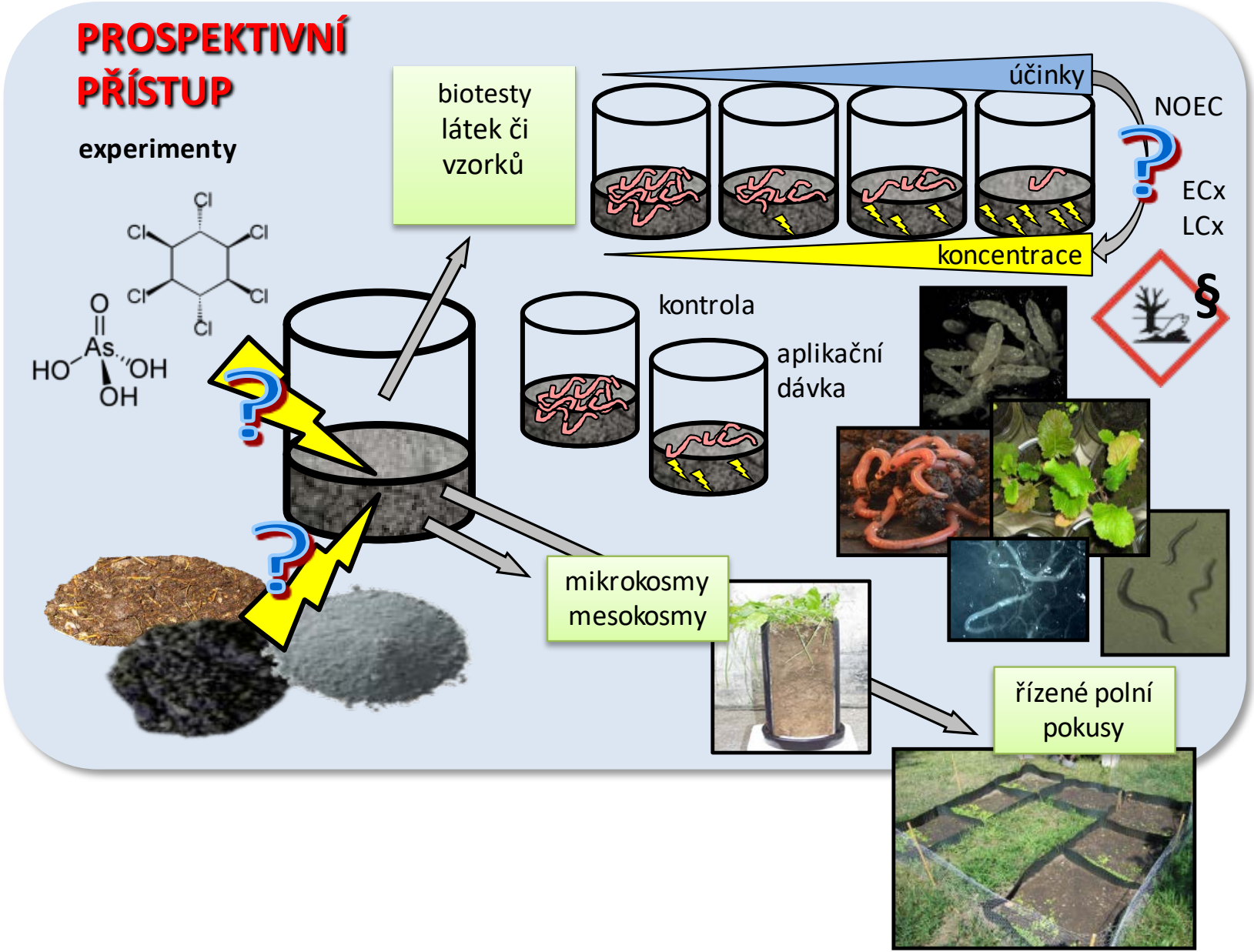
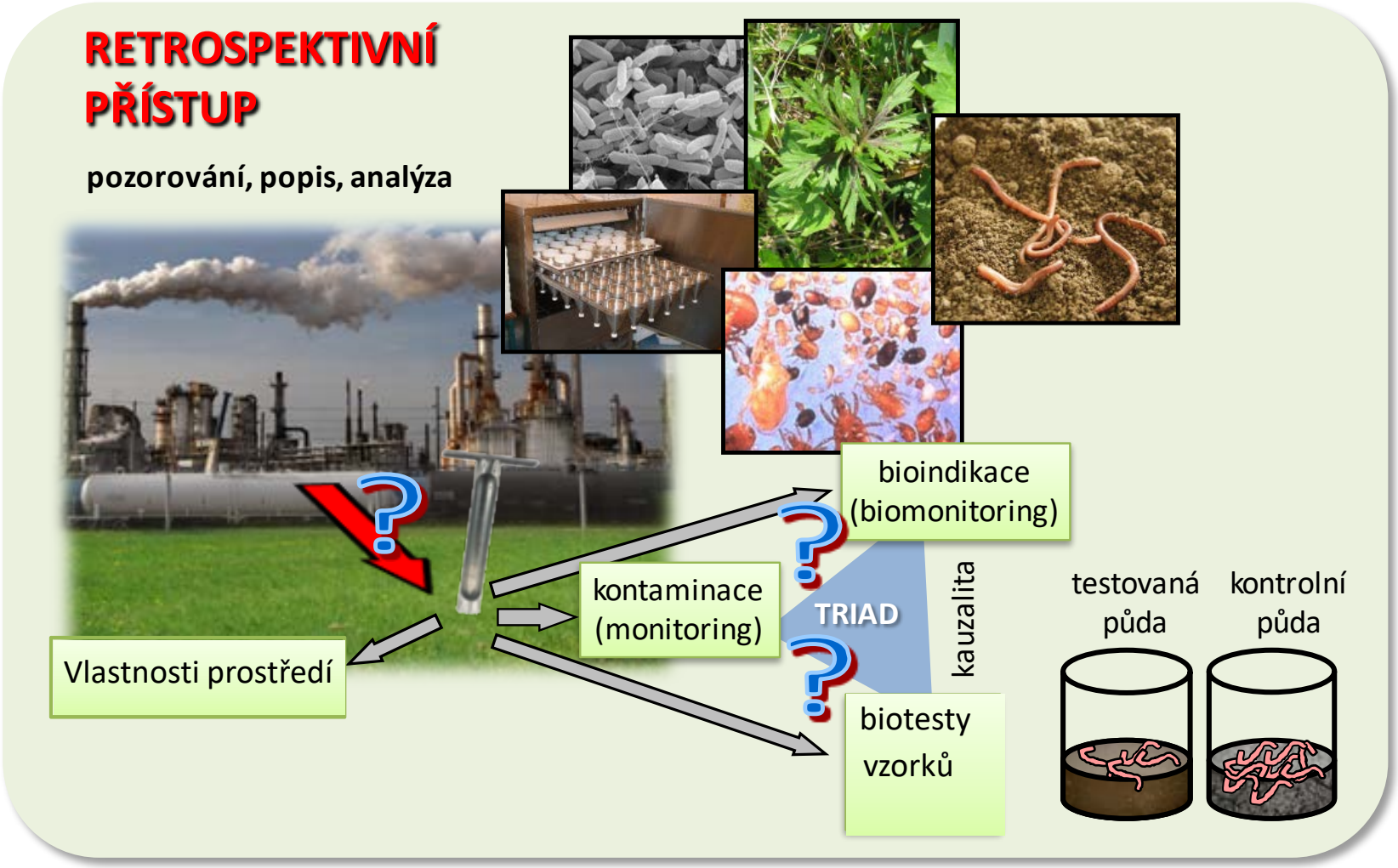
Využití tox./ekotox. hodnocení



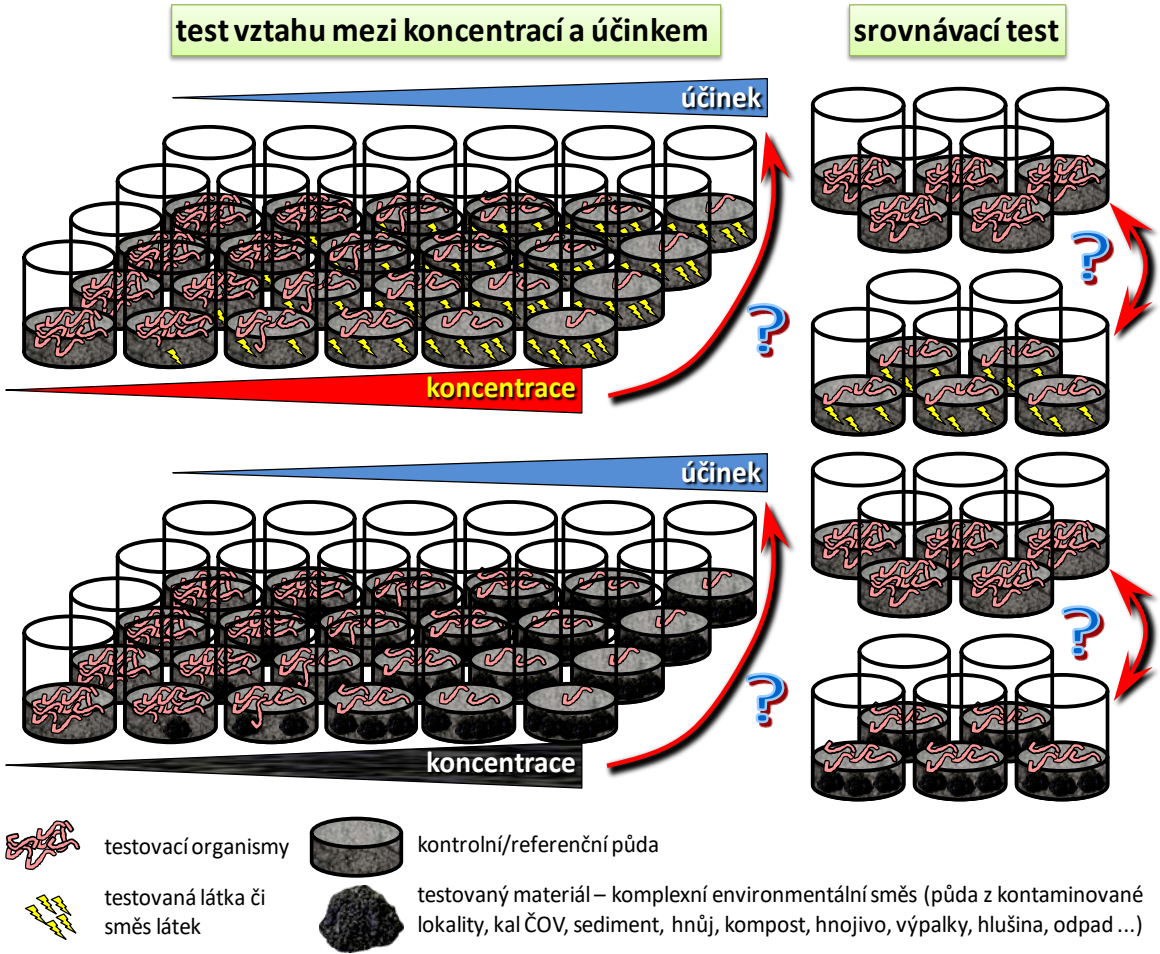
Využití tox./ekotox. hodnocení



Typy testů eko-toxicity

dle experimentálního uspořádání

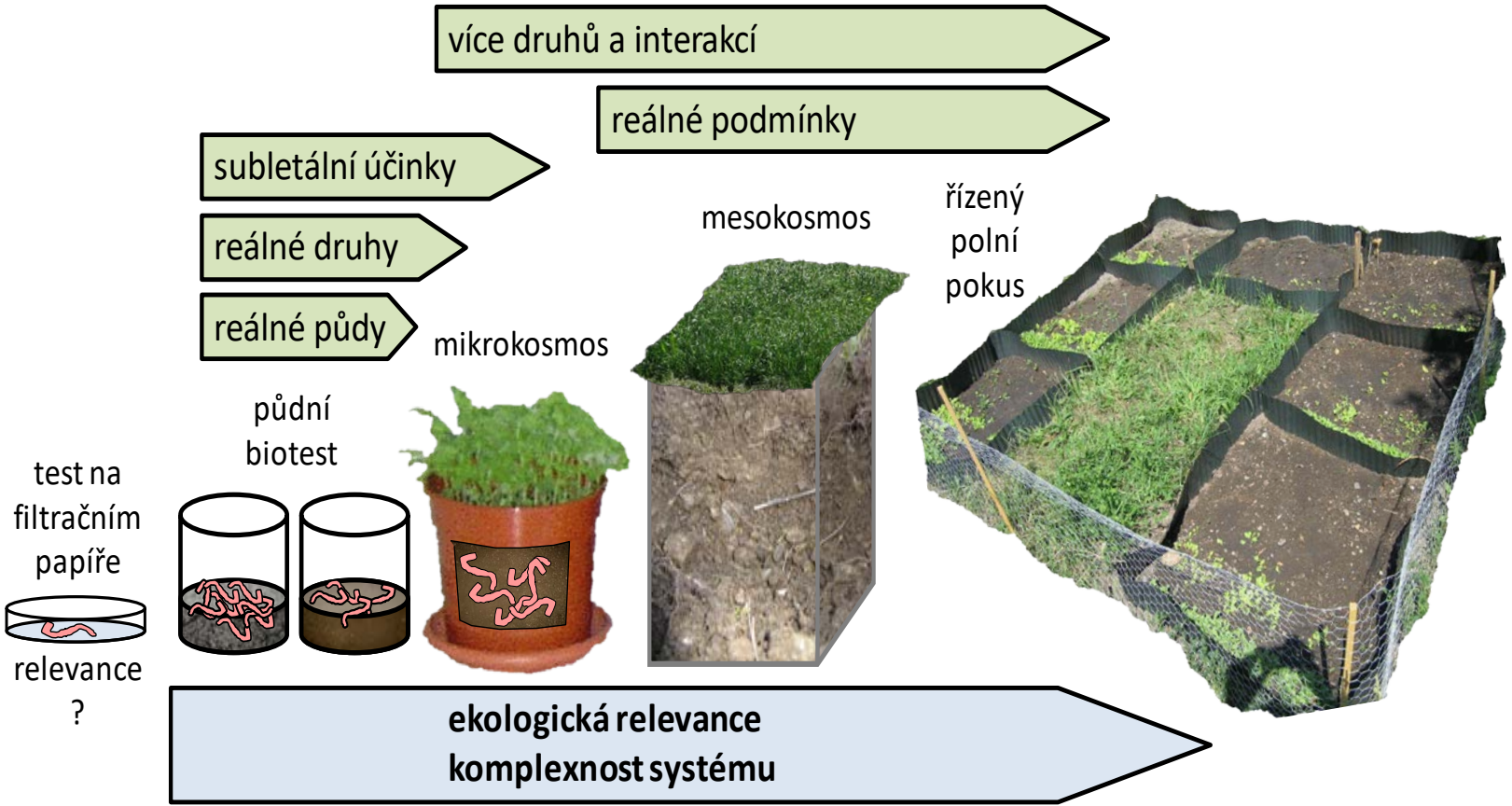
- srovnávací test, limitní test
- test vztahu koncentrace – účinek, předběžný ➔ finální



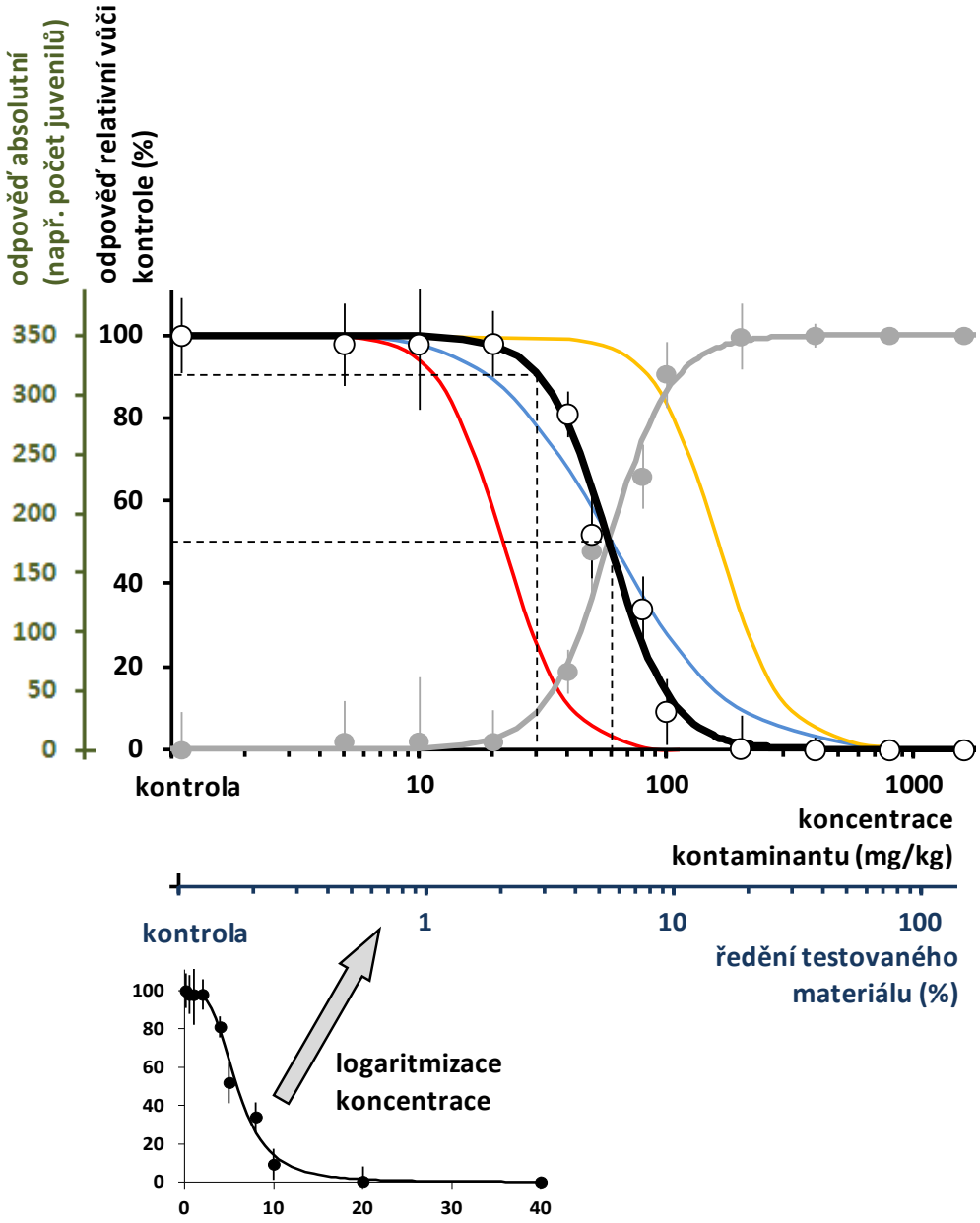
Biotest vs reálný ekosystém

Od základní varianty laboratorního testu s modelovým druhem, modelovou environmentální matricí a standardními sledovanými parametry se ekologická relevance testu (tj. přibližování se reálnému ekosystému) zvyšuje použitím reálné matrice, reálných druhů, reálných podmínek, zapojením subletálních parametrů, prolongací testů apod.

