

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi

Bölüm R.7a: Sonlanma noktası özel rehberi

YASAL UYARI

Bu belge, kullanıcılara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik uyarınca yükümlülüklerini yerine getirmelerine yardımcı olma amaçlı bir dizi rehber belgeden biridir. Bununla beraber, söz konusu Yönetmeliğin tek gerçek referans olduğu ve işbu belgede yer verilen bilgilerin yasal tavsiye niteliğinde olmadığı hatırlatılır. Bilgilerin kullanımı tamamen kullanıcının sorumluluğundadır. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı işbu belgenin içindeki bilgilerin kullanımından açığa çıkabilecek hiçbir yükümlülük kabul etmemektedir.

Bu rehber, Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency-ECHA) tarafından REACH Tüzüğü'nün uygulanmasına ilişkin hazırlanan "Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.7a: Endpoint specific guidance" adlı rehberden Türkçe'ye çevrilmiş ve Türkiye'deki mevzuata göre uyarlanmıştır. Rehberin İngilizce orijinal metnine ECHA'nın web sitesinden erişilebilir

(<https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>).

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi Bölüm R.7a: Sonlanma noktası özel rehberi

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Bu Rehber dokümana ilişkin sorularınız ya da yorumlarınız varsa (yorumlarınızın olduğu dokümanın referans numarasını, yayınlanma tarihini, bölüm ve/veya sayfa numarasını belirterek), Kimyasallar Yardım Masasındaki soru formunu kullanarak gönderebilirsiniz. Geri bildirim formuna Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kimyasallar Yardım Masasında aşağıdaki linki kullanarak doğrudan ulaşabilirsiniz. <https://kimyasallar.csb.gov.tr>

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Adres: Mustafa Kemal Mahallesi Eskişehir Devlet Yolu
(Dumlupınar Bulvarı) 9. km. No: 278 Çankaya / Ankara

ÖNSÖZ

Bu belge Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında madde özellikleri, maruz kalma, kullanım ve risk yönetim önlemleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmesine ilişkin bilgi gerekliliklerini açıklamaktadır. Tüm paydaşlara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında yükümlülüklerini yerine getirmek için yaptıkları hazırlıklarda yardım etmeyi amaçlayan bir dizi rehberden biridir. Bu rehberlerde temel Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik süreçlerinin yanı sıra sanayi ya da yetkili kurumlar tarafından Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında kullanılması gereken belirli bazı bilimsel ve / veya teknik yöntemlere detaylı bir şekilde yer verilmektedir.

Rehberler, Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kimyasallar Yardım Masası

(<https://kimyasallar.csb.gov.tr>) internet sitesi üzerinden sağlanabilir.

Bu belge, 23/06/2017 tarihli ve 30105(mükerrer) sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren Kimyasalların Kaydı, Değerlendirmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmeliğe ilişkindir.

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1.0	İlk baskı	Mayıs 2008
Versiyon 2.0	<p>Bölüm R.7a: "Sonlanma noktası özel rehberi" içerisinde yapı ve içeriği ele alan Giriş ve Bölüm R.7.1 "Fizikokimyasal özellikler" bölümünün tam revizyonu.</p> <p>Giriş ve Bölüm R.7.1, KKDİK Yönetmeliğinin genel yönlerinin ve KKDİK Yönetmeliği kapsamında bir madde için kayıt gerekliliklerini yerine getirmek üzere fizikokimyasal bilgi gereksinimlerini belirlemeye yönelik genel sürecin gerçeklere yönelik yorumlanması ve uygulanmasıyla ilgili hataları ve tutarsızlıkları güncelleyerek, düzelterek veya silerek revize edilmiştir.</p> <p>İçerik, kayıt ettirenlerin KKDİK Yönetmeliği ile SEA Yönetmeliği arasında bir bağlantı kurmalarına yardımcı olmak ve bir kimyasal güvenlik değerlendirmesi hazırlarken bu Yönetmeliklerin her ikisine nasıl uyacakları konusunda onlara rehberlik etmek amacıyla yeniden çalışılmıştır.</p> <p>Bazı fizikokimyasal özellikler - özellikle patlayıcı, alevlenir ve oksitleyici özellikler - fiziksel zararlılıklarla yakından bağlantılı olduğundan ve bu nedenle, fiziksel zararlılık sınıflandırması ile patlayıcı, alevlenir ve oksitleyici özelliklere ilişkin ilgili bilgi gereklilikleri arasında bir bağlantı bulunduğu için, eski BG ve KGD Rehberi Bölüm R.9: "Fiziko-kimyasal zararlılıklar" içeriğinin mevcut belgenin Bölüm R.7.1 "Fizikokimyasal özellikler" bölümünün ilgili alt bölümlerine birleştirilmesine karar verilmiştir. Bu nedenle, BG ve KGD Rehberinin orijinal Bölüm R.9: "Fiziko-kimyasal zararlılıklar" bölümü bu belge yayınlandığında geçersiz olacaktır.</p> <p>Güncellenmiş Rehber belgeyi SEA Yönetmeliğine göre yapılandırmak, ancak yine de KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ile 11'in ilgili bilgi gereklilikleri için atamaya izin vermek amacıyla, Bölüm R.7.1'in güncellenmiş ve tamamen revize edilmiş bir yapısı uygulanmıştır. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinin Ek 7 ile 10'unda belirtilen standart test rejiminin uyarlanması için genel kuralları uygularken kayıt ettirenlere daha fazla rehberlik sağlamak amacıyla, bu konu hakkında daha fazla rehberlik içeren özel bir alt bölüm, her sonlanma noktası için gözden geçirilmiş metne dahil edilmiştir. Benzer şekilde, sonlanma noktasına özel bilgilerin kayıt dosyasında/KKS'de nasıl sağlanacağına dair tavsiyelerde bulunan ek bir alt bölüm, her bir ilgili bölüme dahil edilmiştir.</p> <p>Halihazırda teknik rehberler tarafından kapsanan bilgiler, diğer rehber belgelerin kapsamına giren içerikler veya uluslararası kabul gören diğer öneriler kaldırılmış ve bunun yerine bağlantılar sağlanmıştır.</p> <p>Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none"> güncel olmayan bilgiler elenerek ve değiştirilerek Giriş bölümünün revizyonu. Rehber yapı güncellemesini yansıtmak üzere metni yeniden düzenleyerek bölüm R.7.1 Fizikokimyasal özellikler revizyonu. 	Kasım 2012

	<p>Alt bölümlerin sırası değiştirilmiştir ve gerekli görülmesi halinde birkaç alt bölüm eklenmiştir veya bilgilerin gereksiz olarak tanımlandığı yerlerde silinmiştir.</p> <ul style="list-style-type: none">• KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ila 9'da belirtilen Bilgi gereklilikleri ile Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ve SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemleri arasındaki benzerlikleri gösteren bir Tablonun eklenmesi.• R.7.1.2 - R.7.1.18 bölümlerinin içeriğinin ve yapısının tam revizyonu.• Fizikokimyasal özelliklere uygulanabilir nanomateryaller için tavsiyeleri ele alan yeni Ekler ile bir bağlantı kurulabilmesi için yeni R.7.1.19 ve R.7.1.20 bölümlerinin eklenmesi.• KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (a) (iv) uyarınca maddenin zararlılık sınıflarında sınıflandırılması ve etiketlenmesi için daha fazla bilginin KKDİK kayıt dosyasına dahil edilmesi gerektiğini kayıt ettirenlere hatırlatmak için yeni bölüm R.7.1.21'in eklenmesi.• Ek R.7.1-1 "Fiziko-kimyasal özelliklerin termodinamik tutarlılığına ilişkin yorumlar", R.7.1-2 "iyonlaşabilir maddeler için dağılım katsayılarının pH düzeltilmesi" ve R.7.1-3 "Sıcaklık düzeltilmesi" silinmesi ve Ek R.7.1-1 [R.7.1-4'ten önce] "Henry kanunu ve buharlaşma hızı" güncellenmesi.	
Versiyon 2.1	<p>Aşağıdakileri kapsayan bir düzeltme:</p> <ul style="list-style-type: none">• R.7.1.1.3 Fizikokimyasal özellikler hakkında mevcut bilgilerin değerlendirilmesi alt bölümünde "KKDİK için fiziko-kimyasal özelliklerin QSPR tahmini" başlıklı kapsamlı bir gözden geçirme belgesine atıfta bulunarak, sayfa 26'da yeni dipnot 8 eklenmiştir.	Ağustos 2013
Versiyon 2.2	<p>Sayfa 26'da 8 numaralı dipnotta verilen referans içindeki sayfa numaralarının düzeltilmesi için bir düzeltme.</p>	Ağustos 2013
Versiyon 2.3	<p>Aşağıdakileri kapsayan bir düzeltme:</p> <ul style="list-style-type: none">• R.7a rehberinin tamamı için yeni biçimlendirme;• 6. sayfada yeni yol gösterici şekil;• Tablo R.7.1-2 için bir başlığın eklenmesi: 'KKDİK Yönetmeliğinin bilgi üretilmesini gerektirmeyen SEA Yönetmeliği zararlılık sınıfları';• R.7.1-1, R.7.1-2, R.7.1-7 ve R.7.1-15 tablolarının altında, okuyucuya 4. ATP No 487/2013 ile getirilen değişiklikleri hatırlatan yeni bir dipnot;• R.7.1.10.1 ve R.7.1.21.2 bölümlerinde okuyucuya 4. ATP No 487/2013 ile getirilen değişiklikleri hatırlatan yeni bir dipnot;• Kasım 2013'te yayınlanan Versiyon 4.0'daki değişiklikleri yansıtmak için güncellenmiş <i>SEA Kriterleri Uygulama Rehberi</i>.	Aralık 2013

Versiyon 2.4	Bölüm R.7.1.4.2'deki su yoğunluğu değerinin düzeltilmesi için düzeltme ve bölüm R.7.1.16.6 ve R.1.18.6'daki KKDİK Ekine referans.	Şubat 2014
Versiyon 3.0	<p>Mutajenite ile ilgili R.7.7.1 ila R.7.7.7 alt bölümlerinin içeriğini ele alan tam revizyon.</p> <p>Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • R.7.7.3.1 alt bölümündeki test dışı yöntemlere ilişkin bilgilerin, özellikle de mutajenite için tahmin modellerine ve OECD QSAR araç kutusuna ilişkin bilgilerin güncellenmesi; • Özellikle Transgenik kemirgen (TGR) somatik ve eşey hücreli gen mutasyon analizleri ve <i>in vivo</i> komet analizi ile ilgili olarak, R.7.7.3.1 alt bölümünde genotoksisite testi için yeni/revize edilmiş OECD test rehberlerine ilişkin bilgilerin güncellenmesi; • Test dışı ve test yöntemlerine ilişkin güncellenmiş bilgilere dayalı olarak <i>Mutajenite hakkında mevcut bilgilerin değerlendirilmesine</i> ilişkin alt bölüm R.7.7.4'te değişiklik; • Özellikle önerilen takip <i>in vivo</i> genotoksisite testleri ile ilgili olarak, genotoksisite testleri için yeni/revize edilmiş OECD test rehberlerini hesaba katmak üzere, <i>Mutajenite için Bütünleşik Test Stratejisi</i> hakkında R.7.7.6 alt bölümünün değiştirilmesi; • Genotoksisite testi için önerilen test stratejisine ilişkin olarak bu Rehber ile diğer yetkili Rehber belgeler arasındaki benzerlik ve farklılıkların netleştirilmesi; • Kayıt ettirenin, kayıtlı tonajdan bağımsız olarak KKDİK Ek 9 veya 10'da belirtilen herhangi bir test için ÇŞB'ye bir test teklifi sunma yükümlülüğünün açıklığa kavuşturulması; • Sınıflandırma ve Etiketleme için genotoksisite test sonuçlarının kullanımının netleştirilmesi; • Değiştirilmiş Rehber metnine uygun olarak önerilen mutajenite testi stratejisine ilişkin Şekil R.7.7-1'in güncellenmesi; • Eksik bir başlığın eklenmesi ile Tablo R.7.7-5'in güncellenmesi, yeni bir örnek durumu sunan yeni bir satırın eklenmesi, değiştirilen Rehber metni doğrultusunda güncel olmayan bilgilerin değiştirilmesi; • Bölüm R.7a'da farklı bölümlerde ECVAM ve ECVAM DB-ALM web sayfalarına köprülerin güncellenmesi. 	Ağustos 2014
Versiyon 4.0	Özellikle İnsan Sağlığı sonlanma noktalarına ilişkin Bölüm R.7a'nın güncellenmiş bölümlerinin yapısını daha iyi yansıtmak üzere Bölüm R.7a'da Giriş içerisinde küçük bir revizyon ve düzeltme.	Temmuz 2015

