitna voda predstavlja najpomembnejši vir svinca.

Med najhitrejše in najučinkovitejše ukrepe za znižanje izpostavljenosti svincu preko vode spada vsakodnevno izpiranje vodovodnih cevi, ki naj traja toliko časa, dokler se temperatura hladne vode ne ustali.

11.1.2 Summary

Children are particularly susceptible to increased risk of lead exposure in the environment and adverse effects of lead will manifests at lower concentrations in the blood. Various environmental studies have shown that the problem of elevated concentrations of lead in drinking water exists mainly in older buildings, where lead parts are built in the network or the network contains other materials containing lead. Migration of lead into drinking water is also affected by particular characteristics of the drinking water and by stagnation of the water in the pipes.

The author conducted an ecological study in order to calculate lead exposure for a 6-year-old child on the basis of assessing the uptake of lead from air, water, food and soil. In the calculation, absorption factors were considered and also worst-case scenario was provided. For the assessment, the model IEUBK was used.

The assessment of lead exposure for a 6-year-old child has shown a risk of adverse health effects where drinking water represents the most important source of lead.

The most effective and the fastest action to lower the risk of lead exposure from drinking water is flushing the water pipes until the water temperature stabilizes.

11.1.3 Uvod

Svinec je pomembno onesnažilo okolja. V manjših količinah se pojavlja skoraj povsod v zemlji, vendar so povišane koncentracije v okolju posledica človeške rabe. Izpostavljenost svincu iz okolja je že nekaj časa pomemben javno-zdravstveni problem v mnogih razvitih državah. Svinec je strupena kovina, ki je v primeru uživanja ali vdihavanja, nevarna za zdravje ljudi. Že nizke koncentracije svinca so lahko škodljive, dolgotrajni vnos pa povzroča motnje v delovanju ter razvoju centralnega in perifernega živčnega sistema. Dojenčki, otroci in nosečnice so najbolj občutljiva skupina, saj je izpostavljenost svincu v zgodnjih fazah otrokovega razvoja lahko vzrok za kasnejše nevropsihološke spremembe: upočasnen psihični razvoj, nižji inteligenčni količnik, spremembe obnašanja, slabša učna sposobnost, oslabljen sluh, agresivnost, slabša motorična koordinacija (Ducatman v McCunney, 2003; Chen et al., 2007; Binns et al., 2007; Nevin, 2007). Izpostavljenost večjim koncentracijam svinca lahko povzroči resne poškodbe možganov. Mednarodna agencija za raziskave raka uvršča anorganski svinec v skupino 2A, kar pomeni, da obstajajo zadostni dokazi o karcinogenem delovanju na ljudi.

Svincu smo izpostavljeni preko zraka, hrane in vode, zemlje in prahu (Karr et al., 2004; Health Canada, 2007). Prekomerne koncentracije v okolju so povezane z emisijami svinca v zrak. V državah, kjer je uporaba osvinčenega bencina prepovedana, je vnos preko zraka značilen za poklicno izpostavljene. Za splošno populacijo je najpomembnejši oralni vnos. To še posebej velja za otroke, zaradi pristnejšega stika z okoljem (vedenje roke-v-usta, predmet-v-usta), zato je vnos nevarnih snovi lahko bistveno večji kot pri splošni populaciji (Eržen, 2006; IFCS, 2005; Licari et al., 2005; Nevin, 2007).

Pitna voda je s prepovedjo uporabe osvinčenega bencina postala potencialno največji vir svinca v okolju. Strokovnjaki ocenjujejo, da v razvitih državah predstavlja vnos svinca preko pitne vode iz javnih vodooskrbnih sistemov med 10 % in 20 % celotnega vnosa iz okolja (Bellinger, 2004). Pri otrocih so lahko ti deleži do dvakrat višji (Eržen, 2006). Glavni vir svinca v pitni vodi je sekundarno onesnaženje v hišnem omrežju.

Na koncentracijo svinca v vodi lahko vpliva več dejavnikov: starost omrežja, saj se s starostjo zaradi rjavenja povečuje površina nagrizenih cevi in drugih delov omrežja; kontaktni čas v katerem je bila voda v stiku z svinčenimi deli; hitrost, s katero voda kroži po ceveh; količina sedimentov v vodi; raven klora; predvsem pa korozivnost vode. Izločanje svinca se v vodi še dodatno poveča pri nižjem pH, v mehkejši vodi, pri višji temperaturi vode in pri nizkem redoks potencialu (Karr et al., 2004; Washington State Departement of Health, 2005; Health Canada, 2007; Maas et al., 2007; Thompson et al., 2007; EPA, 2006b).

11.2 OCENA TVEGANJA

11.2.1 Identiteta snovi

Svinec je težka kovina, ima svetel sijaj in je raztezna, zelo mehka, izjemno prilagodljiva kovina sive barve, s slabo električno prevodnostjo. Je zelo težka, a ne najtežja kovina, saj je gostota 11.340 kg/m^3 , v primerjavi z bakrom, ki tehta 8.960 kg/m^3 in železom, ki tehta 7.870 kg/m^3 ter živim srebrom in zlatom, ki tehtata 13.590 kg/m^3 oz. 19.300 kg/m^3 . Teža svinca oziroma njegova gostota je zelo pomembna pri zaščiti pred prehodom rentgenskih in gama žarkov ter zvočnega valovanja (Thornton et al., 2001).

CAS številka elementarnega svinca je 7439-92-1; atomska masa je 207,2; tališče $327,4 \text{ }^\circ\text{C}$; vrelišče $1.740 \text{ }^\circ\text{C}$, porazdelitveni koeficient n-oktanol/voda ($\text{Log } K_{ow}$): informacija ni na voljo. Svinec je topen v dušikovi kislini (HNO_3), vroči koncentrirani žvepovi kislini (H_2SO_4), vroči vodi, glicerinu in v manjši meri v alkoholu (IPCS, 2001).

Topnost v vodi

Svinec je kovina, ki je v vodi težko topna. Na izločanje svinca v vodo vpliva starost omrežja – s starostjo se zaradi rjavenja povečuje površina nagrizenih cevi in drugih delov omrežja, s tem pa se iz cevi izloči več svinca (Karr et al., 2004; Washington State Departement of Health, 2005; Thornton et al., 2001). Na rjavenje vpliva pH vode, temperatura vode, trdota vode in koncentracija prostega klora v vodi; bolj kot je voda mehka, topla in kislina ter višja kot je koncentracija klora v vodi, večje je rjavenje in večja je možnost izločanja svinca v vodo (Šarić et al., 2002; Moore, 2001; Cantor et al., 2000, Cantor, 2009).

Trda voda je manj bogata s svincem, saj vsebuje karbonate in sulfate in iz njih tvori težko topljive bazične svinčeve karbonate in svinčeve sulfate, ki varujejo svinčene cevi pred rjavenjem (Prpić-Majić et al., 2002). V topli vodi je topnost svinca hitrejša – stopnja izločanja svinca iz svinčenih delov omrežja se podvoji za vsakih dodatnih $10 \text{ }^\circ\text{C}$ (Gray, 2008). V kisli vodi poteka raztapljanje svinca v vodo hitro - pH vode predstavlja merilo kislinsko – baznega ravnotežja, ki je večinoma odvisno od prisotnosti ogljikovega dioksida v vodi. Višje koncentracije ogljikovega dioksida v vodi pomenijo nižji pH, torej večjo kislost vode in s tem večjo možnost raztapljanja svinca v vodo (Mehikič, 2001).

11.2.2 Uporaba

V svetovnem merilu uporabijo skoraj polovico proizvedenega svinca v proizvodnji baterij in akumulatorjev (EurActiv, 2004). Po porabi svinca sledi vojaška industrija, kjer se svinec uporablja za izdelovanje streliva, svinec je nezamenljiv tudi kot zaščitna plast v jedrski tehniki, uporablja se tudi za proizvodnjo zlitin, v elektronski industriji, industriji motornih vozil, v gradbeništvu in v medicini (EPA, 2006; CDC, 2005; Thornton et al., 2001; Brodtkin et al., 2007). Svinčevi oksidi se ponekod še vedno uporabljajo v industriji barv, stekla, keramike in plastike. Do leta 1978 so se v veliki meri uporabljale barve na osnovi svinčenih pigmentov, kar lahko predstavlja nevarnost za onesnaženje okolja s svincem

(Ducatman v McCunney, 2003). Še danes se v industriji stekla za obdelavo kristala uporabljajo svinčevi oksidi – kristalno steklo je lahko nevarno, če je izdelano pri prenizki temperaturi, saj se svinec ne veže v steklovino in se kasneje izloča v okolje (Health Canada, 2003; Golja, 2005). Svinec se lahko pod vplivom šibkih kislin izloča tudi iz keramičnih posod, spet predvsem tam, kjer je bil stekleni sloj žgan pri prenizki temperaturi (CDC, 2004; Golja, 2005). Svinec najdemo tudi v plastiki, kjer se uporablja kot stabilizator, saj le-tej prepreči razpad (Golja, 2005).

Svinec navadno ni prisoten v pitni vodi, ki pride iz vrtine ali po pripravi vode, največkrat ga najdemo v vodi takrat, ko voda pride v stik z javnim ali hišnim vodovodnim omrežjem, ki vsebuje svinčene cevi ali svinčene stike med cevmi. Na koncentracije svinca v vodi iz vodovodnega omrežja torej odločujoče vpliva količina svinca v materialih za izgradnjo omrežja. V 70-ih letih so se namreč v objekte za izgradnjo vodovodnega omrežja pogosto vgrajevale svinčene cevi ali so se uporabljala svinčena sredstva za spajkanje spojev med cevmi (Hayes et al., 2009).

Od konca 19. stoletja, pa do nekje začetka 80-ih let 20. stoletja, so se za izgradnjo omrežja uporabljale tudi litoželezne cevi s spojem, ki je vseboval obroč iz svinca. Stari vodovodni priključki imajo poleg tega, da so lahko vezani še na svinčeno ali pocinkano cev, običajno zaporne armature iz surove medenine, kjer ni galvanske zaščite in lahko svinec iz medenine prehaja v vodo. V manjši meri lahko svinec najdemo tudi v novejših materialih za izgradnjo omrežja, ki so se začeli uporabljati v začetku 80-ih let 20. stoletja in sicer v medenini, gumi, keramiki in PVC-ju (Golja, 2005; Drev, 2005; Al-Malack, 2001; Vilarinho et al., 2004; CDC, 2004). Poleg tega ne smemo zanemariti obdobja med 1960 in 1970, ko so se vgrajevale azbest-cementne cevi. Nekatere raziskave poročajo, da tudi cementne cevi lahko vsebujejo svinec (Guo, 1997).

11.2.3 Ocena nevarnosti

Svinec je strupena kovina, ki je v primeru uživanja ali vdihavanja, nevarna za zdravje ljudi. Svinec lahko prizadene človekovo periferno in osrednje živčevje ter posledično vedenje, ledvice, rodila in sečila ter kosti (Likar, 1998; WHO, 2010).

Elementarni svinec je v skladu z Uredbo ES1272/2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju kemikalij razvrščen kot:

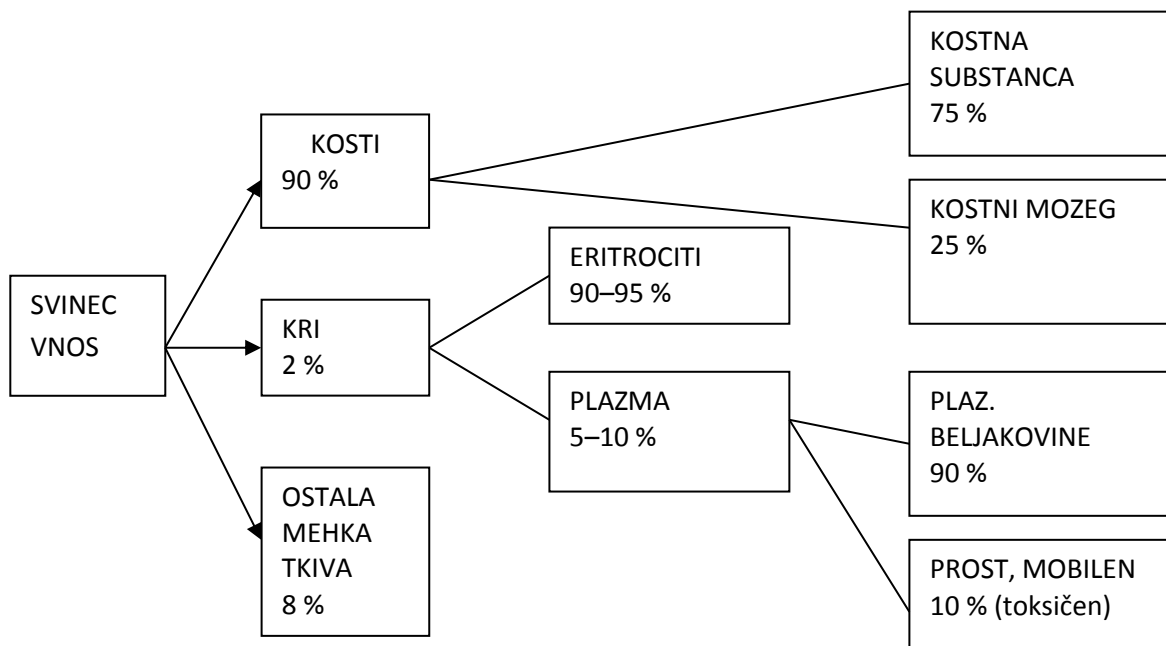
- H332 Zdravju škodljivo pri vdihavanju,
- H360 Lahko škoduje plodnosti ali nerojenemu otroku,
- H372 Škoduje organom pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti.

Glavna vhodna pot svinca v organizem je inhalacija, kjer svinec vstopa direktno v kri in se tako izogne jetrom, ki so glavni razstrupljevalec strupenih snovi. Absorpcija preko respiratornega traka je značilna predvsem za poklicno izpostavljene (Vidaković, 1997). V primeru, da svinec vstopa v organizem prek prebavil (s hrano, vodo in umazanimi rokami), se pod vplivom klorovodikove kisline v želodcu pretvori v svinčeve kloride, ki so za telo toksični. Ti potujejo s krvjo do jeter, kjer se razstrupljajo in nato izločijo prek žolča, črevesja in/oziroma ledvic. Absorpcija svinca preko prebavil je močno odvisna od vrste hrane. Dieta z zmanjšanim vnosom vitamina D in vitamina C, železa in kalcija, pa tudi cinka in fosforja, poveča absorpcijo svinca (Bilban, 1999; Prpić - Majić et al., 2002; Vidaković, 1997).

Večji del zaužitega svineca se odlaga v kosteh (90 %), laseh in zobeh ter se lahko mobilizira iz okostja in prehaja v kri v kasnejših obdobjih (starostniki, nosečnice). Manjši del svineca ostaja v krvi (2 %), vezan na eritrocite v plazmi. Razpolovna doba svineca v krvi in mehkih tkivih je 28 do 36 dni; v kosteh, kjer njegova koncentracija s časom narašča, pa 20 do 30 let. Manjši del svineca se nahaja v plazmi (5–10 %) - ta se veže na beljakovine ali pa ostane nevezan v ionski obliki. Ta, prosti svinec, deluje na telo toksično, predvsem na možgane, kostni mozeg in ledvice. Porazdelitev svineca v telesu je prikazana na Sliki 11.1 (Bilban, 1999; Prpić - Majić in Zavalić, 2002).

Klasična posledica zastrupitve s svincem je anemija, saj svinec toksično deluje na krvotvorne organe (WHO, 2010). Koncentracija svineca v krvi okoli 800 µg/L povzroči kopičenje nukleinskih kislin v eritrocitih. Anemija je posledica zmanjšane življenjske dobe eritrocitov in zaviranja sinteze (izgradnje) hema, molekule v eritrocitih, ki je potrebna za prenos kisika s krvjo. Kljub temu, da se klinična anemija pokaže šele pri zmerni izpostavljenosti svincu, lahko biokemične učinke svineca opazujemo že pri nižjih koncentracijah (Hodgson in Levi, 1987).

Slika 8: Porazdelitev svineca v telesu (Bilban, 1999: str. 107)



Pri akutni zastrupitvi s svincem (ki je sicer redka in se pojavi ob zaužitju snovi topnih v kislini, ki vsebujejo svinec ali ob inhalaciji svinčevih par), nastopijo slabost, bolečine v trebuhu, sledi bruhanje, lahko nastopi driska. Če pride do hitre absorpcije večje količine svineca, lahko zaradi večje izgube tekočin, nastopi šok. Pojavijo se tudi bolečine in mišična slabost, anemija, kri v urinu, ledvične poškodbe ali celo smrt (Klaassen, 1996). Otroci, ki preživijo akutno zastrupitev s svincem, imajo lahko trajne posledice, predvsem razvojno-nevrološke deficite (WHO, 2010).

Pri kronični zastrupitvi, ki je pogostejša in lahko nastane zaradi akutne zastrupitve ali dolgoročneje izpostavljenosti nižjim koncentracijam svineca, so lahko znaki in simptomi raznovrstni: gastrointestinalni (anoreksija, zaprtost, trebušni krči, diareja), nevro-muskularni (mišična slabost in utrujenost), učinki na

centralni živčni sistem (okornost, vrtoglavica, glavobol, motnje vida, nespečnost, nemir, razdražljivost, nato vznemirjenost in zmedenost, sledi delirij ter koma), hematološki učinki (kopičenje nukleinskih kislin v eritrocitih in slabokrvnost), renalni učinki (funkcionalne ali morfološke spremembe na ledvicah) in drugi (prezgodnje staranje, visok krvni pritisk, slaba presnova vitamina D, zmanjšano število semenčic, motnje sluha) (Klaassen, 1996).

V razvoju kronične zastrupitve ločimo tri obdobja in sicer obdobje povečane absorpcije, kjer klinični znaki zastrupitve še niso jasno izraženi; obdobje presaturizma, kjer se kažejo blagi in neznačilni simptomi, ravni svınca pa so že pomembno povišane; in obdobje saturnizma, kjer je klinična slika že izražena (Bilban, 1999).

Posledice zastrupitve z organskimi svinčenimi spojinami (tetraetil svinec in tetrametil svinec) se kažejo predvsem na centralnem živčnem sistemu. Lažja oblika zastrupitve se kaže v izgubi apetita, slabosti, glavobolu, razdražljivosti, nespečnosti, nočnih morah; pri težkih zastrupitvah pa lahko pride do hudih psihičnih motenj, shizofrenega obnašanja, božjastnih napadov, encefalopatije z izgubo spomina. Pri najtežjih zastrupitvah lahko pacient pade v komo in umre. Do takih zastrupitev najpogosteje pride pri delu, kjer je možen vnos prek dihal, prebavil ali kože (Bilban, 1999; Prpić - Majić et al., 2002).

Svinču smo lahko izpostavljeni tudi s kajenjem, saj lahko tobak in tobačni dim vsebujeta manjše količine svınca (WHO, 2010). Koncentracije svınca v tobaku najpogosteje kupljenih cigaret variirajo med 0,9 in 6,12 $\mu\text{g/g}$; npr. v Nemčiji je bila povprečna koncentracija 1,62 $\mu\text{g/g}$, najvišjo povprečno koncentracijo svınca pa ima tobak na Kitajskem in sicer 4,48 $\mu\text{g/g}$. S kajenjem 20 cigaret se v organizem z vdihavanjem v povprečju vnese 1,2 do 4,8 μg svınca (Müller et al., 2000).

Nekatere študije so nakazale možnost, da svinec povzroča raka, zato IARC uvršča anorganski svinec v skupino 2A, kar pomeni, da obstajajo zadostni dokazi o rakotvornem delovanju pri poskusih na živalih in da je snov verjetno rakotvorna za ljudi, za organski svinec pa ni zadostnih dokazov o rakotvornemu delovanju (IARC, 2006). Nekatere epidemiološke študije kažejo, da bi svinec lahko vplival na razvoj raka na ledvicah in pljučih (Prpić - Majić et al., 2002).

11.2.3.1 Referenčni odmerki

Skupni strokovni odbor za živilske dodatke Organizacije Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo in Svetovne zdravstvene organizacije (JECFA) je neodvisna skupina strokovnjakov, ki določa (začasno) dopustne tedenske vnose (v nadaljevanju (P)TWI) za pomembne škodljive snovi, ki so pogosto prisotne v našem bivalnem okolju. Leta 2006 so določili tudi PTWI za svinec iz vseh virov izpostavljenosti, ki je znašal 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase, vendar so ga leta 2011 umaknili, saj so ugotovili, da se pri taki izpostavljenosti lahko pri otrocih za vsaj 3 točke zniža inteligenčni količnik, pri odraslih pa se zviša sistolični krvni tlak za 3 mm Hg (400 Pa). Te spremembe lahko pomembno vplivajo na zdravje ljudi, zato nove vrednosti PTWI niso določili, saj prag za ključne učinke svınca na zdravje ni natančno določljiv (WHO, 2011c; WHO, 2006; WHO, 2011b; WHO, 1987).

11.2.4 Ocena izpostavljenosti

11.2.4.1 Poklicna izpostavljenost

Na delovnem mestu se svinec po navadi absorbira v telo delavca prek dihalnih poti (pri vdihavanju) in prebavnega trakta (med uživanjem hrane in pijače). V Praktičnih smernicah za izvajanje zdravstvenega nadzora in biološkega monitoringa za svinec, je navedeno, da je za poklicno izpostavljene zgornja dopustna meja svınca 400 µg/L za moške in 300 µg/L za ženske. Mejna vrednost za poklicno izpostavljenost svincu in njegovim spojinam je zavezujoča na ravni EU, kar pa še ne pomeni, da njeno upoštevanje zagotavlja absolutno varnost (Uradni list RS, št. 9/11). Obstajajo namreč posebne skupine delavcev, ki so še posebej občutljive za svinec, za katere se zahteva posebno varstvo. Te skupine delavcev so nedvomno noseče in doječe delavke, mladi delavci in tudi drugi delavci, pri katerih je ugotovljeno kakršno koli stanje ali značilnost, ki lahko pomeni večjo verjetnost za slabše prenašanje učinkov izpostavljenosti, kot so npr. moški ali ženske v reproduktivni dobi, delavci z ledvičnimi, nevrološkim ali hematološkimi težavami, delavci, ki so že bili predhodno izpostavljeni svincu itd. Pri teh skupinah delavcev mora pooblaščen zdravnik nameniti posebno pozornost vsem okoliščinam, ki lahko pomenijo povečano tveganje za zdravje delavca ali njegove potomce (Praktične smernice za izvajanje zdravstvenega nadzora in biološkega monitoringa za svinec, 2011).