Čím vyšší je tato relevance, tím nižší je potřeba výsledky testu před použitím pro odhady rizika pro reálné ekosystémy nějak upravovat, extrapolovat a podobně.



Vztah koncentrace - účinek



- osa X - koncentrace testovaného kontaminantu či ředění testovaného materiálu (případně intenzita stresoru)
  - většinou v logaritmické škále - rozložení reaktivnosti bioty na zvyšující se stres má většinou log-normální charakter a logaritmováním osy X dostává křivka lépe modelovatelný středově souměrný sigmoidní tvar
  - kontrola odpovídá nulové koncentraci (nepřítomnosti sledovaného faktoru) - na počátku osy

Vztah koncentrace – účinek osa X

- DÁVKA vs KONCENTRACE
  - Toxikologie – Dávka - mg/kg b.w. - body weight, mg/kg b.w./day
  - Ekotoxikologie – spíše se pracuje s koncentracemi – mg/L, mg/kg_{soil} apod.

Concentration and Dose

Concentration and dose both refer to the amount of test material to which the test organism is subjected. Concentrations are used to describe the amount of test material in the testing environment (e.g., mg/L in water, mg/kg in soil or mg/kg in food). Doses are used to describe the amount of test material administered to a subject (e.g., mg/kg-bodyweight in an avian bolus study). Statistical methods for both types of studies are identical; however, interpretations are different. Although "concentration" is used throughout this document, all the statistical methods presented here also apply to studies in which a dose is used.

- čisté látky a definované směsi látek
  - koncentrace v médiu - mg/L, mmol/L (= mM), mg/kg apod.
- vzorky z prostředí
  - extrakty ze vzorků a jejich % ředění
  - % zastoupení vzorku v referenčním materiálu

Vztah koncentrace – účinek
osa Y

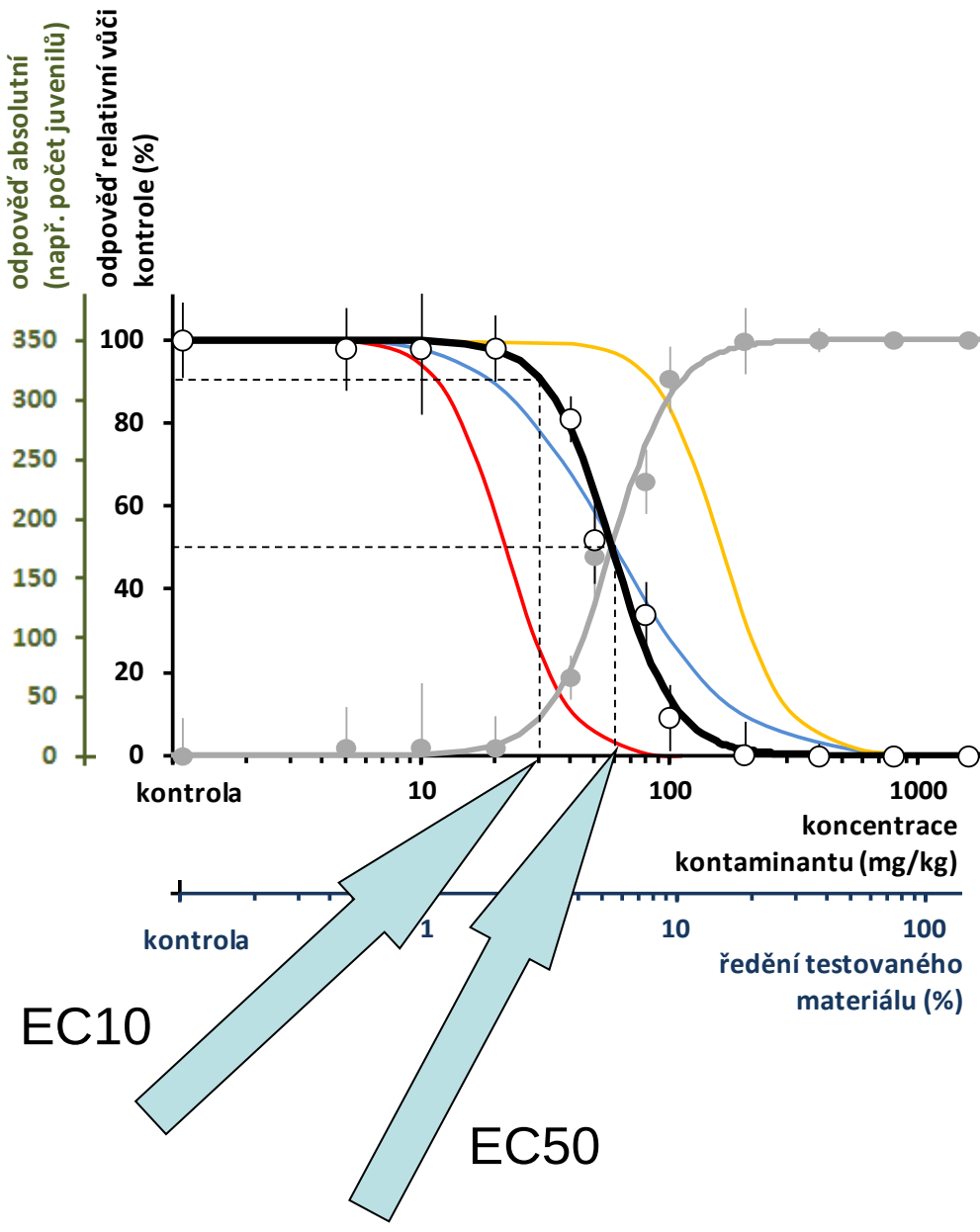
- vyjádření a zpracování výsledku – sledovaného parametru - sledovaná odpověď, např.

  - počty (organismů) s pozorovanou definovanou odpovědí (binární data)
  - frakce (procenta) exponovaných organismů, u kterých byla pozorována odpověď
  - v původních jednotkách parametru (např. počet přežívajících jedinců, počet juvenilů, váha, aktivita enzymu), přímo zjištěné výsledky sledovaného parametru
  - v relativní škále vztažením vůči výsledkům v kontrole (většinou v procentech 0 – 100 %) - počet organismů s pozorovaným účinkem
  - relativní (procenta) výsledky sledovaného parametru ve srovnání s kontrolou, která představuje 100 % (normální stav, vůči kterému dochází ke snižování vlivem eko-toxicity k 0 %, což je maximální ekotoxicita)
  - inhibice – míra poklesu sledovaného parametru vůči kontrole (kontrola představuje 0 %, v kontrole je nulová inhibice, 100 % je maximální ekotoxicita)

Vztah koncentrace - účinek

- nejlépe vztah popisuje celá křivka - nejkorektnější srovnání eko-toxicity různých látek (vzorků)
- pokud není prezentována celá křivka - používají se pro charakterizaci eko-toxicity výstupy – **parametry eko-toxicity** :

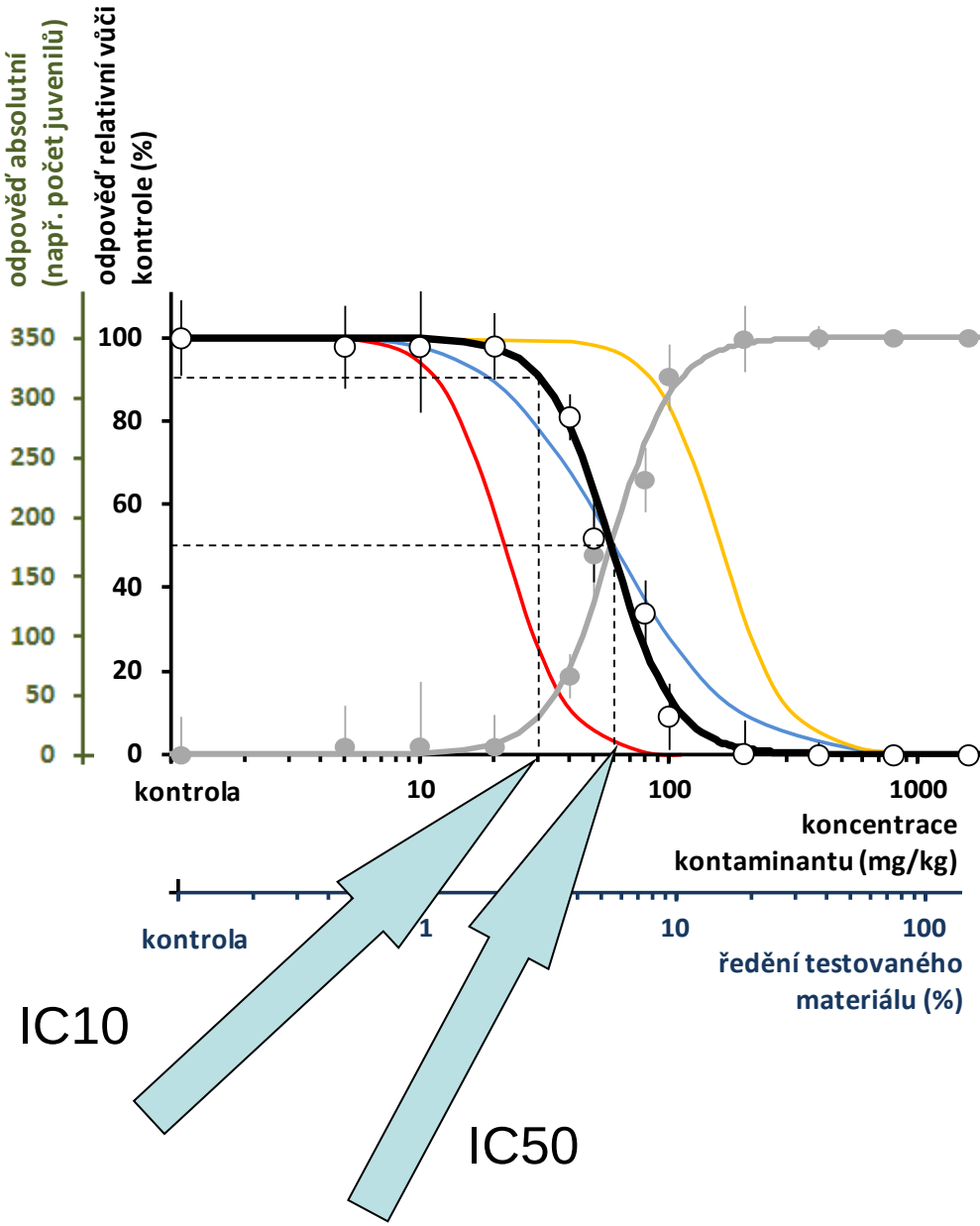
- **EC_X („effective concentration“)**
  - efektivní koncentrace
  - jde-li o kvantitativní sledovaný parametr (např. počet juvenilů/potomků, váha, aktivita, velikost…), je to koncentrace, v níž se změnil sledovaný parametr o X % ve srovnání s kontrolou
  - jde-li o kvalitativní sledovaný parametr (např. má/nemá léze), je to koncentrace, v níž je sledovaný účinek pozorován u X % organismů



Vztah koncentrace - účinek

- **parametry eko-toxicity** :

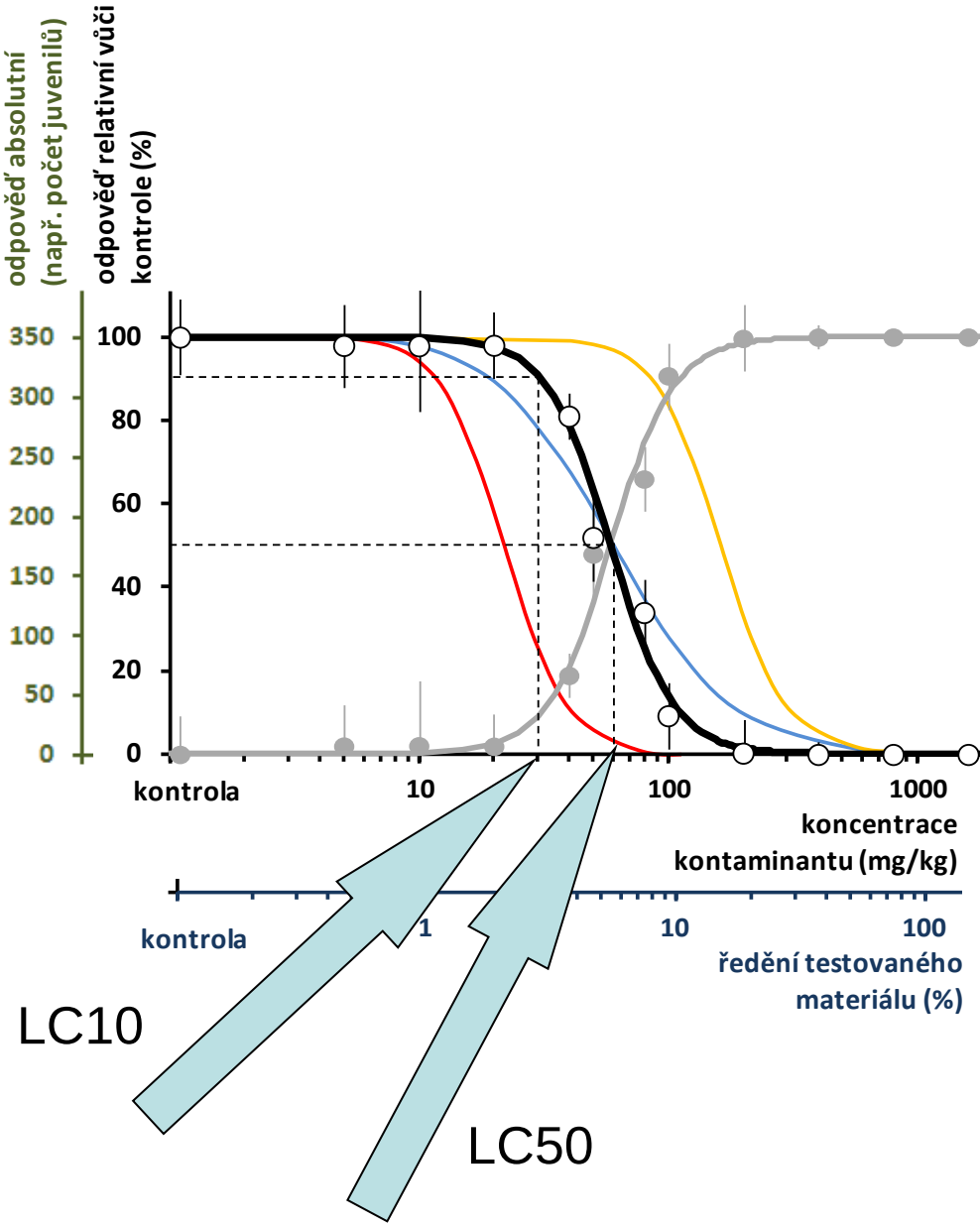
- **IC_X („inhibition concentration“)**
- inhibiční koncentrace
- koncentrace, v níž dosahuje sledovaný parametr X % inhibici oproti kontrole (např. počet juvenilů, váha, aktivita, velikost…)



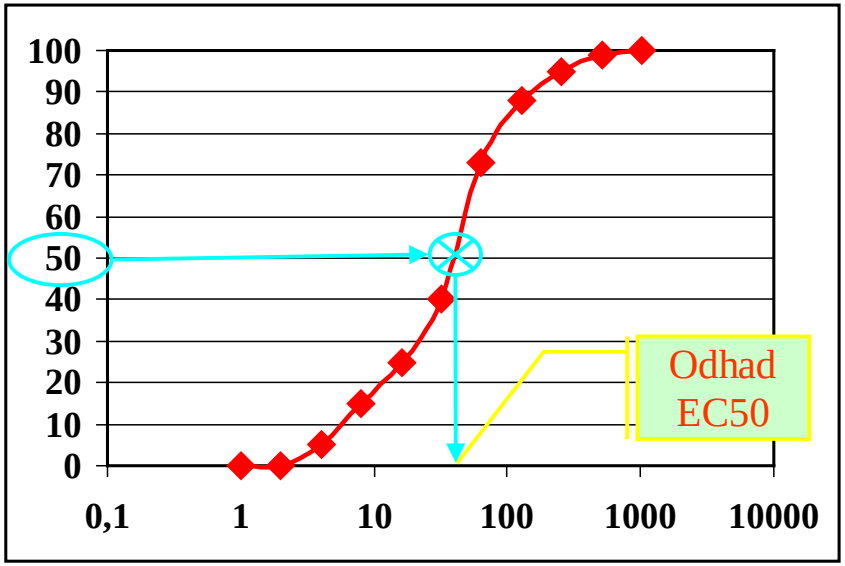
Vztah koncentrace - účinek

- **parametry eko-toxicity** :

- **LC_X („lethal concentration“)**
- letální koncentrace
- koncentrace, v níž došlo k letalitě (mortalitě) X %, tj. uhynulo X % z exponovaných organismů
- pokud je zaznamenána nějaká mortalita v kontrole, může jít o koncentraci, v níž uhynulo X % organismů ve srovnání s kontrolou



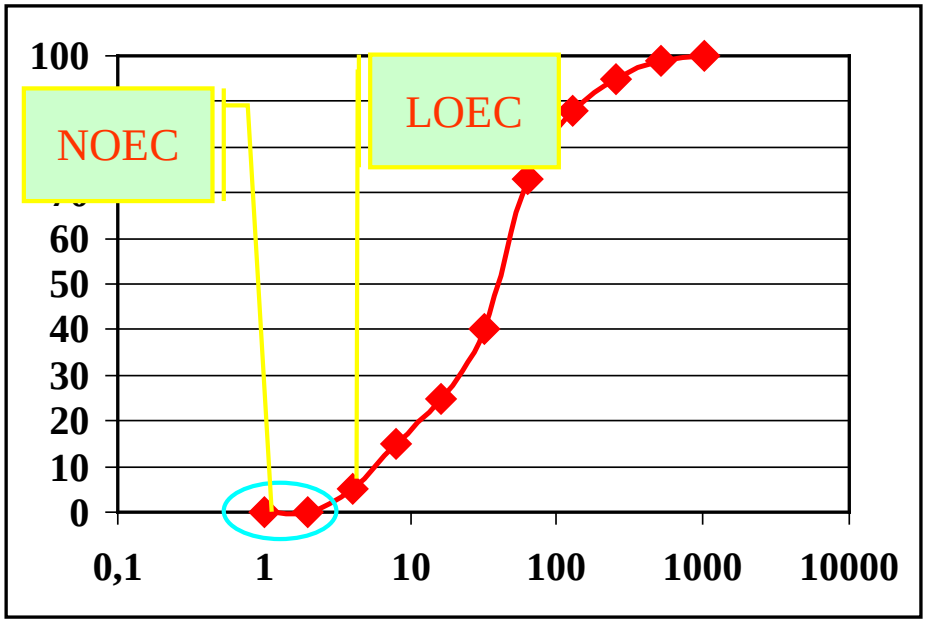
Parametry které mohou být vypočítány z křivky dávka-odpověď



- **ED_{50}** - účinná dávka, která způsobí účinek u 50% jedinců, či která způsobí 50 % maximálního účinku, 50% odpověď v populaci
- **LD_{50}** – účinná dávka, která způsobí 50% mortalitu testovacích organismů
- **EC_{50}** - účinná koncentrace, která způsobí účinek u 50% jedinců, či která způsobí 50 % maximálního účinku, 50% odpověď v populaci
- **LC_{50}** – 50% letální koncentrace - účinná koncentrace, která způsobí 50% mortalitu testovacích organismů
- **IC_{50}** – inhibiční koncentrace, která sníží normální odpověď o 50%
- Další zahrnující jinou percentuální změnu (10%, 20%, atd.)

