

Zorica VITIĆ-FERENC, Edgar KRALJ

Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za zaštitu bilja, Osijek
zorica.vitic.ferenc@hapih.hr

RAZVRSTAVANJE I OZNAČAVANJE SZB-a NA TEMELJU TOKSIKOLOŠKIH STUDIJA NA SISAVCIMA (I ALTERNATIVNIH METODA)

SAŽETAK

Toksikologija je znanost kojoj je svrha prepoznavanje, sprječavanje i liječenje oštećenja zdravlja uslijed izloženosti kemikalijama. Prilikom ocjene sredstava za zaštitu bilja koriste se rezultati provedenih studija na životinjama, kalkulacijska metoda ili ekstrapolacija rezultata za sredstvo. Naglasak je na izbjegavanju *in vivo* testiranja i na dobrobiti životinja. Toksikološke studije uključuju akutnu oralnu, dermalnu i inhalacijsku toksičnost, nadraživanje/nagrizanje kože i oka te preosjetljivost kože. Konačna ocjena temelji se na ocjeni toksikoloških svojstava aktivnih tvari i koformulanata, u skladu s EFSA zaključcima te Sigurnosno-tehničkim listovima. Kod odobrenja se koriste i dozvola i etiketa iz relevantne zemlje članice. Proces razvrstavanja i označavanja temelji se na oznakama propisanim Uredbom (EZ) br. 1272/2008 (Službeni list Europske unije, 2008.), koje je potrebno navesti na etiketi pri stavljanju na tržište. Potrebno je provesti i procjenu relevantnosti pojedinih metabolita aktivnih tvari u podzemnim vodama ako prelaze dopustivu graničnu vrijednost od 0,1 µg/L prema smjernici SANCO/221/2000-rev 11 (European Commission, 2021.).

Ključne riječi: toksikologija, sredstva za zaštitu bilja, Uredba (EZ) br. 1272/2008, CLP, studije, razvrstavanje i označavanje

UVOD

Toksikologija je znanost kojoj je svrha prepoznavanje, sprječavanje i liječenje oštećenja zdravlja uslijed izloženosti kemikalijama. Rizici za okoliš mogu se relativno lako identificirati testovima na neciljanim organizmima, dok se testiranje spojeva na ljudima i ostalim sisavcima općenito smatra neetičnim i rijetko se u praksi provodi. Sukladno Uredbi (EZ) br. 1107/2009 (Službeni list Europske unije, 2009.), testiranja na životinjama potrebno je svesti na najmanju moguću mjeru, a testiranja na kralježnjacima provoditi kao zadnju mogućnost. Potrebno je izbjegavati dupliciranje pokusa na kralježnjacima, a podnositelji zahtjeva dužni su izmjenjivati podatke. Nepostizanje dogovora ne sprječava nadležno tijelo ili države članice da određene podatke i koriste. Radi dobrobiti životinja, u praksi se sve više koriste *in vitro* testovi koji zahtijevaju znatnu količinu testnog materijala u čistom stanju, što može biti posebno izazovno kada se radi o metabolitima.

TOKSIKOLOŠKE STUDIJE

Pri toksikološkoj procjeni rizika SZB-a potrebno je osloniti se na provjerene podatke. Studije trebaju biti provedene prema regulatornim smjernicama, a mogu se koristiti i podatci iz znanstvene literature. Dobra laboratorijska praksa (GLP) standard je koji se koristi diljem svijeta, i njime je znatno otežano krivotvorenje podataka. Pouzdanost podataka dobivenih studijama na životinjama osiguravaju i smjernice relevantnih organizacija (Marrs i Maynard 2018.). Za akutne oralne, dermalne i inhalacijske studije uobičajeno se koristi štakor, za studije nadraživanja oka i kože te ispitivanje nagrizanja zec, a za ispitivanje preosjetljivosti zamorci, zečevi, miševi ili psi.

Studije akutne toksičnosti omogućuju praćenje učinaka tvari u većim dozama tijekom kraćeg razdoblja, a kod subkroničnih studija, kao i kod kroničnih, promatraju se učinci pojedinih spojeva duže razdoblje (ponavljana kumulativna izloženost, dugoročno štetan utjecaj na zdravlje) (Barile, 2013.).