	<p>Bölüm R.7a'da iki bölümün güncellenmesi:</p> <p>1. Bölüm R.7.2 <i>Cilt aşınması/tahrişi, Ciddi göz hasarı/tahrişi ve Solunum yolu aşınması/tahrişi</i></p> <p>Bölüm R.7.2'nin içeriğini ele alan tam bir revizyon. Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none">• Bölüm R.7.2 yapısının ve alt bölümlerinin sonlanma noktasına göre değiştirilmesi: Cilt aşınması/tahrişi (Bölüm R.7.2.2 ila R.7.2.6), Ciddi göz hasarı/göz tahrişi (Bölüm R.7.2.7 ila R.7.2.11) ve Solunum yolu aşınması/tahrişi (Bölüm R.7.2.12 ila R.7.2.14).• Cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/tahrişi için yeni/revize edilmiş AB test yöntemleri ve OECD test rehberleri üzerindeki bilgilerin güncellenmesi;• Solunum yolu aşındırıcı/tahrişi değerlendirmesi hakkındaki bilgilerin güncellenmesi;• "Göz aşınması" teriminin "ciddi göz hasarı" ve "solunum tahrişi" teriminin "solunum yolu aşınması/tahrişi" ile değiştirilmesi;• Özellikle Ek R.7.2-2 <i>Cilt aşınması ve tahrişi için QSAR ve uzman sistemler</i> ve R.7.2-3 <i>ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için QSAR ve uzman sistemler</i> olmak üzere test dışı yöntemlere ilişkin bilgilerin güncellenmesi;• Sırasıyla Bölüm R.7.2.6 ve R.7.2.11'de cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/tahrişi için önerilen test ve değerlendirme stratejisinin güncellenmesi;• Değerlendirme stratejisinin test dışı kısmını hesaba katmak için "Bütünleşik Test Stratejisi" terimlerinin "test ve değerlendirme stratejisi" ile değiştirilmesi;• <i>SEA Kriterleri Uygulama Rehberinde</i> (versiyon 4.0, Kasım 2013) revize edilmiş Bölümler 3.2 <i>Cilt aşınması/tahrişi</i> ve 3.3 <i>Ciddi Göz hasarı/Göz tahrişi</i> ile uyumlu hale getirmek için Sınıflandırma ve Etiketleme hakkındaki bilgilerin güncellenmesi. <p>2. Bölüm R.7.6 <i>Üreme toksisitesi</i></p> <p>Bölüm R.7.6'nın içeriğini ele alan tam bir revizyon. Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none">• Yeni test yöntemi, Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışması (EOGRTS), metni desteklemek için dört yeni Ek içeren Rehber metnine eklenmiştir:<ul style="list-style-type: none">○ Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışması tasarımına katkıda bulunan bilgiler için bir kontrol listesi,○ Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışma tasarımı,	
--	---	--

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışmasında çiftleşme öncesi maruz kalma süresi; ○ Tetikleyicilerin Değerlendirilmesi. • Temyiz Kurulunun kararını takiben doğum öncesi gelişimsel toksisite (ikinci tür) metninin güncellenmesi; • Tüm bölüm, daha iyi anlaşılması ve açıklığa kavuşturulması için daha mantıklı bir düzende sunulmak üzere (R7a'nın genel yapısı içinde) yeniden düzenlenmiştir; • Yeniden düzenlenen bölüm ve Aşama 3 için test yaklaşımları ve uyarlamaları için yeni bir destekleyici Ek doğrultusunda Bütünleşik Test Stratejisi ile ilgili R.7.6.7 bölümünün güncellenmesi. 	
Versiyon 4.1	<p>Aşağıdakileri kapsayan bir düzeltme:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ek R.7.6-2, madde 4) Kohort 3'ün dahil edilmesi, üçüncü madde noktası "(solunum) hassasiyeti" için: yanlış yorumlama veya yanlış anlamalardan kaçınmak için açıklama metninin eklenmesi. Konu Ortak Uzman Grubunda tartışılmış ve kabul edilmiştir, ancak metin taslak hazırlanırken yanlışlıkla atılmıştır. 	Ekim 2015
Versiyon 5.0	<p>- Bölüm R.7a'daki üç bölümün güncellenmesi:</p> <p>1. Bölüm R.7.2 <i>Cilt aşınması/tahrişi, Ciddi göz hasarı/tahrişi ve Solunum yolu aşınması/tahrişi</i></p> <p>Cilt aşınması/tahrişi ve Ciddi göz hasarı/tahrişi için KKDİK Yönetmeliğinin yeniden düzenlenmiş Ek 7 ve 8'inin dikkate alınması için düzeltme. Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sırasıyla Cilt aşınması/tahrişi ve Ciddi göz hasarı/tahrişi için bilgi gerekliliklerine ilişkin Bölüm R.7.2.2 ve R.7.2.7'nin değiştirilmesi; • Ciddi göz hasarı/tahrişi için kabul edilen <i>in vitro</i> test yöntemlerine ilişkin bilgilerin Tablo R.7.2-4 ve Bölüm R.7.2.9.1'de güncellenmesi. <p>2. Bölüm R.7.3 <i>Cilt ve Solunum hassasiyeti</i></p> <p>Bölüm R.7.3 içeriğini ele alan tam bir revizyon. Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bölüm R.7.3 yapısının ve alt bölümlere ayrılmasının Deri hassasiyeti (Bölüm R.7.3.2 ila R.7.3.7) ve Solunum hassasiyeti (Bölüm R.7.3.8 ila R.7.3.12) sonlanma noktalarına göre değiştirilmesi. • Cilt hassasiyeti için yeni/revize edilmiş AB test yöntemleri ve OECD test rehberleri hakkındaki bilgilerin güncellenmesi; • Solunum hassasiyeti ile ilgili bilgilerin güncellenmesi; • Test dışı yöntemlerle ilgili bilgilerin güncellenmesi; 	Aralık 2016

	<ul style="list-style-type: none">• Sırasıyla Bölüm R.7.2.7 ve R.7.2.12'de cilt ve solunum hassasiyeti için önerilen test ve değerlendirme stratejisinin güncellenmesi;• Değerlendirme stratejisinin test dışı kısmını hesaba katmak için "Bütünleşik Test Stratejisi" terimlerinin "test ve değerlendirme stratejisi" ile değiştirilmesi;• Sınıflandırma ve Etiketleme hakkındaki bilgilerin, metni, <i>SEA Kriterleri Uygulama Rehberi</i> (versiyon 4.0, Kasım 2013) revize edilmiş Bölüm 3.4 <i>Solunum veya cilt hassasiyeti</i> ile uyumlu hale getirecek şekilde güncellenmesi.• KKDİK Ek 7, bölüm 8.3, 8.3.1 ve 8.3.2 Cilt Hassasiyeti bölümlerinden alıntılarının ve referansların, revize edilmiş yasal metnin göz önüne alınması için güncellenmesi. <p>3. Bölüm R.7.4 <i>Akut toksisite</i></p> <p>Bölüm R.7.4 içeriğini ele alan tam bir revizyon. Güncelleme aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none">• Yeni Ek R.7.4-1 "<i>Akut oral toksisite çalışmasında standart bilgi gerekliliğinin Kanıt Ağırlığına dayalı uyarlanması</i>" eklenmesi;• Yeni Ek R.7.4-2 "<i>Önerilen kanıt ağırlığı uyarlanmasını destekleyen temel hususlar ve analiz</i>" eklenmesi;• KKDİK Ek 8, bölüm 8.5, 8.5.2 ve 8.5.3 <i>Akut toksisite</i> bölümlerinden alıntılarının ve referansların revize edilmiş yasal düzenlemenin göz önüne alınması için güncellenmesi.• Akut toksisite tahmini için test dışı yöntemlere ilişkin bilgilerin güncellenmesi ve (nicel) yapı aktivite ilişkilerinin ayrıntılı açıklamanın yeni Ek R.7.4-3'e taşınması;• <i>İn vitro</i> test yöntemleriyle ilgili bilgilerin güncellenmesi;• Akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisine ilişkin Şekil R.7.4-1'in ve ek maruz kalma yollarının seçimi ile ilgili Şekil R.7.4-2'nin güncellenmesi;• Bazı alt bölümlerin yeniden numaralandırılması. <p>- Bölüm R.7a'nın farklı bölümlerindeki eski ve bozuk bağlantıların düzeltilmesi/silinmesi ve yazımsal değişiklikler.</p>	
	<p>- Aşağıda belirtilenler dahil olmak üzere Bölüm R.7.5 <i>Tekrarlı doz toksisitesi</i> güncellemesi:</p> <ul style="list-style-type: none">• Bölüm R.7.5.3.1 "<i>Tekrarlı doz toksisitesi hakkında insan dışı veriler</i>" ve R.7.5.3.1.1 "<i>Tekrarlı doz toksisitesi hakkında test dışı veriler</i>": QSAR modelleri üzerindeki OECD HPV ve ECB çalışmaları ile ilgili metin çıkarılmış veya güncellenmiştir;	

	<p>ilgili QSAR modellerine ilişkin yeni Ek R.7.5-2'nin eklenmesi; ilgili pratik rehberlere çapraz referansların eklenmesi;</p> <ul style="list-style-type: none">• Bölüm R.7.5.3.1.2 "Tekrarlı doz toksisitesi hakkında test verileri": Yazımsal değişiklikler; Tekrarlanan doz toksisitesi hakkında mevcut bilgilerin değerlendirilmesi ile ilgili diğer çalışmalar için tablo R.7.5-2'deki genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi testinin eklenmesi.• Bölüm R.7.5.4.1.1 "Tekrarlı doz toksisitesi hakkında test dışı veriler": Değerlendirme çalışmalarından elde edilen deneyimler ve konuyla ilgili güncellenmiş uygulamalı rehberle ve rehber dokümanlar dikkate alınarak, çapraz okumaya ilişkin metnin güncellenmesi;• Bölüm R.7.5.4.1.2 "Tekrarlı doz toksisitesine ilişkin verilerin test edilmesi" "Hayvan verileri" alt bölümünde: Etki şekli ve İmmünotoksisite hakkındaki bazı referans rehber belgeleri güncellemek için metin revizyonu; Bütünleşik Test Stratejisi bölümü ile daha alakalı bazı metinler oraya taşınmıştır; kanserojenite çalışmaları örneği kaldırılmıştır;• Tablo R.7.5-2: Güncellenen OECD Test Rehberleri dikkate alınarak güncelleme;• Kısım R.7.5.6.2 "Ön değerlendirmeler": akut toksisite testi uyarlamaları için subakut oral toksisite verilerinin nasıl kullanılacağına dair Kısım R.7.4 ile bağlantı kuracak metnin eklenmesi;• Bölüm R.7.5.6.3 "Tekrarlı doz toksisitesi için test stratejisi": en son Test Rehberi güncellemesinin dikkate alınması gerektiğini belirten bir notun eklenmesi;• Bölüm R.7.5.6.3.4 "Gerçekleştirilecek çalışmalarla ilgili diğer hususlar": değerlendirme çalışmasından elde edilen deneyimleri dikkate alarak uygulama yolu seçimini ortaya koymak için bölüm güncellemesi; kinetik, etki şekli, nörotoksisite, immünotoksisite, BAL ve endokrin bozukluğu ile ilgili özel bölüm içerecek, diğer uluslararası kuruluşlardan alınan en son rehber güncellemelerine referansla ve tekrarlı doz toksisitesine ilişkin ECHA Biyositler Rehberi ile uyumlu olacak şekilde ek araştırmalar bölümü revize edilmiştir;• Referanslar: liste gözden geçirilmiş/düzeltilmiştir. <p>- Cilt hassasiyeti için KKDİK Yönetmeliği Ek 7'yi dikkate almak üzere Bölüm R.7.3 <i>Cilt ve Solunum Hassasiyeti</i> Düzeltmesi.</p> <p>- Belgenin başlangıcına Bölüm R.7a'da kullanılan kısaltmaların bir listesinin eklenmesi.</p> <p>- Bölüm R.7a'nın farklı bölümlerindeki eski ve bozuk bağlantıların düzeltilmesi/silinmesi ve yazımsal değişiklikler.</p>	
--	--	--