11.2.4.2 Okoljska izpostavljenost

Emisije svınca se od leta 1994 v Sloveniji zmanjšujejo, saj smo takrat uvedli obvezno uporabo katalizatorjev v avtomobilih z bencinskim motorjem. Poleg tega smo z letom 2001 prepovedali uporabo osvinčenega bencina, zato so se emisije še dodatno znižale, izginil pa je tudi linijski vir onesnaževanja ob prometnicah. Višje koncentracije svınca lahko zdaj izmerimo le še v bližini industrijskih emisijskih virov, vendar meritve kažejo, da te koncentracije ne predstavljajo najpomembnejšega vira vnosa svınca v telo (ARSO, 2004-2010a). Smernice za kakovost zraka navajajo, da svinec v zraku prispeva 1–2 % vnosa v telo (COE, 2002).

Količina svınca v rastlinah je odvisna od koncentracij svınca v zemlji, biološko razpoložljivi del nato prehaja v rastline in živali. Pomembna je tudi količina svınca, ki se s prahom odloži na površini rastline (ATSDR, 2007).

Hrana s kuhanjem vsrka svinec iz vode. Do onesnaženja s svincem lahko pride že med pridelovanjem živil, iz sredstev za spajkanje konzerv, lahko pa tudi v času transporta in skladiščenju (Likar, 1998).

Največ svınca najdemo v žitu in žitnih izdelkih, pa tudi v zelenjavi, stročnicah in sadju. Pomemben vir izpostavljenosti otrok svincu je lahko tudi materino mleko, ki lahko vsebuje povišane koncentracije svınca. Ta se izloča iz kosti matere, kjer se svinec nalaga skozi življenje (endogena intoksikacija), lahko pa je posledica povečanega vnosa zaradi izpostavljenosti matere visokim koncentracijam svınca v okolju (COE, 2002; WHO, 2007; WHO, 2010; WHO, 2011a).

Povišane koncentracije svinec lahko zaznamo pri ribah, ki absorbirajo svinec iz vode in sedimentov, pa tudi pri drugih živalih, ki so izpostavljene svincu preko hrane. Svinec se lahko vnese v hrano tudi pri transportu, pri predelavi in pripravi hrane v kuhinji, pa tudi v primeru, ko se hrana kuha v vodi, ki vsebuje povišane koncentracije svinec ali ko se kuha v posodi, iz katere lahko migrira svinec v hrano (ATSDR, 2007).

Svinec v pitni vodi je praviloma posledica sekundarnega onesnaženja v hišnem vodovodnem omrežju s svinčnimi deli, zlitinami, ki vsebujejo svinec in drugimi materiali hišnega vodovodnega omrežja, ki lahko vsebujejo svinec (na primer plastika, medenina). Voda lahko v izjemnih primerih vsebuje tudi svinec, ki je geogenega izvora ali pa svinec v vodo zaide po zraku npr. zaradi bližine prometnice. V površinskih in podzemnih vodah lahko najdemo svinec kot posledico drenaž v rudnikih, ki v okolje vnašajo vode, bogate z raztopljenim svincem, vendar državni monitoring kakovosti podzemnih voda in površinskih vodotokov (rek) ni zaznal povišanih koncentracij svinec na teh področjih (ARSO, 2004-2010c; ARSO, 2004-2010b). V vodi se nekaj takih svinčevih spojin raztopi, večina pa jih ostane v obliki trdnih delcev, ki se kot oborina strdijo na kamenine na dnu vodotokov ali oceanov (Thornton et al., 2001).

Koncentracije svinec v zemlji so višje v mestih, poleg glavnih prometnic, v okolici industrijskih obratov, pa tudi v okolici vojašnic (Health Canada, 2013). Svinec se nahaja v zgornjem sloju zemlje, na površju tal (2–5 cm), z globino pa se njegove koncentracije zmanjšujejo, saj se obarja in tvori stabilne komplekse z organskimi spojinami. Poleg tega se svinec iz zraka kot prah usede na rastline, zato je pred zaužitjem vedno potrebno pranje zelenjave, predvsem je izpostavljena listnata zelenjava (COE, 2002).

Vnos svinec s prahom ni zanemarljiv, saj ljudje preživimo veliko časa v zaprtih prostorih, zato lahko notranje okolje predstavlja pomemben vir izpostavljenosti. Največji vir svinec v hišnem prahu je svinčena barva. Raziskave so dokazale, da lahko prah v stanovanju ali hiši, na delovnem mestu, v vrtcu ali šoli predstavlja nevarnost za zdravje, predvsem otrok, saj lahko vsebuje visoke koncentracije svinec (Roy et al., 2003).

Kljub temu, da vnos svinec z zemljo in prahom ni glavna pot izpostavljenosti svincu pri ljudeh, lahko to postane pri otrocih, predvsem zaradi njihovega obnašanja roke-v-usta, predmet-v-usta. Tako obnašanje je lahko vzrok tudi za 50 % skupnega vnosa svinec v telo (Davies et al., 1990).

Pri oceni izpostavljenosti smo uporabili *model Integrated Exposure Uptake BioKinetic Model for Lead in Children* (v nadaljevanju model IEUBK), ki je podrobno predstavljen v poglavju 15.

11.2.4.3 Izpostavljenost otrok v Sloveniji

11.2.4.3.1 Rezultati analiz v različnih segmentih okolja

Pri ocenjevanju izpostavljenosti smo uporabili podatke o koncentracijah svinec v zraku, živilih, pitni vodi in drobnem pesku (mivki).

Od leta 2004 do 2010 so se koncentracije svinca v zraku gibale od 0 do 0,4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, povprečna vrednost svinca v zraku pa je bila 0,057 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ARSO, 2004-2010a). Otrok, star 6 let, na dan vdihne 7 m^3 zraka (US EPA, 2001).

Pri podatkih o koncentracijah svinca v živilih smo predpostavili, da otroci zaužili zgolj tisto hrano, ki je bila pridelana na najbolj onesnaženih območjih s svincom. Predšolski otrok na dan zaužije okoli 531 g hrane (tretjino zaužite količine živil odraslih), s tem so v telo vnesli 27 μg Pb/dan, predvsem z žiti in žitnimi izdelki (Eržen, 2011).

Pri oceni izpostavljenosti svinca iz vode smo uporabili maksimalno in povprečno koncentracijo svinca v pitni vodi, ki sta bili ugotovljeni v raziskavi, ki je določala koncentracije svinca v pitni vodi vrtcev in osnovnih šol po Sloveniji. Najvišja izmerjena koncentracija svinca je bila 65 $\mu\text{g}/\text{L}$, povprečna koncentracija svinca pa je bila 9 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Bitenc, 2016). 6-letni otroci v povprečju popijejo 1,2 litra vode na dan (Institute of Medicine of the National Academies, 2005).

Pri oceni vnosa svinca iz mivke, so v raziskavi Ocena izpostavljenosti otrok svincu v celjskih vrtcih (Eržen, 2011) ugotovili, da je ob upoštevanju najvišje koncentracije svinca v izlužku, t.j. 2,7 μg Pb/g, pri normalnem otroškem zaužitju zemljin 0,2 g/dan, vneseni odmerek svinca 0,54 $\mu\text{g}/\text{dan}$ za otroka, teškega 20 kg.

11.2.4.3.2 Izračun izpostavljenosti

Pri izračunu vnosa svinca v telo na teden, smo predpostavili najslabši možen scenarij, kjer je otrok izpostavljen najvišjim koncentracijam svinca iz različnih virov. Ugotovimo lahko, da predstavlja voda najpomembnejši vir svinca, telo ga absorbira skoraj 273 μg na teden, sledi hrana s skoraj 93 μg na teden, ostali viri svinca so zanemarljivi. Izračunan skupni vnos svinca na teden je 376 μg , kar ne presega PTWI (25 μg kg^{-1} tm), ki je za 20 kg otroka 500 μg (Tabela 11.1) (Bitenc, 2016).

Tabela 11.1: Vnos svinca v telo na teden – najslabši možen scenarij (Prirejeno po Thorton, 2001)

Vir	Koncentracija Pb	Količina zaužitega vira	Izpostavljenost Pb na dan	Dejavnik absorpcije [%]	Vnos Pb na dan [μg]	Vnos Pb na teden [μg]
Zrak	0,4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	7 m^3/dan	2,8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	40	1,12	7,84
Zrak	0,4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	7 m^3/dan	2,8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	40	1,12	7,84
Voda	65 $\mu\text{g}/\text{L}$	1,2 L/dan	78 $\mu\text{g}/\text{L}$	50	39	273
Hrana	0,05 $\mu\text{g}/\text{g}$	531 g/dan	27 $\mu\text{g}/\text{g}$	50	13,3	92,9
Mivka	2,7 $\mu\text{g}/\text{g}$	0,2 g/dan	0,54 $\mu\text{g}/\text{g}$	50	0,270	1,89

Legenda
Pb - svinec

Iz izračuna vnosa svinca na teden za izbrane vire iz okolja, smo ugotovili, da je pitna voda predstavljal najpomembnejši vir izpostavljenosti, zato smo ločeno primerjali izpostavljenost svincu le iz pitne vode, glede na PTWI za svinec iz pitne vode iz leta 2006, ki je 12,5 μg kg^{-1} telesne mase (50 % PTWI iz vseh virov) (WHO, 2006). Ob predpostavki, da bi 20 kg otrok popil 1,2 L vode z najvišjo izmerjeno koncentracijo svinca v pitni vodi (t.j. 65 $\mu\text{g}/\text{L}$), bi znašala tedenska izpostavljenost $\left(\frac{65 \times 1,2 \times 0,5 \times 7}{20}\right)$ 13,65

$\mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase in bi presegla PTWI za svinec iz pitne vode, ki je $12,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase (WHO, 2011c). V primeru, da bi otrok pil vodo s povprečno koncentracijo svineca (t.j. $9 \mu\text{g/L}$), bi bila izpostavljenost $\left(\frac{9 \times 1,2 \times 0,5 \times 7}{20}\right) 1,89 \mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase in ne bi presegala PTWI za pitno vodo (Bitenc, 2016).

Izračuni z modelom IEUBK so pokazali, da je v primeru vnosa svineca po najslabšem možnem scenariju, največji vnos svineca preko vode (Tabela 11.2). Model je predvidel, da predstavlja svinec preko vode okoli 72 % celotnega vnosa svineca, hrana predstavlja 25 %, medtem ko naj bi bil vnos preko zraka in zemlje oz. mivke le 3 % (Bitenc, 2016).

Tabela 11.2: Preračunani vnosi svineca iz posameznih virov v telo in koncentracije svineca v krvi otrok (starih 5-6 let), kot ga izračuna IEUBK model – najslabši možen scenarij (US EPA, 2007)

Vir	Koncentracija svineca	Količina zaužitega vira	Dejavnik absorpcije	Vnos svineca na dan [$\mu\text{g/dan}$]
Zrak	$0,4 \mu\text{g/m}^3$	$7 \text{ m}^3/\text{dan}$	0,32	0,373
Voda	$65 \mu\text{g/L}$	$1,2 \text{ l/dan}$	0,5	31,4
Hrana	$0,05 \mu\text{g/g}$	531 g/dan	0,5	10,9
Mivka	$2,7 \mu\text{g/g}$	$0,20 \text{ g/dan}$	0,45	1,17
Vnos svineca na dan [$\mu\text{g/dan}$]				43,8
Koncentracija Pb v krvi [$\mu\text{g/L}$]				105

11.2.4.3.3 Izmerjena izpostavljenost

Podatkov biomonitoringa v našem izračunu izpostavljenosti nismo upoštevali.

11.2.5 Karakterizacija tveganja

Pri izračunavanju izpostavljenosti smo predpostavili, da so 6-letni otroci v povprečju težki 20 kg in da je absorpcija svineca preko uživanja pitne vode, hrane in zemlje 50 %, iz zraka pa 40 % (Thornton, Rautiu in Brush, 2001). Predvidevali smo scenarij, ki predpostavlja vnos najvišje izmerjenih količin svineca, ki smo jih izmerili v posameznem viru v okolju. V skladu z modelom, ki predpostavlja 50 % absorpcijo svineca preko vode, smo potrdili našo domnevo, da predstavlja voda najpomembnejši vir svineca, telo ga absorbira skoraj $273 \mu\text{g/}$ teden, sledi hrana s skoraj $93 \mu\text{g/}$ teden, ostali viri so zanemarljivi. Izračunan skupni vnos svineca iz vseh virov na teden je skoraj $376 \mu\text{g}$ (Bitenc, 2016).

Ker je voda po prvem scenariju predstavljala najpomembnejši vir izpostavljenosti, smo posebej izračunali izpostavljenost svincu iz pitne vode, ki smo jo primerjali s PTWI za svinec iz pitne vode iz leta 2006, ki je bil $12,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase (50 % PTWI iz vseh virov) (WHO, 2006). Ugotovili smo, da bi bil 20 kg otrok, ki popije na dan v povprečju 1,2 litra pitne vode, ki bi vsebovala maksimalno izmerjeno koncentracijo svineca $65 \mu\text{g/L}$, izpostavljen skoraj $14 \mu\text{g kg}^{-1}$ telesne mase, kar presega PTWI za svinec iz pitne vode (Bitenc, 2016). Izpostavljenost takšni količini svineca lahko predstavlja tveganje za pojav škodljivih učinkov na zdravje .

Za izračun izpostavljenosti iz vseh virov smo preskusili še model IEUBK, ki je potrdil naše domneve, da pitna voda predstavlja najpomembnejši vir svınca iz okolja. V primeru najslabšega možnega scenarija bi bil dnevni vnos svınca 44 µg/dan, koncentracija svınca v krvi pa 105 µg/L, kar presega mejno vrednost svınca v krvi, ki jo določa CDC in znaša 50 µg/L (2012). Pri tej vrednosti je že potrebno izvajati ukrepe za zmanjšanje vsebnosti svınca v okolju, potrebno pa se je zavedati, da se nevrološki znaki lahko pri otrocih pokažejo že pri 20 µg/L. Za svinec torej ni »varnega praga«.

Model je iz enakih vhodnih podatkov izračunal nižjo izpostavljenost, kot smo jo izračunali mi, najverjetneje pa je prišlo do razlik zaradi nižjih dejavnikov absorpcije pri zraku in zemlji, poleg tega pa model upošteva še druge dejavnike, kot je biorazpoložljivost svınca iz posameznih faktorjev, rast otroka, koncentracija svınca v notranjem zraku in v hišnem prahu, absorpcija svınca skozi pljuča, hitrost dihanja, koliko ur otroci preživijo na prostem, model simulira tudi spremembe v otrokovem okolju v enoletnih intervalih (Bitenc, 2016).

11.2.5.1 Negotovosti

V našem primeru izračunavanja izpostavljenosti svincu gre za najslabši možni scenarij, saj je potrebno opozoriti, da 6-letnik ne bo popil vse vode zjutraj in voda, ki ji bo izpostavljen kasneje v dnevu, predvidoma ne bo vsebovala tako visokih koncentracij svınca. Gre torej za oceno s pridržkom, ki pa nas kljub vsemu opozarja na potencialno tveganje za zdravje (Bitenc, 2016).

Pomembno je opozoriti tudi na pomen navad ljudi. Četudi bi vsi otroci pili vodo izpod pipe, iz katere teče voda s povišanimi koncentracijami svınca, ne bi bili vsi enako izpostavljeni svincu. Najbolj bi bil izpostavljen prvi otrok, ki bi popil prvi kozarec vode, ki je v ceveh stala najdaljši čas, vsak naslednji otrok pa bi bil izpostavljen vedno manjšim koncentracijam. Poleg tega tudi ni zagotovo, da bo vsako jutro pil vodo s povišanimi koncentracijami svınca isti otrok. Izpostavljenost svincu v pitni vodi bi se tako ustrezno zmanjšala (Bitenc, 2016).

Ena izmed navad ljudi je tudi ta, da za pripravo napitkov, kot je na primer čaj, v lonec nalijemo vročo vodo, da hitreje zavre, kar pomembno zviša izpostavljenost svincu iz pitne vode. Glede na to, da višja temperatura vode pospeši izločanje svınca iz cevi, obstaja velika verjetnost, da so koncentracije svınca v taki vodi tudi do desetkrat povišane (Gray, 2008).

Ocena izpostavljenosti je le približek in simulira predvidene scenarije, vendar pa vedno vsebuje določen delež negotovosti. Med negotovosti spada tudi možnost, da se svinec lahko izloči iz plastične, keramične in steklene posode ali pribora. V naši oceni izhajamo iz predpostavke, da se svinec iz teh predmetov ne izloča, kar naj bi zagotavljal tudi nadzor nad materiali in izdelki, ki prihajajo v stik z živili, ki Sloveniji redno izvaja (Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živili, Ur. list RS, 2000).

V Sloveniji žal nimamo natančnih podatkov o tem, kakšne so vrednosti svınca v pitni vodi v domačem okolju. Vse raziskave na to temo so bile izvedene v izobraževalnih ustanovah, nikoli pa nismo merili svınca v vodi tam, kjer se otroci zadržujejo v popoldanskem času, kar ponovno potrjuje našo trditev, da je ocena izpostavljenosti le približna in zato pomanjkljiva. Za izboljšanje natančnosti ocene, bi morali

koncentracije svınca izmeriti tudi na domovih otrok, kar pa bi močno povečalo stroške take raziskave (Bitenc, 2016).

Potrebno je opozoriti, da smo za izračun skupne izpostavljenosti svíncu v okolju zbrali različne študije, iz katerim smo pridobili podatke o količini zaužite snovi in količini svınca v snovi. Te študije so se izvajale za druge potrebe, neodvisno od naše raziskave, zato smo za rezultat izpostavljenosti dobili le nek približek realnega rezultata. Druga slabost tega izračuna je ta, da ni popolnega prekrivanja lokacij vzorčenja vrtcev in šol ter lokacij vzorčenja tal, zraka in hrane. V oceni izpostavljenosti nismo upoštevali podatkov iz biomonitoringa (Bitenc, 2016).

11.3 OVREDNOTENJE TVEGANJA IN PREDLOGI JAVNO ZDRAVSTVENIH UKREPOV

Pri meritvah izpostavljenosti smo ugotovili, da bi v primeru, da bi 6-letni, 20 kg otrok pil vodo z najvišjo izmerjeno koncentracijo svınca v pitni vodi (t.j. 65 µg/L), bila izpostavljenost skoraj 14 µg/kg telesne mase, kar presega PTWI (iz leta 2006) za svinec iz pitne vode, ki je bil 12,5 µg/kg telesne mase. Pri tem je potrebno opozoriti, da je bil ta PTWI umaknjen in nova vrednost ni bila določena, saj prag za ključne učinke svınca na zdravje ni natančno določljiv (WHO, 2011c; WHO, 2006; WHO, 2011b; WHO, 1987). Izpostavljenost takšni količini svınca lahko predstavlja tveganje za pojav škodljivih učinkov na zdravje.

Model IEUBK, ki izračuna izpostavljenosti iz vseh virov iz okolja, je potrdil, da pitna voda predstavlja najpomembnejši vir svınca iz okolja. V primeru najslabšega možnega scenarija bi bil dnevni vnos svınca 44 µg/dan, koncentracija svınca v krvi pa 105 µg/L, kar presega mejno vrednost svınca v krvi, ki jo določa CDC in znaša 50 µg/L (2012). Pri tej vrednosti je že potrebno izvajati ukrepe za zmanjšanje vsebnosti svınca v okolju, potrebno pa se je zavedati, da se nevrološki znaki lahko pri otrocih pokažejo že pri 20 µg/L.

Vzrok za pogostejše pojavljanje svınca v vzorcih pitne vode na območju Ljubljane je v starosti javnega vodovodnega omrežja, poleg tega pa svinčene cevi in svinčene dele omrežja vsebujejo tudi starejši objekti, v katerih smo vzorčili pitno vodo (Bitenc, 2016). Svinec v tleh pa je verjetno posledica gostega prometa, ki se steka v naše glavno mesto. Vzrok pogostejšega pojavljanja svınca v pitni vodi v Celju je enak kot v Ljubljani, saj je bilo Celje v času Rimljanov uspešna kolonija, ko se je za izgradnjo vodovodnega omrežja uporabljalo svinčene cevi; svinec v tleh pa je posledica večje industrijske onesnaženosti tega področja.

Rešitve težav s svincem morajo biti hitre, saj se moramo kar najhitreje odzvati na povišane vrednosti svınca v vodi in hkrati trajne, saj moramo probleme s svincem poskušati rešiti za vedno ali vsaj za daljše obdobje. Svetujemo naslednje ukrepe za zmanjšanje izpostavljenosti svíncu do največje razumno izvedljive mere:

Pomembno je rutinsko ozaveščanje vodstev vrtcev in šol (pa tudi staršev) o učinkovitih ukrepih za zmanjšanje vsebnosti svınca v vodi, ki se uporablja za pripravo hrane in pijače. V primerih, ko so koncentracije svınca nad mejno vrednostjo, je do zagotovitve ustrežnejše dolgoročne rešitve nujno takojšnje izvajanje zdravstvene vzgoje prebivalstva.

Dolgoročen ukrep, ki je najučinkovitejši, vendar najdražji, je prenova hišnega vodovodnega omrežja oziroma zamenjava svinčenih delov v omrežju. Pri tem je potrebno paziti, da se pri prenovi uporabi cevi in ostale dele, ki ne vsebujejo svineca, na kar je potrebno opozoriti tudi vodovodarja.