  ECx, EDx, např.EC05, EC20, EC90, …Rozmezí EC20 – EC80

Parametry které se odvozují z oblasti nízkých dávek/koncentrací



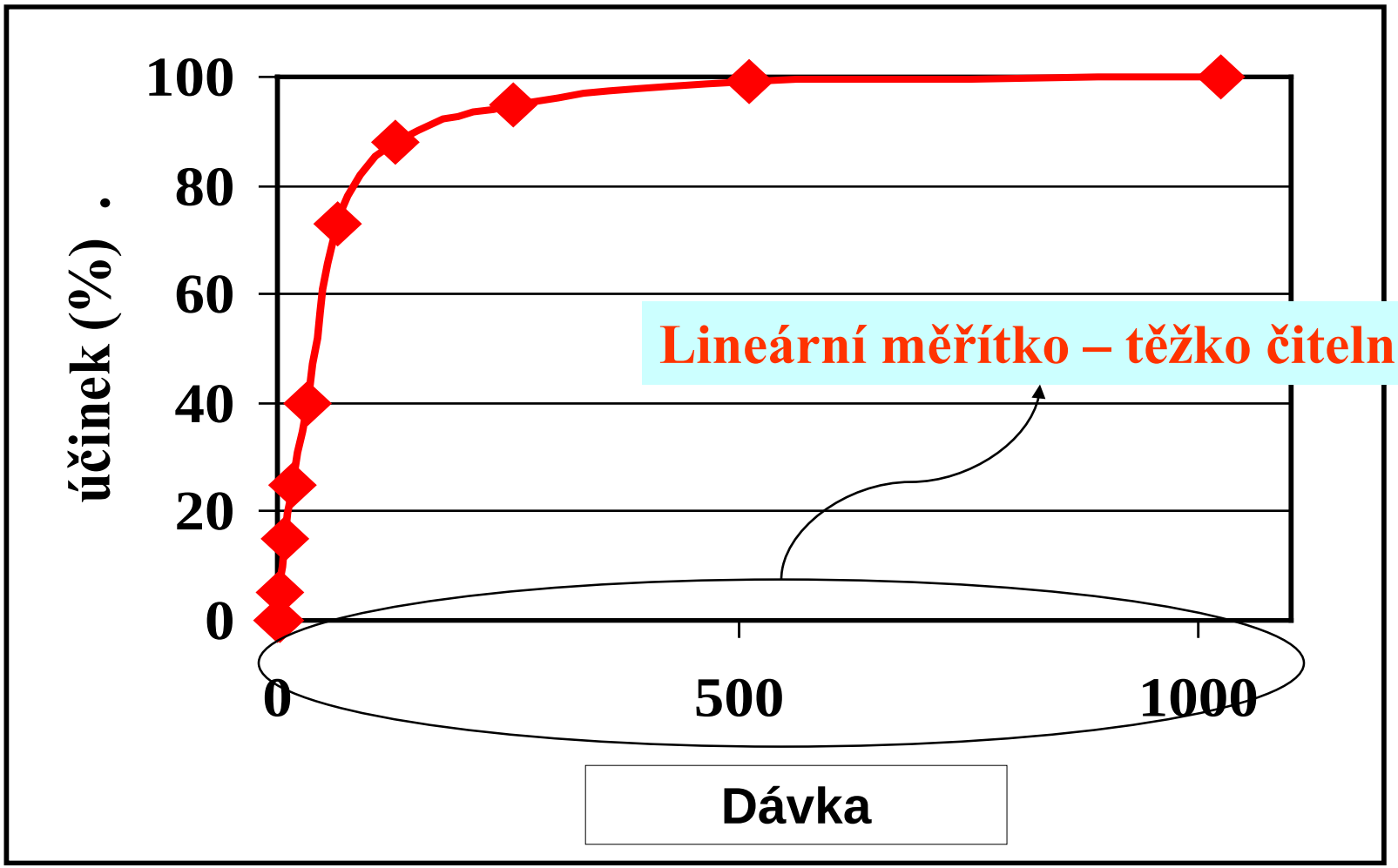
- **NOEC** - No Observed Effect Concentration. Nejvyšší testovaná koncentrace látky, která nezpůsobila statisticky významný účinek v porovnání s kontrolou.
- **LOEC -** Lowest Observed Effect Concentration. Nejnižší testovaná koncentrace látky, která způsobila statisticky významný účinek v porovnání s kontrolou. Nejbližší vyšší koncentrace než NOEC.

- **NOEL -** No Observed Effect Level. Nejvyšší testovaná dávka látky, která nezpůsobila statisticky významný účinek v porovnání s kontrolou.
- **LOEL**
- **NOAEL -** No Observed Adverse Effect Level. Nejvyšší testovaná dávka látky, která nezpůsobila negativní účinek. Je pozorován účinek, ale není považován za nebezpečný.
- **LOAEL -** Lowest Observed Adverse Effect Level. Nejnižší testovaná dávka látky, která způsobila negativní účinek.

3
Experimentální design pro testy toxicity
(látky s prahovým účinkem)

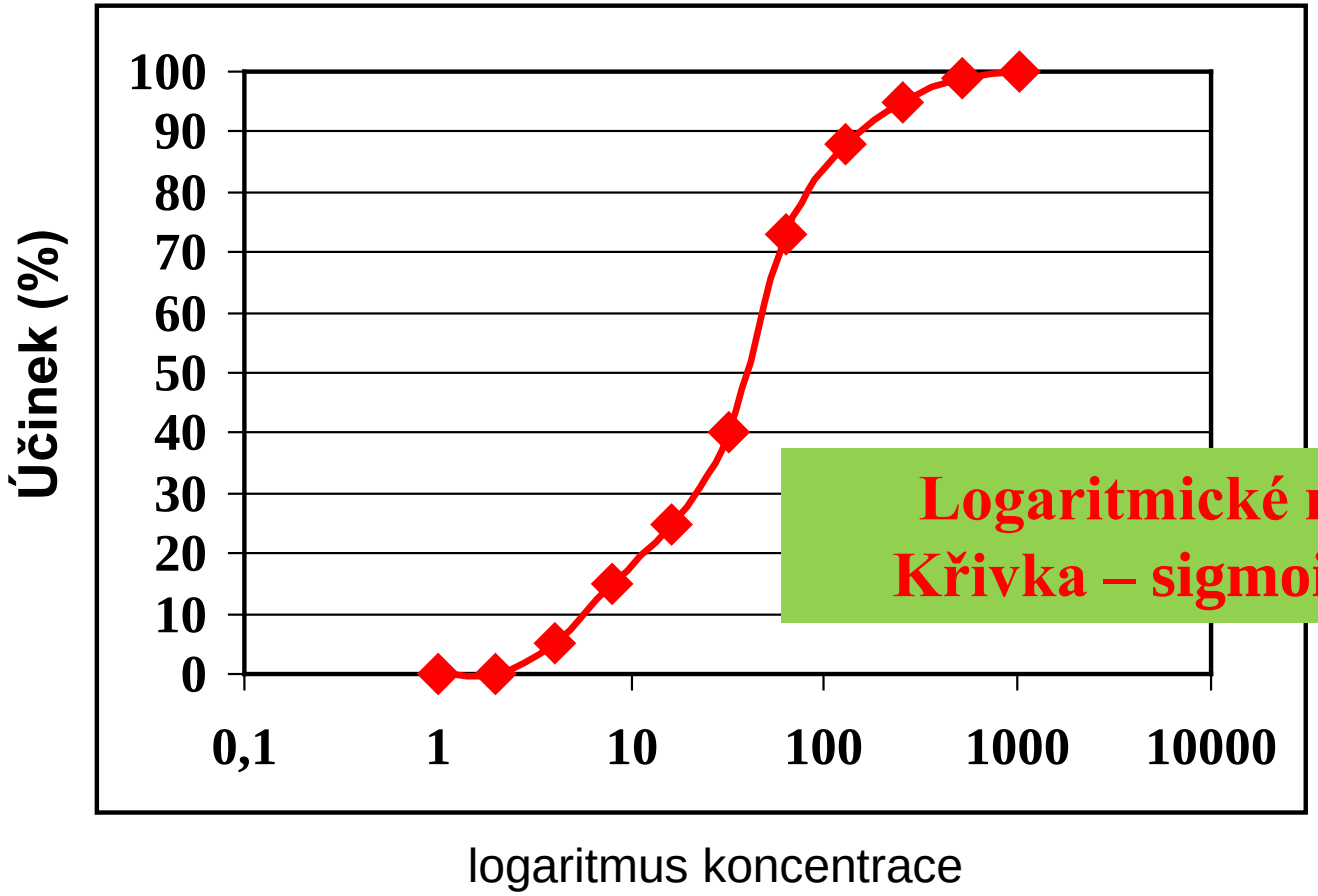
Prahová odpověď - Ideální křivka dávka – odpověď:

~ naměřené efekty pokrývají celou škálu účinků od minimálních po maximální možné



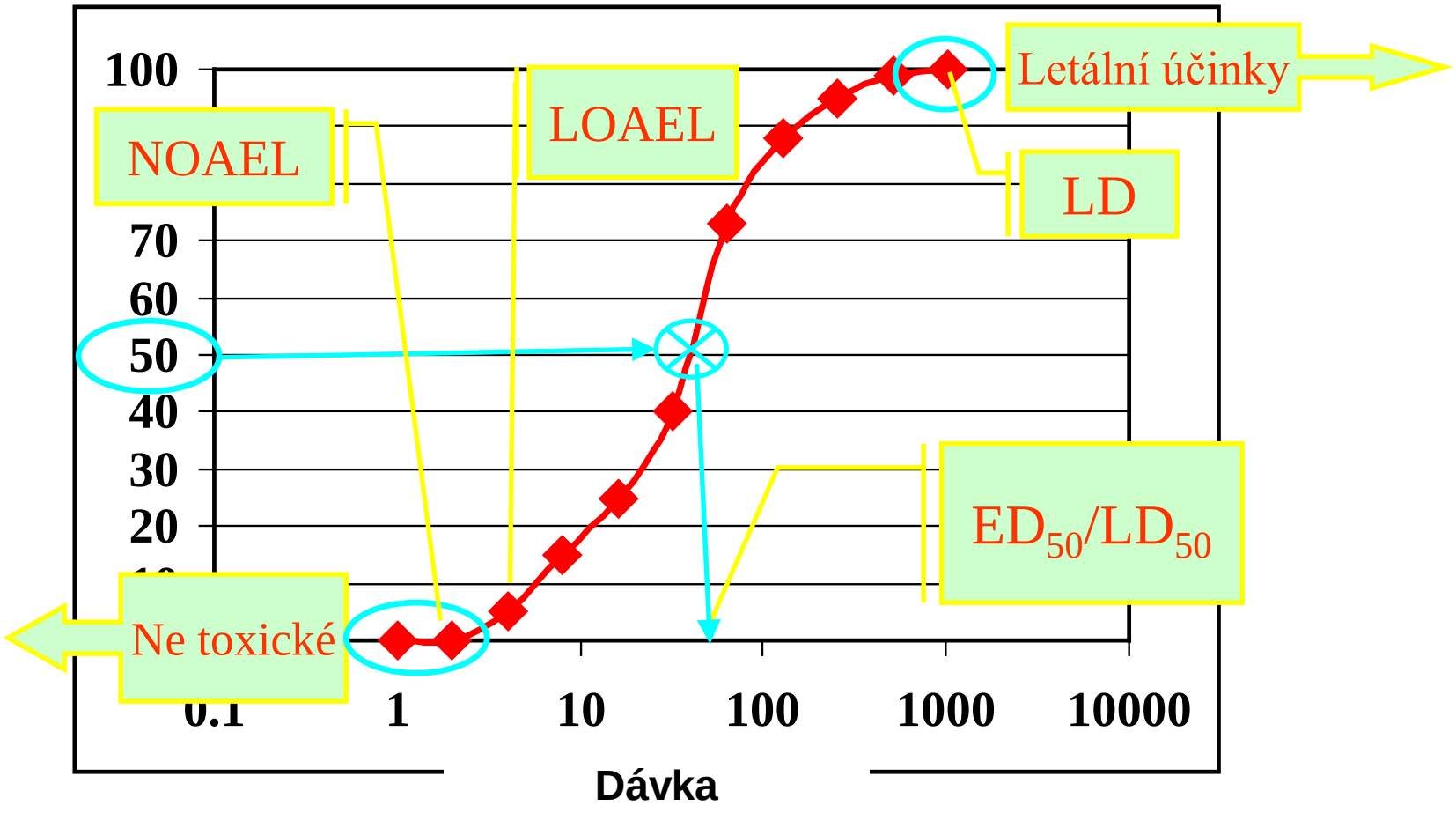
Ideální křivka dávka – odpověď:

~ naměřené efekty pokrývají celou škálu účinků od minimálních po maximální možné



Logaritmické měřítko
Křivka – sigmoidní tvar

Ideální křivka dávka – odpověď



Logaritmické měřítko

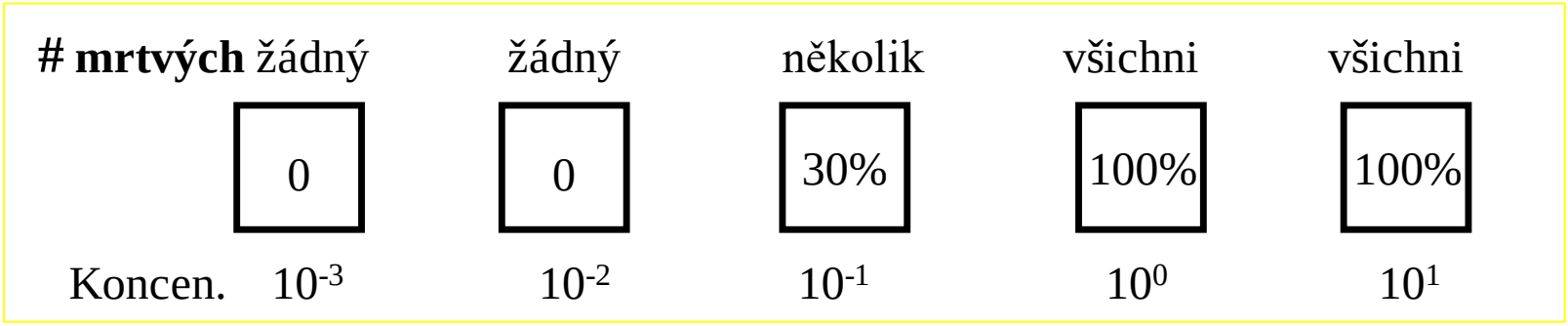
Křivka – sigmoidní tvar

Experimentální design: Správné testování toxicity (letální účinky)

Krok 1 – Skríningový test

Provádí se, pokud nemáme podkladová data
(pro úsporu materiálu při hledání lineární části odpovědi)

- Exponovat 5 – 10 organismů desítkové koncentrační řadě po 24 - 96 h
  - Cílem určit rozmezí kde se nachází 50 % letální koncentrace (LC50)



Krok 2 – Definitivní test

- Z předchozích výsledků – stanovit rozmezí testu:

→ dolní = 10^{-2} = 0.01 mg/L

→horní = 10^{0} = 1.0 mg/L

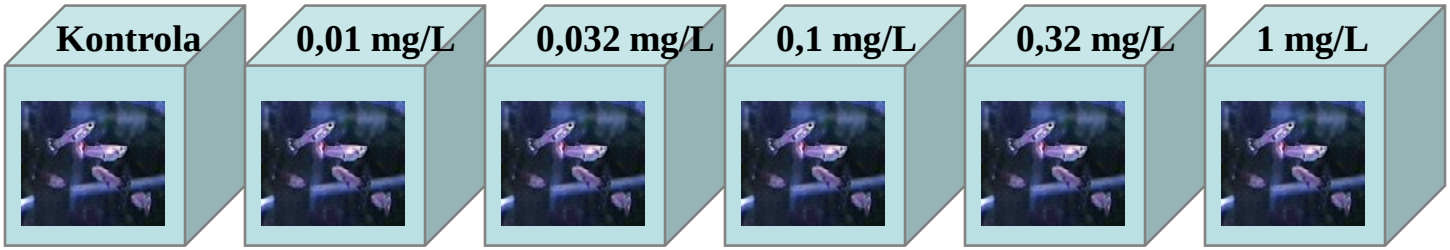
- Použít 10 – 30 organismů → náhodně rozdělit mezi testovacími nádobami
- Provést test s využitím logaritmického měřítka koncentrací, protože organismy zpravidla odpovídají logaritmicky na toxikanty
- Obvykle použít alespoň 5 koncentrací + kontrola

Kontrola – ověřuje toxicitu pozadí, ředící vody, media, zdravotní stav organismů, vliv stresu testovacího prostředí (testovací nádoby, osvětlení, teplota, atd.)

!!Validita testu!! např.úhyn >10% kontrolních organismů → neplatný test!