KKDİK ve SEA Yönetmeliklerinden alıntı yapılması için kurallar

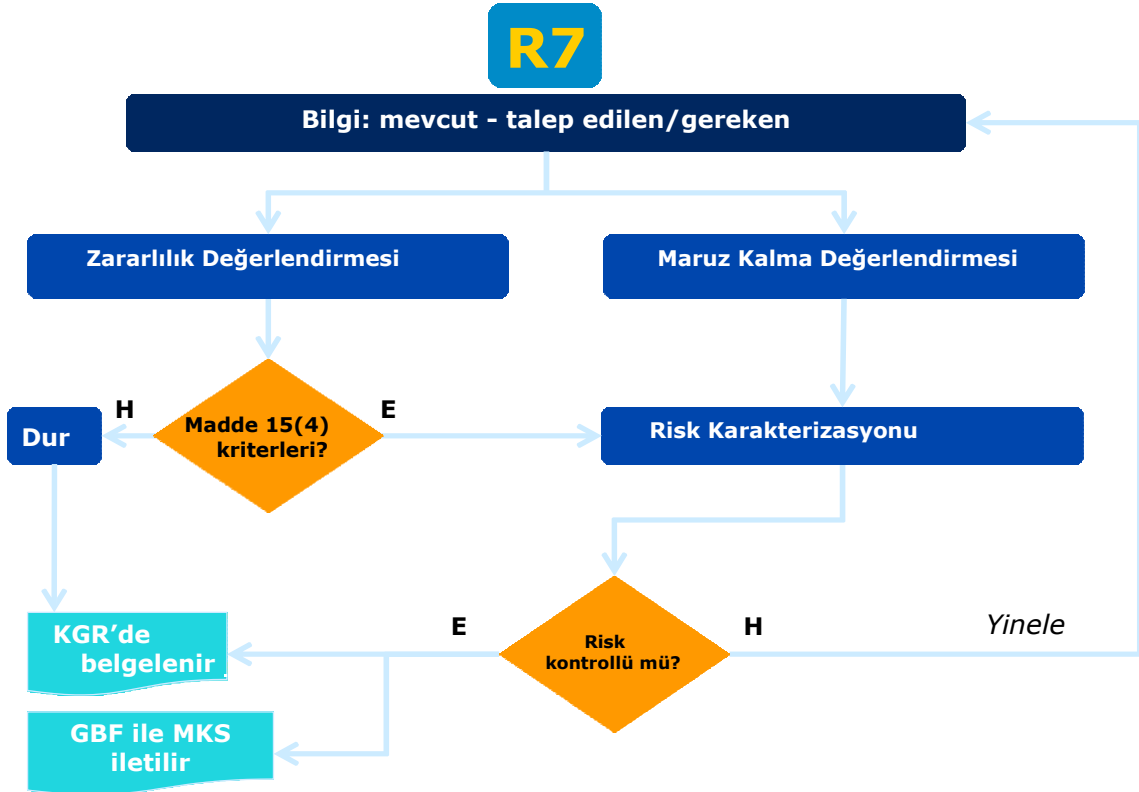
KKDİK ve SEA yönetmeliklerinden birebir olarak alıntı yapılması halinde, tırnak işareti içinde italik olarak belirtilir.

Terimler ve Kısaltmalar Tablosu

Bölüm R.20'ye bakınız.

Yol gösterici

Aşağıdaki şekil Bölüm R.7(a)'nın Rehber Doküman içerisindeki yerini göstermektedir



Kısaltmalar listesi

3Rs	Yerine Geçme, Azaltma ve İyileştirme İlkeleri
AB	Avrupa Birliği
ABD EPA	ABD Çevre Koruma Ajansı
ABD FDA	ABD Gıda ve İlaç Dairesi
ABD NCI	ABD Ulusal Kanser Enstitüsü
ABD NIEHS	ABD Ulusal Çevre Sağlığı Bilimleri Enstitüsü
ABD NIH	ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü
ABD NIOSH	ABD Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü
ABD.nlm	ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi
ABD NTP	ABD Ulusal Toksikoloji Programı
AKA	Avrupa Kimyasallar Ajansı
AKD	Alerjik Kontakt Dermatit
ACToR	Birleşik Bilgisayar Hesaplamalı Toksikoloji Kaynağı
ADN	Tehlikeli Malların İçsu Yolları ile Uluslararası Taşınması ile ilgili Avrupa Anlaşması
ADR	Tehlikeli Malların Karayoluyla Uluslararası Taşınmasına İlişkin Avrupa Anlaşması
AF	Değerlendirme faktörü
AFP	Uyarlamalı Bulanık Dağılım
AH	Aril Hidrokarbon
AOP	Olumsuz Etki Oluşum Yolları
AR	Androjen Reseptörü
ARE	Antioksidan/Elektrofil Cevap Elementi
ASTM	Uluslararası Test Materyalleri Birliği Amerikan Bölümü
ATE	Akut Toksikite Tahmini
ATEX Direktifi	Patlayıcı Ortamlar İçin Teçhizatlar Direktifi (2014/34/EU)
ATP	Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum
BCOP	SKOG- Sığır Korneası Opaklığı ve Geçirgenliği (test yöntemi)
BfR	Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü
BG ve KGD	Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi
BHOT Tek Mrz.	Belirli Hedef Organ Toksisitesi - Tek Maruz Kalma
BHOT Tekrar. Mrz.	Belirli Hedef Organ Toksisitesi-Tekrarlı Maruz Kalma
BLR	İkili Lojistik Regresyon
BM RTDG	Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin Birleşmiş Milletler Tavsiyeleri
BMD	Kıyaslama Dozu
BMD10	%10 cevap ile ilişkili kıyaslama dozu

BMDL	Kıyaslama Dozu Güven Aralığı Alt Sınırı, Kıyaslama dozu %95 güven aralığı alt sınırı
BMDL10	%10 cevap gösteren Kıyaslama Dozu %95 güven aralığı alt sınırı, BMD10 un %95 güven aralığı alt sınırı
BSKE	Biyolojik Sistemlerde Kimyasal Etkiler
BTS	Bütünleşik Test Stratejisi
Csu	Maddenin sucul fazdaki konsantrasyonu
CAS	Kimyasal Kuramlar Servisi
CCR2	C-C Motif Kemokin Reseptör tip 2
CD	Farklılaşma Kümesi
CHMP	Avrupa İlaç Ajansı İnsan Kullanımı İçin Tıbbi Ürün Komitesi
CLP	Madde ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması (Tüzük)
CM test yöntemi	Sitosensör Mikrofizyometre (test yöntemi)
CM	Sınıflandırma Modelleri
CMC	Suda Kritik Misel Konsantrasyonu
CMR	Kanserojen, Mutajen, Üreme Sistemine Toksik
COD	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
CODESSA	Yapısal ve İstatiksel Analiz İçin Kapsamlı Tanımlayıcılar
CRO	Sözleşmeli Araştırma Kuruluşu
C _t	Topraktaki madde konsantrasyonu
CT	Sınıflandırma Ağacı (analiz)
ÇŞB	Çevre ve Şehircilik Bakanlığı
Danimarka EPA	Danimarka Çevre Koruma Ajansı
DB-ALM	Alternatif Yöntemler Veri Tabanı
DC	Dendritik hücre
DEREK	Mevcut Bilgiden Risk Tahmini Çıkarımı (sistem)
DIP	Veri Yorumlama İşlemleri
DIT	Gelişimsel İmmünotoksisite
DMEL	Türetilmiş Minimum Etki Seviyesi
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DN	DEREK Nexus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNEL	Türetilmiş etki gözlemlenmeyen seviye
DNT	Gelişimsel Nörotoksisite
DOC	Çözünmüş Organik Karbon
DPD	Tehlikeli Müstahzarlar Direktifi
DPRA	Doğrudan Peptit Reaktivite Testi
DRF	Doz Aralık Bulma (çalışma)
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
DSD	Tehlikeli Maddeler Direktifi
DSS	Karar Destek Sistemi
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTA	Diferansiyel Termal Analiz

EC	Avrupa Komisyonu
EC no	Avrupa Komisyon Numarası
EC3	Stimülasyon indeksinin 3 kat artışına neden olan Etki Konsantrasyonu
ECB	Avrupa Kimyasallar Bürosu
ECETOC	Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi
ECHA	Avrupa Kimyasallar Ajansı
ECM	Gömülü Kümelenme Modeli
EE	Epidermal-Eşdeğer (hassaslaştırma potansiyeli testi)
EFSA	Avrupalı Gıda Güvenliği Otoritesi
EIT	Göz Tahrişi Eşik Değeri
EIT yöntemi	Göz Tahrişi Test yöntemi
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
EN	Avrupa Standardı
EOGRTS	Genişletilmiş Tek-Nesil Üreme Sistemi Toksisitesi Çalışması
ER	Östrojen Reseptör
ESAC	EURL ECVAM Bilimsel Danışma Komitesi
ESR	Sonlanma Noktası Çalışma Kaydı
EURL-ECVAM	Avrupa Birliği Hayvan Testlerine Alternatif Referans Laboratuvarı
EVEIT	Ex Vivo Göz Tahrişi Testi
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü
FCA	Freund Tam Adjuvanı
FITC	Floresan İzotiyosiyanat
FL	Floresan Sızıntısı Test Yöntemi
f _{oc}	Organik Karbon İçeriği
GARD	Gen Alerjen Hızlı Tespit (test yöntemi)
GCL	Genel Konsantrasyon Sınır Değeri
GBF	Güvenlik Bilgi Formları
GHS	Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi Küresel Uyumlaştırılmış Sistem
GM	Gen Mutasyon (test)
GPMT	Gine Domuzu Maksimizasyon Testi
GSE	Genel Çözünürlük Eşitliği
İLU	İyi Laboratuvar Uygulamaları
HCE	İnsan Kornea Epiteli (test yöntemi)
h-CLAT	İnsan Hücresi Hattı Aktivasyon Testi
HESI	Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsünün Sağlık ve Çevre Bilimleri Birimi
HESS	Zararlılık Değerlendirme Destek Sistemi
HET-CAM	Korrioallantoik Zarda Tavuk (Hen) Yumurtası Testi

HLC	Henry Kanunu Sabiti
HMT	İnsan Maksimizasyon Testi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPT	İnsan Yama Testi
HPV	Yüksek hacimde üretilen kimyasallar
HRIPT	İnsan Tekrarlı Deri Yama Testi
HSDB	Zararlı Maddeler Veri Bankası
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IATA	Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım
IC	İnhibisyon Konsantrasyonu
ICAO-TI	Tehlikeli Malların Hava Yolu ile Emniyetli Taşınması için Teknik Talimatlar ICCVAM Kurumlararası Alternatif Metod Doğrulama Koordinasyon Komitesi
ICD	Tahriş Edici Kontakt Dermatit
ICE	İzole edilmiş Tavuk Gözü Test Yöntemi
IEH	Çevre ve Sağlık Enstitüsü
Ig	İmmünoglobulin
IL	İnterlökin
ILSI	Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü
i.m.	İntramüsküler (kas içi)
IMDG Kodu	Deniz Yoluyla Taşınan Tehlikeli Mallara İlişkin Uluslararası Kodu
i.p.	İntraperitoneal (periton içi)
IPCS	Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı
IRE	İzole edilmiş Tavşan Gözü Test Yöntemi
IRIS	Entegre Risk Bilgi Sistemi
ISO	Uluslararası Standartlar Organizasyonu
ITEM	Fraunhofer Toksikoloji ve Deneysel Tıp Enstitüsü
IUCLID	Uluslararası standart kimyasal bilgi veri tabanı
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
i.v.	İntravenöz (damar içi)
IVTI	İn-vitro Toksikite İndeksi
IWGT	Uluslararası Genotoksikite Testi Çalıştayı
JaCVAM	Japonya Alternatif Test Metodları Doğrulama Merkezi
JMPR	WHO/FAO Uzmanları Pestisit Kalıntıları Ortak Toplantısı
JRC	Ortak Araştırma Merkezi
K _d	Yüzeye Tutunma Dağılım Katsayısı
Keap1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
Kat.	Kategori
KA	Kanıt ağırlığı
KB	Kromozom Bozukluğu (test yöntemi)