AKUTNA TOKSIČNOST, IRITACIJA I SENZIBILIZACIJA

Akutnu toksičnost čine štetni učinci koji nastaju nakon oralne ili dermalne primjene jednokratne doze tvari ili smjese, višekratnih doziranja u roku od 24 sata ili četverosatne izloženosti udisanjem. Tvari se mogu svrstati u četiri kategorije opasnosti na temelju akutne toksičnosti oralnim, dermalnim i inhalacijskim putem, prema kriterijima opisanim u Uredbi (EZ) br. 1272/2008 (tzv. CLP Uredbi) (Službeni list Europske unije, 2008.). Vrijednosti akutne toksičnosti izražavaju se kao (približne) vrijednosti LD₅₀ (oralna, dermalna) ili LC₅₀ (inhalacijska), ili kao procijenjene vrijednosti akutne toksičnosti (ATE, eng. *Acute Toxicity Estimates*) kalkulacijskom metodom (Narodne novine, 2011.). Za određivanje akutne oralne toksičnosti koriste se metode OECD 420, OECD 423 i OECD 425, dok se OECD 401 više ne koristi, ali se uzima u obzir pri ocjeni SZB-a. Test dermalne toksičnosti odvija se prema metodi OECD 402, a test inhalacijske prema OECD 403. Koriste se i metode OECD 433 i OECD 436 (Chan i sur., 2014.).

Nakon izlaganja tvari ili smjesi, nagrizanje kože predstavlja ireverzibilno oštećenje kože, a nadraživanje reverzibilno. U tom razredu opasnosti tvari se razvrstavaju u dvije kategorije: 1. kategorija (nagrizanje kože) i 2. kategorija (nadržavanje kože). Ako postoje podatci, tvari se razvrstavaju u jednu od triju potkategorija 1.A, 1.B ili 1.C te u jedinu kategoriju nadraživanja kože (2. kategorija) (Službeni list Europske unije, 2008.). Dobiveni podatci za ljude i životinje nakon jednokratnog ili ponavljalog izlaganja daju neposredne informacije o učincima na kožu, a za razvrstavanje mogu se koristiti i podatci za akutnu dermalnu toksičnost. Provođenje testova odvija se prema metodi OECD 404, a *in vitro* test OECD 439 na ljudskoj epidermi predstavlja alternativu za *in*

.....

vivo testiranje na koži (Chan i sur., 2014.). U nedostatku drugih informacija tvar se smatra nagrizajućom za kožu (1. kategorija) ako ima $\text{pH} \leq 2$ ili $\text{pH} \geq 11,5$, osim ako ne pokazuje nagrizajuća svojstva. CLP Uredba propisuje granične vrijednosti koncentracije na temelju kojih se određuje je li smjesa nagrizajuća ili nadražujuća za kožu, a kao kriterij za razvrstavanje smjesa koje sadrže jake kiseline ili baze koristi se pH vrijednost (Službeni list Europske unije, 2008.).

Nakon izlaganja oka tvari ili smjesi, teškom ozljedom oka smatra se oštećenje očnog tkiva ili ozbiljno fizičko pogoršanje vida koje nije potpuno reverzibilno, a nadraživanje oka izaziva promjene u oku koje su potpuno reverzibilne. Naglasak se stavlja na postojeće podatke za ljude, životinje te *in vitro* podatke. Tvari se svrstavaju u jednu od kategorija u ovom razredu opasnosti: 1. kategoriju (teška ozljeda oka) ili 2. kategoriju (nadraživanje oka), sukladno CLP Uredbi. Prije ispitivanja potrebno je procijeniti moguće nagrizanje kože kako bi se izbjeglo ispitivanje lokalnih učinaka koje tvari koje nagrizaju kožu imaju na oči. Provođenje testa odvija se prema metodi OECD 405, a *ex vivo test* na goveđem oku (OECD 437) služi za razvrstavanje tvari za koje se sumnja da su korozivi ili jaki iritansi oka (Chan i sur., 2014.). Visoke i niske pH vrijednosti kao što su ≤ 2 i $\geq 11,5$ mogu ukazivati na tešku ozljedu oka. U nedostatku drugih informacija smatra se da tvar izaziva tešku ozljedu oka (1. kategorija) ako ima $\text{pH} \leq 2$ ili $\text{pH} \geq 11,5$, osim ako ne pokazuje svojstva ozljede, što treba potvrditi drugim podacima. Granične vrijednosti za razvrstavanje smjesa propisane su CLP Uredbom.