Příklad uspořádání definitivního testu

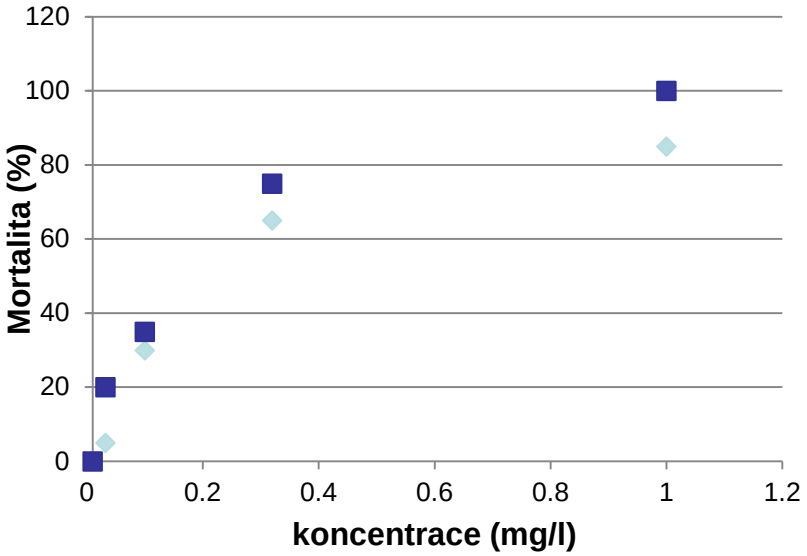
Pokus. zásah	Ředění	Koncentrace (mg/L)
1	10^{-2}	0.01
2	$10^{-1.5}$	0.032
3	10^{-1}	0.1
4	$10^{-0.5}$	0.32
5	10^{0}	1.0
Kontrola		0.0

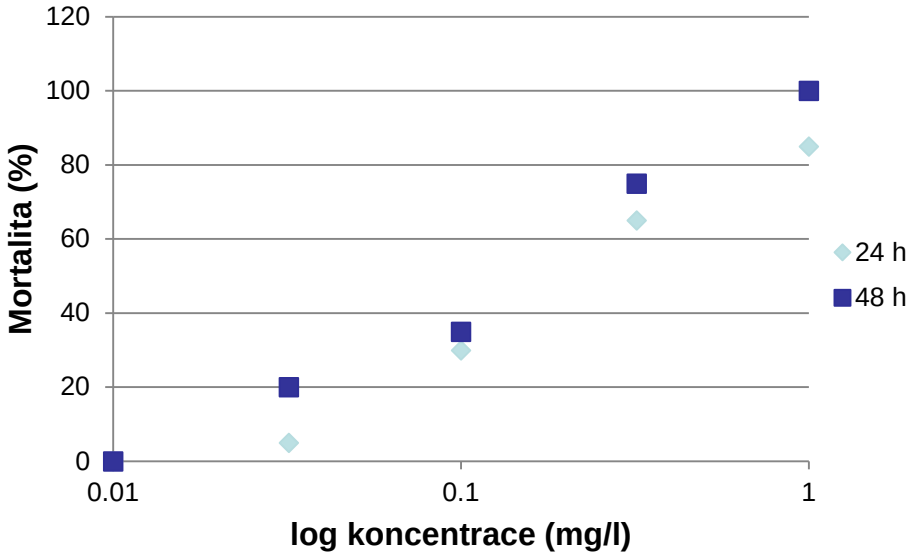


Exponováno 20 jedinců/koncentraci					
Odpověď po 24 hodinách, jedinců					
0	0	1	6	13	17
Odpověď po 96 hodinách, jedinců					
0	0	4	9	15	20

Výsledek testu

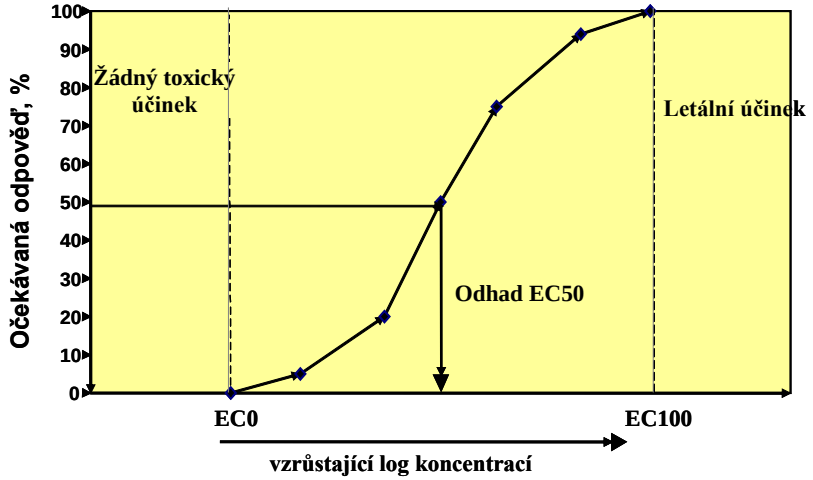
Koncentrace	Kontrola	0.01 mg/L	0.032 mg/L	0.1 mg/L	0.32 mg/L	1 mg/L
Účinek 24 h	0%	0%	5%	30%	65%	85%
Účinek 96 h	0%	0%	20%	35%	75%	100%





Testované koncentrace

!Kvalita výsledků je určena správným výběrem testovaných koncentrací!



a) Koncentrační řada pro stanovení EC50/LC50:

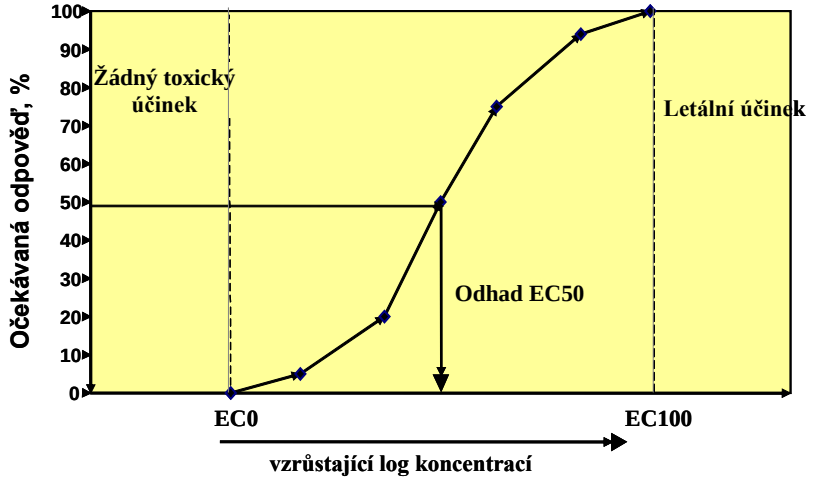
- Testované koncentrace by měly pokrývat rozmezí od koncentrací nevykazujících žádný účinek až po 100% letální koncentraci
- Dobře vybraná koncentrační řada pro stanovení EC50/LC50 má jednu koncentraci blízko EC50, a nejméně dvě koncentrace s částečným účinkem pod a nad EC50 – rozložené symetricky.
- Koncentrační řada by měla být v geometrickém měřítku. Ředící krok (koeficient) obvykle 2 až 10
- Příklady koncentračních řad:
  - 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000

  (látky s mírným sklonem odpovědi (některé pesticidy); koeficient ředění 10)
  - 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32

  (příkřejší odpověď, koeficient 2)

Testované koncentrace

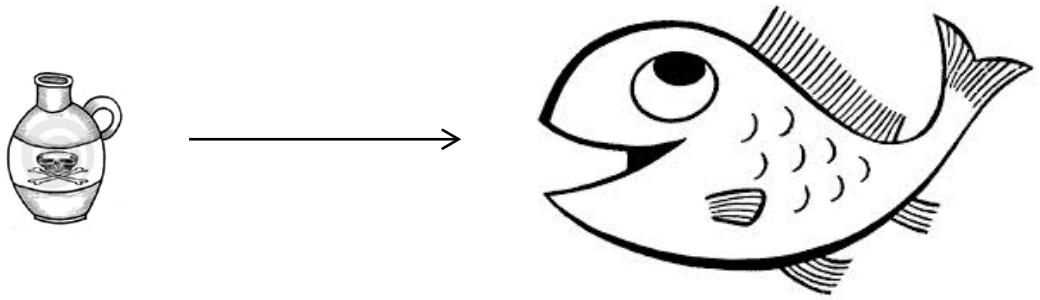
!Kvalita výsledků je určena správným výběrem testovaných koncentrací!



b) Koncentrační řada pro stanovení NOEC/LOEC (NOEL/LOEL):

- Dobře vybraná koncentrační řada pro stanovení LOEC/NOEC má několik koncentrací v oblasti nízkých odpovědí, nad a pod očekávanou LOEC a relativně nižší ředící koeficient (≤ 2)

4a
Stanovení NOEC/LOEC (NOAEL/LOAEL) hodnot
- látky s prahovým účinkem



Stanovení NOEC/LOEC, NOAEL/LOAEL hodnot

- Odpovědi organismů na působení testovaných koncentrací toxické látky jsou porovnávány s kontrolou

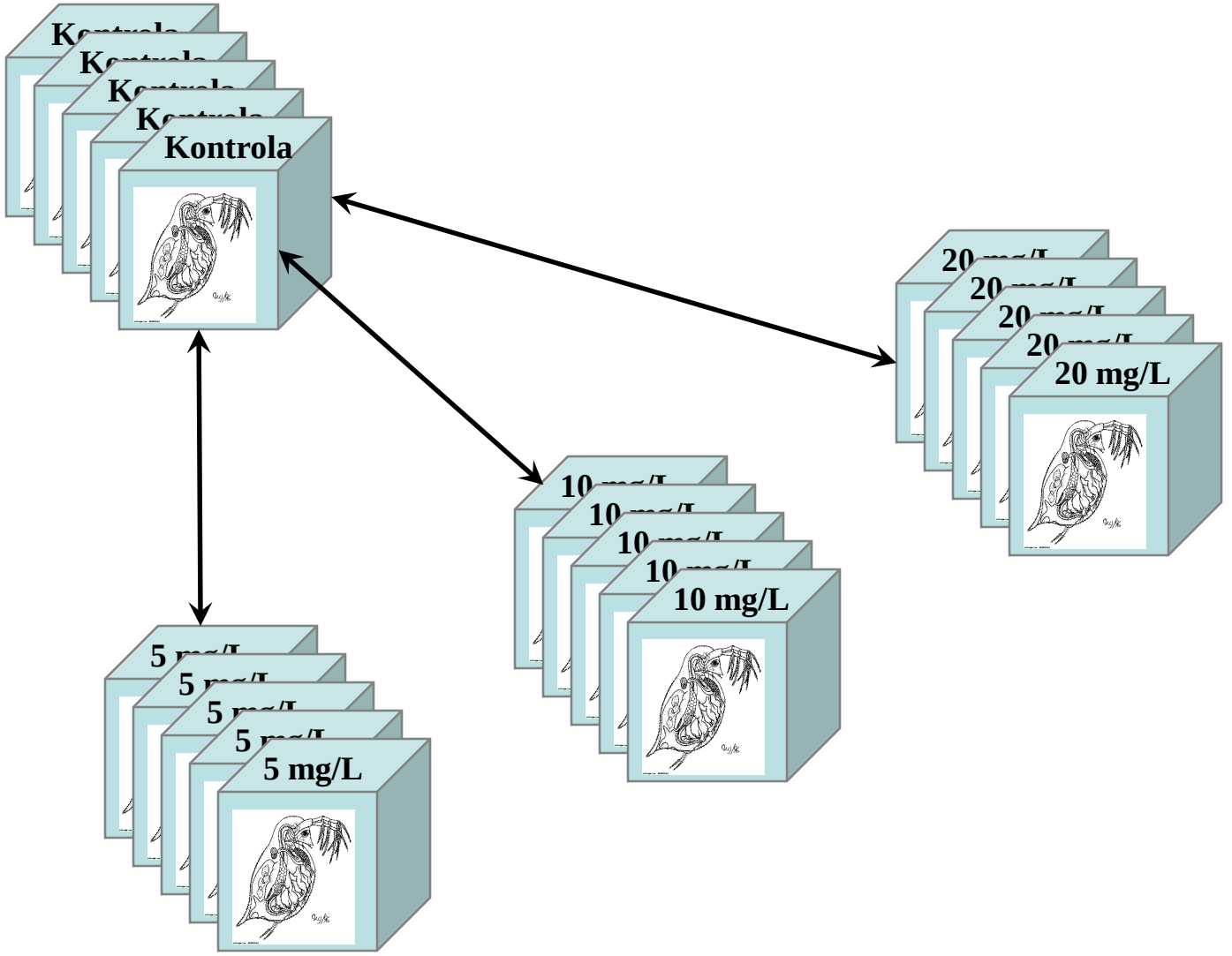
- Hledáme nejvyšší koncentraci, která nezpůsobuje toxickou odpověď (NOEC, NOAEL) či první koncentraci, která již způsobí toxickou odpověď (LOEC, LOAEL)

Stanovení NOEC/LOEC hodnot

~ využití statistických testů

- ANOVA (Analýza rozptylu) + post-hoc test
  - Kruskal-Wallisův test + post-hoc test

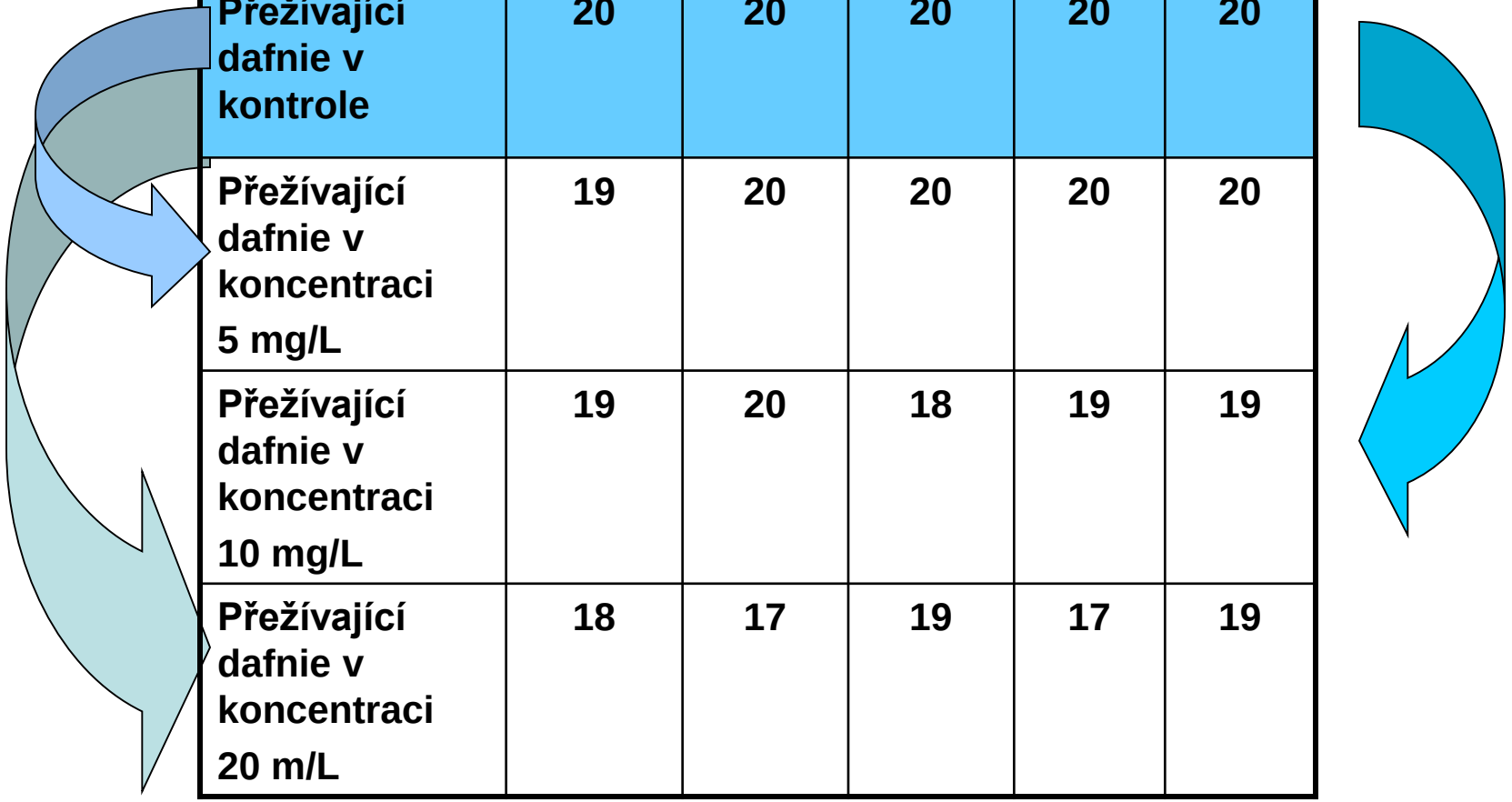
Stanovení NOEC/LOEC hodnot



Příklad určení NOEC/LOEC

Porovnáváme 3 testované koncentrace s kontrolou

Přežívající dafnie v kontrole	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**
Přežívající dafnie v koncentraci 5 mg/L	**19**	**20**	**20**	**20**	**20**
Přežívající dafnie v koncentraci 10 mg/L	**19**	**20**	**18**	**19**	**19**
Přežívající dafnie v koncentraci 20 m/L	**18**	**17**	**19**	**17**	**19**

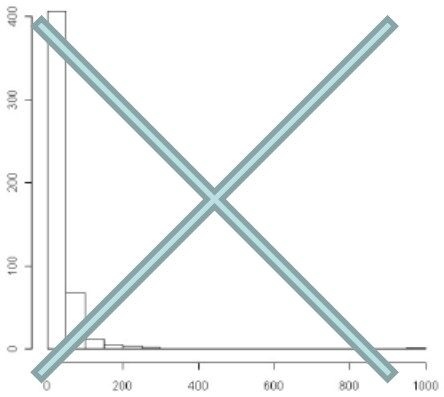


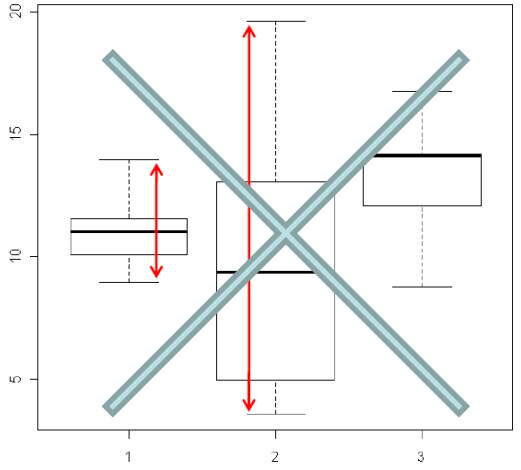
Stanovení NOEC/LOEC
~ využití statistických testů

- ANOVA (Analýza rozptylu)

! Pro její správné použití je nutné splnit dva předpoklady!