KGD	Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi
KGR	Kimyasal Güvenlik Raporu
KKDİK	Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik
KKS	Kimyasal Kayıt Sistemi
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
K _{oc}	Organik Karbon Standart Yüzeye Tutunma Katsayısı
K _{om}	Organik Madde Standart Dağılım Katsayısı
K _{ow}	n-oktanol/su dağılım katsayısı
LC ₅₀	Medyan öldürücü konsantrasyon (Test ortamındaki canlıların %50'sinin öldüğü akut toksik konsantrasyon)
LD ₅₀	Medyan öldürücü doz (Test ortamındaki canlıların %50'sinin öldüğü akut toksik doz)
LDA	Doğrusal Diskriminant (ayrımcılık) Analizi
LLNA	(Fare) Lokal Lenf Düğümü Testi
LLNA: BrdU-ELISA	(Fare) Lokal Lenf Düğümü Testi: 5-bromo-2deoksiüridin Enzim Bağlı İmmün Emilimi Testi
LLNA: DA	(Fare) Lokal Lenf Düğümü Testi: Daicel Kimya Sanayi, Ltd. Test Yöntemi Kiti.
LOAEC	Olumsuz Etkinin Gözlemlendiği En düşük Konsantrasyon
LOAEL	Olumsuz Etkinin Gözlemlendiği En düşük Seviye
LOED	Etkinin Gözlemlendiği En düşük Doz.
LOEL	Etkinin Gözlemlendiği En düşük Seviye
LSLPC	Işık Sönme Sıvı Kaynaklı Partikül Sayacı
Luc	Lusiferaz
LVET	(Tavşan) Düşük Hacimli Göz Testi
MAS	Maksimum Ortalama Değer
MBDF	Madde bilgi değişim forumu
MEST	Fare Kulak Şişliği Testi
MHC	Ana Dokuuyumluluk Kompleksi
MHLW	Japonya Sağlık, Çalışma ve Sosyal Yardım Bakanlığı
MIST	Etkinin Türü, Büyüklüğü, Görülme Sıklığı ve Şiddeti
MMAD	Kütle medyan aerodinamik çap
MMAS	Değiştirilmiş Maksimum Ortalama Değer
MNT	Mikronükleus Testi
MoA	Etki şekli
MP	Erime noktası
mRNA	Haberci Ribonükleik Asit
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyumbromür, Tiyazolil mavisi
NA	Uygulanmaz veya Mevcut Değil
NAEL	Olumsuz etki olmayan seviye
NIST	Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü

NITE	Japonya Ulusal Teknoloji ve Değerlendirme Enstitüsü
NOAEC	Olumsuz etki gözlemlenmeyen konsantrasyon
NOAEL	Olumsuz etki gözlemlenmeyen seviye
NOED	Etki gözlemlenmeyen Doz
NOEL	Etki gözlemlenmeyen seviye
NONS	Yeni Madde Bildirimi
NR	Nötr Kırmızısı
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2
NRU	Nötr Kırmızısı Alım (Sitotoksikite Testi)
NS	Hassaslaştırıcı Olmayan
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
OEL	Mesleki Maruz Kalma Sınır Değeri
OPPTS	ABD Çevre Koruma Ajansı Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi
OR	Odds oranı, (göreceli risk)
PAFA	Gıda Katkı Maddelerinin Öncelik Tabanlı Değerlendirmesi
PBK	Fizyolojik Tabanlı Kinetik (Modelleme)
PBPK	Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleme
PBT	Kalıcı, biyobirikimli, toksik
PFOA	Perflorooktanoik Asit
pH	Hidrojen Potansiyeli
pKa	Asit/Baz Ayrışma Sabiti
PM	Partikül Madde
PND	Doğum Sonrası Günü
PorCORA	Domuz Kornea Tersinirlik Testi
QMRF	QSAR Model Raporlama Formatı
QPRF	QSAR Tahmin Raporlama Formatı
(Q)SAR	(Nicel) Yapı aktivite ilişkisi
QSPR	Nicel yapı özellik ilişkisi
RAAF	Çapraz Okuma Değerlendirme Çerçevesi
RACB	Sürekli Üreme ile Üreme sistemi Değerlendirmesi
RAI	Bağlı Alkilasyon İndeksi
RD	Rehber Doküman
RDT	Tekrarlı Doz Toksisitesi
REACH	Kimyasalların Kaydı Değerlendirmesi İzni Ve Kısıtlanması Tüzüğü
RepDose	Fraunhofer Toksikoloji ve Deneysel Tıp Enstitüsünün Tekrarlı Doz Toksisitesi Veritabanı
RhCE	Yeniden Yapılandırılmış İnsan Korneası Benzeri Epitel Test Yöntemi
RHE	Yeniden Yapılandırılmış İnsan Epidermis Test Yöntemi
RID	Tehlikeli Malların Demiryoluyla Uluslararası Taşınmasına İlişkin Düzenlemeler

RIP-oN	REACH Nanomalzemeler Uygulama Projesi
RNA	Ribonükleik Asit
rLLNA	Azaltılmış Lokal Lenf Düğümü Testi (test yöntemi değişkeni)
RR	Göreceli Risk, bağıl risk
RTECS	Kimyasal Maddelerin Toksik Etki Kaydı
RSI	Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsünün Risk Bilimi Enstitüsü
SADT	Kendiliğinden Hızlanan Bozunma Sıcaklığı
SAR	Yapı Aktivite İlişkisi
s.c.	Derialtı (subkütan)
S&E	Sınıflandırma ve Etiketleme
SCCS	Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi
SCE	Kardeş Kromatid Değişimi
SCL	Özel Konsantrasyon Sınır Değeri
SCT	Cilt Aşındırıcı Testi
SEA Yönetmeliği Hakkında Yönetmelik	Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması
SI	Stimülasyon İndeksi
SI Birimleri	Uluslararası birim sistemi
SIT	Cilt Tahrişi Testi
SLS	Sodyum lauril sülfat
SOP	Standart Çalışma Prosedürü
SPSF	Standart Proje Sunum Formu
SS	Cilt Hassaslaştırıcı
STE	Kısa Süreli Maruz Kalma Test Yöntemi
SY	Sınıflandırılmaz
T25	Standart hayvan ömründe, uygun tasarlanmış hayvan testinde kontrol grubuna karşı tümör oluşumunda %25 net artışa neden olan kronik doz
T4	Tiroksin
TER	Deri içinden elektrik direnci test yöntemi
TEST	Toksisite Tahmini Yazılım Aracı
TRD	Teknik Rehber Doküman
TGR	Transgenik Kemirgen somatik ve eşey hücreli gen mutasyon analizleri
Th	Yardımcı T hücreleri
TIMES	Doku Metabolizması Simülatörü
TNO	Hollanda Uygulamalı Bilimsel Araştırma Örgütü
TM	AB Test Yöntemleri (Tüzüğü)
TOXNET	Toksikoloji Veri Ağı
ToxRefDB	ABD EPA - EPA Toksikite Referans Veritabanı
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon
TTC	Toksikolojik endişe eşik değeri

TYY	Maddelerin ve Karışımların Fiziko-kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik (Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik)
UDS	Planlanmamış DNA sentezi
UK CCCF	Birleşik Krallık Kimyasalların Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Kanserojenitesi Komitesi
UK COM	Birleşik Krallık Kimyasalların Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Mutajenitesi Komitesi
UK HSE	Birleşik Krallık Sağlık ve Güvenlik İdaresi
UN	Birleşmiş Milletler
UN MTC	Birleşmiş Milletler Test ve Kriterler Kılavuzu
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi
UV	Morötesi
UVCB	Bileşimi bilinmeyen veya değişen, kompleks reaksiyon ürünleri veya biyolojik maddeler
vPvB	çok kalıcı ve çok biyobirikimli
YES	Maya Östrojen Taraması
YT	Yıllık Tonaj

İçindekiler

R.7 SONLANMA NOKTASI ÖZEL REHBERİ	31
Giriş	31
R.7.1 Fizikokimyasal özellikler	39
R.7.1.1 Fizikokimyasal özelliklere giriş	39
R.7.1.1.1 Fizikokimyasal özelliklere ilişkin bilgi gereklilikleri	39
R.7.1.1.2 Fizikokimyasal özellikler hakkında mevcut bilgiler	44
R.7.1.1.3 Fizikokimyasal özellikler hakkında mevcut bilgilerin değerlendirilmesi.....	45
R.7.1.1.4 Fizikokimyasal bilgilerin genel tutarlılığı	48
R.7.1.1.5 Fizikokimyasal özelliklere giriş için referanslar	48
R.7.1.2 Erime noktası/donma noktası	49
R.7.1.2.1 Özellik türü.....	49
R.7.1.2.2 Tanım	49
R.7.1.2.3 Test yöntemi/yöntemleri	49
R.7.1.2.4 Standart test rejiminin uyarlanması	49
R.7.1.2.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	50
R.7.1.2.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	50
R.7.1.3 Kaynama noktası	51
R.7.1.3.1 Özellik türü.....	51
R.7.1.3.2 Tanım	51
R.7.1.3.3 Test yöntemi/yöntemleri	52
R.7.1.3.4 Standart test rejiminin uyarlanması	52
R.7.1.3.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	54
R.7.1.3.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	54
R.7.1.4 Bağlı yoğunluk	55
R.7.1.4.1 Özellik türü.....	55
R.7.1.4.2 Tanım	55
R.7.1.4.3 Test yöntemi/yöntemleri	55
R.7.1.4.4 Standart test rejiminin uyarlanması	56
R.7.1.4.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	57
R.7.1.4.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	57
R.7.1.5 Buhar basıncı	58
R.7.1.5.1 Özellik türü.....	58
R.7.1.5.2 Tanım	58
R.7.1.5.3 Test yöntemi/yöntemleri	58
R.7.1.5.4 Standart test rejiminin uyarlanması	58
R.7.1.5.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	61
R.7.1.5.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	61
R.7.1.5.7 Buhar basıncına ilişkin referanslar.....	61
R.7.1.6 Yüzey gerilimi	63
R.7.1.6.1 Özellik türü.....	63
R.7.1.6.2 Tanım	63
R.7.1.6.3 Test yöntemi/yöntemleri	63
R.7.1.6.4 Standart test rejiminin uyarlanması	63
R.7.1.6.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	64
R.7.1.6.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	64
R.7.1.7 Suda çözünürlük	66
R.7.1.7.1 Özellik türü.....	66
R.7.1.7.2 Tanım	66
R.7.1.7.3 Test yöntemi/yöntemleri	67
R.7.1.7.4 Standart test rejiminin uyarlanması	68
R.7.1.7.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	71

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	71
R.7.1.7.8 Suda çözünürlük ile ilgili referanslar	72
R.7.1.8 N-oktanol/su dağılım katsayısı	74
R.7.1.8.1 Özellik türü	74
R.7.1.8.2 Tanım	74
R.7.1.8.3 Test yöntemi/yöntemleri	74
R.7.1.8.4 Standart test rejiminin uyarlanması	76
R.7.1.8.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	77
R.7.1.8.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	79
R.7.1.9 Parlama noktası	81
R.7.1.9.1 Özellik türü	81
R.7.1.9.2 Tanım	81
R.7.1.9.3 Test yöntemi/yöntemleri	81
R.7.1.9.4 Standart test rejiminin uyarlanması	81
R.7.1.9.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	83
R.7.1.9.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	83
R.7.1.10 Alevlenirlik	84
R.7.1.10.1 Alevlenir gazlar	85
R.7.1.10.2 Alevlenir sıvılar	88
R.7.1.10.3 Alevlenir katılar	92
R.7.1.10.4 Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar	95
R.7.1.10.5 Piroforik sıvılar	99
R.7.1.10.6 Piroforik katılar	101
R.7.1.10.7 Kendiliğinden ısınan maddeler ve karışımlar	103
R.7.1.10.8 Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler	106
R.7.1.10.9 Organik peroksitler	109
R.7.1.11 Patlayıcı özellikler	114
R.7.1.11.1 Patlayıcılar	115
R.7.1.11.2 Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar	121
R.7.1.11.3 Organik peroksitler	122
R.7.1.12 Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı	123
R.7.1.12.1 Kendiliğinden tutuşma	124
R.7.1.12.2 Kendiliğinden ısınan maddeler	126
R.7.1.13 Oksitleyici özellikler	127
R.7.1.13.1 Oksitleyici gazlar	128
R.7.1.13.2 Oksitleyici sıvılar	130
R.7.1.13.3 Oksitleyici katılar	134
R.7.1.14 Granülometri	139
R.7.1.14.1 Özellik türü	139
R.7.1.14.2 Tanımlar	140
R.7.1.14.3 Test yöntemleri	141
R.7.1.14.4 Standart test rejiminin uyarlanması	147
R.7.1.14.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	148
R.7.1.14.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	149
R.7.1.14.7 Diğer bilgiler / referanslar	150
R.7.1.15 Yüzeye tutunma/Yüzeyden sıyrılma	151
R.7.1.15.1 Özellik türü	151
R.7.1.15.2 Tanım	151
R.7.1.15.3 Test yöntemi/yöntemleri	152
R.7.1.15.4 Standart test rejiminin uyarlanması	153
R.7.1.15.5 Safsızlıklar; belirsizlikler	155
R.7.1.15.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler	155
R.7.1.15.7 Diğer bilgiler / referanslar	158
R.7.1.16 Organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünleri	160