Učinkovit ukrep je tudi uporaba kvalitetnega filtra za vodo, vendar je potrebno poskrbeti za redno menjavo in uporabo po priporočilih proizvajalca. Ogljeni filter je pri izločanju svineca iz vode najuspešnejši, res pa je, da izloči svinec le na pipi, kjer je nameščen.

Za rutinski ukrep velja redno čiščenje mrežice na pipi, saj ta lahko vsebuje različne sedimente, med drugimi tudi svinec.

Med kratkoročne ukrepe spada vsakodnevno izpiranje cevi (curek vode naj bo enakomeren, srednje jakosti, debelosti svinčnika), ki naj traja toliko časa, dokler se temperatura hladne vode ne ustali, približno 2 do 5 minut (Inštitut za varovanje zdravja, 2007). Ta ukrep je potreben tudi za zagotavljanje ustreznih vrednosti ostalih parametrov, ki lahko predstavljajo tveganje za zdravje ljudi v pitni vodi. Pomembno je, da se voda toči vsako jutro, na vseh pipah, preden se uporabi za pripravo hrane ali pijače, saj se s tem, ko voda stoji v ceveh nekaj ur, možnost onesnaženja s svincom poveča. Odpadna voda se lahko uporabi za zalivanje rož, pomivanje posode, pranje perila, čiščenje.

Ukrep izpiranja cevi s točenjem pitne vode, ni samo najhitrejši in najbolj učinkovit način za znižanje koncentracij svineca, pač pa je tudi najcenejši, saj s točenjem pitne vode od 2 do 5 minut stočimo od 22 do 55 litrov pitne vode (Kostigen, 2010), kar je zanemarljiv strošek v primerjavi s stroškom za zamenjavo cevi.

V času počitnic, praznikov ipd., je poraba pitne vode v javnih objektih zmanjšana ali prekinjena, zato je nujno potrebno pred začetkom novega šolskega leta in po daljši odsotnosti, poskrbeti za intenzivno izpiranje vodovodnega omrežja, ki se opravi s povečanim pretokom vode iz omrežja; čas izpiranja naj znaša najmanj 15 minut, po možnosti naj se izpira v sunkih s turbulentnim tokom (Inštitut za varovanje zdravja, 2007).

Kratkoročen, vendar učinkovit ukrep, je tudi zniževanje korozivnosti vode z uporabo ortofosfatov, vendar se ta rešitev v Evropi ni dobro uveljavila, saj obstajajo zadržki glede uporabe ortofosfatov zaradi dvomljivega vpliva na zdravje ljudi in na okolje. Potrebno je natančno ugotoviti, kakšna koncentracija ortofosfatov je potrebna za določeno omrežje, odvisna pa je od kemijske sestave vode, kislosti in pH vode ter od splošnega stanja distribucijskega sistema. Za znižanje koncentracij svineca v pitni vodi navadno zadostuje že 0,6 do 1,8 mg/L, pri tem pa je potrebno zagotoviti optimalen in stabilen pH vode. Z dodajanjem ortofosfatov pitni vodi, so v Veliki Britaniji uspešno znižali visoke koncentracije svineca, kar se je izkazalo za učinkovitejšo in cenovno ugodnejšo rešitev, kot pa je menjava vseh svinčenih cevi, ki so v Veliki Britaniji vgrajene v vodovodno omrežje (Hayes in Skubala, 2009).

Pomembna je tudi redna kontrola lastnosti pitne vode, kot je korozivnosti vode, ki lahko vpliva na povečano izločanje svineca iz vodovodnega omrežja. Tudi pri ozemljitvi vodovodne inštalacije je potrebna pazljivost; pomembna je pravilna ozemljitev oziroma skupna bazna točka (zvezdast sistem), da se ne povzročijo sklenjeni tokokrogi, ki pospešujejo elektrokorozijo (Arizona Department of Environmental Quality, 2004; Skipton et al., 2006).

Za pripravo hrane in napitkov se priporoča uporaba hladne pitne vode, saj vroča voda hitreje korodira svinčene cevi kot hladna, zato obstaja tudi večja verjetnost, da bo v njej večja količina svinec (Hayes in Skubala, 2009). V primeru, da potrebujemo vročo vodo, jo segrejemo na štedilniku. Za pripravo napitkov se uporablja hladna voda, ki je pred tem tekla iz pipe nekaj minut (US EPA, 2005).

Strokovnjaki opozarjajo tudi na pravilno uporabo grelnikov vode. Po vsakem gretju vode, posodo izpraznimo in izperemo, saj se lahko, v primeru svinec v pitni vodi, le ta nalaga na stenah posode in se ob naslednji uporabi ponovno pomeša v vodi ali hrani, ki jo kasneje zaužijemo. Raziskava na Škotskem je pokazala, da večina uporabnikov v grelnik natoči vročo vodo, da voda hitreje zavre, taka voda pa lahko vsebuje od tri do desetkrat višje koncentracije svinec kot mrzla voda (Gray, 2008). Poleg tega pa so v raziskavi o uporabi vode leta 1979 ugotovili, da le 1/3 uporabnikov po uporabi grelnika preostalo vodo iz njega izlije (Hopkins in Ellis, 1980, cit. po Gray, 2008).

Za kratkoročno rešitev, vendar relativno drago, velja tudi uživanje predpakirane (embalirane) vode (US EPA, 1994a; US EPA, 2005; Skipton et al., 2006).

Preko spleta lahko naročimo hitre teste, ki izmerijo koncentracije svinec v pitni vodi in so relativno poceni. Test nam pokaže le to, ali koncentracija v vodi presega vrednost 15 µg/L ali ne; kljub nenatančnemu rezultatu pa nas test opozori na povečane koncentracije svinec v pitni vodi in lahko na podlagi rezultata primerno ukrepamo.

Poleg vseh naštetih ukrepov za znižanje svinec v pitni vodi, je pomembno posvetovanje in pomoč strokovnjakov. V Sloveniji lahko pridobimo informacije pri najbližjem upravljavcu sistema za oskrbo s pitno vodo, ki mora svoje uporabnike najmanj enkrat letno obveščati o skladnosti pitne vode, ugotovljeni v okviru notranjega nadzora. Poleg tega morajo upravljavci pripraviti letno poročilo, s katerim morajo seznaniti uporabnike preko sredstev javnega obveščanja, na svoji spletni strani ali poleg mesečnega računa. Tudi podatki o rezultatih laboratorijskih preskusov pitne vode, pridobljenih pri monitoringu, morajo biti uporabnikom vedno na razpolago pri upravljavcu (Uradni list RS, 2004a). Podatke o kakovosti pitne vode v Sloveniji na svoji spletni strani letno objavi tudi Nacionalni inštitut za javno zdravje.

11.4 VIRI

ARSO. 2004-2010a. Koncentracije svinec v zunanjem zraku. Ljubljana: ARSO.

ARSO. 2004-2010b. Monitoring kakovosti podzemne vode. Ljubljana: ARSO.

ARSO. 2004-2010c. Monitoring kakovosti površinskih vodotokov. Ljubljana: ARSO.

ATSDR. 2007. Toxicological Profile for Lead. Atlanta: US Department of health and Human Services, Public Health Service, ATSDR.

Al-Malack, M. H. 2001. Migration of lead from unplasticized polyvinyl chloride pipes. Journal of hazardous materials, 82: 263-74.

Bellinger, D.C. 2004. Lead. Pediatrics, 113: 1016-1022. <http://psych.umb.edu/faculty/adams/fall2005/bellinger%20lead%20review.pdf> (1. 3. 2008).

Bilban, M. 1999. Medicina dela. Ljubljana: Zavod za varstvo pri delu.

Binns, H. J., Campbell, C., Brown, M. J. 2007. Interpreting and Managing Blood Lead Levels of Less Than 10 µg /dL in Children and Reducing Childhood Exposure to Lead: Recommendations of the Centers for Disease Control and Prevention Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention. Pediatrics 120: e1285-e1298.

Bitenc, K. 2016. Izpostavljenost prebivalcev Slovenije svincu v pitni vodi. Doktorska disertacija. Ljubljana: Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo.

Brodkin, E., Copes, R., Mattman, A., Kennedy, J., Kling, R., Yassi, A. 2007. Lead and mercury exposures: interpretation and action. CMAJ 176: 59-6.

Cantor, A. F. 2009. Water distribution system monitoring; a practical approach for evaluating drinking water. Portland, United States, Portland: Book News, Inc.

CDC. 2004. Childhood Lead Poisoning from Commercially Manufactured French Ceramic Dinnerware. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5326a4.htm> (Pridobljeno 2.5.2007.).

CDC. 2005. Preventing lead poisoning in Young Children. <http://www.cdc.gov/nceh/lead/publications/PrevLeadPoisoning.pdf> (1. 3. 2008).

CDC. 2012. Low level lead exposure harms children: a renewed call for primary prevention. Atlanta: CDC.

Chen, A., Cai, B., Dietrich, K. N., Radcliffe, J., Rogan, W. J. 2007. Lead Exposure, IQ, and Behavior in Urban 5- to 7-Year-Olds: Does Lead Affect Behavior Only by Lowering IQ?. Pediatrics 119: e650-e658.

COE. 2002. Technical Document. Guidelines on metals and alloys used as food contact materials. Strasbourg: Council of Europe.

Davies, D. J., Thornton, I., Watt, J. M., Culbard, E. B., Harvey, P. G., Delves, H. T., Sherlock, J. C., Smart, G. A., Thomas, J. F. in Quinn, M. J. 1990. Lead intake and blood lead in two-year-old U.K. urban children. Sci Total Environ., 90: 13-29.

Drev, D. 2005. Problematika embalirane vode. V: ROŠ, Milenko (ur.). Zbornik referatov. Ljubljana: Slovensko društvo za zaščito voda, 2005, str. 128-138. http://www.sdzv-drustvo.si/si/VD-05_Referati/Drev.pdf. (1. 3. 2008).

Ducatman, A.M. 2003. Clinical Environmental Medicine. V: McCunney, R. J. (ur.). A Practical Approach to Occupational and Environmental Medicine, 3rd Edition. New York, Little, Brown and Company: 737-745.

Eržen, I. 2006. Svinec v krvi triletnikov z območja Mežiške doline. Ljubljana, Glasnik KIMDPŠ, Leto I, Številka 2: 14-18.

Eržen, I. 2011. Ocena izpostavljenosti otrok svincu v celjskih vrtcih. Zdravstveno varstvo, 50: 113-120.

EurActiv.com. 2006. Batteries Directive.

<http://www.euractiv.com/climate-environment/batteries-directive/article-117445?display=normal>
(Pridobljeno 20.2.2012.).

Golja, V. 2005. Materiali v stiku s pitno vodo. V: ROŠ, Milenko (ur.). Zbornik referatov. Ljubljana: Slovensko društvo za zaščito voda, 2005, str. 124-127. http://www.sdzv-drustvo.si/si/VD-05_Referati/Golja.pdf (1. 3. 2008).

Gray, N. F. 2008. Drinking water quality : problems and solutions. Cambridge: Cambridge University Press.

Guo, Q. 1997. Increases of lead and chromium in drinking water from using cement—mortar-lined pipes: initial modeling and assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 56: 181-213.

Hayes, C. R. in Skubala, N. D. 2009. Is there still a problem with lead in drinking water in the European Union? *Journal of Water & Health*, 7: 569-580.

Health Canada. 2003. Healthy Living. It's Your Health. Lead crystalware and your health. <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/prod/crystal-cristal-eng.php> (Pridobljeno 2.5.2007.).

Health Canada. 2007. Lead and Health. <http://www.pollutionprobe.org/Reports/CH%20NPC/Lead%20Health%20Canada%20Fact%20Sheet%20Jan%2022%202007.pdf> (1. 3. 2008).

Health Canada. 2013. Risk Management Strategy for Lead. Ottawa: Health Canada.

Hodgson, E. in Levi, P. E. 1987. A textbook of modern toxicology. Elsevier.
Institute of Medicine of the National Academies. 2005. Dietary Reference Intakes For Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate. Washington: The National Academies Press.

IFCS. 2005. Chemical Safety and Children's Health – Protecting the World's Children From Harmful Chemical Exposures, A Global Guide to Resources. http://www.who.int/ifcs/champions/booklet_web_en.pdf (1. 3. 2008).

IARC. 2006. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Volume 87; Inorganic and organic lead compounds. Geneva: WHO Press.

IPCS. Arsenic and arsenic compounds (2. izdaja) Environmental Health Criteria 224. WHO, Geneva, 2001.

Karr, C., Sathyanarayana, S., Beaudet, N. 2004. Lead in Seattle School Drinking Water: A Review of the Health Implications. http://uwnews.org/relatedcontent/2004/December/rc_parentID6792_thisID6793.pdf (1. 3. 2008).

Klaassen, C. D. 1996. Heavy metals and heavy metal antagonists. In: Brunton, L., Lazo, J. & Parker, K. (eds.) Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill.

Lanphear, B. P. 2005. Childhood Lead Poisoning Prevention: Too Little, Too Late. *JAMA* 293: 2274-2276.

Licari, L., Nemer, L., Tamburlini, G. 2005. Children's health and environment. Developing action plans. Copenhagen, WHO European Office: 1-25. <http://www.euro.who.int/document/E86888.pdf> (1. 3. 2008).

Likar, M. 1998. Vodnik po onesnaževalcih okolja. Ljubljana: Zbornica sanitarnih tehnikov in inženirjev Slovenije.

Maas, R. P., Patch, S. C., Christian, A.M., Coplan, M.J. 2007. Effects of fluoridation and disinfection agent combinations on lead leaching from leaded-brass parts. *Neurotoxicology*, 28(5): 1023-31. http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6W81-4P37JBV1&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=c501c55ee0a9b9bf215c551d6435cd35 (16. 3. 2008).

Mehikić, D. 2001. Svinec v pitni vodi v nekaterih vrtcih in osnovnih šolah v zdravniški regiji. Specialistična naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta (samozaložba D. Mehikić): 45 str.

Moore, M. 2001. Chlorine's Effect on Corrosion in Drinking Water systems. <http://mtac.isws.illinois.edu/mtacdocs/qf/ChlorinesEffect.pdf> (Pridobljeno 2.3.2010.).

Müller, G. in Raju, N. Year. Heavy metal (Cd, Cu, Pb, Cr, Zn, Hg) concentrations in tobacco of commonly smoked cigarette brands purchased in Germany, China, Russia, India and Canada In: Proceedings of the International Conference on Heavy Metals in the Environment 2000 Michigan.

Nevin, R. 2007. Understanding international crime trends: The legacy of preschool lead exposure. *Environmental Research* 104: 315-336.

Praktične smernice za izvajanje zdravstvenega nadzora in biološkega monitoringa za svinec. Uradni list RS št. 9/2011: 849-862.

Prpić - Majić, D. in Zvalić, M. 2002. Anorganske kemijske štetnosti. In: Šarić, M. & Žuškin, E. (eds.) *Medicina rada i okoliša*. Zagreb: Medicinska naklada.

Roy A, Georgopoulos PG, Ouyang M, Freeman N in Liroy, P. 2003. Environmental, dietary, demographic, and activity variables associated with biomarkers of exposure for benzene and lead. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 13: 417-426.

Šarić, M., Žuškin, E. 2002. *Medicina rada i okoliša*. Zagreb, Medicinska naklada: str. 154-159.

Thompson, T., Fawell, J., Kunikane, S., Jackson, D., Appleyard, S., Callan, P., Bartram, J., Kingston, P. 2007. Chemical safety of drinking-water: assessing priorities for risk management. Geneva, World Health Organization: 17, 134. http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241546768_eng.pdf (1. 3. 2008).

Thornton, I., Rautiu, R. in Brush, S. M. 2001. Lead - the facts. London: IC Consultants Ltd.

Urad RS za kemikalije. 2010. Smernice za mivko za otroške peskovnike in igrišča. http://www.uk.gov.si/si/splosno/vstopna_stran/aktualno/smernice_za_mivko_za_otroske_peskovnike_in_igrisca (Pridobljeno 1.8.2013.).

UREDBA (ES) št. 1272/2008 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, o spremembi in razveljavitvi direktive 67/548/EGS in 1999/45/ES ter spremembi Uredbe (ES) št. 1907/2006.

US EPA. 2001. User's guide for the Integrated Exposure Uptake Biokinetic Model for lead in children (IEUBK) Windows® Version. Washington, DC, USA: U.S. Environmental Protection Agency.

US EPA. 2005. 3Ts For Reducing Lead in Drinking Water in Child Care Facilities: Revised Guidance. Washington: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water.

US EPA. 2007. Integrated Exposure Uptake Biokinetic Model for Lead in Children, Windows. Washington, Environmental Protection Agency. Office of Superfund Remediation and Technology Innovation.

Vidaković, A. 1997. Olovo. In: Vidaković, A. (ed.) Medicina Rada II. Beograd: Institut za medicinu rada "Dr Dragomir Karajović".

Vilarinho, C., Soares, D., Barbosa, J. in Castro, F. 2004. Leaching of Brasses in Long-Term Direct Contact with Water. MATERIALS SCIENCE FORUM, 455/456: 839-843.

Washington State Department of Health. 2006. Lead in School Drinking Water. Washington: DOH PUB. #331-255. http://www.doh.wa.gov/ehp/dw/Publications/331-255_4-17-06.pdf (1. 3. 2008).

WHO. 1987. Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. Geneva: WHO.

WHO. 2006. Guidelines for Drinking Water Quality. Geneva: World Health Organization.

WHO. 2007. Health Risks of Heavy Metals From Long-Range Transboundary Air Pollution. Geneva: World Health Organization.

WHO. 2010. Childhood Lead Poisoning. Geneva: World Health Organization.

WHO. 2011a. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Geneva: WHO.

WHO. 2011b. Guidelines for Drinking Water Quality, 4th Edition. Geneva: World Health Organization.

WHO. 2011c. Safety evaluation of certain food additives and contaminants Geneva: WHO.

Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živili. Uradni list RS št. 52/2000: str. 6949–6955.

12 PRIMER OCENE TVEGANJA OSTANKOV ATRAZINA V PITNI VODI

Ivanka Gale

12.1 Opredelitev problema

Atrazin je klorotriazinski selektivni herbicid za zatiranje letnih širokolistnih in travnatih plevelov v kmetijstvu (npr.: koruza, sladkorni trs), pogozdovanju in drugi nekmetijski rabi (npr.: ceste, železnice, pokopališča), pred in po vzniku (razpršeni vir). V okolje lahko pride tudi iz točkovnih virov (odpadki, razlitja). V Sloveniji je bil zaradi škodljivega vpliva na podtalnico prepovedan leta 2003 (Perharič et al., 2003).

V Sloveniji je iz rezultatov monitoringa pitne vode, na pipi uporabnika, razvidno, da vsako leto presega mejno vrednost pesticid atrazin in njegov metabolit desetilatrazin, zlasti na območjih, na katerih se izvaja intenzivno kmetijstvo, največ na severovzhodu države. Občasno so presegali mejno vrednost še posamezni pesticidi v posameznih letih, največ bentazon in metolaklor. Koncentracije preseženih mejnih vrednosti za posamezne pesticide, ki so bile izmerjene v okviru monitoringa pitne vode, se bile običajno tik nad mejno vrednostjo, v zadnjih desetih letih niso presegle 1 µg/L. Koncentracije v pitni vodi do 2 µg/L predstavljajo po dostopnih podatkih zanemarljivo tveganje za zdravje ljudi.

V Pravilniku o pitni vodi je atrazin uvrščen v Prilogo I, del B, kjer je določena mejna vrednost v pitni vodi, 0,10 µg/L. Pri tej mejni vrednosti je upoštevan previdnostni princip, ki izhaja iz predpostavke, da naj snovi iz skupine pesticidov v pitni vodi ne bi bilo.

Zaradi neskladnosti s Pravilnikom o pitni vodi, bi lahko odsvetovali ali celo prepovedali uporabo pitne vode. Upotevajoč dejstvo, da temelji mejna vrednost pesticidov v pitni vodi na podlagi analitske ničle in ne na podlagi toksikološke ocene tveganja, smo preverili, kolikšna bi lahko bila mejna vrednost atrazina in njegovih metabolitov v pitni vodi, ne da bi ti predstavljali tveganje za zdravje.

12.2 Določitev mejne vrednosti za pitno vodo za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite na podlagi toksikološke ocene tveganja

12.2.1 Povzetek fizikalno-kemijskih lastnosti in usode v okolju

Atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite (desetilatrazin, desizopropilatrazin, diaminoklorotriazin) najdemo v površinski in podzemni vodi zaradi mobilnosti v zemljini. Metabolit hidroksiatrazin je manj mobilan, zato ga v podzemni vodi redkeje najdemo. V površinski vodi se atrazin razgradi s fotolizo in mikroorganizmi, razpolovna doba je 10-105 dni. V prsti se razgradi s hidrolizo in mikroorganizmi, odvisno zlasti od temperature, vlage in pH; razpolovna doba je 16-77 dni, v zelo suhih ali mokrih pogojih, nižji temperaturi, večji globini je daljša. V podzemni vodi je atrazin dokaj stabilen,

našli so ga več let po uporabi (desetletje); razpolovna doba je 105 - >200 dni. Raven in pojavnost atrazina in njegovih metabolitov pada v zadnjih 20-tih letih v EU, ZDA in drugih delih sveta, zaradi omejitev uporabe in uvedbe dobrih kmetijskih praks.

12.2.2 Povzetek ocene nevarnosti

Atrazin se hitro in skoraj v celoti absorbira iz prebavil in porazdeli po telesu (največ v eritrocite, jetra, ledvica). Presnovi se predvsem v desetilatrazin in desizopropilatrazin ter se skupaj z metaboliti večinoma izloča v urinu. Ni znano, ali atrazin in metaboliti lahko prehajajo skozi placento ali preko materinega mleka.