1) Hodnoty ve srovnávaných skupinách mají normální (Gaussovo) rozložení (použití testů normality, např. Shapiro-Wilkův test)
2) Rozptyly hodnot ve srovnávaných skupinách se od sebe statisticky neliší (použití box-plotů či Levenova testu)

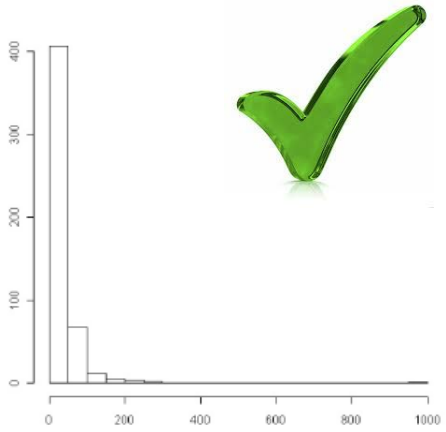


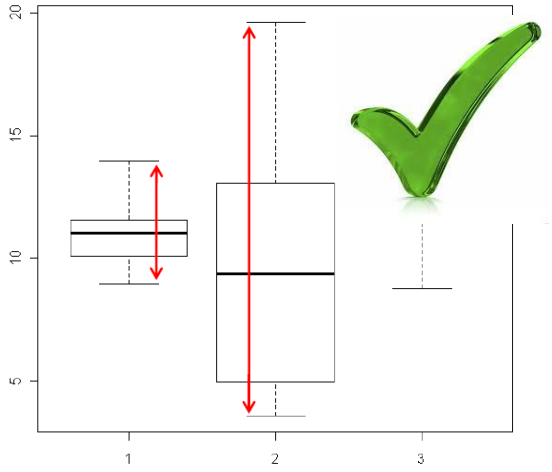


Stanovení NOEC/LOEC
~ využití statistických testů

- Kruskal-Wallisův test

~ neparametrická obdoba ANOVA při nesplnění předpokladů





Stanovení NOEC
~ využití statistických testů

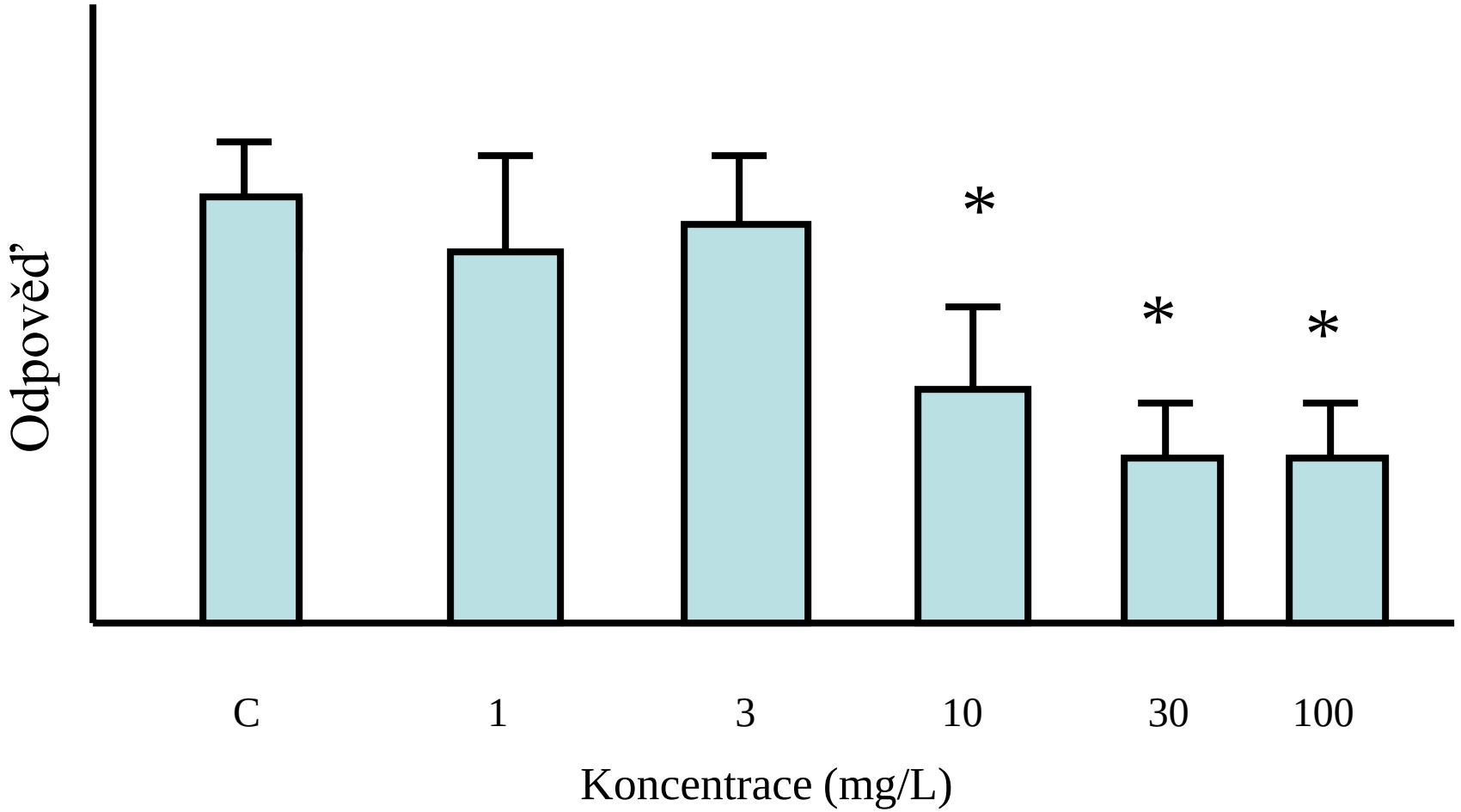
- Následné post-hoc testy

~ pokud ANOVA prokáže významný rozdíl mezi některými z testovaných skupin, použijeme některý z post-hoc testů na nalezení těchto skupin (např. Tukeyho,Dunnettův, Williamsův či LSD test nebo metodu dle Steela a Dwasse v případě použití Kruskal-Wallisova testu)

hlubší vhled do statistických metod hodnocení vztahů koncentrace – odpověď:
OECD (2014): Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: A guidance to application. OECD Series on Testing and Assessment, No. 54, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264085275-en.
https://www.oecd.org/env/current-approaches-in-the-statistical-analysis-of-ecotoxicity-data-9789264085275-en.htm

Výsledek analýzy rozptylu

Jaká hodnota odpovídá NOEC?
A jaká LOEC?

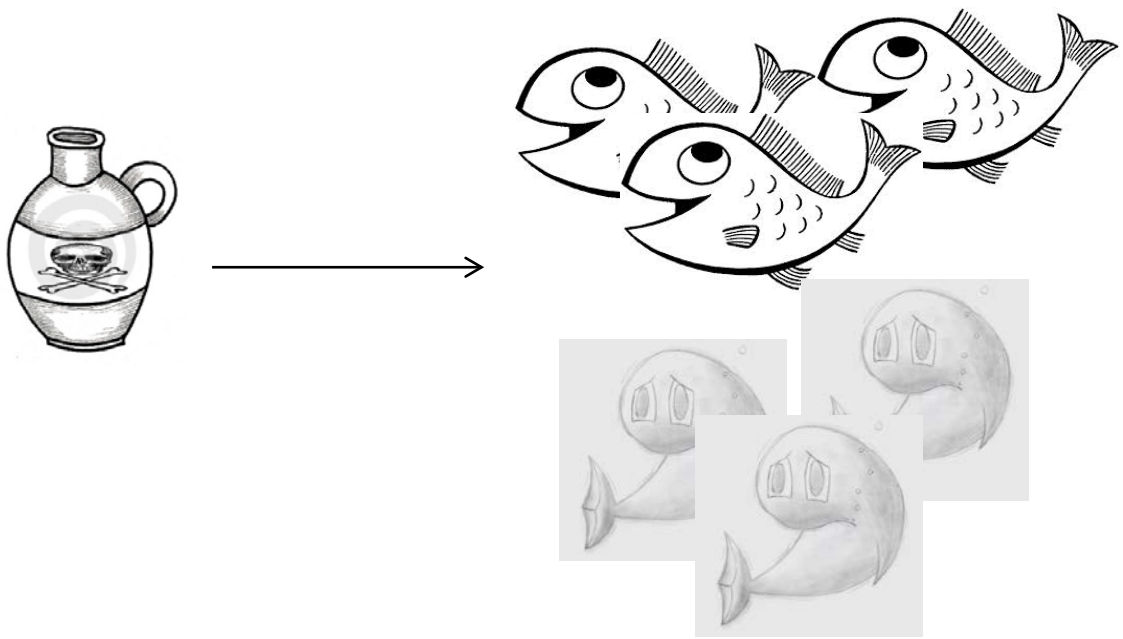


Nevýhody NOEC/LOEC (NOEL/LOEL) hodnot

- Jejich hodnota je silně závislá na designu experimentu a na:
  - Počtu opakování
  - Počtu testovaných koncentrací
  - Proceduře výběru koncentrací
  - Přirozené variabilitě systému
  - Použitých statistických metodách

  - hodnoty jsou závislé na zvolených koncentracích, kde se testovalo (tj. přímo některé z test. koncentrací) a nemají rozptyl ani interval spolehlivosti

Stanovení EC_x/ED_x hodnot
(látky s prahovým účinkem)

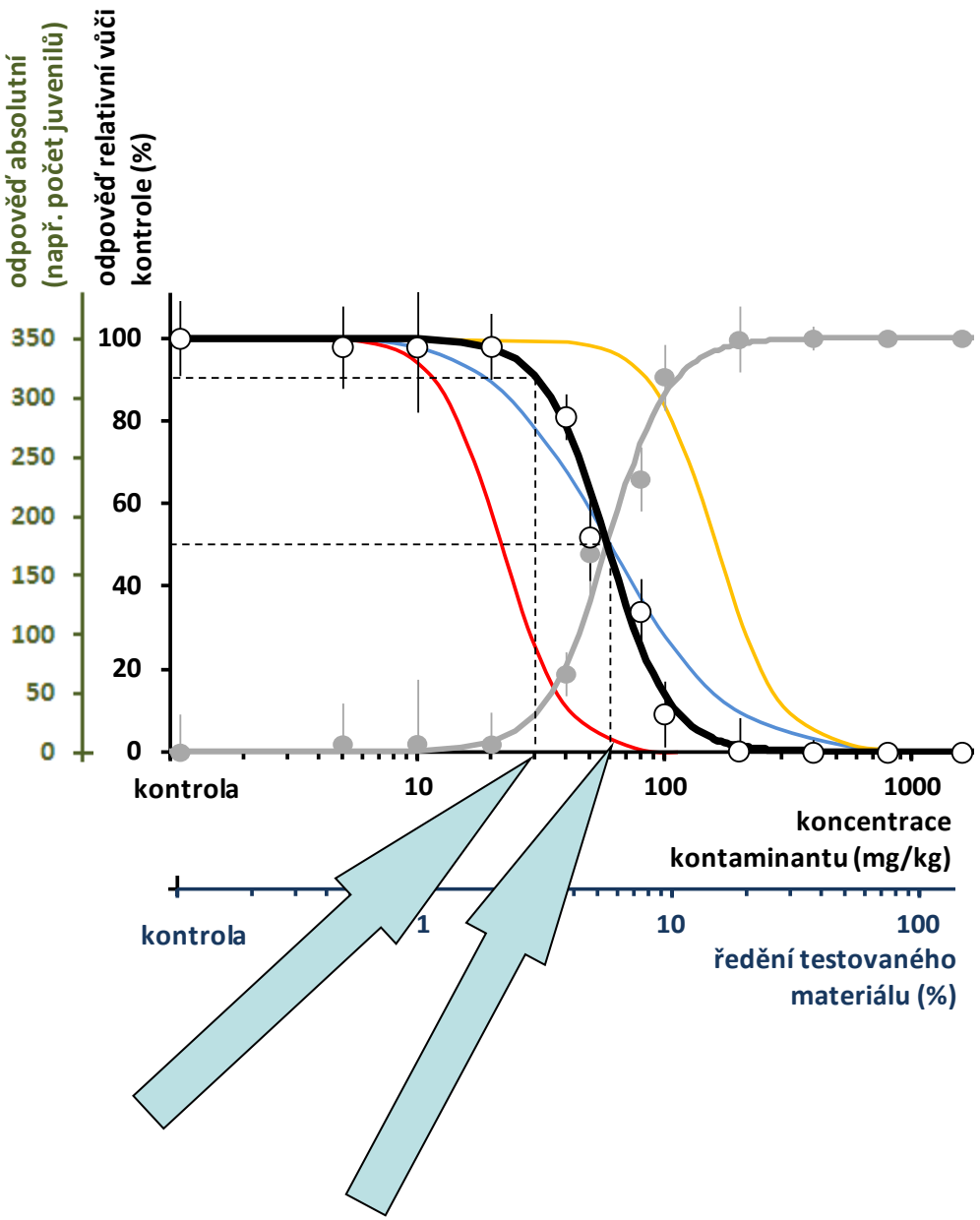


Vztah koncentrace - účinek

- parametry EC_X, LC_X a IC_X se vypočítají z proložených regresních modelů případně linearizací probitovou transformací

- z modelu vystupuje výsledek včetně příslušné **nejistoty výpočtu**
- lze definovat **intervaly spolehlivosti** - rozmezí, kde leží daný parametr s definovanou pravděpodobností (např. 95 %) např. EC50 = 45,2 (34 - 56) mg/L
- že získané parametry mají rozptyl, je velká výhoda - lze je (tj. toxicitu) statisticky srovnávat mezi různými kontaminanty

- modelovací přístup = výsledné hodnoty nemusí být v jedné z měřených koncentrací - **významná výhoda EC_X, LC_X a IC_X přístupu**



Výpočet EC50

- Interpolační metody

a) Dvoudávková metoda a Lineární regrese

b) Probitová transformace křivky dávka-odpověď

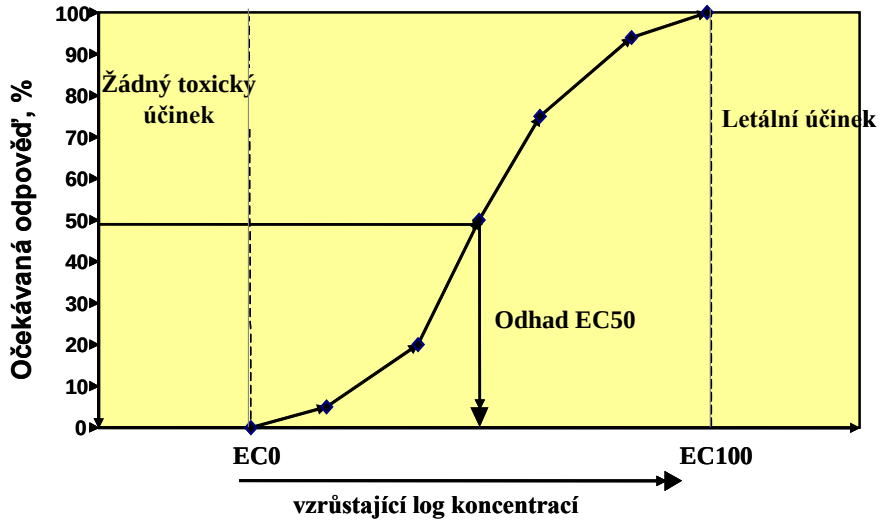
c) Nelineární regrese

Pokud je křivka (hlavně její lineární část) detailně proměřená – neměl by být významný rozdíl ve výsledcích získaných různými postupy výpočtu (bohužel ne vždy to je možné)

a) Dvoudávková metoda

$$\log(EC50) = x_{50} = x_1 + \frac{0{,}5 - p_1}{p_2 - p_1}(x_2 - x_1)$$

- Nejjednodušší metoda odhadu
- Pokud je EC50 zhruba známá
- Jedna koncentrace v intervalu (20; 50)
- Druhá koncentrace v intervalu (50; 80)
- Interval (20; 80) je zhruba lineární pro účinek vs. log koncentrací

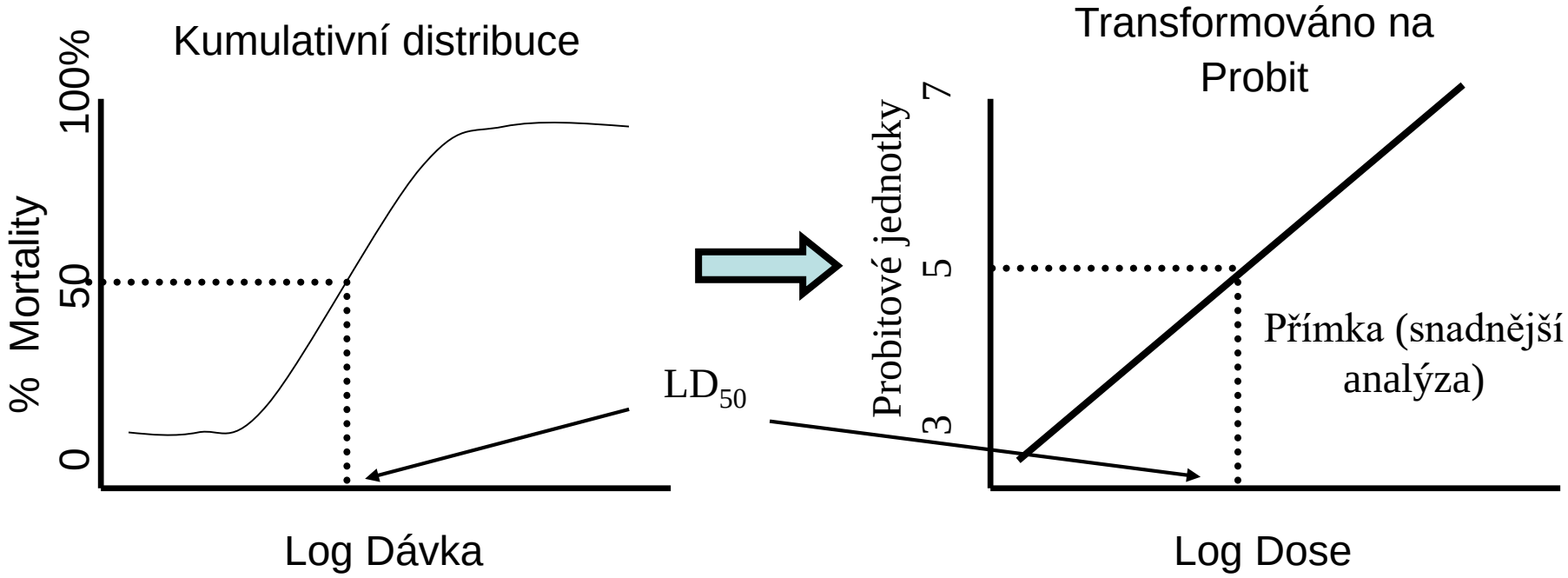


b) Probitová transformace křivky dávka-odpověď

- Probitová transformace zlinearizuje (narovná) kumulativní distribuční křivku a to lze následně využít pro jednodušší výpočet EC50 (LC50) hodnot
- Založeno na hypotéze že resistence k toxikantům je normálně rozložena
- Výhodou je usnadnění analýzy
- Založeno na směrodatných odchylkách, takže každý probit je spojen s procenty odpovědi
- Průměrná odpověď je definována jako probit = 5, všechny probity jsou pozitivní → snažší vizualizace

b) Probitová transformace křivky dávka-odpověď

~Převedení křivky dávka-odpověď na přímku (lineární odpověď)