	Özellik türü	160
R.7.1.16.2	Tanım.....	160
R.7.1.16.3	Test yöntemi/yöntemleri.....	160
R.7.1.16.4	Standart test rejiminin uyarlanması	161
R.7.1.16.5	Safsızlıklar; belirsizlikler	162
R.7.1.16.6	Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler.....	162
R.7.1.16.7	Diğer bilgiler / referanslar	163
R.7.1.17	Ayrışma sabiti.....	164
R.7.1.17.1	Özellik türü	164
R.7.1.17.2	Tanım.....	164
R.7.1.17.3	Test yöntemi/yöntemleri.....	165
R.7.1.17.4	Standart test rejiminin uyarlanması	165
R.7.1.17.5	Safsızlıklar; belirsizlikler	168
R.7.1.17.6	Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler.....	169
R.7.1.17.7	Ayrışma sabitine ilişkin referanslar	169
R.7.1.18	Viskozite.....	171
R.7.1.18.1	Özellik türü	171
R.7.1.18.2	Tanım.....	171
R.7.1.18.3	Test yöntemi/yöntemleri.....	171
R.7.1.18.4	Standart test rejiminin uyarlanması	172
R.7.1.18.5	Safsızlıklar; belirsizlikler	173
R.7.1.18.6	Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler.....	173
R.7.1.19	Şekil	174
R.7.1.20	Yüzey alanı	174
R.7.1.21	KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1) (a) (4)'e göre sınıflandırma ve etiketlenme için sunulacak diğer bilgiler	175
R.7.1.21.1	Aerosoller	176
R.7.1.21.2	Basınç altındaki gazlar.....	176
R.7.1.21.3	Metal için aşındırıcı.....	176
R.7.2	Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi	184
R.7.2.1	Giriş.....	184
R.7.2.1.1	Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi tanımları	184
R.7.2.1.2	Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi hakkında rehberin amacı	187
R.7.2.2	Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgi gereklilikleri	188
R.7.2.2.1	≥1 YT miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 7) ...	188
R.7.2.2.2	≥10 YT miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8) ...	189
R.7.2.3	Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgi kaynakları	189
R.7.2.3.1	Tahriş/aşınma üzerine insan dışı veriler.....	189
R.7.2.3.2	Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan verileri	197
R.7.2.4	Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgilerin değerlendirilmesi	197
R.7.2.4.1	Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan dışı veriler	197
R.7.2.4.2	Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan verileri	202
R.7.2.4.3	Cilt aşınması/tahrişi üzerine maruz kalma hususları	203
R.7.2.4.4	Cilt aşınması/tahrişi için kalan belirsizlikler	203
R.7.2.5	Cilt aşınması/tahrişi üzerine varılan sonuçlar	204
R.7.2.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	204
R.7.2.5.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	204

R.7.2.5.3	Bilgilerin yeterli olmaması.....	204
R.7.2.6	Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisi	204
R.7.2.6.1	Amaç / Genel ilkeler	205
R.7.2.6.2	Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisi.....	207
R.7.2.7	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bilgi gereklilikleri	214
R.7.2.7.1	≥1 YT miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 7) ...	214
R.7.2.7.2	≥10 YT miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8) ...	215
R.7.2.8	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine bilgi kaynakları	215
R.7.2.8.1	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan dışı veriler.....	215
R.7.2.8.2	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan verileri.....	222
R.7.2.9	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine bilgilerin değerlendirilmesi	223
R.7.2.9.1	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan dışı veriler.....	223
R.7.2.9.2	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan verileri.....	229
R.7.2.9.3	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için maruz kalma hususları	230
R.7.2.9.4	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için kalan belirsizlik.....	230
R.7.2.10	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine varılan sonuçlar	230
R.7.2.10.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	230
R.7.2.10.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	231
R.7.2.10.3	Bilgilerin yeterli olmaması.....	231
R.7.2.11	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test ve değerlendirme stratejisi	231
R.7.2.11.1	Amaç / Genel ilkeler.....	231
R.7.2.11.2	Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test ve değerlendirme stratejisi	233
R.7.2.12	Solunum yolu aşınması/tahrişi üzerine bilgi kaynakları	240
R.7.2.12.1	Hayvan verileri	240
R.7.2.12.2	İnsan verileri.....	240
R.7.2.13	Solunum yolu aşınması/tahrişine ilişkin bilgilerin değerlendirilmesi	241
R.7.2.13.1	Hayvan verileri	241
R.7.2.13.2	İnsan verileri.....	242
R.7.2.14	Solunum yolu aşınması/tahrişine ilişkin varılan sonuçlar.....	243
R.7.2.14.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	243
R.7.2.14.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	243
R.7.2.15	Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi ile ilgili referanslar	244
R.7.3	Cilt ve solunum hassasiyeti	271
R.7.3.1	Giriş.....	271
R.7.3.1.1	Cilt ve solunum hassasiyeti tanımı	271
R.7.3.1.2	Cilt ve solunum hassasiyeti hakkında rehberin amacı	272
R.7.3.2	Cilt hassasiyeti mekanizmaları	274
R.7.3.3	Cilt hassasiyeti üzerine bilgi gereklilikleri	274
R.7.3.4	Cilt hassasiyeti üzerine bilgi kaynakları.....	277
R.7.3.4.1	Cilt hassasiyeti üzerine insan dışı veriler.....	277
R.7.3.4.2	Cilt hassasiyeti üzerine insan verileri.....	284
R.7.3.5	Cilt hassasiyeti üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	285
R.7.3.5.1	Cilt hassasiyeti üzerine insan dışı veriler.....	285
R.7.3.5.2	Cilt hassasiyeti üzerine insan verileri.....	295

R.7.3.6	Cilt hassasiyeti üzerine varılan sonuçlar	296
R.7.3.6.1	Cilt hassasiyeti için kalan belirsizlikler	296
R.7.3.6.2	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	297
R.7.3.6.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç: etki gücü ve doz cevap değerlendirmesi	297
R.7.3.6.4	Ek hususlar.....	299
R.7.3.6.5	Bilgilerin yeterli olmaması.....	299
R.7.3.7	Cilt hassasiyeti için test ve değerlendirme stratejisi	299
R.7.3.7.1	Amaç / Genel ilkeler	299
R.7.3.7.2	Test ve değerlendirme stratejisinin uygulanması.....	301
R.7.3.8	Solunum hassasiyeti mekanizmaları	315
R.7.3.9	Solunum hassasiyeti üzerine bilgi kaynakları	315
R.7.3.9.1	Solunum hassasiyeti üzerine insan dışı veriler	315
R.7.3.9.2	Solunum hassasiyeti üzerine insan verileri	319
R.7.3.10	Solunum hassasiyeti üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	319
R.7.3.10.1	Solunum hassasiyeti için insan dışı veriler	319
R.7.3.10.2	Solunum hassasiyeti üzerine insan verileri	321
R.7.3.11	Solunum hassasiyeti üzerine varılan sonuçlar	322
R.7.3.11.1	Solunum hassasiyeti için kalan belirsizlik	322
R.7.3.11.2	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	322
R.7.3.11.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç: doz-cevap değerlendirmesi ve etki gücü	322
R.7.3.11.4	Ek hususlar	323
R.7.3.12	Solunum hassasiyeti için değerlendirme stratejisi	323
R.7.3.12.1	Amaç / Genel ilkeler.....	323
R.7.3.12.2	Ön hususlar	323
R.7.3.12.3	Önerilen yaklaşım	323
R.7.3.13	Cilt ve solunum hassasiyeti için referanslar	325
R.7.4	Akut toksisite	359
R.7.4.1	Giriş	359
R.7.4.1.1	Akut toksisite tanımı	359
R.7.4.1.2	Akut toksisite hakkında rehberin amacı	359
R.7.4.2	Akut toksisite üzerine bilgi gereklilikleri	360
R.7.4.3	Akut toksisite üzerine bilgi kaynakları	361
R.7.4.3.1	Akut toksisite üzerine insan dışı veriler.....	361
R.7.4.3.1.1	Akut toksisite üzerine test dışı veriler	361
R.7.4.3.1.2	Akut toksisite üzerine test verileri	362
R.7.4.3.2	Akut toksisite üzerine insan verileri.....	366
R.7.4.3.3	Akut toksisite için maruz kalma hususları	366
R.7.4.4	Akut toksisite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	366
R.7.4.4.1	Akut toksisite üzerine insan dışı veriler.....	366
R.7.4.4.1.1	Akut toksisite üzerine test dışı veriler	366
R.7.4.4.1.2	Akut toksisite üzerine test verileri	368
R.7.4.4.2	Akut toksisite üzerine insan verileri.....	370
R.7.4.4.3	Akut toksisite için maruz kalma hususları	370
R.7.4.4.4	Akut toksisite için kalan belirsizlik.....	370
R.7.4.5	Akut toksisite üzerine varılan sonuçlar	370
R.7.4.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	370
R.7.4.5.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	372
R.7.4.5.3	Bilgilerin yeterli olmaması.....	372

R.7.4.6	Akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisi	373
R.7.4.6.1	Amaç / Genel ilkeler	373
R.7.4.6.2	Ön hususlar	373
R.7.4.6.3	Akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisi (bkz. Şekil R.7.4-1)	374
R.7.4.7	Akut toksisite için referanslar	381
R.7.5	Tekrarlı doz toksisitesi	415
R.7.5.1	Giriş	415
R.7.5.1.1	Tekrarlı doz toksisitesi tanımı	415
R.7.5.1.2	Tekrarlı doz toksisitesi hakkında rehberin amacı	416
R.7.5.2	Tekrarlanan doz toksisitesi için bilgi gereklilikleri	416
R.7.5.3	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine bilgi kaynakları	417
R.7.5.3.1	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan dışı veriler.....	418
R.7.5.3.1.1	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test dışı veriler	418
R.7.5.3.1.2	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test verileri	419
R.7.5.3.2	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan verileri	428
R.7.5.3.3	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine maruz kalma hususları.....	429
R.7.5.4	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	429
R.7.5.4.1	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan dışı veriler.....	429
R.7.5.4.1.1	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test dışı veriler	429
R.7.5.4.1.2	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test verileri	431
R.7.5.4.2	Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan verileri	435
R.7.5.4.3	Tekrarlı doz toksisitesi için maruz kalma hususları	436
R.7.5.4.3.1	Uyarlamalar	436
R.7.5.4.3.2	En uygun uygulama yolu	436
R.7.5.4.3.3	Diğer çalışmalar için gereklilikler.....	436
R.7.5.4.3.4	Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için feragat	437
R.7.5.4.4	Tekrarlı doz toksisitesi için kalan belirsizlik.....	438
R.7.5.4.4.1	Kritik etkinin eşiği	438
R.7.5.4.4.2	Genel değerlendirme faktörü	439
R.7.5.4.4.3	Diğer hususlar	439
R.7.5.5	Tekrarlı doz toksisitesi için varılan sonuçlar	440
R.7.5.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	441
R.7.5.5.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	441
R.7.5.5.3	Bilgilerin yeterli olmaması.....	442
R.7.5.6	Tekrarlı doz toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisi	442
R.7.5.6.1	Amaç / Genel ilkeler	442
R.7.5.6.2	Ön hususlar	443
R.7.5.6.3	Tekrarlı doz toksisitesi için test ve değerlendirme stratejisi	443
R.7.5.6.3.1	≥10 t/y veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8)	446
R.7.5.6.3.2	≥100 t/y veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 9)	447
R.7.5.6.3.3	≥1000 t/y veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 10).....	449
R.7.5.6.3.4	Gerçekleştirilecek çalışmalar için diğer hususlar	450
R.7.5.6.3.5	Tekrarlı doz toksisitesi için standart test rejiminin KKDİK Ek 11 uyarlamaları.	455
R.7.5.7	Tekrarlı doz toksisitesi için referanslar	457
R.7.6	Üreme sistemi toksisitesi	468
R.7.6.1	Giriş	468
R.7.6.2	Üreme sistemi toksisitesi için bilgi gereklilikleri ve test yaklaşımları	469
R.7.6.2.1	KKDİK bilgi gereklilikleri	470
R.7.6.2.2	KKDİK Yönetmeliğinde atıfta bulunulan test yöntemleriyle üretilen temel hedefler ve bilgiler	474
R.7.6.2.2.1	Üreme/Gelişimsel Toksikite Tarama Testi	474
R.7.6.2.2.2	Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması	474
R.7.6.2.2.3	Genişletilmiş tek-nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması	474