Atrazin ima nizko akutno toksičnost pri podganah. Kratkoročne študije na živalih so pri visokih koncentracijah pokazale zmanjšano pridobivanje telesne teže in vnos hrane, rahle učinke na eritrocite, strupenost za srce. Okvare ob rojstvu (jeter, ledvic in poškodbe srca) so bile opažene pri živalih, izpostavljenih visokim koncentracijam atrazina. Vplivov atrazina na različne organske sisteme pri živalih, ob najnižjem odmerku 2 mg/kg/dan, niso našli.

Pri visokih koncentracijah povzroča atrazin motnje delovanja endokrinega sistema, moti delovanje luteinizirajočega hormona, ki vodi v disrupcijo estrogenega ciklusa (NOAEL (no-observed-adverse-effect level) je 1,8 mg/kg/dan; LOAEL (lowest-observed-adverse-effect level) je 3,65 mg/kg/dan pri podganah), kar je primerljivo z učinki na karcinogenost (za rake dojk je NOAEL 1,5 mg/kg/dan in LOAEL 3,1 mg/kg/dan).

V študijah vpliva na moško neplodnost je bilo zaradi velikih odmerkov atrazina težko ločiti med neposrednim toksičnim in specifičnim hormonskim učinkom. Po mnenju SZO-JMPR je atrazin malo verjetno genotoksičen, ni verjetno, da predstavlja nevarnost za raka pri ljudeh, ni teratogen. IARC uvršča atrazin v 3. skupino (ni mogoče razvrstiti glede rakotvornosti za človeka). Možno je, da bi ob istočasni izpostavljenosti nitratom nastajal v želodcu rakotvorni nitrozoatrazin. V želodcu so poleg kislosti pomembni še drugi dejavniki npr.: hkratni vnos drugih hranil, specifičnost organizma. Do sedaj nobena raziskava ni dokazala rakotvornega delovanja nitrozoatrazina.

JMPR je izbral kot izhodiščni NOAEL 1,8 mg/kg tm/dan. Za atrazin in kloro-s-triazinske metabolite je SZO-JMPR glede tveganja za zdravje določila skupinski sprejemljiv dnevni vnos (ADI) 0 - 0,02 mg/kg/dan (20 µg/kg/dan) in priporočeno mejno vrednost za pitno vodo, zaokroženi izračun po metodologiji za odraslo osebo 100 µg/L. Desetilatratin in desizopropilatrazin, ki ju določamo v pitni vodi sta relevantna razgradna produkta atrazina. Zanju veljajo enaki toksikološki zaključki in enake zahteve kot za atrazin. Njune izmerjene koncentracije se v parametru »Pesticidi–vsota« seštevajo.

Fitofarmacevtskih sredstev, ki vsebujejo atrazin, od leta 2004 (2004/248/EC), v državah EU, ni več dovoljeno prodajati in uporabljati. Zato ni na voljo novih študij o njegovem vplivu na zdravje ljudi in okolje. Dokument EU - Pesticides database navaja za atrazin ADI 0,02 mg/kg/dan.

12.2.3 Izračun mejne vrednosti upoštevajoč toksikološke parametre

Glede na smernice SZO smo povzeli metodologijo izračuna za določitev na toksikoloških podatkih priporočene mejne vrednosti za pitno vodo - GV (*Guideline value*), na osnovi referenčnih vrednosti, ki ne predstavljajo tveganja za zdravje ljudi: koncentracija pri kateri niso opaženi škodljivi učinki na zdravje ljudi - NOAEL (no-observed-adverse-effect level), sprejemljivi dnevni vnos - ADI (Acceptable daily intake).

Formula za sprejemljivi dnevni vnos ADI ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dan}$): $\text{ADI} = \text{NOAEL} / \text{varnostni faktor}$.

Formula za priporočeno mejno vrednost za pitno vodo GV ($\mu\text{g}/\text{L}$):

$\text{GV} = \text{ADI} \times \text{telesna teža} \times \text{vnos preko pitne vode iz lokalnega vira} / \text{volumen popite tekočine na dan}$.

Za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite je skupinski sprejemljivi dnevni vnos ADI za ljudi 0-0,02 mg/kg/dan (20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dan}$) (na osnovi NOAEL 1,8 mg/kg/dan, varnostni faktor je 100), pri katerem ne pričakujemo škodljivih učinkov na zdravje ljudi. ADI je odmerek, ki smo mu lahko, na podlagi vseh znanih podatkov, izpostavljeni vse življenje, brez tveganja za zdravje. Dnevni vnos atrazina za odraslo osebo preko pitne vode je 240 μg na dan, ob upoštevanju zaužite pitne vode 2 L na dan, 60 kg telesne teže, ob predpostavki, da znaša vnos preko pitne vode iz lokalnega vodnega vira 20 % zgornje meje ADI. Izračunan dnevni vnos npr. za 10 kg težkega otroka je 40 μg ob zaužitju enega litra vode na dan.

Za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite je izračunana priporočena mejna vrednost za pitno vodo 120 $\mu\text{g}/\text{L}$, zaokroženo 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ za odrasle in 20 $\mu\text{g}/\text{L}$ za dojenčke stare do 3 mesecev (Tabela 12.1).

12.3 Zaključek in predogi relevantnih ukrepov

Na podlagi izračunanih priporočenih mejnih vrednostih bi lahko odsvetovali ali prepovedali uporabo pitne vode za določeno starost in telesno težo npr. za pitje, pripravo živil, umivanje zob, oziroma do teh mejnih vrednosti dovolili odstopanje od predpisane mejne vrednosti, po določilih, ki jih predpisuje Direktiva Sveta 98/83/ES, oziroma Pravilnik o pitni vodi, v členih 24.-31.

Ukrepi za zmanjšanje koncentracije pesticidov v pitni vodi morajo biti usmerjeni primarno v izbiro in zaščito vodnega vira; možna rešitev je tudi zamenjava vira pitne vode. Dolgoročno je potrebno preventivno delovanje glede uporabe fitofarmaceutskih sredstev. Pri koncentracijah atrazina ali njegovih metabolitov nad predpisano mejno vrednostjo (0,10 $\mu\text{g}/\text{L}$) bi lahko po predpisanem postopku za odstopanje, za omejen čas do rešitve problema, dopustili uporabo vode kot živila tudi z višjimi koncentracijami. V postopku priprave pitne vode je možno zmanjšati koncentracijo atrazina v vodi s filtracijo skozi aktivno oglje, membransko filtracijo, nanofiltracijo.

Tabela 12.1: Izračunane priporočene mejne vrednosti za atrazin in njegove kloro-s-triazinske metabolite, po metodologiji SZO in glede na podatke EFSA o starosti in telesni teži

	ODRASLI	DOJENČKI	DOJENČKI	DOJENČKI	MALČKI	OTROCI	ADOLESCEN- TI	STAREJŠI ADOLESC.
		0-3 mes.	3-6 mes.	7-12 mes.	1-3 let	4-10 let	11-14 let	15-18 let
ADI v µg/kg/dan	20	20	20	20	20	20	20	20
Telesna teža v kg	60	4,8	6,7	8,7	11,6	21,7	42	60
Vnos iz lokalnega vira (20 % celotnega vnosa)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Volumen vode v L/dan	2	0,912	1,273	1	1,3	1,6	2,1	2
Priporočena mejna vrednost za pitno vodo	120	21	21	35	36	54	80	120

12.4 Viri

EFSA. 2012. Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal*, 10(3), str: 2579 [32 pp.]. Pridobljeno 10.8. 2016 s spletne strani: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2579>

EU Pesticides database. Pridobljeno 10. 8. 2016 s spletne strani: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>

Perharič, L, Černe, K., Družina, B., Fajfar S., Jeram S., Kolar, B., Koželj, G., Pavlič, M., Vračko, M. 2000. Poročilo o ovrednotenju tveganja za atrazin na ozemlju Republike Slovenije: dodatna obrazložitev k pogajalskim izhodiščem za prost pretok blaga. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje, Urad RS za kemikalije.

Glej tudi vire v poglavju 3.3.

13 PRIMER OCENE TVEGANJA GENOTKSIČNIH IN RAKOTVORNIH SNOVI V ŽIVILIH – POLICIKLIČNI AROMATSKI OGLJIKOVODIKI (PAH)

Stanislava Kirinčič

13.1 POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD

13.1.1 Povzetek

Predstavljen je primer ocene tveganja za zdravje ljudi zaradi prisotnosti policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) v živilih. PAH predstavljajo veliko skupino organskih spojin z dvema ali več benzenovimi obroči, ki nastajajo pri nepopolnem izgorevanju organskih snovi. Zaradi svojih lastnosti se PAH v obliki kompleksnih mešanic nahajajo povsod v okolju, tako v zraku kot tudi v prsti in vodi. Različni PAH so različno strupeni, lahko so rakotvorni, genotoksični, teratogeni, imunotoksični in povzročajo motnje hormonskega ravnovesja. Delovna skupina za onesnaževala v živilski verigi pri Evropski agenciji za varnost hrane je s pomočjo statističnih modelov izračunala referenčne vrednosti za rakotvornost pri perotalnem vnosu za posamezne PAH oziroma skupine PAH. Ljudje smo PAH izpostavljeni posredno tudi prek uživanja živil rastlinskega in živalskega izvora. K izpostavljenosti PAH odraslih prebivalcev Evropske unije (EU) največ prispevajo živila na osnovi žit zaradi velike porabe in morska hrana zaradi visokih vrednosti PAH v njej. Izpostavljenost povprečnega odraslega prebivalca EU benzo[a]pirenu znaša 3,9 ng/kg tm/dan. Primeren pristop za karakterizacijo tveganja za snovi, ki so tako genotoksične kot rakotvorne, je izračun količnika izpostavljenosti, MOE (ang. *Margin of Exposure*). Ocenjene MOE za povprečne odrasle uživalce hrane EU so nad 10.000, kar pomeni, da ni razloga za zaskrbljenost. Pri velikih uživalcih živil je bila MOE ocenjena na okoli 10.000, kar kaže na potrebo po zmanjševanju izpostavljenosti PAH. Ocena tveganja je povezana z negotovostmi, kot so nereprezentativnost podatkov o koncentracijah PAH v živilih, uporaba različnih metod določanja PAH v različnih laboratorijih in izbira modela izpostavljenosti.

Ključne besede: policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH), živila, ocena tveganja

13.1.2 Summary

An example of risk assessment to human health from the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods is presented. PAHs represent a large group of organic compounds with two or more benzene rings formed in the incomplete combustion of organic matter. Due to their properties, PAHs in the form of complex mixtures are found everywhere in the environment, both in the air, as well as in the soil and water. Different PAHs are different toxic, they can be carcinogenic, genotoxic, teratogenic, immunotoxic, and hormone disruptors. The Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain at the European Food Safety Authority estimated the reference values of oral carcinogenicity for individual PAHs and groups of PAHs using statistical models. People could be indirectly exposed to

PAHs also through the consumption of foods of plant and animal origin. Exposure to PAHs of adult population of the European Union (EU) is mainly due to high-consumption of cereal-based foods and seafood because of the high PAHs levels in it. The exposure of the average adult EU citizen to benzo[a]pyrene is 3.9 ng / kg tm/day. A suitable approach to characterizing the risk for substances that are both genotoxic and carcinogenic is the calculation of Margin of Exposure, MOE. Estimated MOE for average adult EU food consumer is over 10,000, which means a low concern for consumers health. For high level consumers, MOE was estimated at around 10,000, indicating the need to reduce PAHs exposure. Risk assessment is associated with uncertainties such as the unrepresentative nature of PAH concentrations in foods, the use of different methods for determining PAH in different laboratories and the choice of exposure model.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), foods, risk assessment

13.1.3 Uvod

13.1.3.1 Opredelitev problema

Policiklični aromatski ogljikovodiki (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*), krajše PAH, predstavljajo veliko skupino organskih spojin z združenimi dvema ali več benzenovimi obroči. Nastajajo pri nepopolnem izgorevanju ali pirolizi organskih snovi in se pojavljajo v kompleksnih mešanica. PAH, vezani na delce v zraku, se zaradi njihovih lipofilnih lastnosti stalno nalagajo v zemeljski in vodni biosistem, zato jih najdemo v prsti in sedimentih.

Ljudje smo PAH lahko posredno izpostavljeni tudi prek uživanja živil rastlinskega in živalskega izvora. Živila so lahko onesnažena s PAH iz zraka, ki se npr. zaradi požarov nahajajo v oljčnem olju ali prek onesnažene vode, zaradi katere se po razlitjih nafte in zaradi ladijskega prometa nahajajo v ribah in ribjih izdelkih ter ostali morski hrani. PAH v živilih so lahko posledica industrijske predelave živil (npr. procesi segrevanja, sušenja in dimljenja) in domače priprave živil (pečenje na žaru, praženje) (Huang in Penning, 2014).

V zadnjih letih je največja skrb PAH v povezavi z vplivi na zdravje predvsem njihova genotoksičnost in rakotvornost, zato sta ti dve lastnosti PAH ključni pri oceni tveganja za zdravje ljudi (Gad in Gad, 2014).

13.1.3.2 Zakonsko ozadje

Mejne vrednosti nekaterih policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih so predpisane v Uredbi Evropske komisije (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih (EC, 2006).

13.2 OCENA TVEGANJA

13.2.1 Ocena nevarnosti

13.2.1.1 Fizikalno kemijske lastnosti

Delovna skupina za onesnaževala v živilski verigi pri Evropski agenciji za varnost hrane (EFSA) je na osnovi podatkov o nahajanju in strupenosti leta 2008 določila širši seznam 16 vrst PAH, ožji seznam osmih PAH, PAH8 (Preglednica 1) in seznam štirih PAH, PAH4 (benzo[a]piren + krizen + benzo[a]antracen + benzo[b]fluoranten) (označeno z * v besedilu Tabele 13.1) kot možnih indikatorjev genotoksičnega in rakotvornega potenciala v živilih, z opombo, da skupina PAH8 ne predstavlja veliko več dodane vrednosti kot ožja skupina PAH4 (EFSA, 2008). Slednjim izsledkom je v letu 2011 sledila sprememba Uredbe Evropske komisije (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih (EC, 2006).

PAH so v čisti obliki pri sobni temperaturi trdne kristalinične snovi (Kim et al., 2013). Hlapnost PAH pada z njihovo naraščajočo molekulsko maso. So zelo lipofilni in se dobro topijo v organskih topilih ter organskih kislinah. Občutljivi so na svetlobo in so odporni na toploto ter so električno prevodni in fiziološko aktivni. Različne strukture obročev različnih vrst PAH specifično absorbirajo UV svetlobni spekter, kar je pomembno za njihovo identifikacijo. Večina PAH fluorescira, to pomeni, da ob vzburjanju oddaja značilne valovne dolžine svetlobe. Večina PAH lahko fotooksidira in se s tem razgradi na enostavnejše snovi. PAH so zaradi svojih fizikalno-kemijskih lastnosti prisotni povsod v okolju: v zraku, prsti in vodi, kjer se nahajajo kot kompleksne mešanice več sto posameznih PAH. Zaradi svojih lastnosti, zlasti splošne prisotnosti v okolju, so uvrščeni v skupino obstojnih organskih onesnaževal (*Persistent Organic Pollutants*), krajše POPs (UNECE, 2016).

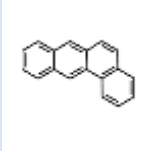
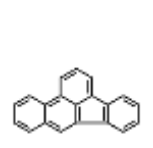
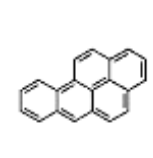
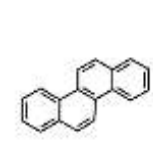
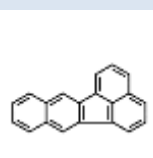

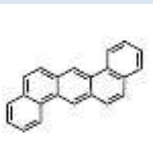
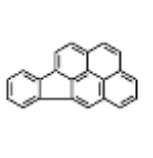
13.2.1.2 Identifikacija in karaktetrizacija nevarnosti

13.2.1.2.1 Metabolizem, kinetika in mehanizem strupenosti

Razen za benzo[a]piren ne obstaja veliko podatkov o toksikokinetiki rakotvornih PAH. Absorpcija pri zaužitju benzo[a]pirena pri sesalcih se giblje med 12 in 99 %, glede na užiti odmerki, odvisno od velikosti odmerka in vrste sesalca. Na splošno je bila opažena višja absorpcija PAH z nižjo relativno molekulsko maso. Po absorpciji se PAH hitro razporedijo v skoraj vse organe in lahko preidejo tudi skozi placento.

Pri sesalcih se PAH intenzivno metabolizirajo in se ne bioakumulirajo. Preko različnih metabolnih poti se lahko tvorijo novi reaktivni vmesni produkti, ki lahko vplivajo na mutagene/rakotvorne procese (Gad in Gad, 2014).

Tabela 13.1: Seznam osmih PAH (PAH8), ki so indikatorji genotoksičnega in rakotvornega potenciala v živilih (EFSA, 2008)

Št.	Ime PAH	Kratica	Relativna molekulska masa	CAS	Molekulska formula	Strukturna formula ¹
1	benz[a]antracen*	BaA	228,3	56-55-3	C ₁₈ H ₁₂	
2	benzo[b]fluoranten*	BbFA	252,3	205-99-2	C ₂₀ H ₁₂	
3	benzo[a]piren*	BaO	252,3	50-32-8	C ₂₀ H ₁₂	
4	krizen*	CHR	228,3	218-01-9	C ₁₈ H ₁₂	
5	benzo[k]fluoranten	BkFA	252,3	207-08-9	C ₂₀ H ₁₂	
6	benzo [ghi]perilen	BghiP	276,3	191-24-2	C ₂₂ H ₁₂	
7	dibenz[a,h]antracen	DBahA	278,3	53-70-3	C ₂₂ H ₁₄	
8	indeno[1,2,3-cd]piren	IP	276,3	193-39-5	C ₂₂ H ₁₂	

Legenda

* skupina PAH4

¹ Pridobljeno 22. 3. 2017 s spletne strani: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8799.html>.

13.2.1.2.2 Strupeni učinki po različnih poteh vnosa in po trajanju izpostavljenosti

Različni PAH so različno strupeni. Nekateri PAH so dobro poznani kot možni povzročitelji raka (rakotvornost), poškodb deoksiribonukleinske kisljine (DNK) in kromosomov (genotoksičnost), razvojnih nepravilnosti zarodka (teratogenost), škodljivih vplivov na imunski sistem (imunotoksičnost) in povzročajo motnje hormonskega ravnovesja ter so zato lahko nevarni za zdravje. Predstavljajo največjo skupino kemijskih snovi, ki povzročajo raka (Gad in Gad, 2014). Po klasifikaciji Mednarodne agencije za raziskave raka benzo(a)piren spada med rakotvorne snovi Skupine 1 (IARC, 2012).

Večina študij o škodljivih vplivih PAH na zdravje ljudi je bila narejena na osnovi izpostavljenosti pri delu z vdihavanjem ali stikom s kožo, študije o škodljivih vplivih prek uživanja hrane pri ljudeh, zlasti glede posameznih PAH, ne obstajajo (Kim et al., 2013).

Akutna (takojšnja) strupenost PAH lahko povzroči oslABLJENO delovanje pljuč z astmatičnimi in trombotičnimi učinki pri ljudeh s srčno-žilnimi boleznimi. Ni še dobro raziskano, če običajne koncentracije v zraku (manj ali enako 1 ng/m³ benzo(a)pirena v delcih PM₁₀, v bolj onesnaženih urbanih predelih v Evropi okoli 1,6 ng/m³) povzročajo akutne zdravstvene težave pri splošni populaciji. Izpostavljenost visokim koncentracijam PAH v delovnem okolju (od 100 do 470 µg/m³ benzo(a)pirena) (EFSA, 2008) povzroča simptome, kot so draženje in vnetje oči ter kože, slabost, bruhanje, zmedenost, zaviranje centralnega živčnega sistema. Antracen in benzo(a)piren lahko povzročata kožne alergije (Kim et al., 2013).

Kronični (dolgoročni) učinki PAH pri delavcih z veliko izpostavljenostjo PAH se kažejo v obliki kašlja in kroničnega bronhitisa ter v povečanem tveganju za nastanek raka na koži, pljučih, sečnemu mehurju in prebavilih. Dolgoročna izpostavljenost nizkim koncentracijam PAH povzroča raka pri laboratorijskih živalih (Kim et al., 2013). Študije izpostavljenosti živali so pokazale tudi škodljive vplive PAH na razmnoževanje in razvoj. Znano je tudi imunotoksično delovanje PAH, katerega mehanizem še ni raziskan (Gad in Gad, 2014).

13.2.1.3 Referenčni odmerki

Delovna skupina za onesnaževala v živilski verigi pri Evropski agenciji za varnost hrane (EFSA) je s pomočjo statističnih modelov ocenila referenčne vrednosti oralne rakotvornosti za posamezne PAH oziroma skupine PAH kot najnižji BMDL₁₀ (*benchmark dose lower confidence limit*) (EFSA, 2008). Vrednosti BMDL₁₀ je EFSA izpeljala s pomočjo podatkov o učinkih uživanja dveh mešanic premoga na laboratorijske živali iz študije rakotvornosti Culp et al. (1998) in so podane v Tabeli 13.2.

Tabela 13.2: Referenčne vrednosti BMDL₁₀ za oralno rakotvornost PAH (EFSA, 2008)

Marker za rakotvornost PAH v žvilih		BMDL ₁₀ [mg/dan/kg tm]
BaP	benzo(a)piren	0,07
PAH2	benzo(a)piren+krizen	0,17
PAH4	benzo(a)piren+krizen+benz(a)antracen+benzo(b)fluoranten	0,34
PAH8	Glej Tabelo 13.1	0,49

Ocena nevarnosti s pomočjo uporabe ekvivalenčnega faktorja strupenosti (*Toxic Equivalency Factor*), TEF, se ni izkazala posebej verodostojna zaradi pomanjkanja podatkov različnih PAH o njihovi rakotvornosti na osnovi oralnih študij, o načinu delovanja in o dokazih o slabi napovedljivosti rakotvornega potenciala mešanic PAH na osnovi predlaganih dosedanjih TEF vrednostih (EFSA, 2008).