Izazivanje preosjetljivosti dišnih putova označava preosjetljivost nakon udisanja tvari ili smjese, dok izazivanje preosjetljivosti kože označava alergijsku reakciju nakon dodira tvari ili smjese s kožom. Odvija se u dvjema fazama, indukciji i elicitaciji. Tvari koje izazivaju preosjetljivost dišnih putova razvrstavaju se u 1. kategoriju, a kad postoji dovoljno podataka, moguće je razvrstavanje u potkategoriju 1.A i 1.B, u skladu s kriterijima CLP Uredbe. Tvari koje izazivaju preosjetljivost kože razvrstavaju se u 1. kategoriju, a kada postoji dovoljno podataka, moguće je razvrstavanje i u potkategorije 1.A ili 1.B, u skladu s kriterijima navedenima u CLP Uredbi. *In vivo* testovi za određivanje preosjetljivosti kože su M&K tj. maksimizacijski test, Buehlerov test te lokalna analiza limfnih čvorova LLNA, (engl. *Local Lymph Node Assay*). Kriteriji za kategorizaciju preosjetljivosti kože te moguće potkategorije dostupni su u CLP Uredbi.

KONAČNA OCJENA

Konačna ocjena SZB-a temelji se na ocjeni toksikoloških svojstava aktivnih tvari i koformulanata, prema zahtjevima propisanim Uredbom (EZ) br. 1107/2009 (Službeni list Europske unije, 2009.), CLP Uredbom (Službeni list Europske unije 2008.), EFSA zaključcima, Sigurnosno-tehničkim listom

(STL/MSDS), a kod odobrenja se koristi i dozvola i etiketa relevantne države članice. Pri toksikološkoj ocjeni u obzir se uzimaju studije na životinjama ili ekstrapolacija rezultata za SZB iste ili slične formulacije. Osim studija koje obuhvaćaju akutnu, oralnu, dermalnu i inhalacijsku toksičnost te nadraživanje kože, očiju i preosjetljivost kože, potrebna je i studija dermalne apsorpcije koja se provodi *in vivo* i *in vitro*. Za procjenu su dovoljni *in vitro* podatci na ljudskoj koži za koncentrirani i razrijeđeni SZB. Prilikom razvrstavanja i označavanja koriste se pojmovi navedeni u CLP Uredbi, koja podliježe stalnim dopunama (Prilog VI). Osnovni pojmovi uključuju razred opasnosti (označava vrstu opasnosti), kategorija opasnosti (skupina kriterija prema kojima se utvrđuje razina opasnosti), piktogram (grafički prikaz opasnosti, GHS01-09), oznaka upozorenja (H, izraz koji opisuje vrstu i stupanj opasnosti) te oznaka obavijesti (P, opisuje mjere za smanjenje ili prevenciju štetnih posljedica izloženosti). Razvrstavanje SZB-a odvija se u 4 koraka. U prvom se koraku prikupljaju podatci iz testova, literature, toksikološki i epidemiološki podatci, slučajevi trovanja, klinička ispitivanja, STL, Prilog VI, ECHA – C&L baza podataka i mišljenja Odbora za procjenu rizika Europske agencije za kemikalije (RAC mišljenja). U drugom se koraku provodi ocjenjivanje prihvatljivosti podataka, a u trećem primjena podataka u postupku razvrstavanja. U četvrtom se koraku donosi odluka o razvrstavanju. SZB-ovi se razvrstavaju i na temelju podataka o aktivnim tvarima i pomoćnih tvari prisutnih iznad propisanih koncentracija u skupine toksičnosti za ciljne organe nakon jednokratne ili ponavljane izloženosti, mutagenosti, karcinogenosti te reproduktivne i aspiracijske toksičnosti.

Prilikom ocjene SZB potrebno je provesti i procjenu relevantnosti metabolita ako je koncentracija u podzemnim vodama > 0,1 µg/L, prema smjernici SANCO/221/2000 rev 11 (European Commission, 2021.). Metabolit se smatra relevantnim kada ima usporediva svojstva kao i aktivna tvar (ciljna, biološka aktivnosti) ili ozbiljna i neprihvatljiva toksikološka svojstva. Ako su aktivne tvari razvrstane u skupine Ak. toks. 1,2,3 ili TCOJ / TCOP 1, Repr. 1A,1B, 2 ili Karc. 2, potrebni su testovi utvrđivanja toksičnosti metabolita. Također, ako su aktivne tvari razvrstane u kategoriju Karc. 1A, 1B te ako metaboliti nose klasifikaciju Ak. toks. 1, 2, 3 ili TCOJ / TCOP 1,2, Repr., smatraju se relevantnima.