R.7.6.2.3	Uyarılma ve test yaklaşımları	477
R.7.6.2.3.1	Genel bakış.....	477
R.7.6.2.3.2	Uyarılma ve test yaklaşımları için prosedür.....	479
R.7.6.3	Üreme sistemi toksisitesi üzerine bilgi kaynakları	492
R.7.6.3.1	Üreme sistemi toksisitesi üzerine hayvan dışı yaklaşımlardan bilgiler.....	492
R.7.6.3.2	İnsanlarda üreme sistemi toksisitesi üzerine bilgiler	492
R.7.6.3.3	Üreme sistemi toksisitesi üzerine <i>in vivo</i> hayvan çalışmalarından bilgiler	493
R.7.6.4	Üreme sistemi toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	494
R.7.6.4.1	Hayvan dışı veriler	495
R.7.6.4.1.1	Fiziko-kimyasal özellikler	495
R.7.6.4.1.2	(Q)SAR.....	495
R.7.6.4.1.3	<i>In vitro</i> veriler ve Olumsuz Etki Oluşum Yolları	496
R.7.6.4.2	Hayvan verileri.....	497
R.7.6.4.2.1	Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi	497
R.7.6.4.2.2	Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması	499
R.7.6.4.2.3	Genişletilmiş tek-nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması	500
R.7.6.4.2.4	İki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışması	505
R.7.6.4.2.5	Tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması.....	505
R.7.6.4.2.6	Gelişimsel nörotoksisite çalışmaları	506
R.7.6.4.2.7	Gelişimsel immünotoksisite çalışmaları	508
R.7.6.4.2.8	Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları	508
R.7.6.4.2.9	Endokrin bozukluğu etki şekli için <i>in vivo</i> analizler.....	509
R.7.6.4.3	Üreme sistemi toksisitesi üzerine insan verileri.....	511
R.7.6.4.4	DNEL ve DMEL değerlerinin türetilmesi.....	511
R.7.6.5	Sınıflandırma ve etiketleme	512
R.7.6.6	Üreme sistemi toksisitesi üzerine varılan sonuçlar	512
R.7.6.7	Üreme sistemi toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisi.....	512
R.7.6.8	Üreme sistemi toksisitesi için referanslar	513
R.7.7	Mutajenite ve kanserojenite	551
R.7.7.1	Mutajenite	551
R.7.7.1.1	Mutajenitenin tanımı	551
R.7.7.1.2	Mutajenite hakkında rehberin amacı.....	551
R.7.7.2	Mutajenite üzerine bilgi gereklilikleri	552
R.7.7.3	Mutajenite üzerine bilgi kaynakları.....	554
R.7.7.3.1	Mutajenite üzerine insan dışı veriler	554
R.7.7.3.2	Mutajenite üzerine insan verileri	560
R.7.7.4	Mutajenite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	560
R.7.7.4.1	Mutajenite üzerine insan dışı veriler	561
R.7.7.4.2	Mutajenite üzerine insan verileri	563
R.7.7.4.3	Mutajenite için kalan belirsizlikler	563
R.7.7.5	Mutajenite için varılan sonuçlar.....	563
R.7.7.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için sonuç.....	563
R.7.7.5.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	563
R.7.7.5.3	Bilgilerin yeterli olmaması.....	565
R.7.7.6	Mutajenite için Bütünleşik Test Stratejisi	565
R.7.7.6.1	Amaç / Genel ilkeler	565
R.7.7.6.2	Ön hususlar	566
R.7.7.6.3	Mutajenite için test stratejisi	568
R.7.7.7	Mutajenite için referanslar	582
R.7.7.8	Kanserojenite	585

R.7.7.8.1	Kanserojenitenin tanımı.....	585
R.7.7.8.2	Kanserojenite hakkında rehberin amacı	585
R.7.7.9	Kanserojenite üzerine bilgi gereklilikleri	586
R.7.7.10	Kanserojenite üzerine bilgi kaynakları	587
R.7.7.10.1	Kanserojenite üzerine insan dışı veriler	587
R.7.7.10.2	Kanserojenite üzerine insan verileri.....	591
R.7.7.10.3	Kanserojenite üzerine maruz kalma hususları	593
R.7.7.11	Kanserojenite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	593
R.7.7.11.1	Kanserojenite üzerine insan dışı veriler	593
R.7.7.11.2	Kanserojenite üzerine insan verileri.....	597
R.7.7.11.3	Kanserojenite üzerine maruz kalma hususları	598
R.7.7.11.4	Kanserojenite için kalan belirsizlikler	598
R.7.7.12	Kanserojenite için varılan sonuçlar	599
R.7.7.12.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	599
R.7.7.12.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	599
R.7.7.12.3	Bilgilerin yeterli olmaması	601
R.7.7.13	Kanserojenite için Bütünleşik Test Stratejisi	601
R.7.7.13.1	Amaç / Genel ilkeler.....	601
R.7.7.13.2	Ön hususlar	602
R.7.7.13.3	Kanserojenite için test stratejisi	603
R.7.7.14	Kanserojenite için referanslar	607

Tablolar

Tablo R.7.1-1	KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ila 9'da belirtilen bilgi gereklilikleri ve Test Yöntemi Yönetmeliği (TY) ve SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemleri	41
Tablo R.7.1-2	KKDİK Yönetmeliğinin bilgi üretimini gerektirmediği SEA Yönetmeliği zararlılık sınıfları	44
Tablo R.7.1-3	Yoğunluğun belirlenmesi için test yöntemleri	55
Tablo R.7.1-4	Grup katkısı yaklaşımı ve buhar basıncı.....	60
Tablo R.7.1-5	Suda çözünürlüğün belirlenmesi için test yöntemleri	68
Tablo R.7.1-6	N-oktanol/su dağılım katsayısının belirlenme yöntemleri	75
Tablo R.7.1-7	KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Alevlenirlik' bilgi gerekliliğine SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA'ya göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve SEA Kriterleri Uygulama Rehberi ile destekleyici bağlantı.	84
Tablo R.7.1-8	KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Patlayıcı özellikler' bilgi gerekliliğine SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA Yönetmeliğine göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve SEA Kriterleri Uygulama Rehberi ile destekleyici bağlantı.	114
Tablo R.7.1-9	SEA zararlılık sınıflarının atanması, KKDİK Yönetmeliği, Ek 7 ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik uyarınca "Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı" bilgi gerekliliği.	123
Tablo R.7.1-10	KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Oksitleyici özellikler' bilgi gerekliliği SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA Yönetmeliğine göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve SEA Kriterleri Uygulama Rehberi ile destekleyici bağlantı.	127
Tablo R.7.1-11	Bir malzemenin partikül boyutu dağılımını belirleme yöntemleri	143
Tablo R.7.1-12	Havada dağılmış veya nebülize partikülleri oluşturma/numune alma yöntemleri	145

Tablo R.7.1-13 Yalnızca solunabilir oranları ölçen veya ayrıntılı dağılımlar vermeyen yöntemler	147
Tablo R.7.1-14 Yüzeğe tutunma ölçümü için yöntemler	152
Tablo R.7.1-15 KKDİK Yönetmeliği Madde 11(1) (a) (4), SEA zararlılık sınıfları ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA ²⁴ uyarınca ilgili test yöntemlerine göre genel kayıt amaçları için sunulacak bilgiler	175
Tablo R.7.1-16 Henry Kanunu Sabiti belirlenmesi için deneysel yaklaşımlar	179
Tablo R.7.1-17 Henry Kanunu Sabiti değerleri üzerinde etkisi olan koşullar	180
Tablo R.7.2-1 Cilt aşınması/tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bakış. Bu modeller hakkında daha fazla bilgi için bkz. Ek R.7.2-2.	193
Tablo R.7.2-2 Cilt aşınması / tahrişi için kabul edilen <i>in vitro</i> test yöntemleri	195
Tablo R.7.2-3 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bakış. Bu modeller hakkında daha fazla bilgi için bkz. Ek R.7.2-3.....	218
Tablo R.7.2-4 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için kabul edilen <i>in vitro</i> test yöntemleri.....	219
Tablo R.7.2-5 Tahriş edici maddelerin kategorileri ve göz tahrişinde tipik etki şekilleri	252
Tablo R.7.2-6 Cilt aşınması/tahrişi için mevcut literatüre dayalı modeller	257
Tablo R.7.2-7 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut literatüre dayalı modeller	266
Tablo R.7.3-1 Cilt hassasiyeti tahmini için <i>in silico</i> araçlar. Nitel modellerin KKDİK ve SEA Yönetmeliklerinde belirtilenlerden farklı eşikler kullanılarak geliştirilmiş olabileceği unutulmamalıdır. Kullanıcının farklı bilgiler toplamak için mümkün olduğunca çok sayıda farklı yazılım kullanması tavsiye edilir	279
Tablo R.7.3-2 Cilt hassasiyeti için <i>in chemico/in vitro</i> yöntemlerin geçerliliği ve kullanım durumu	281
Tablo R.7.3-3 Solunum hassasiyeti için yapısal uyarı örnekleri	317
Tablo R.7.3-4 Cilt hassasiyeti için KKDİK bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere doğrulanmamış ve/veya kullanımda olmayan test yöntemlerini kullanırken hayvan dışı bir test yöntemini açıklayan bireysel bilgi kaynaklarının raporlanması için şablon. 344	
Tablo R.7.4-1 Akut toksisite ile ilgili verileri içeren veri tabanlarının listesi (uyarlanmış ve genişletilmiş kaynak: Lapenna ve ark., 2010).....	364
Tablo R.7.4-2 Akut oral toksisite ve subakut oral toksisite için OECD test rehberlerinin gerektirdiği genel klinik gözlemlerin karşılaştırılması ve geliştirilmiş DRF1 çalışmasında önerilen gözlem programı.	390
Tablo R.7.4-3 Kanıt Ağırlığı analizi için matris.....	403
Tablo R.7.5-1 <i>In vivo</i> tekrarlı doz toksisitesi testi rehberlerine genel bakış	422
Tablo R.7.5-2 Tekrarlı doz toksisitesi hakkında bilgi veren diğer <i>in vivo</i> test rehberi çalışmalarına genel bakış	426
Tablo R.7.5-3 Nörotoksosite araştırma yöntemleri	465
Tablo R.7.5-4 Tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için <i>in silico</i> araçlar.....	467
Tablo R.7.6-1 KKDİK Yönetmeliğindeki üreme sistemi toksisitesi için bilgi gerekliliklerinin özeti (Ek 7 ila 10).	473
Tablo R.7.6-2 KKDİK içerisinde atıfta bulunulan üreme sistemi toksisitesine yönelik <i>in vivo</i> AB test yöntemlerine ve OECD test rehberlerine genel bakış	476
Tablo R.7.7-1 Mutajenite için KKDİK bilgi gereklilikleri	553
Tablo R.7.7-2 <i>In vitro</i> test yöntemleri	557
Tablo R.7.7-3 <i>In vivo</i> test yöntemleri, somatik hücreler	558
Tablo R.7.7-4 <i>In vivo</i> test yöntemleri, eşey hücreler	559
Tablo R.7.7-5 Mutajenite test stratejisine göre genotoksosite/mutajenite hakkında sonuca varmak için farklı test veri setleri ve takip prosedürleri örnekleri	576
Tablo R.7.7-6 Kanserojenite için standart bilgi gereklilikleri ve bu gerekliliklere ilişkin uyarılama için özel kurallar	587

Şekiller

Şekil R.7.1-1 SAE ve SEA sınıflandırmasının karşılaştırması	91
Şekil R.7.1-2 Örnek 2,2'-Azodi (izobütironitril).....	98
Şekil R.7.1-3 Örnek: Di-tert-butil peroksit.....	112
Şekil R.7.1-4 Sınıf 1 kabul prosedürünün uygulanmasının sonuçları	119
Şekil R.7.1-5 Sınıf 1 atama prosedürünün uygulanmasının sonuçları.....	120
Şekil R.7.1-6 Granülometri için bütünleşik test stratejisi	142
Şekil R.7.1-7 Ayrışma sabiti için bütünleşik test stratejisi	166
Şekil R.7.2-1 Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisine genel bakış	206
Şekil R.7.2-2 Maddelerin cilt aşınması / tahriş potansiyelini değerlendirmek için test ve değerlendirme stratejisi (a'dan h'ye dipnotlar şeklin altında detaylandırılmıştır)	208
Şekil R.7.2-3 Cilt Aşınması/tahrişi için Yukarıdan Aşağıya ve Aşağıdan Yukarıya yaklaşımların şematik sunumu	213
Şekil R.7.2-4 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için test ve değerlendirme stratejisine genel bakış	233
Şekil R.7.2-5 Maddelerin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelini değerlendirmek için test ve değerlendirme stratejisi (a'dan f'ye kadar olan dipnotlar şeklin altında detaylandırılmıştır)	235
Şekil R.7.3-1 Cilt hassasiyeti için test ve değerlendirme stratejisine genel bakış.....	301
Şekil R.7.3-2 Maddelerin cilt hassasiyeti potansiyelinin değerlendirilmesi için test ve değerlendirme stratejisi (a'dan h'ye dipnotlar şeklin altında detaylandırılmıştır)	304
Şekil R.7.3-3 Test ve Değerlendirme Stratejisinin Görünümü - Önemli olaylarda veriler nasıl kullanılır. Not: önemli olayların sırası belirtilmemiştir ve uygun şekilde düzenlenebilir	309
Şekil R.7.3-4 Solunum hassasiyeti verileri için değerlendirme stratejisi*	324
Şekil R.7.4-1 Akut oral toksisite için test ve değerlendirme stratejisi (KKDİK Ek 7 ve 8)	378
Şekil R.7.4-2 Akut toksisite testi (KKDİK Ek 8) için ek maruz kalma yolunun/yollarının seçimi (ayrıca bkz. OECD Rehberi 39 (OECD, 2009)).....	380
Şekil R.7.4-3 Kayıt ettirenin yeni bir tekrarlı doz sub-akut oral toksisite çalışması oluşturması gerektiğinde, <i>in vivo</i> akut toksisite testinin gerekli olup olmadığını değerlendirmek için karar ağacı.....	392
Şekil R.7.4-4 Kayıt ettirenin mevcut bir tekrarlı subakut oral toksisite çalışması olduğunda ve KA yaklaşımını kullandığında, <i>in vivo</i> akut toksisite testinin gerekli olup olmadığını değerlendirmek için karar ağacı.....	401
Şekil R.7.5-1 Tekrarlı doz toksisitesi için test ve değerlendirme stratejisi	445
Şekil R.7.7-1 Mutajenite test stratejisinin akış şeması.....	575
Şekil R.7.7-2 Kanserojenite için bütünleşik test stratejisi.....	606