13.2.2 Ocena izpostavljenosti

Ljudje smo lahko izpostavljeni PAH preko različnih poti. Za nekadilce je glavna pot preko uživanja hrane, pri kadilcih pa kajenje bistveno prispeva k izpostavljenosti. Pomembna je tudi poklicna izpostavljenost PAH. Izpostavljenost prek običajnega vdihavanja zraka na splošno prispeva relativno malo k celokupni izpostavljenosti. Na ravni prebivalcev Evropske unije k prehranski izpostavljenosti PAH največ prispevajo živila na osnovi žit (zaradi visoke porabe) in morska hrana (zaradi relativno visokih povprečnih koncentracij). Vpliv uživanja hrane na žaru in praženih živil na skupni vnos, zaradi pomanjkanja podatkov, še ni bil raziskan (EFSA, 2008).

Najbolj pogosto uporabljeni biomarkerji izpostavljenosti PAH pri človeku so vsebnosti metabolitov PAH v urinu. Trenutno še ni narejene raziskave na osnovi biomarkerjev, ki bi temeljila na kvantitativni oceni celokupne izpostavljenosti PAH iz vseh možnih virov in ki bi določila relativni prispevek iz prehrane (EFSA, 2008).

Pri oceni izpostavljenosti kombiniramo razpoložljive podatke o povprečni koncentraciji posameznih PAH oziroma njihovih skupin (npr. benzo[a]piren in PAH4) v določeni skupini živil s podatki o količini zaužitih živil. Od kakovosti obojih vrst podatkov je odvisna kakovost ocene izpostavljenosti. Poleg povprečnih uživalcev živil je priporočljivo upoštevati tudi velike uživalce določenih živil, kakor tudi specifične ranljivejših podskupin prebivalcev kot so dojenčki, otroci, nosečnice in starostniki.

13.2.2.1 Primer ocene izpostavljenosti PAH

K izpostavljenosti PAH odraslih prebivalcev EU največ prispevajo živila na osnovi žit (zaradi visoke porabe) in morska hrana. Izračunane so bile mediane prehranske izpostavljenosti različnih skupin PAH odraslih prebivalcev Evropske unije, ki so za povprečne in velike uživalce živil predstavljene v Tabeli 13.3 (EFSA, 2008).

Tabela 13.3: Mediana prehranske izpostavljenosti različnih skupin PAH odraslih prebivalcev Evropske unije za povprečne in velike uživalce živil (EFSA, 2008)

Skupina PAH	Mediana celokupne prehranske izpostavljenosti PAH odraslih prebivalcev EU			
	Povprečni uživalci živil		Veliki uživalci živil*	
	ng/dan	ng/kg tm/dan	ng/dan	ng/kg tm/dan
benzo[a]piren	235	3,9	389	6,5
PAH2	641	10,7	1077	18,0
PAH4	1168	19,5	2068	34,5
PAH8	1729	28,8	3078	51,3

Legenda

* upoštevana vsota porabe pri 97,5. percentilu za žita in žitne izdelke ter morsko hrano, za ostale skupine živil v vsoti upoštevane povprečne vrednosti porabe

13.2.3 Karakterizacija tveganja

Primeren pristop za karakterizacijo tveganja za snovi, ki so tako genotoksične kot rakotvorne, je izračun robu izpostavljenosti, MOE (ang. *Margin of Exposure*) (EFSA, 2012). MOE je razmerje med izbranim referenčnim odmerkom (v konkretnem primeru BMDL₁₀), ter izpostavljenostjo obravnavani snovi. MOE enak ali večji od 10 000 (MOE ≥ 10 000), ki je zasnovan na BMDL₁₀ (EFSA, 2017) in z upoštevanjem vseh negotovosti pri interpretaciji, predstavlja majhno tveganje glede rakotvornih učinkov.

$$\text{MOE} = \frac{\text{BMDL}_{10}}{\text{izpostavljenost}}$$

Primer karakterizacije tveganja za PAH (EFSA, 2008)

Znanstveni odbor delovne skupine za kontaminante EFSA je uporabil za namen karakterizacije tveganja PAH pristop MOE (EFSA, 2012). Izračunane MOE za povprečne in velike uživalce živil.

Tabela 13.4: MOE različnih skupin PAH odraslih prebivalcev Evropske unije za povprečne in velike uživalce živil (EFSA, 2008)

Skupina PAH	Rob izpostavljenosti (MOE) odraslih prebivalcev EU	
	Povprečni uživalci živil	Veliki uživalci živil*
benzo[a]piren	17900	10800
PAH2	15900	9500
PAH4	17500	9900
PAH8	17000	9600

Legenda

*upoštevana vsota porabe pri 97,5. percentilu za žita in žitne izdelke ter morsko hrano, za ostale skupine živil v vsoti upoštevane povprečne vrednosti porabe

Ocenjene MOE za povprečne uživalce hrane so vse nad 10 000, kar pomeni, da je tveganje za zdravje nizko. Pri velikih uživalcih živil je bila MOE ocenjena na okoli 10 000, kar kaže na potrebo po zmanjševanju izpostavljenosti (EFSA, 2012).

13.2.3.1 Komentar k negotovostim ocene tveganja za primer PAH

Ocena tveganja je povezana z negotovostmi, kot so nereprezentativnost podatkov o koncentracijah PAH v živilih, uporaba različnih metod določanja PAH v različnih laboratorijih in izbira modela izpostavljenosti. Gledano v celoti je EFSA zaključila, da je vpliv negotovosti na oceno tveganja omejen in da je bila ocena tveganja narejena konzervativno, kar pomeni, da je verjetnejša precenitev kot podcenitev tveganja (EFSA, 2008).

13.3 VIRI

CULP, S. J., GAYLOR, D. W., SHELDON, W. G., GOLDSTEIN, L. S. & BELAND, F. A. 1998. A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo a pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis*, 19, 117-124.

EC (European Commission), 2006. COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of European Union*, L 364: 5-24. (Konsolidirana verzija pridobljena 24.03.2017 s spletne strani: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1414491365248&uri=CELEX:02006R1881-20140701>).

EFSA 2008. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 6, 724-n/a.

EFSA 2012. EFSA Scientific Committee. Scientific Opinion on the applicability of the Margin of Exposure approach for the safety assessment of impurities which are both genotoxic and carcinogenic in substances added to food/feed. *EFSA Journal*, 10(3):2578.

EFSA 2017. COMMITTEE, E. S., HARDY, A., BENFORD, D., HALLDORSSON, T., JEGER, M. J., KNUTSEN, K. H., MORE, S., MORTENSEN, A., NAEGELI, H., NOTEBORN, H., OCKLEFORD, C., RICCI, A., RYCHEN, G., SILANO, V., SOLECKI, R., TURCK, D., AERTS, M., BODIN, L., DAVIS, A., EDLER, L., GUNDERT-REMY, U., SAND, S., SLOB, W., BOTTEX, B., ABRAHANTES, J. C., MARQUES, D. C., KASS, G. & SCHLATTER, J. R. 2017. Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal*, 15, e04658-n/a.

GAD, S. C. & GAD, S. E. 2014. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). In: WEXLER, P. (ed.) *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. Oxford: Academic Press.

HUANG, M. & PENNING, T. M. 2014. Processing Contaminants: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). In: MOTARJEMI, Y. (ed.) *Encyclopedia of Food Safety*. Waltham: Academic Press.

IARC 2012. International Agency for Research on Cancer World Health Organization. Agents Classified by the IARC Monographs. (Pridobljeno 25.01.2017 s spletne strani: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>).

KIM, K.-H., JAHAN, S. A., KABIR, E. & BROWN, R. J. C. 2013. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*, 60, 71-80.

UNECE 2016. United Nation Economic Commission for Europe. Protocol on Persistent Organic Pollutants (POPs) (Pridobljeno 25.01.2017 s spletne strani: http://www.unece.org/env/lrtap/pops_h1.html).

14 PRIMER OCENE TVEGANJA MATERIALOV NAMENJENIH STIKU Z ŽIVILI – NIKELJ IZ PEKAČA

Mateja Bolčič Tavčar

14.1 POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD

14.1.1 Povzetek

Znano je, da lahko iz predmetov ki prihajajo v stik z živili določene snovi prehajajo v živila. Primer ocene tveganja obravnava možno migracijo niklja iz pekača v hrano. Z analizami migracij kovin je bilo določeno, da 0,85 mg niklja iz pekača prehaja v kg simulanta, kar presega vrednost določeno v smernici, ki jo je izdal EDQM. Za pripravo ocene tveganja smo najprej poiskali podatke o nevarnosti niklja in določili dopustni dnevni vnos niklja pri vnosu iz predmetov, ki prihajajo v stik z živili. Le ta znaša 0,0024 mg/kg tm/dan, kar predstavlja 20 % TDI za nikelj. Sledil je stopenjski pristop k oceni izpostavljenosti, pri kateremu smo se poslužili različnih EFSA smernic. Predvidevali smo, da se pekač lahko uporabi pri peki mesa, zelenjave, različnih narastkov in peciva, kar nam je služilo kot izhodišče za iskanje podatkov o vnosu za določen tip hrane. Zardi pomanjkanja podatkov o vnosu hrane za Slovence, smo iz Evropske baze o vnosu hrane za prikaz računanja vzeli podatke za Italijane, ki pojedjo razmeroma veliko zelenjave in testenin. Upoštevali smo tako vnos hrane za otroke, kot za odrasle. Ugotovili smo, da izračunana izpostavljenost potrošnika zaradi prehajanja niklja iz pekača znatno presega referenčno vrednost in lahko predstavlja tveganja za zdravje.

14.1.2 Summary

It is known that from objects that come in contact with food certain substances can migrate into foods. The presented example of a risk assessment addresses the possible migration of nickel from the baking tray into food. It was determined that 0.85 mg of nickel migrates from the baking tray into a kg of simulants. The obtained value exceeded the referenced value specified in the guidelines issued by EDQM, so a risk assessment had to be prepared. First, we searched for nickel hazard data and defined the tolerably daily intake of nickel when migrating from consumer product in contact with food (0.0024 mg/kg bw/day, representing 20 % TDI for nickel). A step-by-step approach to the exposure assessment was followed, using different EFSA guidelines. It was assumed that the baking tray can be used for meat roasting, baking vegetables, pasta and desserts. The assumption served as a starting point to search for data on food consumption for a specific type of food. Due to lack of food consumption data for Slovenians, EFSA Comprehensive European Food Consumption Database for Italians, who ate relatively large amounts of vegetables and pasta was taken. Children and adults were taken into account. The performed risk assessment showed that the calculated consumer exposure due to nickel migration from the baking tray significantly exceeded the allocated reference value and could pose a risk for health.

14.1.3 Uvod

Iz predmetov ki prihajajo v stik z živili, lahko nekatere snovi med pripravo hrane in hrambo prehajajo v živila. Pri relevantnih količinah lahko te snovi predstavljajo tveganje za zdravje potrošnika. Z namenom, da zaščitimo zdravje potrošnika, je potrebno izdelati ocene tveganja za snov/kovino, ki prehaja iz predmeta v živilo za tiste snovi, ki niso urejene s posameznimi predpisi. Ocena tveganja je sestavljena iz identifikacije in karakterizacije nevarnosti, ocene izpostavljenosti in karakterizacije tveganja. Primer prikazuje oceno tveganja za pekač iz nerjavnega jekla, ki se namenjen peki mesa, zelenjave, različnih narastkov in peciva.

Pri uporabi smernic za izdelavo ocene tveganja, je zelo pomembno da v primeru, ko imamo že določene mejne vrednosti, vemo, na podlagi katerih podatkov so bile le te določene. Potrebno je preveriti, ali ta vrednost še velja oziroma so na voljo novi podatki, ki lahko referenčno vrednost spremenijo. Na splošno to velja za vse podatke, ki jih pogosto najdemo in uporabimo iz preglednih dokumentov in so odločilni pri pripravi ocene tveganja. Pri oceni tveganja je potrebno upoštevati najnovejše trenutno razpoložljive relevantne podatke.

14.1.3.1 Rezultati migracij in SRL (*specific release limit*)

Ali določena snov prehaja iz predmeta v stiku z živilom v živilo določimo s kemijskimi analizami. Na podlagi rezultatov kemijske analize prehajanja kovin iz pekača v očetno kislino (simulant) smo določili, da iz pekača prehajajo kovine: krom (Cr), nikelj (Ni) in mangan (Mn) v koncentracijah: 0,15, 0,85 in 0,58 mg/kg. Za primer izdelave ocene tveganja, smo prikazali fiktivne koncentracije. Velja, da izbrani simulanta predstavlja čim bolj realno uporabo predmeta v stiku z živili (P-SC-EMB, 2013). V našem primeru očetna kislina lahko prestavlja kuhanje hrane z dodatkom vina, paradižnikovo mezgo, uporabo kislih sadežev, ter tako predstavlja najslabši možni scenarij za migracijo kovin, saj so kovine dobro topne v kislem.

Mejne vrednosti migracije kovin iz materialov namenjenih stiku z živili v Evropski Uniji zakonsko niso določene, zato je potrebno za varnost potrošnikov oceniti tveganje za zdravje.

Rezultate prehajanja kovin v simulant smo primerjali s specifičnimi mejami migracij za posamezne kovine (SRL - *specific release limit*) določenih v smernici ki jo je izdal Evropski direktorat za kakovost zdravil in za zdravstveno varstvo (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM) (P-SC-EMB, 2013). SRL so določili na podlagi nevarnih lastnosti in kumulativne izpostavljenosti kovini (iz več virov vnosa), kjer je bilo to mogoče, upoštevajoč, da 60 kg težka oseba poje 1 kg hrane. Vrednosti pod SRL naj bi zagotavljale varnost in primerno kakovost kovinskih materialov in izdelkov namenjenih stiku z živili in ustrezno zaščito zdravja potrošnika.

Tabela 14.1: Prikaz migracij kovin v simulant [mg kovine/kg simulanta] in določenih SRL vrednosti

KOVINA	MIKRACIJA V SIMULANT [mg/kg]	SRL [mg/kg]
krom (Cr)	0,15	0,250 (1,0)
nikelj (Ni)	0,85	0,14 (0,7)
mangan (Mn)	0,58	1,8

14.2 OCENA TVEGANJA

14.2.1 Ocena nevarnosti

14.2.1.1 Značilnosti niklja, uporaba in sproščanje v živila

Nikelj najdemo v naravi, večinoma v obliki sulfidov, oksidov in silikatnih materialov. Najdemo ga v hrani. Naravno prisoten nikelj prehaja iz zemlje v rastline in se v njih akumulira. Prisotnost niklja v hrani je lahko tudi kot posledica prehajanja niklja iz kuhinjskih pripomočkov v stiku z živilom. Nikelj so našli v večjih količinah v čokoladi (8–12 mg/kg), soji, ovseni kaši in lešnikih (do 2,3 mg/kg). Uporablja se v proizvodnji zlitin in prevlek; nerjavno jeklo, ki vsebuje nikelj je zelo odporno na korozijo. S ponavljajočim kuhanjem, naj bi se migracije niklja iz kuhinjskih pripomočkov v hrano zmanjševale in celo pri neki točki stagnirale. Kljub temu ni nobenega zagotovila, da bodo le te padle pod mejo SRL in bodo tako še naprej pomembno pripevale k vnosu niklja s hrano. Povprečen doprinos niklja iz kuhinjskih pripomočkov ni znan, lahko pa se zaradi tega poveča izpostavljenost niklju s hrano do 1 mg/dan. Vrednosti prehajanja niklja iz pripomočkov lahko v okviru rednih nadzorov najdemo tudi v poročilih sistema hitrega obveščanja RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed).

14.2.1.2 Identifikacija in karakterizacija nevarnosti

Kot je razvidno iz tabele, nikelj presega tako vrednost SRL (0,14 mg/kg), kot priporočeno vrednost (0,7 mg/kg). Predlog je, da bi SRL 0,7 mg/kg uporabile države članice EU, ki se bodo tako odločile v prehodnem odboju implementacije v nacionalno zakonodajo. Zaradi preseganja SRL smo nikelj identificirali kot potencialno nevarno kovino. Smatrali smo, da mejna vrednost v smernici predstavlja neke vrste »first tier« oceno, ki bi se jo da še rafinirati.

Podatke za identifikacijo in karakterizacijo nevarnosti smo privzeli iz smernice »Metals and alloys used in food contact materials and articles« (P-SC-EMB, 2013) in dokumenta (Van Paemel in ostali, 2010). Informacije o nevarnosti niklja smo pridobili na spletnih straneh Evropskega urada za kemikalije – ECHA (<https://echa.europa.eu/sl/information-on-chemicals>, <https://echa.europa.eu/sl/information-on-chemicals/cl-inventory-database>), Evropske Agencije za varnost hrane – EFSA

(<http://www.efsa.europa.eu/>) ter iz podatkovnih baz, kot je npr. TOXNET (<https://toxnet.nlm.nih.gov/>).

14.2.1.2.1 Absorpcija, porazdelitev, metabolizem, izločanje in ključni učinki

Oralna absorpcija niklja je pri ljudeh 1–25%. Do manjše absorpcije niklja pride skupaj z vnosom hrane kot so mleko, kava, čaj in pomarančni sok. Nočno stradanje pa obratno poveča absorpcijo niklja. Absorbiran nikelj se večinoma izloči z urinom, manj z žolčem, znojem in človeškim mlekom. Razpolovni čas izločanja z urinom je od 20 do 60 ur, kar je razmeroma hitro. Kljub temu, nalaganje niklja v telesu ni izključeno. Tarčni organi za nikelj, kjer se tudi največ časa zadrži, so: ledvice, pljuča, možgani in vranica. Toksični učinki niklja so razmeroma nespecifični; največkrat zabeleženi neželeni učinek je kontaktni dermatitis. Zaužitje niklja lahko pri ljudeh, ki so preobčutljivi na nikelj, poslabša alergijski kontaktni dermatitis. Zabeležen najmanjši oralni odmerek, ki je privedel do poslabšanja stanja, je 500 µg/dan oziroma 8 µg/kg tm/dan. Pri študijah na živalih, ki so prejemale nikelj oralno, so ugotovili učinke na ledvice, vranico, pljuča, krvotvorni sistem in povečanje perinatalne smrtnosti potomcev. Nikelj in njegove spojine so razvrščeni v Prilogi VI Uredbe (ES) št. 1727/2008 (Uredba 1272/2008). Razvrstitev niklja je : Rakotvorno skupine 2 ; H351¹¹, STOT RE 1¹², H372¹³, Skin Sens. 1⁶ ; H317¹⁴. Nikljeve soli, sulfidi in nekatere druge spojine imajo precej strožjo razvrstitev (Rakotvorno 1A, Mutageno 2, Strupeno za razmnoževanje 1B).

14.2.1.3 Določitev varne meja uživanja niklja pri dolgodobni izpostavljenost

Identifikacija in karakterizacija nevarnosti spojin je pomembna pri ovrednotenju akutnih in kroničnih toksičnih učinkov in za določitev ustreznih toksikoloških referenčnih vrednosti. Izpostavljenost ljudi/potrošnikov, v našem primeru, niklju, ki je pod referenčno vrednostjo, ne predstavlja tveganja za zdravje. Dopustni dnevni vnos (*Tolerably daily intake* -TDI) za nikelj je že določen s strani Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) in znaša 0,012 mg/kg tm/dan. Določili so ga na podlagi oralnega »provokacijskega« testa na teščih posameznikih, ki so preobčutljivi na nikelj. TDI je bil določen na podlagi LOAEL 0.012 mg/kg tm/dan, torej brez upoštevanja varnostnega faktorja. Na podlagi te vrednosti so v smernici (P-SC-EMB, 2013) določili SRL, upoštevajoč 20% dodelitveni faktor (*allocation factor*) zaradi nezadostnih Evropskih podatkov o oralnem vnosu niklja in dnevem vnosu 1 kg hrane pri osebi s tm 60 kg.

Ko se pri oceni tveganja odločimo, da bomo uporabili že določeno referenčno vrednost s strani priznanih organizacij, je zelo pomembno da vemo, katere podatke je organizacija uporabila pri njeni odločitvi. Torej, referenčna vrednost, ki jo bomo uporabili na primeru prehajanja niklja iz pekača v hrano je 20% TDI. Seveda, moramo vsakič ko delamo oceno tveganja preveriti, ali je določena TDI vrednost še vedno v veljavi.

¹¹ H351 - Sum povzročitve raka.

¹² STOT RE 1 - Specifična strupenost za ciljne organe (STOT) skupine 1 – ponavljajoča se izpostavljenost.

¹³ H372 - Škoduje organom pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti.

⁶ Skin Sens. 1 - Preobčutljivost kože.

⁷ H317 - Lahko povzroči alergijski odziv kože.

Slika 9: Prikaz določitve SRL za nikelj

Določitev SRL_{Ni}

$$0,0024 \text{ mg/kg tm/dan (20 \% TDI)} \times 60 \text{ kg tm} / 1 \text{ kg hrane/dan}$$



$$SRL_{Ni} = 0,14 \text{ mg/kg}$$

14.2.2 Ocena izpostavljenosti

14.2.2.1 Prikaz stopenjskega pristopa k oceni izpostavljenosti

Če se odločimo, da za oceno izpostavljenosti privzamemo privzeto vrednost 1kg za zaužitje hrane, ki je v stiku s konkretnim pripomočkom in privzeto vrednost za telesno maso 60 kg (EC SCF, 2001 in EFSA, 2012) nadaljnja ocena tveganja ni potrebna, saj je že karakterizacija tveganja že upoštevana pri določanju SRL vrednosti (P-SC-EMB, 2013). Privzeti vrednosti za vnos hrane in telesno maso trenutno uporablja tudi Svet za snovi, ki prihajajo v stik z živili, encime, arome in pomožna tehnološka sredstva (The Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids) pri EFSA, ki preučuje tudi možnost drugih načinov ocene vnosa hrane (EFSA, 2012). Princip uporabe privzetih vrednosti je prvo stopenjska ocena (*first tier*).