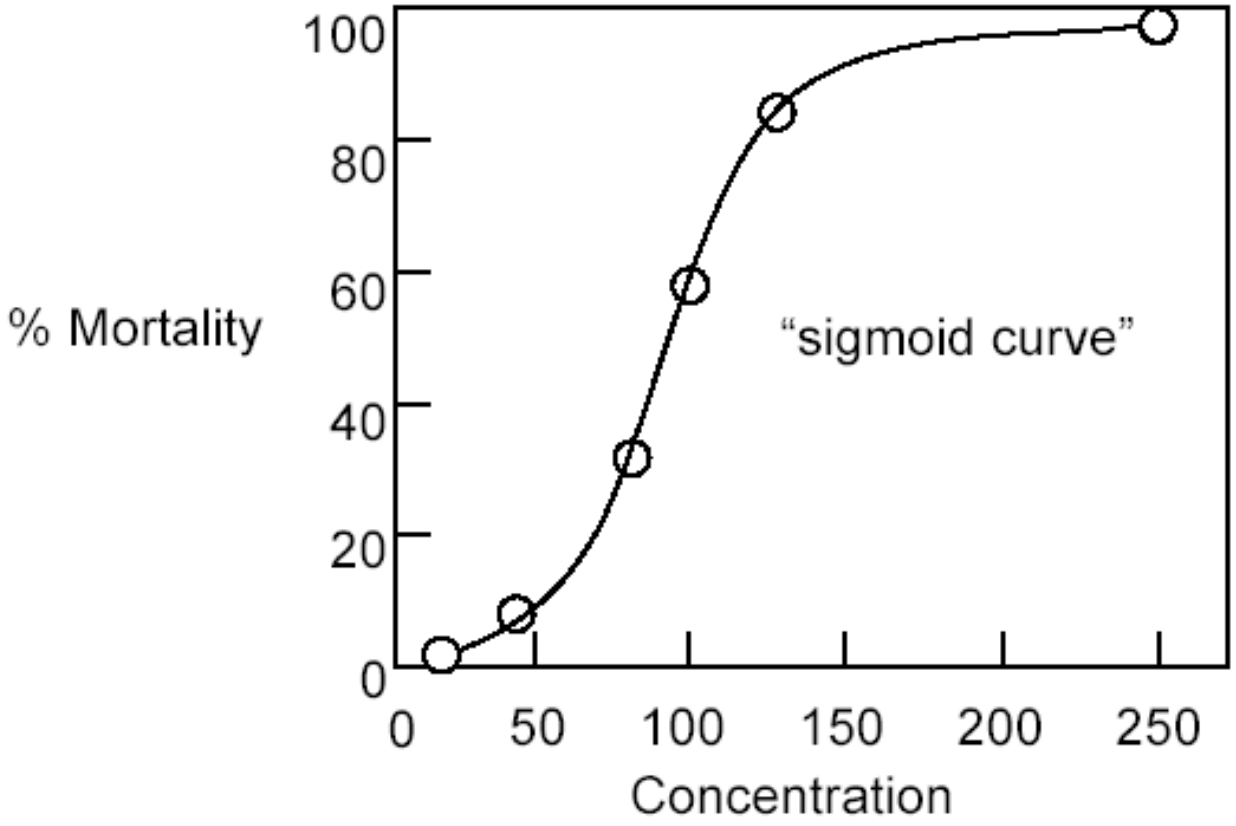


Tabulka pro probitovou transformaci

%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit
0,2	2,122	10,0	3,718	30,0	4,476	50,0	5,000	70,0	5,524	90,0	6,282
0,4	2,348	11,0	3,773	31,0	4,504	51,0	5,025	71,0	5,553	91,0	6,341
0,6	2,488	12,0	3,825	32,0	4,532	52,0	5,050	72,0	5,583	92,0	6,405
0,8	2,591	13,0	3,874	33,0	4,560	53,0	5,075	73,0	5,613	93,0	6,476
1,0	2,574	14,0	3,920	34,0	4,588	54,0	5,100	74,0	5,643	94,0	6,5S5
1,2	2,743	15,0	3,964	35,0	4,615	55,0	5,126	75,0	5,674	95,0	6,645
1,4	2,803	16,0	4,006	36,0	4,642	56,0	5,151	76,0	5,706	95,5	6,695
1,6	2,856	17,0	4,046	37,0	4,668	57,0	5,176	77,0	5,739	96,0	6,751
1,8	2,903	18,0	4,085	38,0	4,695	58,0	5,202	78,0	5,772	96,5	6,812
2,0	2,946	19,0	4,122	39,0	4,722	59,0	5,228	79,0	5,806	97,0	6,881
2,5	3,040	20,0	4,158	40,0	4,747	60,0	5,253	80,0	5,842	97.5	6,966
3,0	3,123	21,0	4,194	41,0	4,772	61,0	5,278	81,0	5,878	98,0	7,054
3,5	3,188	22,0	4,228	42,0	4,798	62,0	5,305	82,0	5,915	98,2	7,096
4,0	3,249	23,0	4,261	43,0	4,824	63,0	5,332	83,0	5,954	98,4	7,144
4,5	3,305	24,0	4,294	44,0	4,849	64,0	5,358	84,0	5,994	98.6	7,197
5,0	3,355	25,0	4,326	45,0	4,874	65,0	5,385	85,0	6,036	98.8	7,257
6,0	3,445	26,0	4,357	46,0	4,900	66,0	5,412	86,0	6,080	99,0	7,326
7,0	3,524	27,0	4,387	47,0	4,925	67,0	5,440	87,0	6,126	99,2	7,409
8,0	3,595	28,0	4,417	48,0	4,950	68,0	5,468	88,0	6,175	99,4	7,512
9,0	3,659	29,0	4,447	49,0	4,975	69,0	5,496	89,0	6,227	99,6	7,652
										99,8	7,878

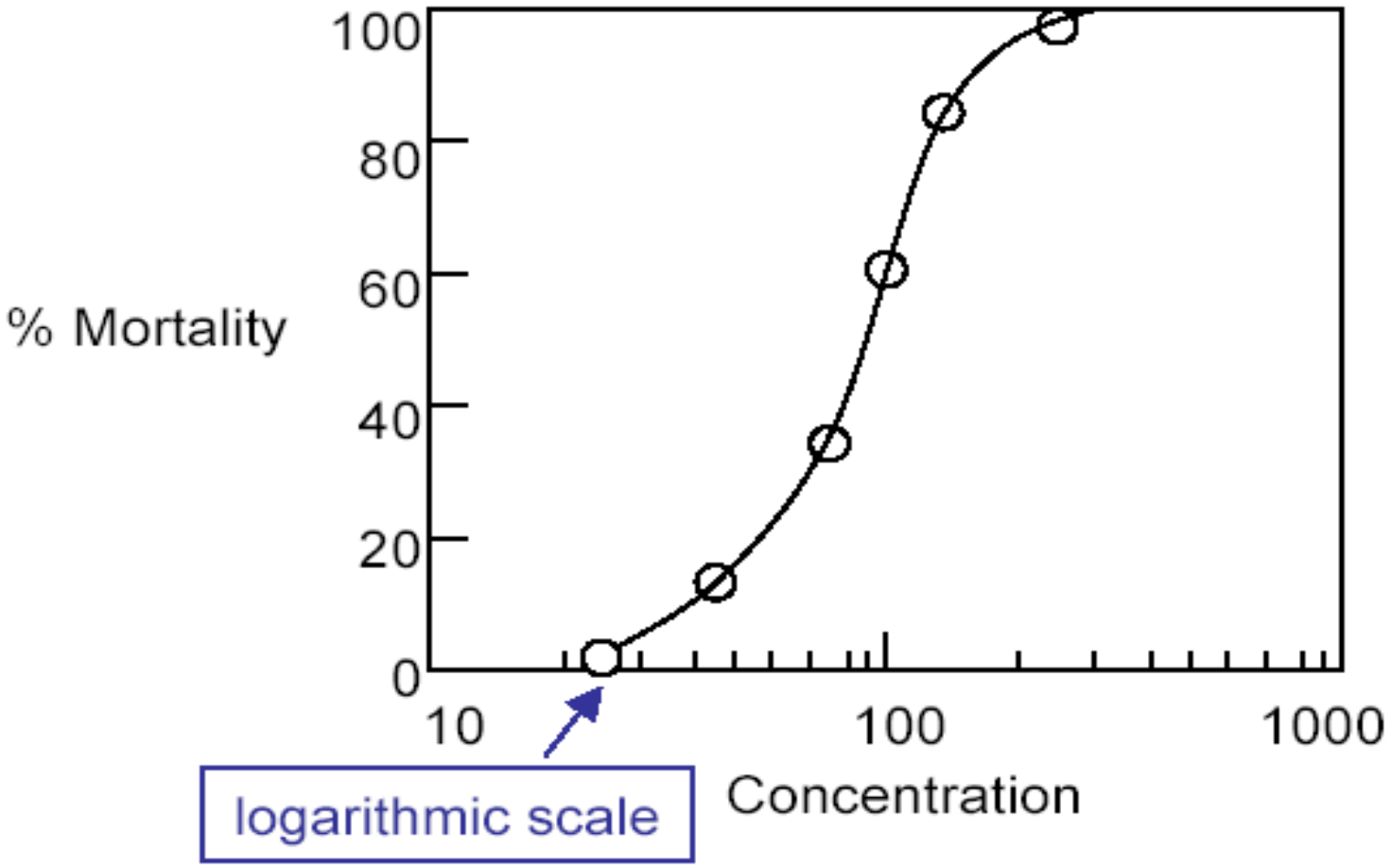
Příklad probitové analýzy

Výsledek testu: log-normální distribuce (sigmoidní křivka)



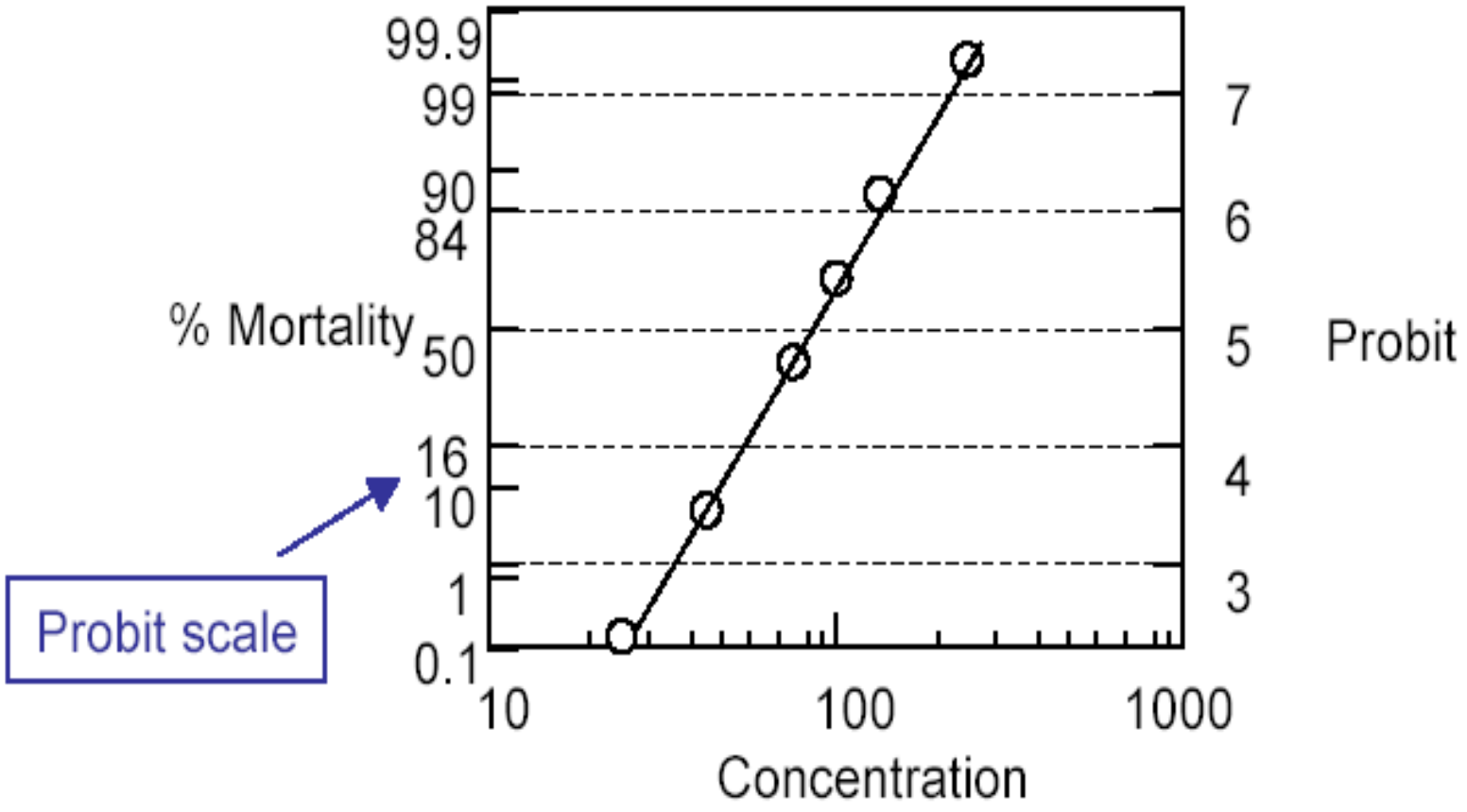
Příklad probitové analýzy

•Transformace dat : Krok 1
~ změna osy “koncentrací” na logaritmické měřítko



Příklad probitové analýzy

•Transformace dat : Krok 2
~ převedení % odpovědi na lineární formu probitovou transformací



Příklad probitové analýzy

•Transformace dat : Krok 3
~ odhad LC50/EC50 hodnoty z přímky lineární regrese

Y = a + bX

- Y – transformovaný logit/probit,
- X – log(koncentrace),
- b – sklon regresní přímky,
- a – intercept regresní přímky

Výpočet EC50 hodnoty:

5 = a + b*log(koncentrace)

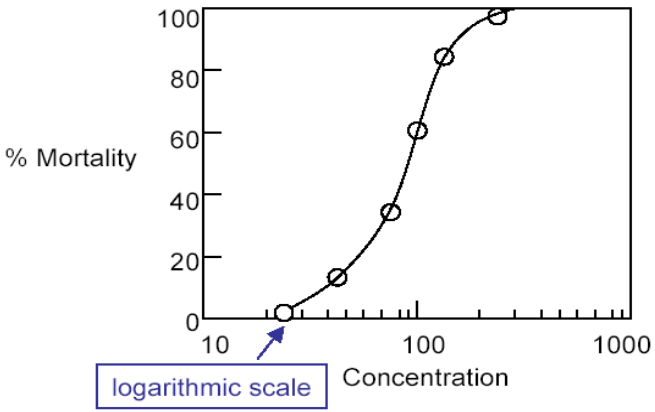
log(koncentrace) = (5-a)/b

koncentrace = e^((5-a)/b)

c) Nelineární regrese

- běžný způsob vyhodnocení závislosti dávka-účinek
- Na hladinách EC50 by se měly nelineární a lineární regrese víceméně shodovat
- více bodů – lepší nelineární regrese a spolehlivější odvození ECx hodnot

~ přímé proložení sigmoidní křivkou a matematický popis nelineárního trendu závislosti dávka-odpověď



c) Nelineární regrese

- model je vyjádřen jako rovnice, která definuje Y(odpověď) jako funkci X (koncentrace) a jednoho nebo více parametrů
- Velkou výhodou je přesnější odhad nízkých (EC10, EC20) či vysokých (EC80, EC90) hodnot a modelování celých křivek
- Další výhodou je velmi rychlé stanovení hodnoty EC50, protože ta je jedním z parametrů modelu a je tudíž primárním výstupem zmíněných softwarových nástrojů

- Na rozdíl od lineárních regresních modelů je třeba pro správné proložení hodnot nelineárním modelem použít iterativních algoritmů. V naprosté většině případů se používá kritérium minima součtu čtverců odchylek (reziduí). K tomu lze využít modelovacích softwarů (Statistica, GraphPad, SigmaPlot, JMP, R-software)

http://www.graphpad.com/scientific-software/prism/
http://www.statsoft.cz/
http://www.r-project.org/

c) Nelineární regrese

- Nejběžnějším modelem je Hillův model (log-logistický model se 4 parametry) :

$$y = c + (d - c)\frac{x^h}{EC_{50}^h + x^h}$$

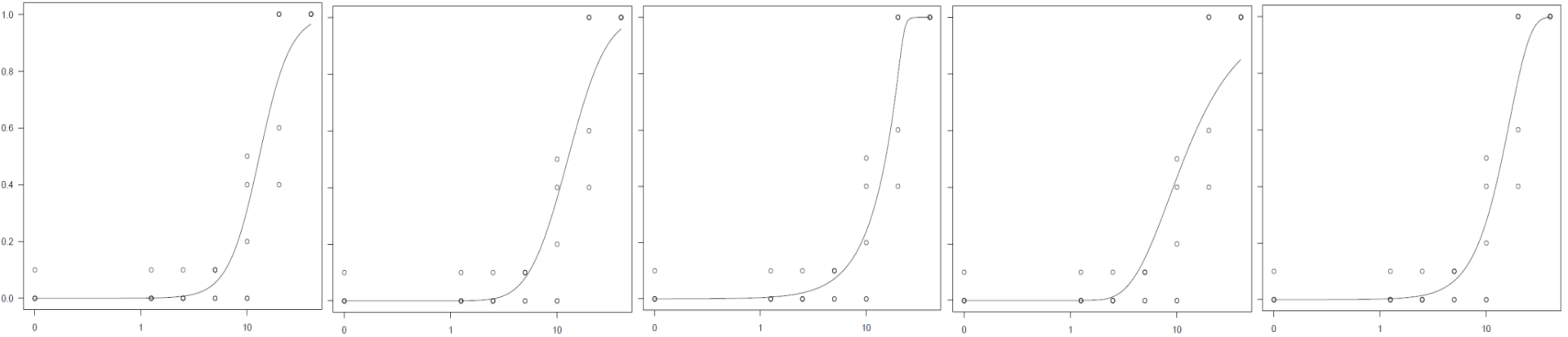
y … odpověd na toxikant (osa y), EC50 … EC50 ☺

x … koncentrace toxické látky (osa x)

h … sklon křivky v lineární části (tzv. Hill slope)

c … spodní limit, d … horní limit

- Existují ale i modely jiné a často i více vhodné, které se mohou lišit v předpovězených hodnotách ECx (např. Weibull I, Weibull II či log-logistický model s 5 parametry
- V některých případech je vhodné vybrat model jiný podle uvážení či s využitím statistických nástrojů zjistit, který model proloží data lépe (např. AIC – Akaikovo informační kritérium)