Ekler

Ek R.7.1-1 Henry kanunu sabiti ve buharlaşma hızı	178
Ek R.7.2-1 Lokal toksisite mekanizmaları: cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi	250
Ek R.7.2-2 Cilt aşınması ve tahrişi için (Q)SAR ve uzman sistemler	256
Ek R.7.2-3 Ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için (Q)SAR ve uzman sistemler	265
Ek R.7.3-1 Literatür modelleri ve cilt hassasiyeti için <i>in silico</i> araçlar	335
Ek R.7.3-2 Doğrulanmamış ve/veya kullanılmayan test yöntemleri kullanılırken hayvan dışı bir test yöntemi için bireysel bilgi kaynaklarının raporlanmasına yönelik şablon	343
Ek R.7.3-3 Birden fazla bilgi kaynağına dayanan test ve değerlendirmeye yönelik tanımlanmış yaklaşımlar için raporlama formatı	346
Ek R.7.3-4 Cilt hassasiyeti için etki gücü tahmini.....	350

Ek R.7.4-1 Akut oral toksisite çalışması için standart bilgi gerekliliğine Kanıt Ağırlığına dayalı uyarlama	384
Ek R.7.4-2 Önerilen kanıt ağırlığı uyarlamasını destekleyen temel hususlar ve analiz	405
Ek R.7.4-3 Akut toksisite tahmini için (Q)SAR	409
Ek R.7.5-1 Özel sistem/organ toksisitesi için test stratejisi: örnek nörotoksosite değerlendirme	461
Ek R.7.5-2 Tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için (Q)SAR	467
Ek R.7.6-1 Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikite Çalışması tasarımına katkıda bulunan bilgiler için kontrol listesi	520
Ek R.7.6-2 Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikite Çalışma Tasarımı	523
Ek R.7.6-3 Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikite Çalışmasında çiftleşme öncesi maruz kalma süresi (AB B.56, OECD Test Rehberi 443)	532
Ek R.7.6-4 Test yaklaşımları ve uyarlama için prosedür; Aşama 3 - Aşama 3.1.1 - 3.1.8	539
Ek R.7.6-5 Tetikleyicilerin değerlendirilmesi.....	544

R.7 Sonlanma noktası özel rehberi

Giriş

Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmesi (BG ve KGD) rehberinin önceki bölümleri, bir kimyasalın Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik (KKDİK Yönetmeliği) kapsamında kaydedilmesi için gerekli olan tüm ilgili bilgilerin bulunması, bir araya getirilmesi ve değerlendirilmesinde izlenmesi gereken genel süreci açıklayan, Yönetmeliğin genel unsurlarının yorumlanması ve uygulanmasına ilişkin tavsiyeler sunmaktadır. Bölümler ayrıca bilgi gereklilikleri üzerinde etkisi olabilecek faktörleri açıklar ve farklı kaynaklardan toplanan bilgilerin nasıl entegre edilebileceği ve mevcut bilgilerin düzenleyici amaçlar (zararlılık değerlendirme ve risk değerlendirme) için yeterli olup olmadığına dair bir sonuca varılmasına izin verecek bir yaklaşımda nasıl kullanılabilirliği konusunda tavsiyelerde bulunur.

Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik (SEA Yönetmeliği) uyarınca, bu yaklaşıma *Kanıt Ağırlığı* tespiti adı verilir. SEA Yönetmeliğine göre, kriterlerin doğrudan uygulanmadığı durumlarda, uzman görüşü kullanılan kanıt ağırlığı tespiti uygulanarak bir değerlendirme (yani belirli zararın değerlendirilmesi ile ilgili tüm mevcut bilgilerin birlikte değerlendirilmesi) her zaman yapılmalıdır (Madde 11 (3), SEA). Bu kanıt ağırlığı tespiti, yeterli kanıt ağırlığının bir maddenin belirli bir zararlı özelliğe sahip olduğu veya olmadığı sonucuna/varsayımına izin verebileceği standart bilgi gerekliliklerine ilişkin bir uyarılma kuralı olan, KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre Kanıt Ağırlığı kullanımı ile karıştırılmamalıdır.

Şimdiye kadar verilen rehberlik alan genelinde geçerlidir ve uyulması gereken genel kuralları içerir.

Bölüm R.7a Yapısı

Bu bölümde, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 ila 11'de belirtilen bilgi gerekliliklerinin karşılanmasına ilişkin özel rehberlik sağlanmaktadır. Bilgi gereklilikleri, hem maruz kalma ve davranış hususları hem de fiziksel zararlılıklar, insan sağlığına zararlar ve çevresel zararlarla ilgili olan fizikokimyasal özelliklerle ilgilidir. Belirtilen her bir özellik veya zararlılık için rehberlik, bu rehberde belirli bir "alt bölüm" ("Bölüm" olarak anılacaktır) olarak geliştirilmiştir ve kayıt ettirenlerin KKDİK kapsamında kayıt için yeterli ve ilgili bilgileri sağlamasına yardımcı olmak için bilgilerin toplanması, oluşturulması ve değerlendirilmesi yönlerini ele almaktadır.

Kimyasal güvenlik değerlendirme yapılırken test dışı veriler dahil tüm veri kaynakları dikkate alınmalıdır. Raporların çoğu, genel rehberi ve yukarıdaki birinci paragrafta ayrıntılı olarak açıklanan genel karar verme çerçevelerini tamamlayan mantıksal bir ortak formatı takip eder.

R.7.1 Fizikokimyasal özellikler

Bu ilk "alt bölüm", 2011 ve 2012 yılları arasında bir rehber revizyonu sürecinden geçmiştir ve bu nedenle revize bir yapı izlemektedir. Bölüm R.7.1, sınıflandırmayla ilgili olan ve sınıflamayla ilgili olmayan özellikleri kapsar; burada fizikokimyasal özellikleri kapsayan bölümlerin her biri, referanslarla ilgili bilgi ihtiyacına bağlı olarak altı veya yedi "alt bölüme" ("bölümler" olarak da anılmaktadır) sahiptir ve fiziksel zararları kapsayan bölümlerin yedi "alt bölümü" vardır ("bölümler" olarak da anılmaktadır).

Fizikokimyasal özellikler bölümlerinde:

- ilk bölüm özelliğin türünü detaylandırır;
- ikinci bölüm özelliğin tanımını sağlar;
- üçüncü bölüm tercih edilen test yöntemlerini listeler;

- dördüncü bölüm, standart test rejiminin uyarlanması, yani her bir fizikokimyasal özellik altında araştırılabilen uyarlama seçenekleri ile ilgilidir;
- beşinci bölüm safsızlıklar ve belirsizliklerle ilgilidir ve
- son bölüm, kayıt dosyasında özelliğe özgü hangi tür bilgilerin verilmesi gerektiğini ana hatlarıyla belirtir (ilgili referansların sağlandığı durumlarda bazen ek bir bölümün eklendiği unutulmamalıdır).

Yukarıdakilerin aksine, fiziksel zararlılık bölümlerine:

- tanım bölümü ile başlanır;
- ardından sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgilerle ilgili ikinci bir bölüm gelir;
- üçüncü bölüm çeşitli uyarlanma seçeneklerini, yani standart test rejiminin nasıl uyarlanabileceğini araştırmaktadır;
- dördüncü bölüm safsızlıkları ve belirsizlikleri özetlemektedir;
- beşinci bölüm, yerini SEA Yönetmeliğinin aldığı 27092 sayılı SAE Yönetmeliği sınıflandırmasına karar verilmesine yardımcı olmayı amaçlamaktadır;
- altıncı bölüm, kayıt dosyasına ve Kimyasal Kayıt Sistemine (KKS) dahil edilecek fiziksel zararlara özgü bilgileri ana hatlarıyla belirtir ve
- yedinci bölüm, ilgili daha fazla bilgi ve kullanılan referansları verir.

R.7.2 İnsan sağlığı özellikleri veya zararlılıklar

R.7a'daki insan sağlığı özelliklerini veya zararlılıkları ele alan bölümler, benzer bir yapı kullanılarak genel olarak değişmeden kalmaktadır. Bununla birlikte, her bölüm güncellendiğinde, bilgiler daha açık ve daha yapıcı bir sırayla sunulmak üzere yeniden düzenlenebilir. Bu bölümlerde, her bir özellik veya zarar hakkında rehberin yedi ana bölümü bulunur:

- Giriş bölümü (R.7.X.1 Giriş), özellik veya zararın açıklandığı, daha ayrıntılı olarak tanımlandığı ve insan sağlığı bağlamında önemi veya belirli bir maddenin çevresel davranışı ve etkisi hakkında bir açıklamanın verildiği bir giriş sağlar;
- ikinci bölüm (R.7.X.2 Bilgi gereklilikleri...) ilgili sonlanma noktası için belirli bilgi gerekliliklerini detaylandırır; bunlar maddenin tonaj bandına, kullanım şekline ve diğer sonlanma noktaları ve ilgili maddelere ilişkin veriler dahil olmak üzere diğer hususlara bağlı olacaktır. Sonlanma noktasına² özgü rehberlik, ikinci bölümde detaylandırılan bilgileri bir araya getirmek için atılması gereken mantıksal adımlar olarak görülebilir; böylelikle
- üçüncü bölüm (R.7.X.3 Bilgi kaynakları...), ilgili sonlanma noktası ve en önemlisi bu bilgilerin kaynakları hakkında potansiyel olarak yararlı bilgiler sağlayabilecek tüm veri türlerinin bir envanterini sağlar;

² KKDİK, hem bir fizikokimyasal özelliği belirtmek (örnek: KKDİK Ek 7, Sütun 1 gerekli standart bilgi: 7.3 Kaynama noktası ve 7.4 Bağlı yoğunluk) hem de zararlı özellikleri belirtmek için (örnek: KKDİK Ek 7, Sütun 1 gerekli standart bilgi: 7.11 Patlayıcı özellikler ve 7.13 Oksitleyici özellikler) için "sonlanma noktası" terimini kullanır, bunlar ilgili TR mevzuatına göre sınıflandırmaya tabidir. Aşağıda, sınıflandırmanın düzenleyici amacına hizmet eden özelliklerin tanımlanmasını kolaylaştırmak için, bu dokümanın Bölüm 7(a)'sındaki ifadesi, uygun görülen durumlarda bu farklı özellik türleri arasında ayrım yapacaktır.