Prvo stopenjsko oceno lahko glede izpostavljenosti, rafiniramo s pomočjo: modelov izpostavljenosti za materiale namenjene stiku z živili in nacionalnih podatkov o vnosu živil. Če nimamo naštetih podatkov, si lahko pomagamo z Evropsko bazo o vnosu hrane (EFSA 2011). V tej bazi so podatki za akutni in kronični vnos živil izraženi v g hrane/dan in g hrane/kg telesne teže/dan pridobljeni v posameznih državah članicah, po starosti, po porabnikih točno določenih živil in skupno. Kjer niso imeli podatka o telesni masi (tm), so vrednosti določili na osnovi povprečne telesne mase posameznikov podobne starostne skupine in spola znotraj iste raziskave. Za identifikacijo velikih uživalcev hrane, se pogosto za podajanje podatkov poslužujemo 95., 97,5. in celo 99,9. percentilov. Živila v podatkovni bazi so razvrščena v 20 skupin s pripadajočimi podskupinami. Za pravilno interpretacijo podatkov baze priporočamo preučitev za to namenjene smernice (EFSA, 2008). To baze lahko štejemo konzervativno, saj je podajanje porabe živil po skupinah in podskupinah. Npr. podskupina zelenjave – listnata zelenjava vsebuje tako solato, ki je običajno zaužijemo surovo, kot špinačo, ki jo kuhamo. Zato bomo pri uporabi podatkov za primer kuhane zelenjave upoštevali večji vnos kot je bil dejanski. Za točne podatke o zelenjavi, ki jo lahko kuhamo, bi praviloma morali iti v podskupine živil in izločiti te, ki niso

namenjeni naši uporabi, vendar surovi podatki niso na razpolago in zato izračuna izpostavljenosti za točno določeno živilo ni mogoče narediti. Če delamo oceno tveganja za uporabo predmeta v stiku z živilo za nacionalne potrebe, je vedno bolje uporabiti nacionalne podatke, če jih seveda imamo na razpolago. Evropsko bazo o vnosu hrane lahko uporabimo kot orodje za hitro ovrednotenje izpostavljenosti, da dobimo približen vpogled v vrednosti kronične in akutne izpostavljenosti nevarnim snovem.

Spremenljivka, ki jo tudi lahko rafiniramo, je tm izpostavljenih oseb na podlagi nacionalnih podatkov. Če teh nimamo, uporabimo privzete vrednosti, npr. EFSA vrednosti (EFSA, 2012).

14.2.2.2 Izračun izpostavljenosti

Za oceno izpostavljenosti niklju iz pekača smo upoštevali uporabo pekača na podlagi izkušenj in si zamislili scenarij kuhanja/peke, ki je zajemal pripravo testenin, zelenjave, mesa in sladice. V primeru, da ima izdelek deklarirano uporabo, jo upoštevamo pri oceni tveganja. Ker podatkov za kronično porabo hrane Slovencev ni v Evropski bazi o vnosu hrane (EFSA, 2011), smo za prikaz računanja vzeli podatke za bližnje sosede, Italijane, ki pojedjo razmeroma veliko zelenjave in testenin. Enota za vnos hrane je g hrane/kg tm /dan, zato podatka o telesni masi ne bomo potrebovali.

Tabela 14.2: Prikaz vnosa hrane za odrasle (Italijani)

	Vnos odraslih [g/kg tm/dan]				
	povprečje	mediana	P95	P97,5	P99
testenine	0,9	0,8	1,7	1,9	2,3
zelenjava	3,5	3,1	7,0	8,1	9,3
meso	1,7	1,5	3,3	3,8	4,7
prigrizki, sladice	0,5	0,4	1,7	2,2	2,6
Vsota	6,0	5,4	12,0	13,8	16,3

Legenda

P95 – 95. percentil

P97,5 – 97,5. percentil

P99 – 99. percentil

Tabela 14.3: Prikaz vnosa hrane za otroke (Italijani)

	Vnos malčkov [g/kg tm/dan]*				
	povprečje	mediana	P95	P97,5	P99
testenine	3,6	3,3	6,6	9,3	9,3
zelenjava	5,8	4,5	21,6	21,7	21,7
meso	3,7	3,4	7,5	10,3	10,3
prigrizki, sladice	2,1	1,9	4,6	4,6	4,6
Vsota	13,1	11,2	35,8	41,3	41,3

Legenda

*število opazovanj je bilo manj kot 60; zato je možno, da 95. percentil in višji percentili nimajo zadostne statistične moči

P95 – 95. percentil

P97,5 – 97,5. percentil

P99 – 99. percentil

Da bi zajeli čim večji delež populacije, smo uporabili porabo hrane 95. percentila. 95. percentil za npr. malčke pomeni, da je vnos hrane pri 95 % malčkov 35,8 mg/kg tm/dan ali manj. Čeprav obstaja možnost, da pri malčkih vrednosti statistično niso dovolj močne, menimo, da izračuni odražajo dejansko razmerje med odraslimi in malčki pri porabi hrane. Malčki lahko na enoto telesne mase vnesejo večjo količino hrane in posledično večjo količino onesnaževala. V našem primeru je to 3-kratna količina (glej tabeli), kar se tudi sklada z navedbami EFSA (EFSA, 2012). Vedno obstaja možnost, da izpostavljenost precenimo ali podcenimo. Nekateri eksperti se odločijo za naslednji pristop: za dve kategoriji hrane, ki predstavljata večji delež izpostavljenosti, uporabijo 95. percentil; za drugi dve pa povprečje. Ta pristop se lahko uporabi le, ko imamo majhno število kategorij živil.

Izračunana izpostavljenost (mg Ni/kg tm/dan) = prehajanje Ni (mg/g hrane) x vnos hrane (g hrane/kg tm/dan)

odrasli: 0,0102 mgNi/kg tm/dan

otroci: 0,0304 mgNi/kg tm/dan

14.2.3 Karakterizacija tveganja

Tveganje okarakteriziramo tako, da podatke o izpostavljenosti primerjamo z referenčno vrednostjo določeno pri karatkterizaciji nevarnosti.

Karakterizacija tveganja = Izračunana izpostavljenost/referenčna vrednost (20 % TDI Ni)

odrasli: 4,25 (425 % referenčne vrednosti)

otroci: 12,67 (1267 % referenčne vrednosti)

14.2.3.1 Negotovosti

Prikazana ocena tveganja vsebuje nekaj negotovosti:

- Scenarij izpostavljenosti temelji na osebnih izkušnjah avtorice ocene tveganja.
- Uporabljene količine dnevnega vnosa živil
 - o so konzervativne;
 - o niso specifične za Slovenijo;
 - o upoštevana je celotna skupina živil, npr. vsa zelenjava, čeprav se v pekaču v realnosti ne pripravlja vsa zelenjava.
- Princip določanja dnevnega vnosa ni enoten zaradi raznolikosti dostopnih podatkov
 - o v nekaterih primerih v količini živila na osebo brez navedbe telesne mase;
 - o v drugih v količini živila na telesno maso.

Navedene negotovosti prispevajo h konzervativnosti ocene.

14.3 OVREDNOTENJE TVEGANJA

Izračunana izpostavljenost potrošnika zaradi prehajanja niklja iz nerjavnega pekač znatno presega referenčno vrednost in lahko predstavlja tveganja za zdravje. Preskusni vzorec ni varen v smislu 3. člena Uredbe (ES) št. 1935/2004 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 27. oktobra 2004 o materialih in izdelkih, namenjenih za stik z živilo, in o razveljavitvi direktiv 80/590/EGS in 89/109/EGS.

14.4 VIRI

EC SCF (2001). Guidelines of the Scientific Committee on Food for the presentation of an application for safety assessment of a substance to be used in food contact materials prior to its authorisation. SCF/CS/PLEN/GEN/100Final. Dostopno 2. 3. 2016 na:

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out82_en.pdf

EFSA (2008). Guidance Document for the use of the Concise European Food Consumption Database in Exposure Assessment. EFSA/DATEX/2008/01. Dostopno 2. 3. 2016 na:

<https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/datexfooddbguidance.pdf>

EFSA (2011). Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in Exposure Assessment. EFSA Journal, 9(3), str. 2097. Dostopno 2. 3. 2016 na:

<http://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>.

EFSA (2012) Scientific Committee; Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. EFSA Journal, 10(3), str. 2579. Dostopno 2. 3. 2016 na:

<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2579>,

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2012.2579/full>

P-SC-EMB (Committee of Experts on Packaging Materials for Food and Pharmaceutical Products). (2013). Metals and alloys used in food contact materials and articles. 1. izdaja. [na spletu] Strasbourg: Council of Europe, str. 1-213. Dostopno 1. 3. 2016 na: <https://www.edqm.eu/en/food-contact-materials>.

RASF. The Rapid Alert System for Food and Feed. Dostopno 2. 3. 2016 na:

https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en.

Uredba (ES) št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, o spremembi in razveljavitvi direktiv 67/548/EGS in 1999/45/ES ter spremembi Uredbe (ES) št. 1907/2006. Uradni list Evropske unije, L353/1.

Van Paemel, M., Dierick, N., Janssens, G., Fievez, V., De Smet, S. (2010). Selected trace and ultratrace elements: Biological role, content in feed and requirements in animal nutrition – Elements for risk assessment. EFSA Supporting Publication, 7(7):EN-68, str. 1132. Dostopno 2. 3. 2016 na:

<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-68>

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2010.EN-68/abstract>

15 PRIMER UPORABE MODELA IEUBK ZA OCENO IZPOSTAVLJENOSTI OTROK SVINCU

Matej Ivartnik

15.1 POVZETEK V SLOVENŠČINI IN ANGLEŠČINI TER UVOD

15.1.1 Povzetek

Toksične kovine povezujemo z različnimi škodljivimi vplivi na zdravje ljudi in okolja. Kovine so v okolju naravno prisotne, zaradi človekove dejavnosti pa se je njihova distribucija v okolju zelo spremenila. V določenih okoljih predstavljajo, zaradi višjih koncentracij in bolj dostopnih oblik, tveganje za zdravje tam živečih ljudi.

Eden najbolj značilnih predstavnikov skupine je svinec, ki je še posebej nevaren za zdravje otrok do 7. leta starosti, ki so del populacije z največjo občutljivostjo in izpostavljenostjo. Danes so pomembni predvsem kronični učinki na zdravje, do katerih pride zaradi dolgotrajne izpostavljenosti svincu. Svinec vstopa v telo po različnih poteh, največkrat preko prebavil, redkeje preko dihal in kože. Varnega odmerka za vnos svınca ni, vnos v telo pa je povišan v okoljih, kjer so koncentracije svınca višje. Na območjih nekdanjih rudnikov in topilnic lahko najdemo višje koncentracije svınca v prahu (v zraku in na površinah), v zemlji, v pitni vodi in v hrani.

Svinec je globalno ena najbolj tradicionalnih in raziskanih okoljskih nevarnosti za zdravje otrok. Razvitih je bilo kar nekaj matematičnih modelov, ki na podlagi podatkov o izpostavljenosti podajo oceno koncentracije svınca v krvi. Model IEUBK (*Integrated Exposure Uptake Biokinetic*), ki ga je razvila Agencija Združenih držav Amerike za varovanje okolja (*United States Environmental Protection Agency - US EPA*), je eden najbolj izpopolnjenih modelov. Model na podlagi vnesenih podatkov o izpostavljenosti svincu iz različnih virov izračuna najverjetnejšo vsebnost svınca v krvi otrok in oceni doprinos posameznih virov k skupnemu vnosu svınca v telo. Model se je izkazal kot dober pripomoček za oceno tveganja za zdravje otrok, ki na nekem območju živijo oz. bi tam v prihodnosti živeli. S tega vidika je model uporaben pri načrtovanju ukrepov za sanacijo območij onesnaženih s svincem in ocenjevanju primernosti lokacij za načrtovano bodočo naselitev.

15.1.2 Summary

Toxic metals are associated with various adverse effects on human health and the environment. Metals are naturally present in the environment, but due to human activities, their distribution in the environment has changed a lot. In certain environments they pose especially high risk for health of people living there.

One of the most typical representatives of the group is lead, which is particularly dangerous for the health of children under 7 years of age, who are part of the population with the highest sensitivity and exposure. Nowadays, chronic health effects, which occur due to prolonged exposure to lead, are particularly important. Lead enters the body by various routes, mostly through the gastrointestinal tract. There is no reference dose for lead intake established; intake is higher in environments with high lead concentrations. Concentrations of lead in dust (in the air and on surfaces), in soil, drinking water and food are higher in areas of previous mines and smelters.

Lead is one of the most traditional and researched environmental threats to children's health. Several mathematical models for blood lead concentration prediction, based on data on environmental exposure have been developed. Model IEUBK (Integrated Exposure Uptake Biokinetic), developed by the US EPA, is one of the most sophisticated designs. Model calculates the most likely blood lead concentration in children and assesses the contribution of individual exposure sources to the total intake of lead in the body. Calculation is based on the entered data on lead exposure from different environmental sources. The model has proved to be a good tool for assessing the risk to children's health, which are or will be living in the area. From this perspective, the model is useful when planning remediation for the rehabilitation of the lead-contaminated areas in the world and assessing the suitability of locations planned for future settlements.

15.1.3 Uvod

Svinec je kemijski element s simbolom Pb in atomskim številom 82. Je težka, toksična kovina belo modre barve, ki na zraku potemni v značilno sivo. Svinec je možno enostavno ulivati in oblikovati in je dobro odporen na korozijo. Svinec se je uporabljal ali se še uporablja: kot gradbeni material, pigment v barvah in keramičnih glazurah, material za vodovodno napeljavo, uteži, strelivo, v proizvodni akumulatorskih baterij, dodatek bencinu, v proizvodnji stekla. Svinec je človek začel uporabljati že pred 7000 leti, v zadnji četrtini 20. stoletja pa je bila njegova uporaba zaradi znanih škodljivih učinkov na okolje in zdravje na številnih področjih prepovedana oz. vsaj bistveno zmanjšana (ATSDR, 2007).

15.2 OCENA NEVARNOSTI

Svinec se v okolju sicer pojavlja naravno, vendar so se njegove koncentracije v bivalnem okolju zaradi človekove aktivnosti v zadnjih 300 letih povišale za več kot 1000 krat. Zaradi večje izpostavljenosti in napredka medicine so ugotovili, da je svinec zdravju škodljiv. Najprej so opažali akutne zastrupitve, predvsem poklicno izpostavljenih, kasneje pa tudi splošnega prebivalstva in predvsem otrok. Zanimivo je, da je še pred dobrimi 50 leti bila podana diagnoza zastrupitve s svincom le v primerih, ko je otrok kazal značilne znake akutne encefalopatije. V začetku 21. stoletja se zdravstvena in ekološka stroka spopadata predvsem s problemom velike razširjenosti svinca v naravnem in bivalnem okolju in trajne izpostavljenosti ljudi sorazmerno nižjim koncentracijam svinca ter s tem povezanimi kroničnimi vplivi na zdravje. Najpogostejši škodljivi učinki so: hiperaktivnost, težave pri fini motoriki, podaljšan reakcijski čas, poslabšana koordinacija rok in oči ter slabši rezultati pri inteligenčnih testih (ATSDR, 2007). Za nadaljnje podrobnosti glej 11.2.3.

15.3 OCENA IZPOSTAVLJENOSTI IN OCENA TVEGANJA Z MODELOM IEUBK

Koncentracija svınca v krvi otrok je odraz izpostavljenosti otrok svíncu v njihovem bivalnem okolju. To pomeni, da lahko na podlagi obremenjenosti okolja s svíncem ocenimo tudi vsebnost svınca v krvi otrok.

Koncentracija svınca v krvi je uveljavljen kazalec izpostavljenosti in tveganja za zdravje ljudi. Če je še pred 40 leti veljalo, da koncentracija svınca v krvi do 400 µg/L ne predstavlja tveganja za zdravje, danes vemo, da se škodljivi vplivi na zdravje otrok, ki so najbolj občutljiva skupina populacije, lahko pojavljajo že pri precej nižjih koncentracijah. Do leta 2012 je Center za nadzor bolezni (*Center for Disease Control and Prevention* - CDC) navajal za mejo zaskrbljenosti svınca v krvi otrok 100 µg/L, od leta 2012 pa za polovico nižjo vrednost, to je 50 µg/L (CDC, 2012). V skladu z najnovejšimi izsledki naj bi bila koncentracija svınca v krvi čim nižja (AAP COEH, 2016).

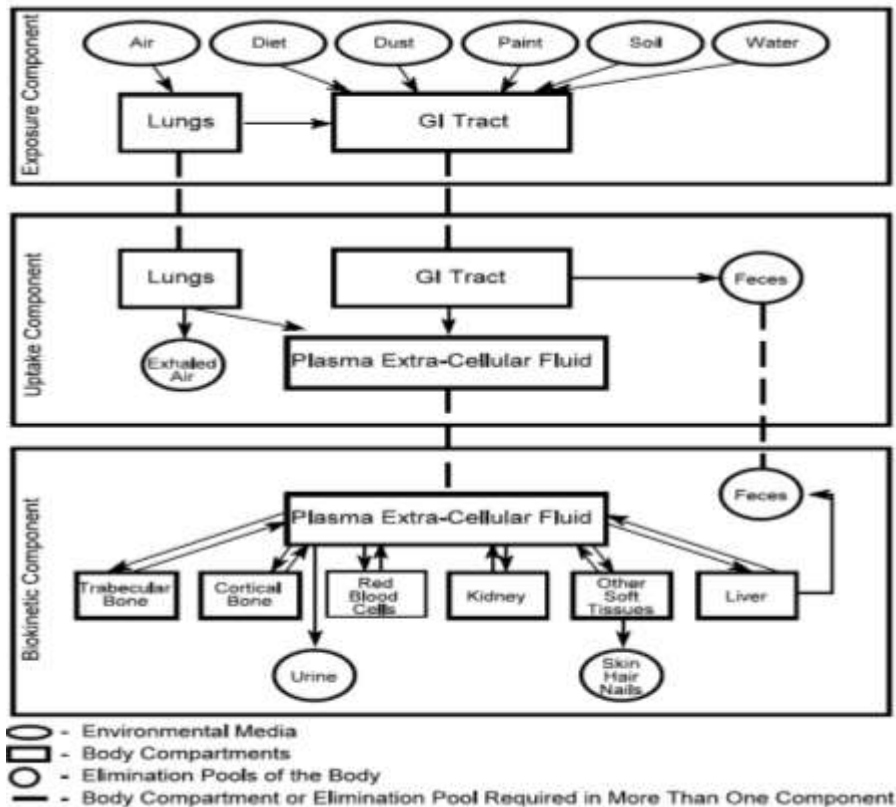
Pri oceni izpostavljenosti so nam lahko v pomoč matematični oz. računalniški modeli. V nadaljevanju je predstavljen model IEUBK. Model je razvila Agencija Združenih držav Amerike za varovanje okolja in je eden najbolj izpopolnjenih modelov.

Model IEUBK je namenjen specifični uporabi za oceno tveganja zaradi izpostavljenosti svíncu, pri čemer je tveganje ocenjeno na podlagi napovedane koncentracije svınca v krvi. Model obravnava samo najbolj občutljivejšo skupino populacije, majhne otroke. S tega vidika sta nevarnost in občutljivost populacije v modelu upoštevana in je pri ocenjevanju tveganja pomembno predvsem oblikovanje različnih scenarijev izpostavljenosti.

Model IEUBK je računalniško podprto orodje, ki na podlagi vnesenih podatkov o koncentracijah svınca v različnih virih izpostavljenosti (zrak, pitna voda, prehrana, zemlja in prah) izračuna najverjetnejšo vsebnost svınca v krvi otrok, ki v tem okolju živijo, oziroma verjetnost, da bo presežena določena koncentracija (referenčna vrednost), ki nas zanima. Model je uporaben za napoved vsebnosti svınca v krvi otrok do 7. (6-84 mesecev) leta starosti. Napoved je mogoča glede na starost otrok po enoletnih intervalih – torej 6 mesecev do 1 leta starosti, 1-2 leti starosti, 2-3 leta starosti itd., pri čemer so upoštevane razlike v vnosu in metabolizmu pri različnih starostih otrok (US EPA, 1994).

Model se je razvil iz enostavnejših modelov, ki bodisi niso dovolj natančno zajeli različnih vidikov izpostavljenosti otrok, bodisi niso dovolj natančno upoštevali kinetike svınca od njegovega vstopa v telo, nalaganja in razporeditve znotraj telesa, do njegovega izločanja iz telesa. Sestavljajo ga štiri moduli. Modul izpostavljenosti izračuna povprečen dnevni vnos svınca v telo na podlagi znanih podatkov o koncentraciji svınca v posameznih virih izpostavljenosti specifičnih vnosov le teh v telo. Modul sprejema izračuna količino svınca absorbiranega v krvni obtok otroka iz količine vnesenega svınca v pljuča in prebavni trakt. Biokinetični modul simulira razporeditev absorbiranega svınca med krvjo in preostalimi telesnimi tkivi in njegovo izločanje iz telesa (Slika 15.1).