ZAKLJUČAK

Procjena rizika povezana s razvrstavanjem i označavanjem sukladno CLP Uredbi (Službeni list Europske unije, 2008.) omogućava zaključke o toksičnosti i utjecaju SZB-a na ljudsko zdravlje, čime se lakše upravlja rizikom pri kontaktu. Problematika tijekom toksikološke procjene često uključuje valjanost dostupnih podataka, pitanje datuma primjene izmijenjene klasifikacije pojedinih aktivnih tvari (RAC mišljenja), nedostatak procjene relevantnosti

metabolita, (toksikološki podatci koje generira industrija) te dostupnost potvrdnih podataka. Svojim specifičnim znanjem i iskustvom u interpretaciji toksikoloških studija, poznavanjem regulatornih standarda i zakonskih okvira, na temelju svih dostupnih podataka, ocjenjivač obavlja procjenu rizika te se na toj osnovi propisuje odgovarajuća zaštitna oprema i postupci kojima se ublažava negativno djelovanje na zdravlje. Naposljetku, smanjenju rizika od štetnih utjecaja SZB-a pridonose krajnji korisnici pridržavanjem i postupanjem u skladu s uputama propisanim na etiketi.

CLASSIFICATION AND LABELLING OF PPPS BASED ON TOXICOLOGICAL STUDIES ON MAMMALS (AND ALTERNATIVE METHODS)

SUMMARY

Toxicology is a scientific discipline dealing with detection, prevention and treatment of adverse health effects caused by exposure to chemicals. During the evaluation of plant protection products, the results of animal testing and calculation method or extrapolation of test results are used. The focus is on avoiding the *in vivo* testing and animal welfare. Toxicological studies are acute oral, dermal and inhalation toxicity, skin and eye irritation/corrosion and skin sensitisation. The final assessment is based on the assessment of the toxicological properties of the active substance and co-formulants, in line with the EFSA conclusions for active substances and safety data sheets. During authorisation, product authorisation and label of reference member state are also used. The classification and labelling process is based on the codes prescribed in the Regulation (EC) No 1272/2008 (Službeni list Europske unije, 2008.), which should be stated on the label during the placement on the market. It is also necessary to carry out the assessment of the relevance of metabolites of active substances in groundwater if they exceed the limit of 0.1 µg/L according to SANCO/221/2000-rev 11 (European Commission, 2021).

LITERATURA

Barile, F. A. (2013.). Subchronic and chronic toxicology testing. U: Principles of Toxicology Testing (Second edition). Barile, F. A. (ur.). CRC Press. Florida, USA, 93-103.

Chan, P. P. K., Kruger, C. L., Wallace Hayes A. (2014.). Toxicity, Acute. U: Encyclopedia of Toxicology (Third edition). Wexler, P. (ur.) Academic Press, Imprint of Elsevier. MA, USA, 617-625.

European Commission (2021.). Guidance document on the assessment of the relevance of metabolites in groundwater of substances regulated under Regulation (EC) No 1107/2009, SANCO/221/2000-rev 11. Dostupno na: https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-10/pesticides_ppp_app-proc_guide_fate_metabolites-groundwtr-rev11.pdf, pristupljeno: 25. 10. 2023.

Marrs, T. C., Maynard R. L. (2018.). Introduction and General Aspects of Risk Assessment. U: Regulatory Toxicology in the European Union (Issues in Toxicology, Vol. 36) (First edition). Marrs T., Woodward K. (ur.). Royal Society of Chemistry. London, UK, 2-10.

Narodne novine (2011.) Pravilnik o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija. Narodne novine 64/11.

Službeni list Europske unije (2008.). Uredba (EZ) br. 1272/2008 Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2008. o razvrstavanju, označavanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i Direktive 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006., SL L 353. Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32008R1272>, pristupljeno: 25. 10. 2023.

Službeni list Europske unije (2009.). Uredba (EZ) br. 1107/2009 Europskog parlamenta i vijeća od 21. listopada 2009. o stavljanju na tržište sredstava za zaštitu bilja i stavljanju izvan snage direktiva Vijeća 79/117/EEZ i 91/414/EEZ. Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1107>, pristupljeno 25. 10. 2023.

Stručni rad