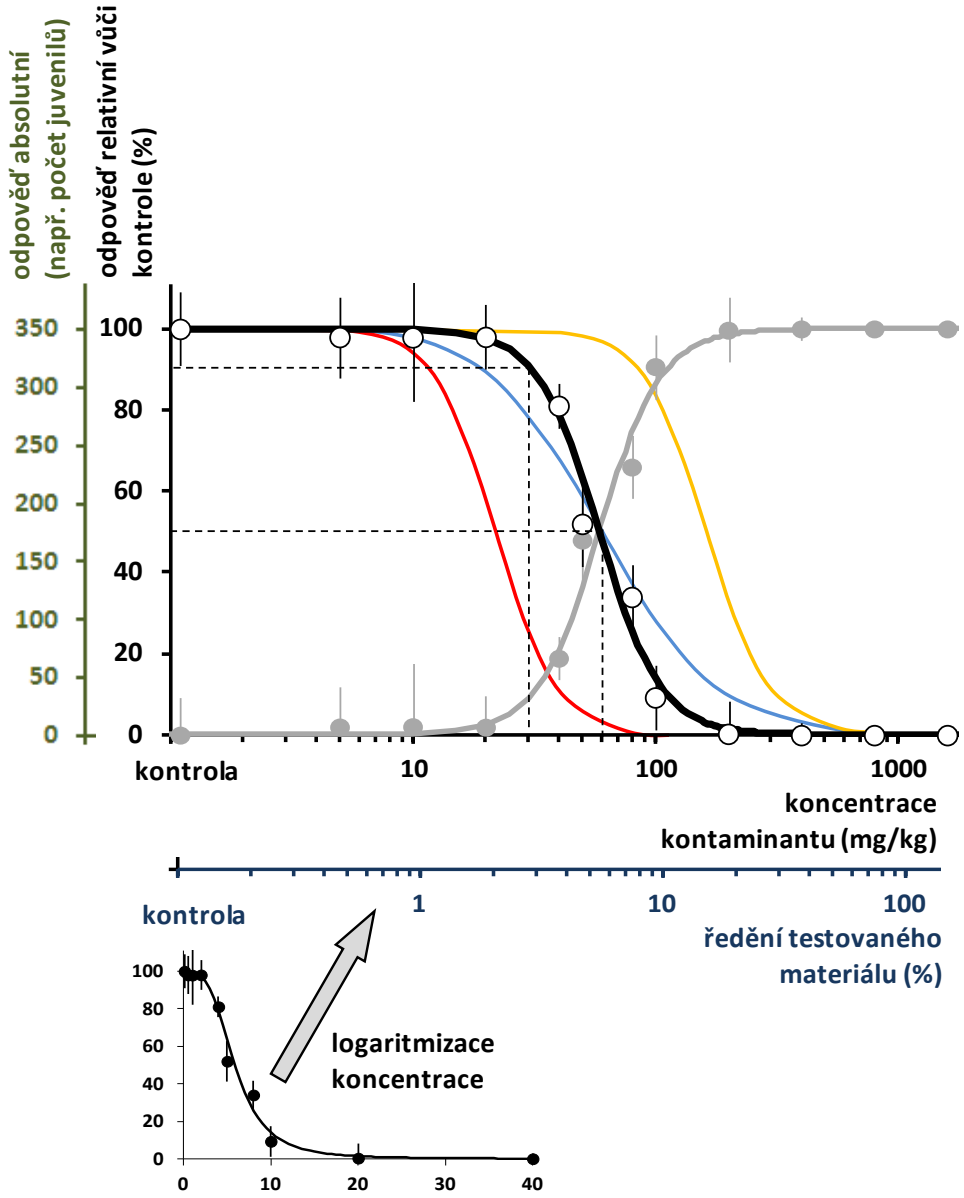
5
Využití křivek dávka-odpověď pro hodnocení rizik toxických látek
(látky s prahovým účinkem)

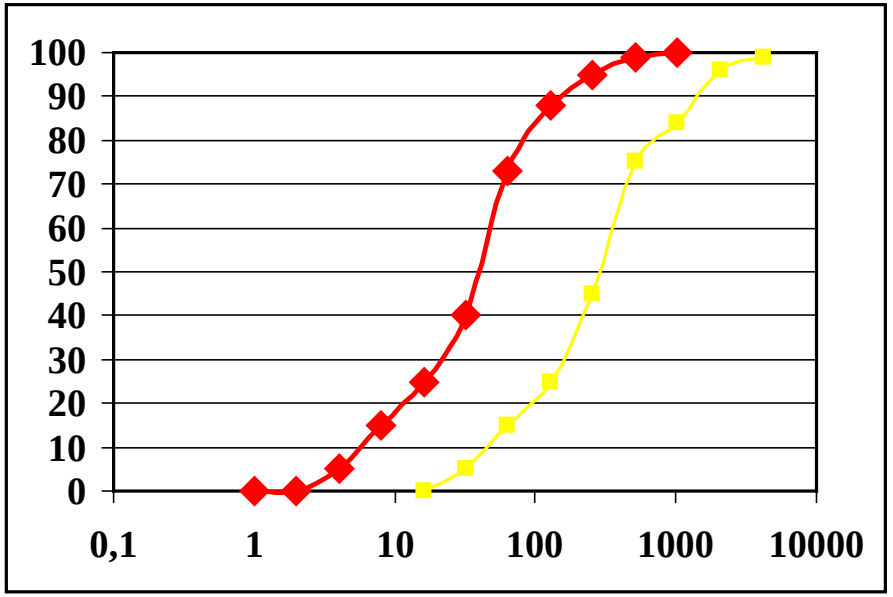
Využití LC_{50}

1. Aplikační faktor
   - LC_{50} x n = ___ = povolená dávka
   - Dobrá pokud nemáme lepší informaci (chronické testy)
2. Zhodnocení rizika → nižší LC_{50} = toxičtější
3. Vede k chronickému testování

- LC_{50} z akutního testu neposkytuje ekologicky relevantní výsledek → potřeba testování na více ekosystémové úrovni

Srovnání více toxikantů

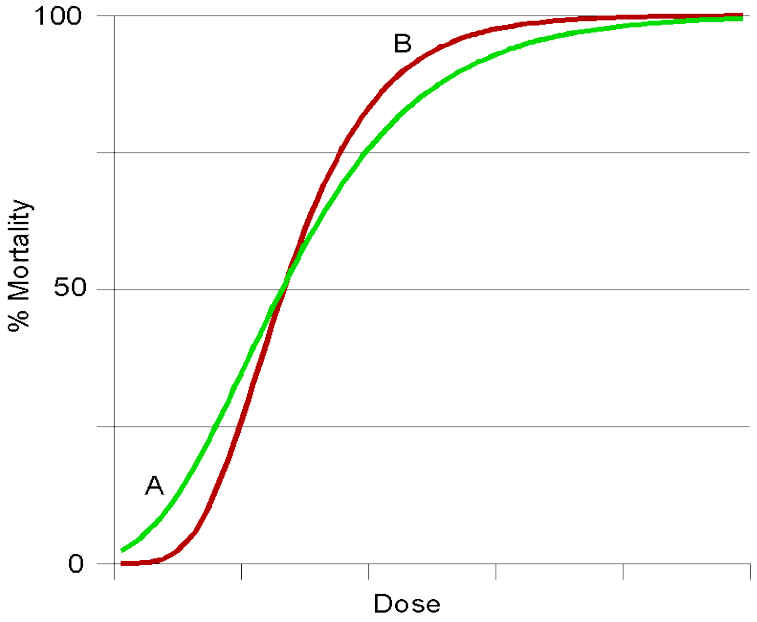


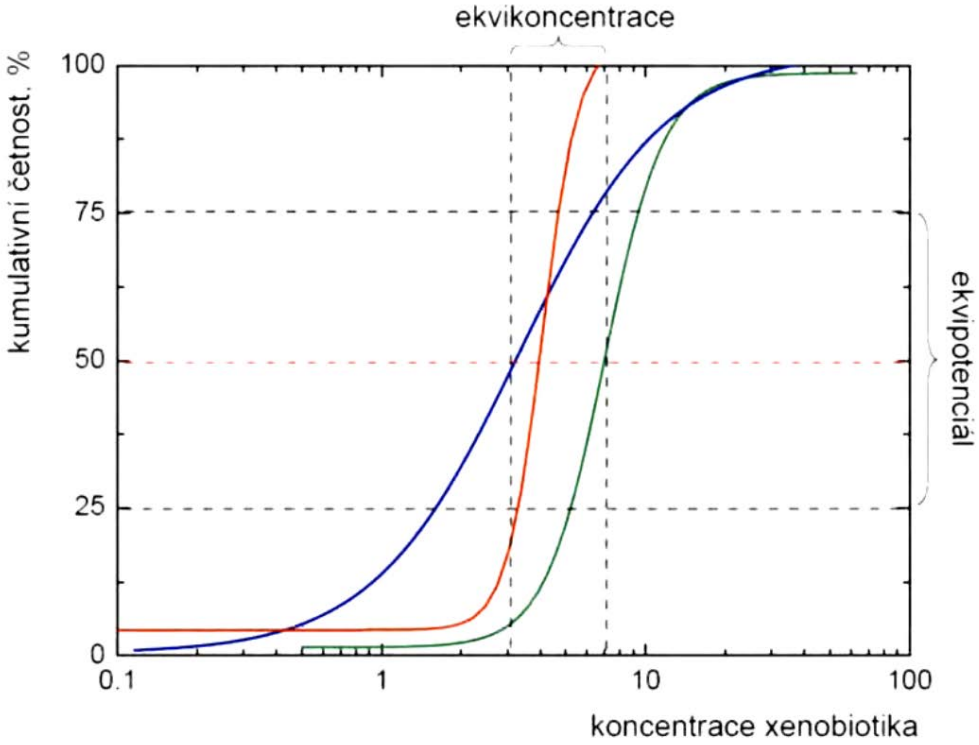


Látka s odpovědí, kterou zobrazuje červená křivka je toxičtější než ta se žlutou křivkou

Srovnání více toxikantů

! Je třeba látky srovnávat nejen podle EC50 hodnot, ale i podle celé křivky!
(potenciál vs. účinnost toxické látky)





! Důležitý je např. sklon křivky - toxikant s mírným sklonem může být nebezpečný při nízkých koncentracích i když EC50 je vysoká !

Stanovení bezpečných hladin toxikantů v prostředí

MATC

- Maximum Allowable Toxicant Concentration
- maximální povolitelná koncentrace toxikantu
  - geometrický průměr NOEC a LOEC
  - často nazývaná “chronická hodnota”

Stanovení bezpečných hladin toxikantů v prostředí

PNEC

~„predicted no effect concentration“ (PNEC)

= předpokládaná koncentrace nezpůsobující žádný účinek

→Identifikace nebezpečnosti: identifikace škodlivých účinků

→ základ k odvozování EQS = Environmental quality standards = limity koncentrací znečišťujících látek v prostředí

Stanovení bezpečných hladin toxikantů v prostředí

- PNEC: PEC < PNEC: zajišťuje komplexní ochranu prostředí
- PEC = predicted environmental concentration = očekávaná environmentální koncentrace
- Výpočet PNEC:
  vynásobení NOEC nebo EC50 přepočtovým faktorem (faktorem nejistoty - UF) za využití statistických extrapolačních technik
- Přepočtové faktory jsou používány ke zohlednění nejistot

Stanovení bezpečných hladin toxikantů v prostředí

- Nejistoty:
  - intra- a inter-laboratorní variabilita v toxikologických datech
  - intra- a inter-druhové rozdíly (biologická variabilita)
  - extrapolace z krátkodobých na dlouhodobé testy
  - extrapolace z laboratorních dat na situaci v prostředí (synergistické, aditivní a antagonistické účinky, interakce organismů atd...)

Stanovení bezpečných hladin toxikantů v prostředí

Rámcová směrnice EU o vodách:

Faktory nejistoty = bezpečnostní faktory

Assessment factors to derive a PNEC aquatic

	Assessment factor
At least one short-term L(E)C_{50} from each of three trophic levels of the base-set (fish, Daphnia and algae)	1000
One long-term NOEC (either fish or Daphnia)	100
Two long-term NOECs from species representing two trophic levels (fish and/or Daphnia and/or algae)	50
Long-term NOECs from at least three species (normally fish, Daphnia and algae) representing three trophic levels	10 (
Field data or model ecosystems	Reviewed on a case by case basis
Species sensitivity distribution (SSD method)	5-1, to be fully justified on a casa by case basis

Extrapolační přístupy

Ekotoxikologická data

Faktory nejistoty

Data	Assessment factor
L(E)C50 short-term toxicity tests	1000
NOEC for 1 long-term toxicity test	100
NOEC for additional long-term toxicity tests of 2 trophic levels	50
NOEC for additional long-term toxicity tests of 3 species of 3 trophic levels	10

PNEC

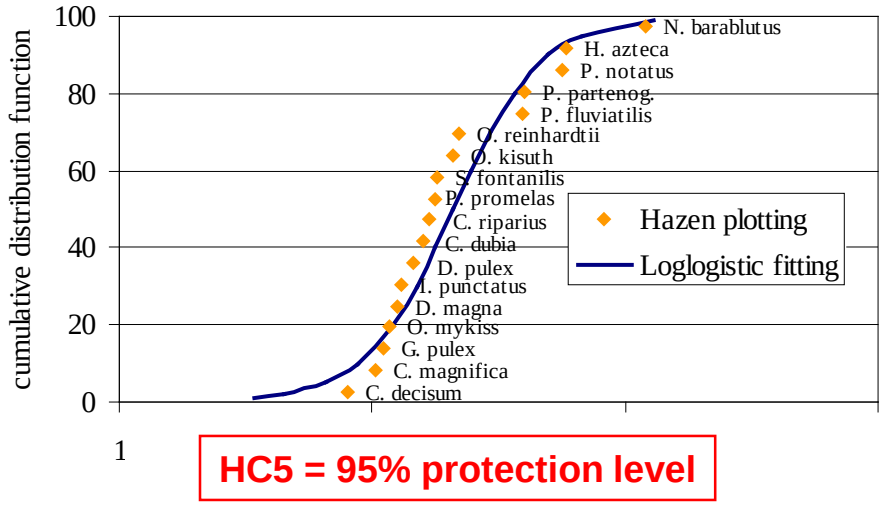
Extrapolační přístupy

Ekotoxikologická data

Faktory nejistoty

Data	Assessment factor
L(E)C50 short-term toxicity tests	1000
NOEC for 1 long-term toxicity test	100
NOEC for additional long-term toxicity tests of 2 trophic levels	50
NOEC for additional long-term toxicity tests of 3 species of 3 trophic levels	10

SSD – Species Sensitivity Distribution
Křivka rozložení citlivosti druhů



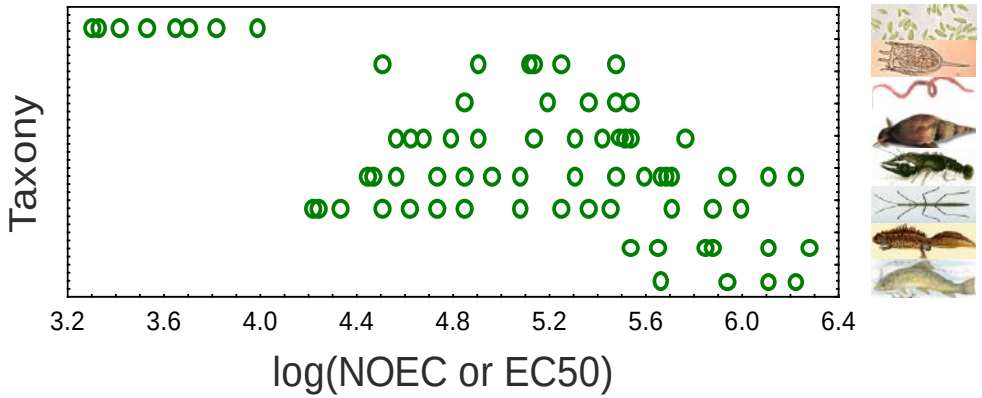
HC5 = 95% protection level

PNEC

HC5 = Hazardous Concentration for 5% of species

SSD – Species Sensitivity Distribution
Rozložení citlivosti druhů

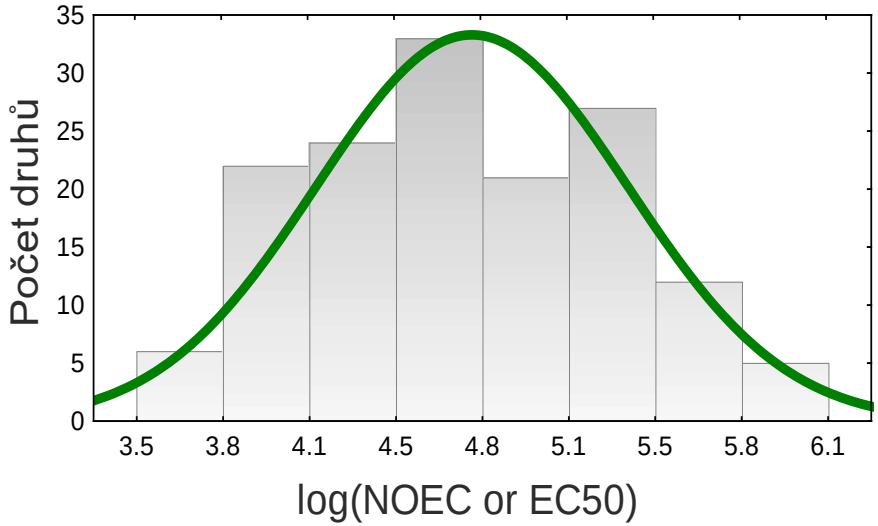
statistická metoda – zohlední dostupná data, např. EC50 více druhů