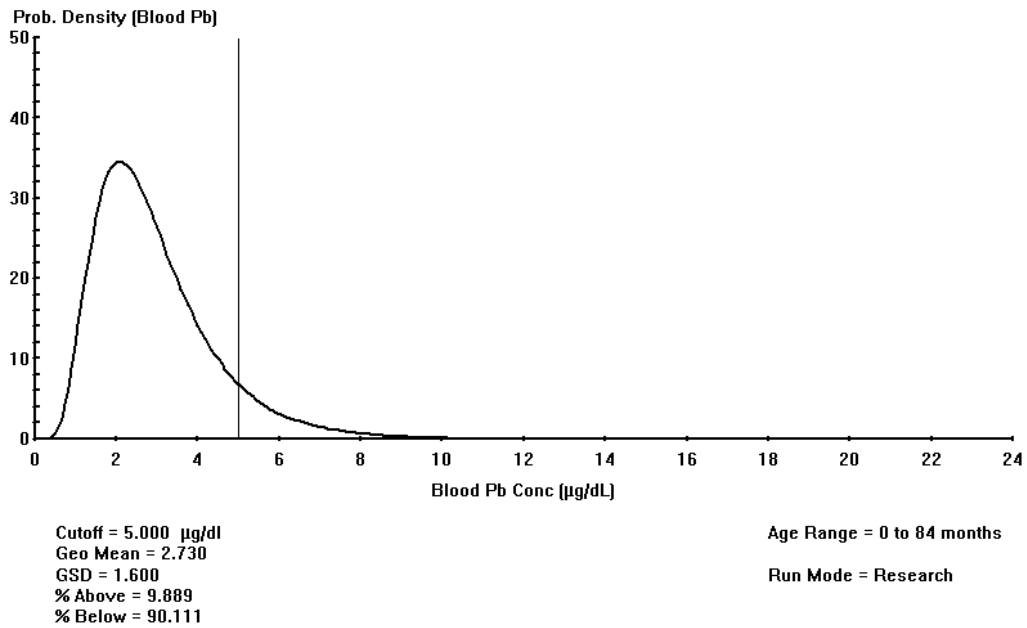
Slika 10: Struktura modela IEUBK (US EPA, 1994)



Zaključek tega dela je napoved geometrične sredine koncentracije svinca v krvi otroka. Modul verjetnostne porazdelitve predvideva log-normalno porazdelitev, ki jo določata geometrična sredina in geometrična standardna deviacija in na podlagi le te napove verjetnost pojava določene koncentracije svinca v krvi v populaciji podobno izpostavljenih otrok (Slika 15.2). Modul izračuna tudi verjetnost, da bo presežena vsebnost, ki nas zanima (US EPA, 1994)

Najbolj enostavna uporaba modela predvideva vnos izmerjenih koncentracij svinca v osnovnih virih izpostavljenosti v bivalnem okolju (zemlja, zrak, pitna voda, prah) za posamezno lokacijo oziroma območje, ki nas zanima. Te koncentracije v povezavi z vnaprej določenimi vrednostmi preostalih potrebnih podatkov (vnos svinca s prehrano, prenos iz matere na plod, podatki o količini vnosa in biorazpoložljivosti svinca po posameznih virih izpostavljenosti) nudijo dobro osnovo za oceno koncentracije svinca v krvi otrok. Model ponuja tudi možnost spreminjanja preostalih podatkov ter dodaten vnos iz alternativnih virov, vendar je tu priporočljiva previdnost, ker za boljše podatke niso dovolj enostavne meritve na območju, ki nas zanima, ampak so potrebne širše študije. Uporabniku je dopuščeno spreminjanje najrazličnejših podatkov povezanih z izpostavljenostjo svinca, ter tudi spreminjanje nekaterih podatkov povezanih z absorpcijo svinca v telesu. V kolikor posameznih vrednosti ne vnesemo, model za izračune uporabi vnaprej nastavljene tipske vrednosti. Le te so določene na osnovi značilnih vrednosti v urbanem okolju v ZDA. Za dobre rezultate so potrebni kakovostni lokalni podatki, ki dobro opisujejo izpostavljenost (Slika 15.3).

Slika 115.2: Primer prikaza rezultatov vnosa (krivulja gostote) v modelu IEUBK (US EPA, 2010)



Slika 12: Primer vnosa podatkov za opis izpostavljenosti v model IEUBK (US EPA, 2010)

IEUBKwin32 Lead Model Version 1.1 Build11

File Start View Parameter Input Computation Output Graph Help

Open Save Reset Air Diet Water Soil/Dust Material Alternate GI/Bio Run Multiple Blood vs. Media Find Batch

Site Specific Soil Dust Data

Soil/Dust Ingestion Weighting Factor (percent soil): 45

Outdoor Soil Lead Concentration (µg/g)

Constant Value 200

Variable Values

Indoor Dust Lead Concentration (µg/g)

Constant Value 200

Variable Values

Multiple Source Analysis

Multiple Source Avg: 150

Soil/Indoor Dust Concentration (µg/g)

	AGE (Years)						
	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7
Outdoor Soil Lead Levels:	200	200	200	200	200	200	200
Indoor Dust Lead Levels:	150	150	150	150	150	150	150

Amount of Soil/Dust Ingested Daily (g/day)

	AGE (Years)						
	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7
Total Dust + Soil Intake:	0.085	0.135	0.135	0.135	0.100	0.090	0.085

GI Values/Bioavailability

TRW Homepage: <http://www.epa.gov/superfund/health/contaminants/lead/index.htm>

OK Cancel Reset Help?

Svinec v telesu nima koristne funkcije in vnos v telo ni zaželen niti v najmanjših količinah. Skupni znanstveni odbor Organizacije ZN za prehrano in kmetijstvo in Svetovne zdravstvene organizacije o aditivih za živila (JECFA) je tako leta 2011 umaknil vrednost začasno dopustnega tedenskega vnosa (PTWI) svinca s prehrano 25 µg/kg telesne teže in zaključil, da ni možno določiti nove vrednosti dopustnega tedenskega vnosa (WHO, 2011).

Model je namenjen simulaciji kronične izpostavljenosti otrok svincu in ne upošteva sezonskih sprememb. Model upošteva rast otroka in omogoča simulacijo sprememb v njegovem okolju oziroma uporabo različnih scenarijev izpostavljenosti v enoletnih intervalih. Za otroka oz. skupino otrok, ki živijo v okolju, kjer so posamezni viri izpostavljenosti enako obremenjeni s svincem je dovolj en scenarij izpostavljenosti, torej en zagon modela. V primeru, ko obravnavamo več otrok, ki živijo v različno obremenjenem okolju, pa je potrebno več izračunov, po en izračun za vsako skupino s podobno izpostavljenostjo. Nam je prepuščena odločitev, katere podatke bomo spreminjali (Fink et al., 2010).

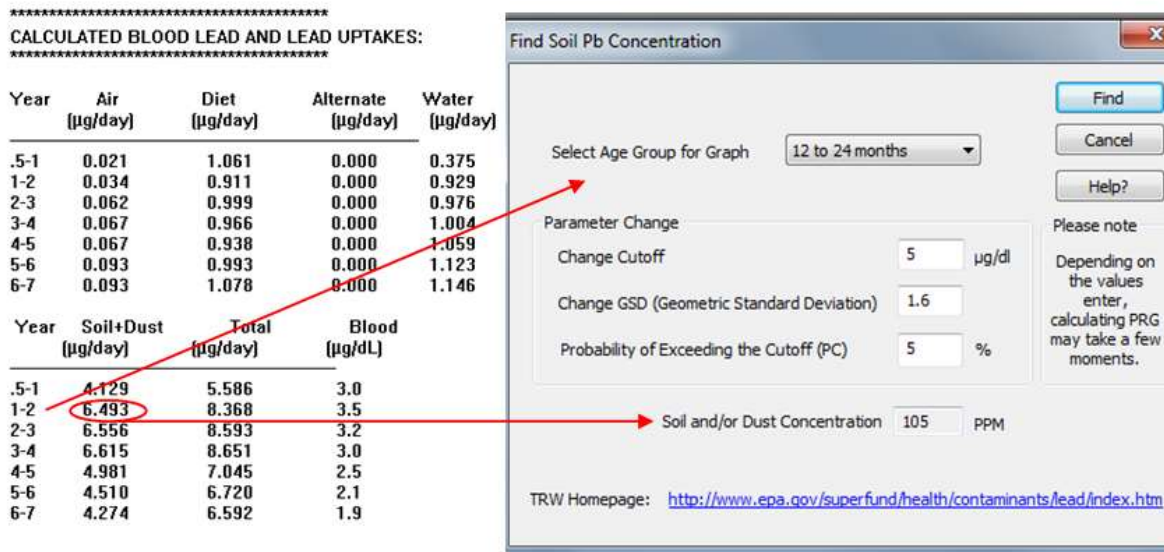
Kakovost posameznega izračuna je odvisna od kakovosti specifičnih lokalnih podatkov o obremenjenosti okolja, ki jih pri izračunih uporabimo. V primeru, da nimamo točnega podatka ali imamo za posamezen vir izpostavljenosti različne podatke, lahko izpeljemo več izračunov za različne scenarije, od najslabšega do najboljšega. Pri tem pridemo do variabilne ocene tveganja, ki jo precej izboljšamo z uporabo najbolj verjetnega scenarija.

Rezultate izračunov je možno prikazati v tekstovni obliki, obliki distribucijske krivulje ali v obliki krivulje gostote. Pri obeh grafičnih prikazih moramo vnesti še koncentracijo svinca v krvi, ki nas zanima (referenčna oz. mejna vrednost) in vrednost za geometrično standardno deviacijo, ki izraža razlike v obnašanju in fiziologiji posameznikov. Prvo izbere uporabnik sam, glede na cilje oz. interes, spreminjanje druge pa ni priporočljivo.

IEUBK model je namenjen hitri oceni razmerja med koncentracijo svinca v virih izpostavljenosti in koncentracijo svinca v krvi otrok. Z modelom lahko ocenimo tudi tveganje za povišan nivo svinca v krvi otrok, to je verjetnost, da bo določen otrok ali skupina otrok imela preseženo koncentracijo svinca v krvi, ki nas zanima. Na ta način je IEUBK model uporabno orodje za oceno tveganja za otroke, ki so v okolju izpostavljeni svincu iz različnih virov, s poudarkom na svincu iz zraka, pitne vode, zemlje in hišnega prahu (US EPA, 1994).

Druga uporabna funkcija modela je načrtovanje remediacije. Glede na to, da model poda izračune za specifičen vnos svinca iz posameznih virov izpostavljenosti lahko izločimo najpomembnejši vir izpostavljenosti. Na osnovi ciljne vrednosti za vsebnost svinca v krvi, lahko nato z modelom izračunamo ciljno vrednost za koncentracijo svinca v tem viru izpostavljenosti (Slika 15.4).

Slika 13: Primer napovedi ciljne koncentracije svinca v viru izpostavljenosti na podlagi zelene vrednosti svinca v krvi (US EPA, 2010)



15.4 UPORABA MODELA PRI RAZISKAVAH IN SANACIJI OKOLJA V ZGORNJI MEŽIŠKI DOLINI

V Zgornji Mežiški dolini smo izvedli raziskavo v kateri smo primerjali vrednosti, ki jih je napovedal model, z vrednostmi izračunanimi iz podatkov pridobljenih z biomonitoringom otrok. Primerjali smo napovedane in izračunane geometrične srednje vrednosti za svinec v krvi otrok in napovedane ter izračunane deleže otrok s koncentracijo svinca v krvi 100 in več µg/L. Uporabili smo model z lokalnimi podatki o koncentracijah svinca v zraku, zemlji, hišnem prahu in pitni vodi ter privzetimi vrednostmi za preostale vire izpostavljenosti. Napovedane vrednosti smo primerjali z izračunanimi iz izmerjenih koncentracijami svinca v krvi otrok v letih 2001–2002 in 2004–2007. Primerjavo smo izvedli med skupinami otrok, oblikovanimi na podlagi geografske lege stalnega bivališča otrok. Uporabljena sta bila dva različna pristopa oblikovanja skupin. Pri prvem so bile skupine otrok oblikovane okoli lokacij, na katerihso bile izvedene meritve koncentracij svinca v različnih virih izpostavljenosti. Pri drugem pa so skupino predstavljali vsi podatki (izmerjene koncentracije svinca v virih izpostavljenosti, izmerjene koncentracije svinca v krvi otrok), ki so padli v posamezen kvadrat mreže 1000 krat 1000 metrov, začrtane preko zemljevida obravnavanega območja. Pri drugem pristopu smo pri modeliranju uporabili povprečne vrednosti vseh izmerjenih koncentracij svinca v posameznem viru izpostavljenosti v posameznem kvadratu. Ujemanje napovedanih in izmerjenih vrednosti je bilo ocenjeno na podlagi prekrivanja vrednosti in pripadajočih 95% intervalov zaupanja. Zadovoljivo ujemanje med napovedanimi in izmerjenimi vrednostmi je bilo pri 6 izmed 8 skupin, ki so vključevale vsaj pet otrok pri prvem pristopu oz. pri 5 od 7 skupin pri drugem pristopu. Simulacije z modelom so za vse skupine napovedale delež vnosa svinca preko zemlje in hišnega prahu nad 80 % skupnega vnosa. Raziskava je pokazala, da v Zgornji Mežiški dolini, otroci z najvišjimi koncentracijami vrednostmi svinca v krvi, živijo na najbolj onesnaženih območjih in da sta zemlja in hišni prah pomembna faktorja izpostavljenosti svincu.

15.5 ZAKLJUČEK

Modeliranje je pri ocenjevanju tveganja zelo uporaben pripomoček, ker uporabniku navadno bistveno olajša pot do izračunanih vrednosti vnosa ali celo obremenitve z neko nevarno snovjo, ki jo nato primerjamo z referenčnimi vrednostmi. Uporabniku nudi možnost preigravanja različnih scenarijev in tako omogoča izdelavo bolj kakovostne ocene v krajšem času. Tako kakovostni in dodelani modeli, kot je IEUBK so možni zgolj za specifične dobro okarakterizirane nevarnosti, kot je svinec. Pri slabše okarakteriziranih pa je tudi modeliranje manj uporabno, negotovost rezultatov pa precej večja.

Ob kakovostnih vhodnih podatkih je boljša alternativa modelu le biomonitoring v izpostavljeni populaciji. Tudi kadar imamo kakovostne podatke biomonitoringa vzorcev krvi, pa lahko model služi za lažjo razlago izpostavljenosti in identifikacijo najpomembnejših virov izpostavljenosti svincu.

15.6 VIRI

American Academy of Pediatrics. Council on Environmental Health. 2016. Prevention of Childhood Lead Toxicity. Pediatrics,138(1)

Dostopno (21.12.2017) na: <http://pediatrics.aappublications.org/content/138/1/e20161493>

ATSDR. 2007. Toxicological profile for lead.[pdf] Atlanta, Ga: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Dostopno (21.6.2016) na: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=96&tid=22>

CDC. (2012). What Do Parents Need to Know to Protect Their Children? Dostopno (14.6.2016) na: https://www.cdc.gov/nceh/lead/acclpp/blood_lead_levels.htm

Eržen, I. in Ivartnik, M. 2010. Uporaba modela IEUBK za napoved vsebnosti svinca v krvi otrok pri raziskavah in sanaciji okolja v Zgornji Mežiški dolini. Zdravstveno varstvo, 49 (2), str. 76-85.

Fink R., Kukec A., Ivartnik M, Eržen I. 2010. The Integrated Exposure Uptake Biokinetic (IEUBK) Model for Lead in Children. V L.Zaletel-Kargelj, J.Božikov, ur. Methods and tools in public health: A Handbook for Teachers, Researchers and Health Professionals in South Eastern Europe. Lage: Hans Jacobs, str. 465-496.

JECFA. 2011. Lead. V Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: WHO technical report series, no. 960. [pdf] Geneva, str. 162-176. Dostopno (23.4.2016) na: <http://apps.who.int/iris/>

US EPA. 1994. Guidance Manual for the Integrated Exposure Uptake Biokinetic Model for Lead in Children. Washington DC: Office of Emergency and Remedial response. Dostopno (8.12.2006) na: <http://www.epa.gov/superfund/programs/lead/products.htm>

US EPA. 2010. The Integrated Exposure Uptake Biokinetic Model for Lead in Children, Windows®version (IEUBKwin v1.1 build 11). Dostopno (18.3.2013) na: <https://www.epa.gov/superfund/lead-superfund-sites-software-and-users-manuals#integrated>

16 PRILOGE

16.1 BESEDNJAK STROKOVNIH IZRAZOV

Akutni referenčni odmerek (*Acute Reference Dose* – ARfD) je odmerek izražen na enoto telesne mase, ki smo mu na podlagi vseh znanih podatkov lahko izpostavljeni enkratno oziroma krajše časovno obdobje (do 14 dni) brez tveganja za zdravje.

Alarmna vrednost je raven, katere preseganje pomeni tveganje za zdravje ljudi zaradi kratkotrajne izpostavljenosti celotnega prebivalstva in pri kateri so potrebni takojšnji ukrepi.

Analiza nevarnosti in kritične točke nadzora (*Hazard Analysis and Critical Control Point* – HACCP) je preventivni sistem, ki omogoča prepoznavanje, oceno, ukrepanje in nadzor nad morebitno prisotnimi dejavniki tveganja v živilih, ki lahko ogrožajo zdravje ljudi.

Biomonitoring je merjenje in spremljanje sprememb v živih organizmih, tkivih, tekočinah, celicah oziroma biokemičnih procesih, ki so nastale zaradi izpostavljenosti neki kemični snovi, humani biomonitoring pa merjenje in spremljanje naštetih sprememb pri ljudeh.

Biomonitorinški ekvivalent (*Biomonitoring Equivalent* – BE) je koncentracija oziroma razpon koncentracij kemikalije v biološkem mediju, ki je skladen z obstoječimi referenčnimi (na zdravju temelječimi) vrednostmi izpostavljenosti (npr. ARfD, TDI, ipd.). Izračuna se na podlagi razpoložljivih podatkov o odmerkih, ki ne povzročajo učinka, oz. najnižjih odmerkih, ki povzročajo učinek in razpoložljivih farmakokinetičnih podatkov za določeno kemikalijo.

Celokupna izpostavljenost (*Aggregated exposure*) je izpostavljenost kemikaliji po vseh poteh vnosa in iz vseh virov.

Ciljna vrednost je raven, določena s ciljem izogniti se škodljivim učinkom na zdravje ljudi oziroma okolje, jih preprečiti ali zmanjšati, in ki jo je treba, če je to mogoče, doseči v določenem času;

Dnevna vrednost je dnevna koncentracija je povprečna vrednost vseh urnih koncentracij posamezne snovi v zunanjem zraku, izmerjenih v enem dnevu, določena v skladu s predpisi, ki urejajo onesnaževala v zunanjem zraku;

Dopustni dnevni vnos (*Tolerable Daily Intake* – TDI) je odmerek izražen na enoto telesne mase, ki smo mu na podlagi vseh znanih podatkov lahko izpostavljeni vsak dan, vse življenje brez tveganja za zdravje.

Emisijske vrednosti so izmerjene vrednosti posameznega onesnaževala na izpustu.

Ekspozom je koncept nabora vseh okoljskih dejavnikov, ki ob zadostni izpostavljenosti lahko škodujejo zdravju.

Faktor ekvivalenčne strupenosti (*Toxicity Equivalence Factor – TEF*), opisuje moč posamezne spojine v mešanici, npr. dioksinov ali PCB kongenerjev.

Imisija so izmerjene vrednosti onesnaženosti zunanjega zraka.

Izračunani referenčni (mejni) odmerek (*Benchmark Mark Dose – BMD*) je s pomočjo matematičnih modelov izpeljani odmerek, ki temelji na analizi odnosa med odmerkom in učinkom upoštevajoč vse dostopne podatke odnosa med odmerkom in učinkom pridobljene v eksperimentalnih ali epidemioloških študijah. Uporablja se kot alternativa NOAEL, v primeru nezanesljivega NOAEL ali kot izhodišče za določitev količnika izpostavljenosti (MOE) genotoksičnih in rakotvornih snovi in za opredelitev odnosa med odmerkom in učinkom v observacijskih epidemioloških študijah.

Izhodiščna točka (*Point of departure – POD*) je odmerek, ki se uporabi za izračun referenčne vrednosti. Klasično je to odmerek brez ugotovljenega škodljivega učinka (NOAEL), medtem ko se v zadnjem času vse bolj uveljavlja izračunana vrednost z 10% porastom učinka (BMD10).

Izpostavljenost okoljskim dejavnikom je stik oziroma vnos kemijskega, biološkega ali fizikalnega dejavnika v organizem.

Kemični motilec endokrinega sistema (KMES) je od zunaj vnesena kemična snov oziroma mešanica snovi, ki preko sprememb v delovanju hormonov povzroča neželene učinke na zdravje posameznega organizma ali njegovega potomstva oziroma (sub)populacije.

Kemikalija z endokrino aktivnostjo (*Endocrine Active Substance – EAS*) je katerakoli kemikalija, ki lahko z neposredno ali posredno interakcijo z endokrinim sistemom povzroči učinek na ta sistem, tarčne organe in tkiva, vendar ni nujno, da bodo posledice škodljive

Ključni dogodek (*Key Event – KE*) je empirično opažen prvi korak, ki je nujni element načina delovanja, oziroma je označevalec nujnega elementa.

Kombinirana izpostavljenost (*Combined Exposure*) je izpostavljenost mešanici snovi.

Kongener je po izvoru, strukturi ali funkciji sorodna kemična snov.

(Kvantitativni) odnos med strukturo kemikalije in njeno aktivnostjo (*(Quantitative) Structure Activity Relationship – (Q)SAR*) je napovedovanje biološke aktivnosti kemikalije (npr. strupenosti) iz njene kemijske strukture.

Kumulativna izpostavljenost (*Cumulative exposure*) pomeni ponavljajočo se izpostavljenost eni snovi. Lahko se nanaša tudi na izpostavljenost mešanici.

Letna vrednost je povprečna vrednost vseh urnih koncentracij posamezne snovi v zunanjem zraku, določena v posameznem letu v skladu s predpisi, ki urejajo onesnaževala v zunanjem zraku.

Mejna vrednost emisije je predpisana vrednost emisije, ki je določena kot masa, izražena s posebnimi parametri, koncentracija ali raven emisije, in v enem ali več časovnih obdobjih ne sme biti presežena. Mutacija je trajna sprememba strukture ali količine genskega materiala celice. Mutacija pomeni spremembo gena ali skupine genov, spremembo strukture kromosoma ali števila kromosomov.

Način delovanja (*Mode of Action - MOA*) je z robustnimi eksperimentalnimi opazovanji in mehanističnimi podatki podprto biološko verjetno sosledje ključnih dogodkov, začenši z interakcijo kemikalije s celico, ki preko funkcionalnih in anatomskih sprememb vodi v opazovane učinke.