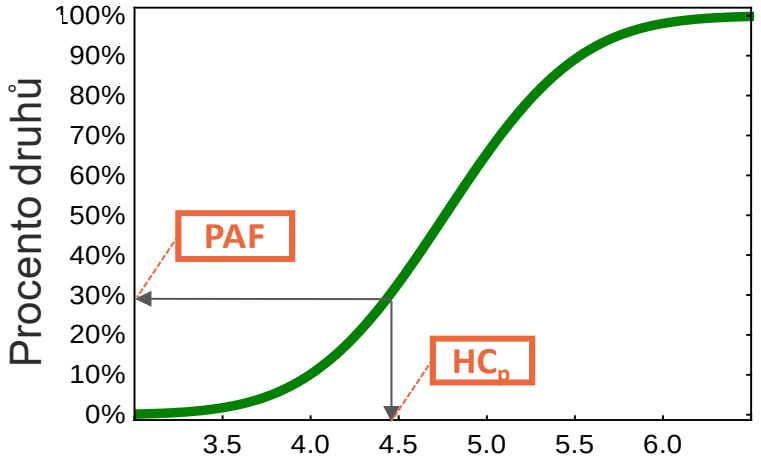


PAF … Potentially Affected Fraction
„frakce (procento) organismů, která bude negativně ovlivněna působením určité koncentrace dané toxické látky“

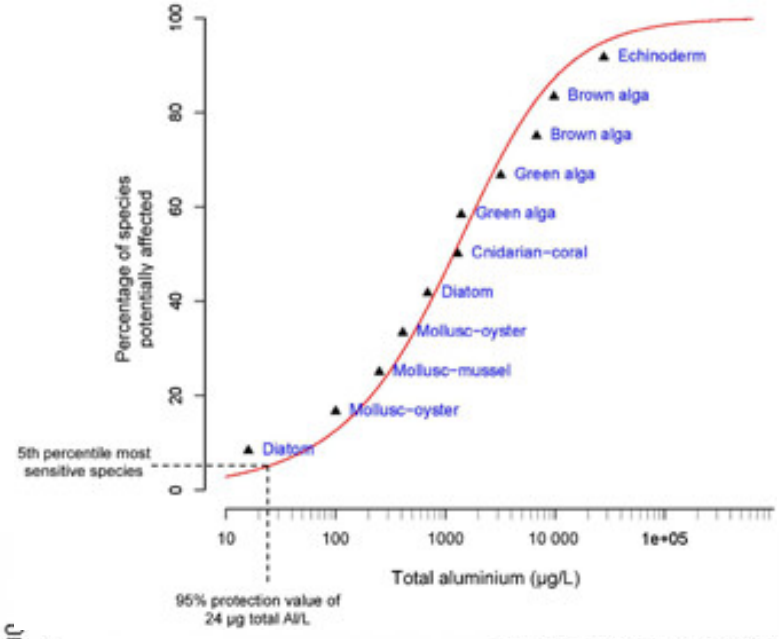
HC_p … Hazard Concentration for p-percent of species

… „koncentrace toxické látky, která podle SSD modelu negativně ovlivní p-procent druhů organismů“

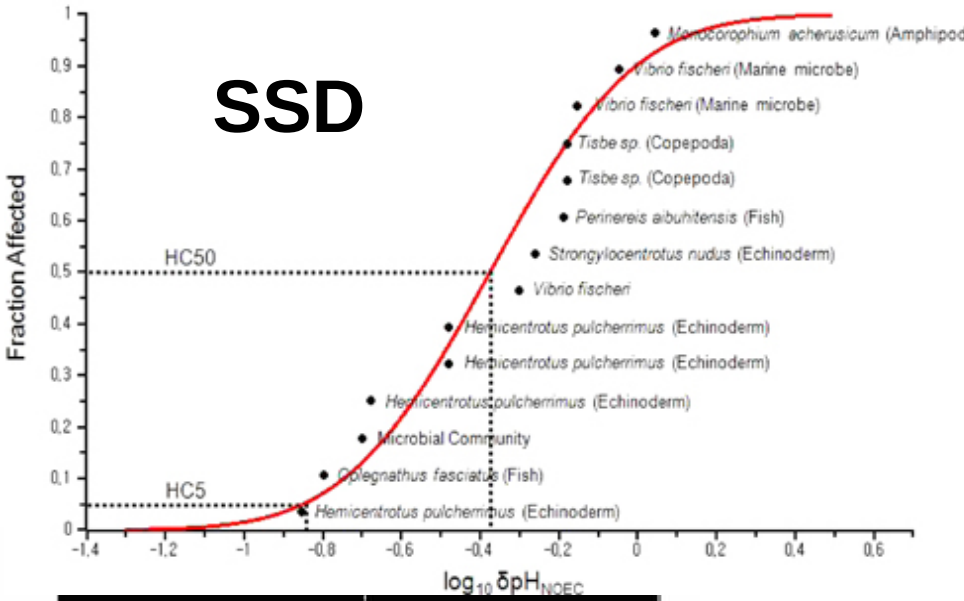


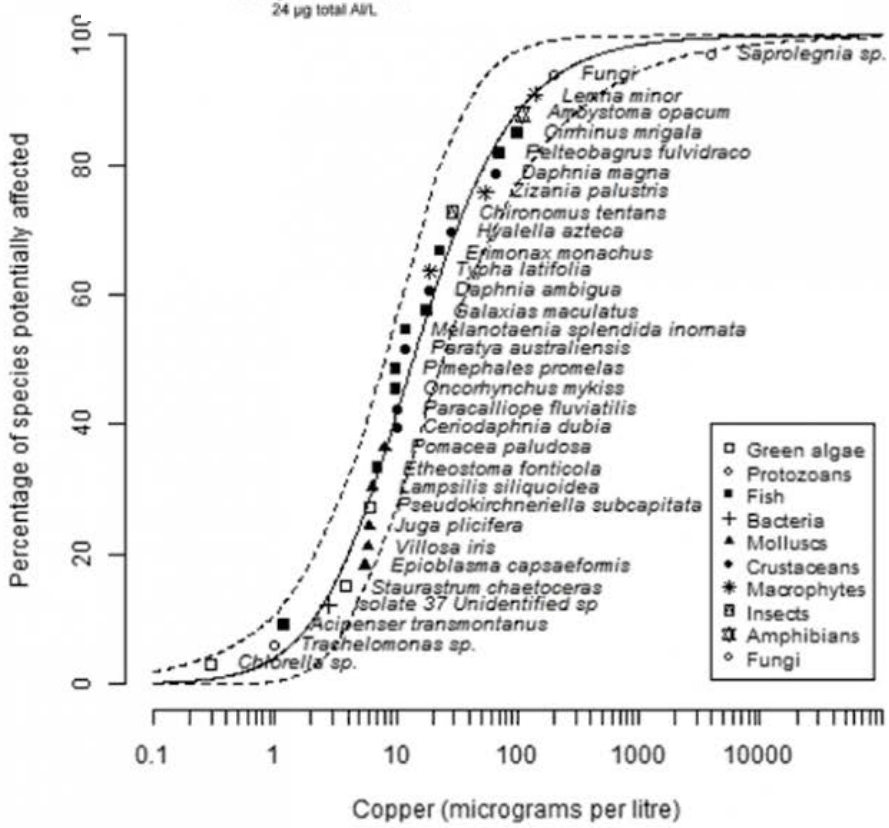


Evropa: HC_5 jako limit (~ taková koncentrace látky, která ještě nemá statisticky významný negativní účinek na společenství organismů v ekosystému)



SSD





Default guideline value type	Copper (freshwater) toxicity default guideline value (µg/L)[a]
Reliability	*High reliability*
High conservation value systems (99% species protection)	0.35
Slightly to moderately disturbed systems (95% species protection)	1.2
Highly disturbed systems (90% species protection) (80% species protection)	2.1 4.0

[a] These guideline values apply at DOC 0.5 mg/L.

Hodnocení a řízení rizik
Risk assessment & management

Identifice nebezpečnosti

Hodnocení expozice PEC

Hodnocení účinků PNEC

Characterizace rizika

HI = PEC/PNEC

Predicted Environmental Concentration (PEC)

Hazard Index

limity koncentrací znečišťujících látek v prostředí

Environmental quality standards / criteria

Hazard index HI

< 1

> 1

Řízení rizik

Risk management

Stanovení bezpečných dávek toxikantů pro člověka

NOAEL koncept

- Identifikace škodlivého účinku, který se objevuje při nejnižší dávce
- stanovení NOAEL nebo LOAEL pro tento účinek (pro látky s prahovým účinkem se shoduje s hodnotami NOEL a LOEC)
- podělení NOAEL nebo LOAEL bezpečnostními faktory

- ADI (acceptable daily intake): odhadované maximální množství látky, vztažené na tělesnou hmotnost, jemuž může být subjekt vystaven po celý život bez patrného zdravotního rizika (TDI - tolerable daily intake)

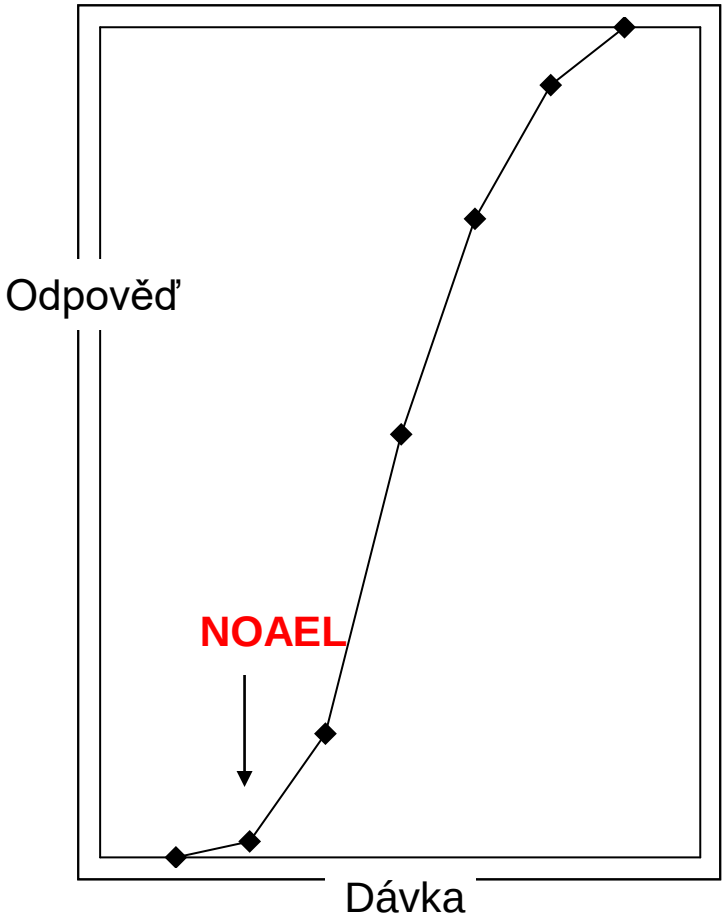
- RfD (reference dose): odhad denní expozice, která je bez patrných zdravotních následků i v případě, že probíhá celoživotně

Stanovení bezpečných dávek toxikantů pro člověka

NOAEL (NOAEC)

No Observed Adverse Effect Level (Concentration)

~ Nejvyšší testovaná dávka/koncentrace látky, která nezpůsobila škodlivý účinek.



Pod ní může být pozorován účinek, ale není považován za nebezpečný.

Důležité pro nastavení expozičních limitů:
USA – Threshold Limit Value
UK – Maximum Exposure Limit

LOAEL (LOAEC): Lowest Observed Adverse Effect Level/Concentration.
~ Nejnižší testovaná dávka/koncentrace látky, která způsobila škodlivý účinek.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ Z POKUSŮ NA ZVÍŘATECH

NOAEL

(dávka/kg ž. hm.)

ADI = (NOAEL * standardní váha člověka v kg)/SF

maximální množství reziduí, které může být denně přijímáno v potravě člověka bez zdravotního rizika.

MLR

maximální limity reziduí

(množství/kg poživatiny)

mezidruhové rozdíly

vrozená citlivost; toxikokinetika

sledované biologické parametry

(imunotoxicita; neurotoxicita)

převod na člověka

SF = bezpečnostní faktor

snižuje riziko reziduí pro člověka při extrapolaci výsledků toxicity ze zvířat na člověka. Snižuje hodnotu NOAEL 10 – 1 000x dle těchto kritérií:

- *látky s teratogenním účinkem hodnota 1 000,*
- *nejsou výsledky chronické toxicity SF > 100*
- *údaje z chronické toxicity SF = 100*
- *známy výsledky humánních testů SF =10*

rizikové skupiny

(individuální citlivost; jednostranná dieta)

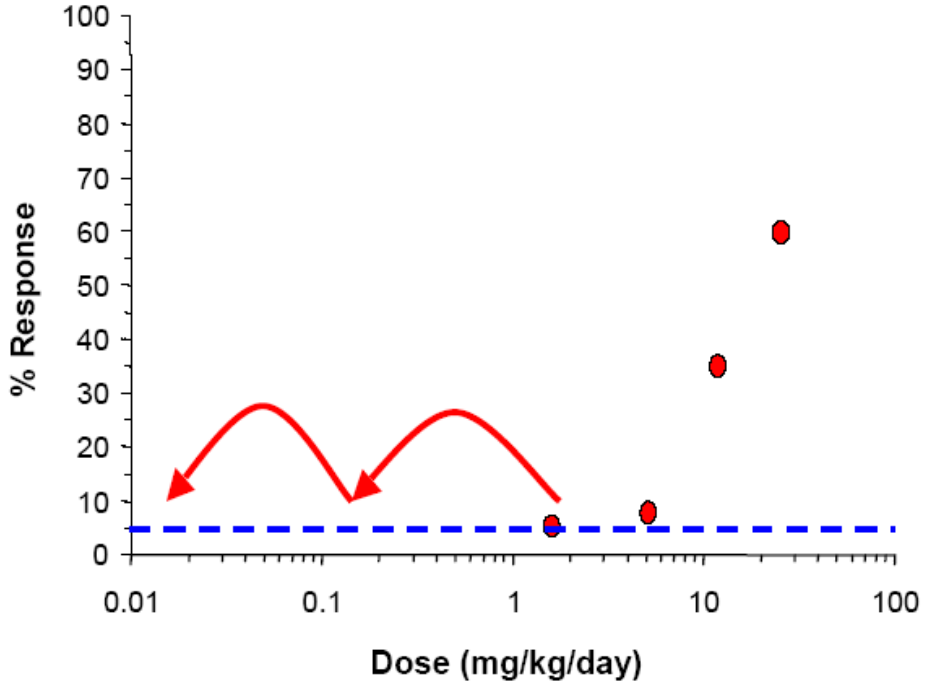
interakce

(chemické složky potravin; ostatní xenobiotika)

Stanovení bezpečných dávek toxikantů pro člověka

ADI z NOAEL

- ADI (nebo RfD) je vypočtena z NOAEL podělením faktory nejistoty (uncertainty factors UFs) nebo bezpečnostními faktory (safety factors SFs)

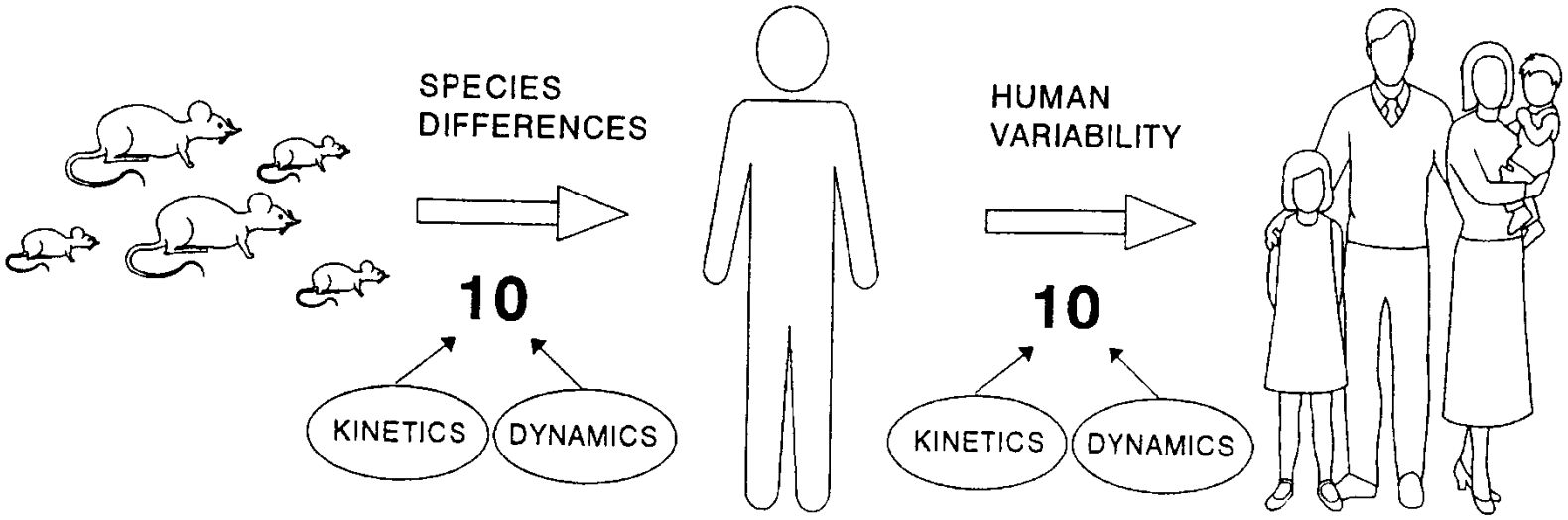


Stanovení bezpečných dávek toxikantů pro člověka

Faktory nejistoty - Uncertainty factors

$UF_{mezidruhové\ rozdíly} = 10$

$UF_{vnitrodruhové\ rozdíly} = 10$



Stanovení bezpečných dávek toxikantů pro člověka

Další možné UF

- $UF_{LOAEL\text{-}NOAEL}$ - 3 nebo 10
  $UF_{subchronické\text{-}chronické}$ - 3 nebo 10
  $UF_{\ nedostatek\ relevantních\ informací}$ - více než 10
- MF – modifikační faktor (expertní stanovisko) – více než 10

$$RfD = NOAEL\ (or\ LOAEL) / UF_1\ UF_2\ UF_3\ MF$$