Najmanjša raven tveganja (*Minimal Risk Level – MRL*) je ocena dnevne izpostavljenosti kemikaliji izraženi na enoto telesne mase, pri kateri je malo verjetno, da bo prišlo do škodljivih učinkov za zdravje. Koncept se ne uporablja za rakotvorne učinke. Uporablja se za onesnaževala, ki se jim ne moremo izogniti in predvsem kot pomagalo pri oceni morebitnih učinkov na zdravje, in ne kot vrednost, pri kateri so potrebni ukrepi.

Najnižji odmerek z ugotovljenim škodljivim učinkom (*Lowest Observed Adverse Effect Level – LOAEL*) je eksperimentalno ugotovljeni najnižji odmerek kemikalije izražen na enoto telesne mase, pri katerem je bil opažen škodljivi učinek.

Najnižji odmerek z ugotovljenim učinkom (*Lowest Observed Effect Level – LOEL*) je eksperimentalno ugotovljeni najnižji odmerek kemikalije izražen na enoto telesne mase, pri katerem je bil opažen učinek.

Največja dovoljena raven ostankov (*Maximum Residue Level – MRL*) je največja zakonsko dovoljena koncentracija kemikalije v živilu ali predmetu splošne rabe izražena na utežno ali volumensko enoto živila ali predmeta.

Nanomaterial je naravna, mešana ali umetna snov, ki vsebuje delce v nevezanem stanju ali v obliki agregatov ali aglomeratov in pri kateri je ena ali več zunanjih dimenzij – za 50 % ali več delcev pri razporeditvi snovi po velikosti glede na število – v razponu velikosti od 1 do 100 nm.

Navzkrižno branje (*Read across*) je pristop za napovedovanje strupenosti ciljne snovi na podlagi podatkov o strupenosti ene ali več izvornih snovi.

Nevarnost (Hazard) je inherentni potencial agensa, da povzroči škodljivi učinek.

Odmerek brez ugotovljenega škodljivega učinka (*No Observed Adverse Effect Level – NOAEL*) je eksperimentalno ugotovljeni odmerek kemikalije izražen na enoto telesne mase, pri katerem ni bilo opaženega škodljivega učinka. Ta odmerek predstavlja prag strupenega učinka na osnovi eksperimentalnih podatkov in odnosa med odmerkom in učinkom.

Pot škodljivega izida (*Adverse Outcome Pathway – AOP*) je opis patofiziološkega dogajanja, ki od začetnega molekularnega dogodka preko serije ključnih dogodkov na ravni celičnega organela, celice, tkiva, organa, organizma oziroma populacije privede do škodljivega izida.

Prag toksikološkega tveganja (Threshold of Toxicological Concern – TTC) je pragmatični pristop k oceni tveganja za tiste kemikalije, za katere njihova nevarnost (strupenost) ni znana, medtem ko sta znani kemična struktura znana in izpostavljenost dobro opredeljena.

Referenčni odmerek (*Reference Dose*) kemikalije imenovan tudi na zdravju temelječa smerna vrednost (angl. *Health-Based Guidance Value*) je izračun dnevne izpostavljenosti izražen na enoto telesne mase, pri katerem ni pričakovati škodljivih posledic za zdravje.

Rob (količnik) izpostavljenosti (*Margin of exposure – MOE*) je razmerje med referenčnim odmerkom in izmerjeno ali ocenjeno izpostavljenostjo.

PM_{2,5} so trdni delci z aerodinamskim premerom do 2,5 µm

PM₁₀ so trdni delci z aerodinamskim premerom do 10 µm.

Razmerje obetov (*Odds Ratio – OR*) je kvantifikacija moči povezave med dvema dogodkoma.

Razmerje ogroženosti (*Hazard Ratio – HR*) je statistični parameter, ki je v širšem pomenu enak razmerju tveganja (Risk Ratio) in je relativna sprememba tveganja za pojav dogodka v eni skupini v primerjavi z drugo ne glede na čas.

Relativno tveganje (*Relative Risk*) je razmerje med dvema tveganjema.

Spodnja meja zaupanja izračunanega mejnega odmerka (*Benchmark Mark Dose Lowest – BMDL*), je odmerek pri katerem se s 95% zaupanjem pričakuje, da je verjetnost učinka manjša od 5%.

Sprejemljiva raven izpostavljenosti delavca (*Acceptable Operator Exposure Level – AOEL*) je odmerek, ki na podlagi vseh znanih podatkov ne predstavlja tveganja za zdravje, pri ponavljajoči se izpostavljenosti na delovnem mestu, to je 8 ur na dan, 5 dni na teden, oziroma pri srednjeročni izpostavljenosti, to je od 14 dni do 1 leta.

Sprejemljivi dnevni vnos (*Acceptable Daily Intake – ADI*) je odmerek izražen na enoto telesne mase, ki smo mu na podlagi vseh znanih podatkov lahko izpostavljeni vse življenje brez tveganja za zdravje. Prvotno se je uporabljal za aditive za živila.

Škodljivi učinek (*adverse effect*) sprememba v morfologiji, rasti, razvoju, razmnoževanju ali življenjski dobi organizma ali (sub)populacije, ki vodi v zmanjšano funkcionalno kapaciteto ali zmanjšano kompenzacijsko rezervo ob dodatnem stresu ali večjo občutljivost za druge vplive.

Teoretični največji dnevni vnos (*Theoretical Maximum Daily Intake – TMDI*) je princip, ki se uporablja za oceno največjega dnevnega vnosa aditiva za živila izražen v mg aditiva /kg tm/dan.

Tumorogeni odmerek₂₅ (*Tumorigenic Dose₂₅ – TD₂₅*) je odmerek, ki pri kronični izpostavljenosti povzroči tumorje določenega organa pri 25% poskusnih živali upoštevajoč korekcijo za spontani pojav tumorjev in ob predpostavki linearnega odnosa med odmerkom in učinkom.

Tveganje je verjetnost za nastanek škodljivih posledic na zdravje zaradi izpostavljenosti določenemu nevarnemu agensu.

Varnostni faktor (*Safety Factor*), tudi faktor negotovosti (*Uncertainty Factor*) ali faktor ocenjevanja (*Assessment Factor*) se uporablja kot varovalka pri izračunu referenčnih odmerkov zaradi negotovosti, kot so razlike med vrstami (npr. med glodavci in človekom), raznolikost eksperimentalnih podatkov, narava in stopnja učinka, kvantitativne in kvalitativne razlike pri izpostavljenosti, občutljivosti subpopulacij, oblike krivulje med odmerkom in učinkom, posebnosti izpostavljenih populacij in zaupanja v podatke.

Veliki porabnik ali veliki uživalec določene vrste živila je tisti, ki zaužije velike količine določenega živila. Za velike porabnike ali uživalce so v zbirkah podatkov po navadi na razpolago podatki o 95., 97,5. in 99. percentilu porabe živil.

Vrednost HBM-I je koncentracija kemikalije v humanih telesnih tekočinah in tkivih, pod katero na podlagi dosedanjega znanja in presoje ne pričakujemo škodljivih učinkov za zdravje.

Vrednost HBM-II je koncentracija kemikalije v humanih telesnih tekočinah in tkivih, nad katero obstaja verjetnost škodljivih učinkov in so zato potrebni ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti.

16.2 PREDLOG FORMATA TOKSIKOLOŠKIH OCEN TVEGANJA

Povzetek v slovenščini in angleščini

Seznam kratic

Uvod

Opredelitev problema vključno z namenom in ciljem

Zakonsko ozadje

Ocena tveganja

Identiteta snovi (CAS št., kemijsko ime, strukturna formula)

Uporaba

Fizikalno kemijske lastnosti

molekulska masa

oblika, barva, vonj,

relativna gostota,

plamenišče, eksplozivne in oksidacijske lastnosti,

pH, pKa,

topnost v vodi in organskih topilih,

porazdelitveni koeficient oktanol/voda= $\log P_{o/w}$,

hlapnost, Henryjeva konstanta,

viskoznost, površinska napetost,

čistota snovi in nečistote

Ocena nevarnosti

ADME

Učinki po različnih poteh vnosa in trajanja izpostavljenosti

Lokalni učinki na kožo, oči in dihala

Preobčutljivost pri stiku s kožo in dihali

Učinki pri akutni izpostavljenosti (enkratni odmerek)

Učinki pri kratkoročni in srednjeročni izpostavljenosti (večkratni odmerki od 28 -90 dni)

Učinki pri dolgotrajni izpostavljenosti in rakotvornost (v poskusih navadno 1- 2-letni)

Genotoksičnost

Učinki na razmnoževanje

Večgeneracijske študije

Učinki na plodnost

Teratogenost

Druge relevantne študije

Nevrotoksičnost

Imunotoksičnost

Toksičnost metabolitov

Druge študije

Zdravstveni podatki

Klinični primeri (naključne in namerne zastrupitve)

Epidemiološke študije

Poklicna izpostavljenost

Okoljska izpostavljenost

Analiza odnosa med odmerkom in učinkom
Mehanizem strupenosti
Referenčni odmerki (npr. ADI, AOEL, ARfD, TDI) oziroma drugi relevantni izhodiščni
odmerki za karakterizacijo tveganja
Razvrstitev
Ocena izpostavljenosti
Izračunana
Izmerjena
Karakterizacija tveganja
Opredelitev negotovosti
Ovrednotenje tveganja
Zaključek
Viri

16.3 STAVKI O NEVARNOSTI (H STAVKI), DODATNI STAVKI O NEVARNOSTI (EUH STAVKI) IN SESTAVLJENI STAVKI O NEVARNOSTI ZA ZDRAVJE LJUDI¹⁵

H200	Nestabilni eksplozivi.
H201	Eksplozivno; nevarnost eksplozije v masi.
H202	Eksplozivno; velika nevarnost za nastanek drobcev.
H203	Eksplozivno; nevarnost za nastanek požara, udarnega vala ali drobcev.
H204	Nevarnost za nastanek požara ali drobcev.
H205	Pri požaru lahko eksplodira v masi.
H220	Zelo lahko vnetljiv plin.
H221	Vnetljiv plin.
H222	Zelo lahko vnetljiv aerosol.
H223	Vnetljiv aerosol.
H224	Zelo lahko vnetljiva tekočina in hlapi.
H225	Lahko vnetljiva tekočina in hlapi.
H226	Vnetljiva tekočina in hlapi.
H228	Vnetljiva trdna snov.
H229	Posoda je pod tlakom: lahko eksplodira pri segrevanju.
H230	Lahko reagira eksplozivno tudi v odsotnosti zraka.
H231	Lahko reagira eksplozivno tudi v odsotnosti zraka pri povišanem tlaku in/ali temperaturi.
H240	Segrevanje lahko povzroči eksplozijo.
H241	Segrevanje lahko povzroči požar ali eksplozijo.
H242	Segrevanje lahko povzroči požar.
H250	Samodejno se vžge na zraku.
H251	Samosegrevanje: lahko povzroči požar.
H252	Samosegrevanje v velikih količinah; lahko povzroči požar.
H260	V stiku z vodo se sproščajo vnetljivi plini, ki se lahko samodejno vžgejo.
H261	V stiku z vodo se sproščajo vnetljivi plini.
H270	Lahko povzroči ali okrepi požar; oksidativna snov.
H271	Lahko povzroči požar ali eksplozijo; močna oksidativna snov.
H272	Lahko okrepi požar; oksidativna snov.
H280	Vsebuje plin pod tlakom; segrevanje lahko povzroči eksplozijo.
H281	Vsebuje ohlajen utekočinjen plin; lahko povzroči ozeblino ali poškodbe.
H290	Lahko je jedko za kovine.
EUH001	Eksplozivno v suhem stanju.
EUH014	Burno reagira z vodo.

¹⁵ EP in ES. (2008). Uredba (ES) št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, o spremembi in razveljavitvi direktiv 67/548/EGS in 1999/45/ES ter spremembi Uredbe (ES) št. 1907/2006 oz. CLP uredba s spremembami. [na spletu] *Uradni list Evropske skupnosti*, L 353.

Dostopno 22. 12. 2017 na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02008R1272-20150601&from=sl>.

EUH018	Pri uporabi lahko tvori vnetljivo/eksplozivno zmes hlapi-zrak.
EUH019	Lahko tvori eksplozivne peroksidge.
EUH044	Nevarnost eksplozije ob segrevanju v zaprtem prostoru.
H300	Smrtno pri zaužitju.
H301	Strupeno pri zaužitju.
H302	Zdravju škodljivo pri zaužitju.
H304	Pri zaužitju in vstopu v dihalne poti je lahko smrtno.
H310	Smrtno v stiku s kožo.
H311	Strupeno v stiku s kožo.
H312	Zdravju škodljivo v stiku s kožo.
H314	Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
H315	Povzroča draženje kože.
H317	Lahko povzroči alergijski odziv kože.
H318	Povzroča hude poškodbe oči.
H319	Povzroča hudo draženje oči.
H330	Smrtno pri vdihavanju.
H331	Strupeno pri vdihavanju.
H332	Zdravju škodljivo pri vdihavanju.
H334	Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju.
H335	Lahko povzroči draženje dihalnih poti.
H336	Lahko povzroči zaspanost ali omotico.
H340	Lahko povzroči genetske okvare (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H341	Sum povzročitve genetskih okvar (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H350	Lahko povzroči raka (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H351	Sum povzročitve raka (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H360	Lahko škoduje plodnosti ali nerojenemu otroku (navesti posebni učinek, če je znan) (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H361	Sum škodljivosti za plodnost ali nerojenega otroka (navesti posebni učinek, če je znan) (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).
H362	Lahko škoduje dojenim otrokom.
H370	Škoduje organom (ali navesti vse organe, na katere vpliva, če je znano) (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzročata takšne nevarnosti).

H371	Lahko škoduje organom (ali navesti vse organe, na katere vpliva, če je znano) (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzroča takšne nevarnosti).
H372	Škoduje organom (ali navesti vse organe, na katere vpliva, če je znano) pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzroča takšne nevarnosti).
H373	Lahko škoduje organom (ali navesti vse organe, na katere vpliva, če je znano) pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti (navesti način izpostavljenosti, če je prepričljivo dokazano, da noben drug način izpostavljenosti ne povzroča takšne nevarnosti).
H350i	Lahko povzroči raka pri vdihavanju.
H360F	Lahko škoduje plodnosti.
H360D	Lahko škoduje nerojenemu otroku.
H361f	Sum škodljivosti za plodnost.
H361d	Sum škodljivosti za nerojenega otroka.
H360FD	Lahko škoduje plodnosti. Lahko škoduje nerojenemu otroku.
H361fd	Sum škodljivosti za plodnost. Sum škodljivosti za nerojenega otroka.
H360Fd	Lahko škoduje plodnosti. Sum škodljivosti za nerojenega otroka.
H360Df	Lahko škoduje nerojenemu otroku. Sum škodljivosti za plodnost.
H300+H310	Smrtno pri zaužitju ali v stiku s kožo.
H300+H330	Smrtno pri zaužitju ali pri vdihavanju.
H300+H310+H330	Smrtno pri zaužitju, v stiku s kožo ali pri vdihavanju.
H310+H330	Smrtno v stiku s kožo ali pri vdihavanju
H301+H311	Strupeno pri zaužitju ali v stiku s kožo.
H311+H331	Strupeno v stiku s kožo ali pri vdihavanju.
H301+H311+H331	Strupeno pri zaužitju, v stiku s kožo ali pri vdihavanju.
H302+H312	Zdravju škodljivo pri zaužitju ali v stiku s kožo.
H302+H332	Zdravju škodljivo pri zaužitju ali vdihavanju.
H302+H312+H332	Zdravju škodljivo pri zaužitju, v stiku s kožo ali pri vdihavanju.
EUH029	V stiku z vodo se sprošča strupen plin.
EUH031	V stiku s kislinami se sprošča strupen plin.
EUH032	V stiku s kislinami se sprošča zelo strupen plin.
EUH066	Ponavljajoča izpostavljenost lahko povzroči nastanek suhe ali razpokane kože.
EUH070	Strupeno ob stiku z očmi.
EUH071	Jedko za dihalne poti.
EUH 401	Da bi se izognili tveganjem za ljudi in okolje, ravnajte v skladu z navodili za uporabo.
H420	Škodljivo za javno zdravje in okolje zaradi uničevanja ozona v zgornji atmosferi.
EUH 201	Vsebuje svinec. Ne sme se nanašati na površine, ki bi jih lahko žvečili ali sesali otroci.

EUH 201A	Pozor! Vsebuje svinec.
EUH 202	Cianoakrilat. Nevarno. Kožo in oči zlepi v nekaj sekundah. Hraniti zunaj dosega otrok.
EUH 203	Vsebuje krom (VI). Lahko povzroči alergijski odziv.
EUH 204	Vsebuje izocianate. Lahko povzroči alergijski odziv.
EUH 205	Vsebuje epoksidne sestavine. Lahko povzroči alergijski odziv.
EUH 206	Pozor! Ne uporabljajte skupaj z drugimi izdelki. Lahko se sproščajo nevarni plini (klor).
EUH 207	Pozor! Vsebuje kadmij. Med uporabo nastajajo nevarni dimi. Preberite informacije proizvajalca. Upoštevajte navodila za varno uporabo.
EUH 208	Vsebuje (ime snovi, ki povzroča preobčutljivost). Lahko povzroči alergijski odziv.
EUH 209	Med uporabo utegne postati lahko vnetljivo.
EUH 209A	Med uporabo utegne postati vnetljivo.
EUH 210	Varnostni list na voljo na zahtevo.

16.4 PRIMERJAVA NOVEGA IN STAREGA NAČINA OZNAČEVANJA NEVARNIH KEMIKALIJ¹⁶

PRIMERJAVA NOVEGA IN STAREGA OZNAČEVANJA NEVARNIH KEMIKALIJ		ELEMENTI OZNAČEVANJA / SIMBOL		ELEMENTI OZNAČEVANJA / SIMBOL		ELEMENTI OZNAČEVANJA / SIMBOL	
NEVARNI FIZIKALNE LASTNOSTI		NEVARNI		NEVARNI		NEVARNI	
<ul style="list-style-type: none"> • Nevzdržljive eksplozivne • Dvigajoči področje 1.1, 1.2, 1.3 • Samovžgajoče snovi in zmesi, vrsta A, B • Dvigajoči področja, vrsta A, B 		<ul style="list-style-type: none"> H200 H201, H202, H203 H240, H241 H240, H241 		<ul style="list-style-type: none"> H200, H210 H202 H203, H211 H204, H211 		<ul style="list-style-type: none"> R20, R21 R22 	
<ul style="list-style-type: none"> • Dvigajoči področja 1.4 		H240		<ul style="list-style-type: none"> H340, H310 H350, H310 H360, H310 		<ul style="list-style-type: none"> R40 R41 	
<ul style="list-style-type: none"> • Vročilne / plin, kategorija nevarnosti 1 • Vročilne / aerosoli, kategorija nevarnosti 1 • Vročilne / tekočine, kategorija nevarnosti 1 • Vročilne / trdne snovi, kategorija nevarnosti 2 • Vročilne / trdne snovi, kategorija nevarnosti 2 		<ul style="list-style-type: none"> H270 H271, H272 H273 H274 H275 H280 		<ul style="list-style-type: none"> H340, H310 H350, H310 H360, H310 		<ul style="list-style-type: none"> R40 R41 	
<ul style="list-style-type: none"> • Vročilne / aerosoli, kategorija nevarnosti 2 • Vročilne / trdne snovi, kategorija nevarnosti 3 		<ul style="list-style-type: none"> H272 H273 		<ul style="list-style-type: none"> H341, H311 H351, H311 		<ul style="list-style-type: none"> R42 R43 	
<ul style="list-style-type: none"> • Prilagodljive tekočine, kategorija nevarnosti 1 • Prilagodljive trdne snovi, kategorija nevarnosti 1 • Snovi (ali zmesi, ki v stiku z vodo sproščajo vročilo ali plin, kategorija nevarnosti 1, 2, 3) • Samovžgajoče snovi in zmesi, vrsta C, B, in C, F • Samovžgajoče snovi in zmesi, vrsta C, B, in C, F • Samovžgajoča ali snovi (ali zmesi, kategorija nevarnosti 1, 2) • Dvigajoči področje vrsta B • Dvigajoči področje vrsta C, D • Dvigajoči področje vrsta C, F 		<ul style="list-style-type: none"> H280 H281 H282 H283 H284 H285 H286 		<ul style="list-style-type: none"> H341, H311 H351, H311 H361, H311 		<ul style="list-style-type: none"> R20 R21 R22 R23 R24 R25 R26 	
<ul style="list-style-type: none"> • Dvigajoči plin, kategorija nevarnosti 1 • Dvigajoči ne tekočine, kategorija nevarnosti 1, 2, 3 • Dvigajoči ne trdne snovi, kategorija nevarnosti 1, 2, 3 		<ul style="list-style-type: none"> H270 H271, H272 H273 H274 H275 		<ul style="list-style-type: none"> H340, H310 H350, H310 H360, H310 		<ul style="list-style-type: none"> R40 R41 	
<ul style="list-style-type: none"> • Plin pod tlakom • Stisnjeni plin • Stisnjeni plin, obilno reakcijski plin • Obilno reakcijski plin • Stisnjeni plin 		<ul style="list-style-type: none"> H280 H281 H282 H283 H284 H285 H286 		<ul style="list-style-type: none"> H341, H311 H351, H311 H361, H311 		<ul style="list-style-type: none"> R20 R21 R22 R23 R24 R25 R26 	
<ul style="list-style-type: none"> • Jedilni za ljudi in živali, kategorija nevarnosti 1 		H290		<ul style="list-style-type: none"> H400 H410 		<ul style="list-style-type: none"> R50 R51 	

¹⁶ MZ-URSK. (2009). Primerjava novega in starega označevanja nevarnih kemikalij. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje. Dostopno 27.12. 2017 http://www.sos112.si/slo/tdocs/staro_novo_primerjava.pdf.