- dördüncü bölüm (R.7.X.4... için mevcut bilgilerin değerlendirilmesi), belirli bir madde için mevcut olabilecek bilgilerin nasıl değerlendirileceğine dair rehberlik verilmektedir; bu tavsiye, mevcut verilerin yeterliliği ve eksiksizliği için değerlendirmeye ve sıralamaya yardımcı olacak kriterleri sağlamaya odaklanmaktadır. Bu bölüm ayrıca, ilgili sonlanma noktası için farklı veri türlerinde bulunan kalan belirsizliğin bir göstergesini sağlar;
- beşinci bölüm (R.7.X.5..... hakkındaki sonuçlar), mevcut bilgilerin düzenleyici amaçlara uygunluğuna ilişkin belirli bir madde için nasıl sonuçlara varılabileceğini açıklamaktadır. KKDİK kapsamındaki kimyasal güvenlik değerlendirmesi, temelde sınıflandırma ve PBT/vPvB değerlendirmesine ilişkin yeterli sonuca bağlıdır, çünkü maruz kalma değerlendirmesi ve risk karakterizasyonu, sınıflandırma ve/veya PBT/vPvB kriterlerinin karşılanması durumunda yapılır. Bu nedenle, verilerin hem sınıflandırma ve etiketleme hem de kimyasal güvenlik değerlendirmesi için yeterli olması gerekir;
- altıncı bölüm (... için R.7.X.6 Bütünleşik Test Stratejisi), belirli sonlanma noktaları için, bazı bölümlerde Test ve değerlendirme stratejisi olarak da anılan Bütünleşik Test Stratejisini içerir, KKDİK gerekliliklerini karşılamak için maddeler hakkında ilgili bilgilerin nasıl tanımlanacağı ve üretileceğine dair rehberlik sağlar. Omurgalı hayvanlar kullanılarak yapılan tüm deneylerin, 13/12/2011 tarihli ve 28141 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik veya söz konusu yönetmeliğin referans aldığı 2010/63/EC sayılı Bilimsel Amaçlarla Kullanılan Hayvanların Korunmasına Dair Avrupa Birliği Direktif uyarınca deney hayvanlarına rahatsızlık ve gereksiz acı ve ıstırap verilmesinden kaçınacak şekilde tasarlanması gerektiği önemlidir,

Önerilen test stratejileri, aşamalı bir yaklaşımla veri üretilmesi için rehberlik sağlar. Stratejiler, mevcut bilgilerin düzenleyici ihtiyaçları karşılamak için yeterli olmaması durumunda, test stratejilerinde bir sonraki adımda daha fazla bilgi toplanmasının gerekli olduğu kavramına dayanır. Öte yandan, mevcut bilgiler yeterliyse ve standart bilgi gereklilikleri karşılanıyorsa, daha fazla bilgi toplanmasına gerek yoktur. Mevcut bilgilerin standart bilgi gerekliliklerini KKDİK Ek 11 veya KKDİK Ek 7 ile 10'un ilgili Sütun 2 hükmüne göre uyarlamak için yeterli olduğuna karar verildiğinde, standart bilgi gerekliliklerinin standart testlerle yerine getirilmesi gerekmeyecektir;
- yedinci ve son bölüm (R.7.X.7 Referanslar...) verilen sonlanma noktalarında kullanılan tüm referansları listeler.

Ek hususlar

Aşağıdaki ek hususlar, genel olarak bu bölümde verilen sonlanma noktasına özgü rehberlik için geçerlidir:

Geçerli sınıflandırma rejimi ışığında bilgi gereklilikleri

KKDİK Yönetmeliğinin Ek 6 ile 10'unda belirtilen bilgi gerekliliklerinin ana düzenleyici amacı, maddelerle ilgili zararları ve riskleri değerlendirmek ve REACH Tüzüğü'nün 19. Beyanında vurgulandığı gibi uygun risk yönetimi önlemleri geliştirmek ve tavsiye etmektir. Beyan 26'ya göre: *'Maddelerin kimyasal güvenlik değerlendirmelerini etkin bir şekilde yürütebilmek için, madde imalatçıları ve ithalatçıları, gerekirse yeni testler yaparak bu maddeler hakkında bilgi edinmelidir'*. Kimyasal güvenlik değerlendirmesi (KGD), KKDİK Yönetmeliğinin Ek 1'de belirtilen hükümlere uygun olarak yapılmalıdır. Ek 1 Bölüm 0.6'ya göre, KGD'nin ilk üç adımı, maddelerin sınıflandırmasının belirlenmesi dahil olmak üzere bir insan sağlığı zararlılık değerlendirmesi, fizikokimyasal özelliklerin insan sağlığı zararlılık değerlendirmesi ve bir çevresel zararlılık değerlendirmesi yapılmasını gerektirir. KKDİK Yönetmeliğinin kabul edildiği tarihte, geçerli sınıflandırma rejimi SEA yönetmeliğidir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 1'de 7.10, 7.11 ve 7.13 içerisinde belirtildiği gibi, birçok KKDİK bilgi gerekliliği (sırasıyla alevlenirlik, patlayıcı özellikler ve oksitleyici özellikler) SEA Yönetmeliği'nin yayımlanması ile mülga olan Tehlikeli Maddelerin ve Müstahzarların Sınıflandırılması, Ambalajlanması ve Etiketlenmesi Hakkında Yönetmelik (SAE Yönetmeliği) kapsamındaki zararlılık kategorilerinden esinlenmiştir.

KKDİK Yönetmeliği Madde 11(a) (iv) gerekliliklerine göre, kayıt amacıyla gerekli teknik dosya, SEA Yönetmeliğinde 1 ve 2. Başlıkların uygulanmasının bir sonucu halinde ve KKDİK Ek 6 Bölüm 4 içerisinde belirtilen şekilde maddenin sınıflandırılmasını ve etiketlenmesini içerir. Maddeler, SEA Yönetmeliği uyarınca sınıflandırılmalı, etiketlenmeli ve ambalajlanmalıdır.

AB veya diğer uluslararası standartlaştırılmış test yöntemlerinden elde edilen verilerin kullanımı

SEA Ek 1 Bölüm 2'de atıfta bulunulan fiziksel zararlardan herhangi birinin bir maddeye (veya bir karışıma) uygulanıp uygulanmadığını belirlemek amacıyla, imalatçı, ithalatçı veya alt kullanıcı yeterli ve güvenilir bilgi yoksa yukarıda belirtilen Bölüm 2'nin gerektirdiği testleri gerçekleştirmelidir (bkz. SEA Madde 10 (3)). Bu rehberde ayrıca, her bir ilgili fiziksel zararlılık için, BM test yöntemi adıyla başlayarak, Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin BM Tavsiyeleri, Test ve Kriterler El Kitabı (UN-MTC) uyarınca ilgili teste bir referans sağlanacaktır.

Sınıflandırma ve etiketleme amacıyla **fiziksel zararlılıklar** için yeni testlerin gerçekleştirildiği SEA Yönetmeliği Madde 10(5)'e göre, bunlar ilgili tanınmış bir kalite sistemine (örn. İyi Laboratuvar Uygulamaları) uygun olarak veya ilgili tanınmış bir standarda (örn. EN ISO/IEC 17025 ile) uygun laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmelidir.

Bir madde veya karışımın herhangi bir **insan sağlığı ve/veya çevresel zararlılık sınıfında** sınıflandırma kriterlerini (ve geçerliyse, bir zararlılık sınıfı içindeki farklılıkları) karşılayıp karşılamadığını belirlemek amacıyla, benzer bir test gerekliliği yoktur. Halihazırda yeterli ve güvenilir bilgi mevcutsa (bkz. SEA Madde 10(2)), bu kullanılmalıdır. İmalatçı, ithalatçı veya alt kullanıcı diğer tüm bilgi üretme yöntemlerini tüketmişse, yeni testler gerçekleştirilebilir (Madde 10 (1), SEA).

Sınıflandırma amacıyla **insan sağlığı veya çevresel zararlılıklar** için yeni testlerin gerçekleştirildiği durumlarda, bunlar ilgili tanınmış bir kalite sistemine (örn. İyi Laboratuvar Uygulamaları) veya ilgili tanınmış bir standarda (örn. EN ISO/IEC 17025) uygun laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmelidir. (Madde 10(5), SEA). SEA amacıyla gerçekleştirilen testler için diğer gereklilikler SEA Yönetmeliği Madde 10'da verilmiştir.

Ayrıca, KKDİK Madde 14(3)'e göre, maddelerin içsel özellikleri hakkında bilgi üretilmesine yönelik testler, Maddelerin ve Karışımların Fiziko-kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik³ içerisinde açıklanan test yöntemleri uyarınca veya Avrupa Standartları (EN) (<http://www.cen.eu/Pages/default.aspx>) veya OECD rehberleri (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforhetestingofchemicals.htm>) gibi tanınmış diğer uluslararası test yöntemleri uyarınca yürütülmelidir.

Maddelerin ve Karışımların Fiziko-Kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik (Test Yöntemleri Yönetmeliği), KKDİK için uygulanacak test yöntemlerini belirler. Bu nedenle, belirli sonlanma noktaları ile ilgili aşağıdaki bölümlerde, her bir test yöntemi için verilen referanslar, Test Yöntemleri Yönetmeliğinde tanımlandığı şekilde OECD Test Rehberi numarasını ve mevcutsa test yöntemi numarasını içerecektir.

REACH Tüzüğü'nün 37. Beyanına göre, testler gerçekleştirilirse, testler laboratuvar hayvanlarının korunmasına yönelik ilgili gerekliliklere uygun olmalıdır⁴. KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (4), ekotoksikolojik ve toksikolojik testlerin ve analizlerin İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU)⁵ ilkelerine veya Türkiye tarafından eşdeğer olduğu kabul edilen diğer uluslararası standartlara uygun olarak yürütülmesi gerektiğini belirtir.

Zararlılık değerlendirmesinde sonlanma noktalarının birbirine bağımlılığı

Her belirli sonlanma noktası için ayrı ayrı rehberlik sağlanmasına rağmen, farklı sonlanma noktalarının birbiriyle ilişkili olduğu unutulmamalıdır. Bir sonlanma noktası dahilinde toplanan bilgiler, diğer sonlanma noktalarının zararlılık/risk değerlendirmesini etkileyebilir; örneğin, bir ana maddenin hızlı birincil bozunması hakkındaki bilgiler, maddenin toksisitesinin genel değerlendirmesine bozunma ürünlerinin dahil edilmesiyle sonuçlanabilir. Bir maddenin fizikokimyasal özellikleri ile ilgili olarak, örneğin kaynama noktası ve parlama noktası, alevlenir sıvıların sınıflandırılması için kullanılan özelliklerdir ve bu nedenle bu özellikler fiziksel zararlılık değerlendirmesi için önemlidir. Benzer şekilde, bir sonlanma noktasındaki toksisite/belirli etki şekli hakkındaki bilgiler, diğer sonlanma noktalarının değerlendirilmesine ilişkin ele alınan organizmalar için olası olumsuz etkileri gösterebilir; örneğin, memelilerde endokrin bozucu etki şekli, balıklarda aynı etki şeklini gösterebilir. Başka bir örnek, bir organizma grubunda ölçülen toksik etkilere ilişkin verilerin doğrudan birden fazla sonlanma noktasında kullanılabilmesi olabilir; örneğin, tekrarlı bir doz toksisitesi çalışmasından elde edilen veriler, besin zincirleri yoluyla maruz kalan memelilerin ikincil zehirlenmesi riskinin değerlendirilmesinde de kullanılabilir.

Ek bilgiler oluşturulması için yöntemlerin yeterliliği

İlave hayvan testleri önerilmeden önce, diğer tüm seçeneklerin kullanılması düşünülmelidir. Omurgalı hayvanlar üzerinde yapılan testlerin yalnızca son çare olarak, diğer tüm veri kaynakları tüketildiğinde gerçekleştirilmesi veya önerilmesi gerektiğini vurgulamak önemlidir (bkz. REACH Tüzüğü'nün 47. Beyanı, KKDİK Madde 23 ve KKDİK Ek 6 Adım 4) .

³ 11/12/2013 tarihli ve 28848 ikinci mükerrer sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Maddelerin ve Karışımların Fiziko-kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

⁴ 13/12/2011 tarihli ve 28141 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik

⁵ 9/3/2010 tarihli ve 27516 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri, Test Birimlerinin Uyumlaştırılması, İyi Laboratuvar Uygulamalarının ve Çalışmaların Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik.

Bu nedenle, testin yapılıp yapılmayacağı ve nasıl yapılacağı gibi bu kararı etkileyebilecek tüm konuları öncelikle dikkate almak önemlidir, örneğin:

- KKDİK uyarınca geçerli bilgi gereklilikleri;
- KKDİK Ek 11 ve KKDİK Ek 7 ila 10 Sütun 2'nin uyarılama olanakları, örneğin:
 - uyarlamalara izin verebilecek sınıflandırmalar,
 - fizikokimyasal ve toksikolojik özelliklerinin benzer olması muhtemel olan bir kategori, grup veya münferit maddeler hakkındaki mevcut veriler,
 - hayvan veya insan verilerine dayalı bir kanıt ağırlığı yaklaşımında bir maddenin belirli bir zararlılık özelliğinin varlığı veya yokluğuna ilişkin varsayım/sonuç, birkaç bağımsız kaynak,
 - maruz kalma senaryolarına dayalı önemli maruz kalma olmaması veya hiç maruz kalma olmaması;
- madde özellikleri;
- mevcut *in vitro* ve *in vivo* veriler;
- mevcut toksikokinetik ve toksikodinamik bilgiler;
- uygulanabilir minimum bilgi gerekliliklerinin ötesinde test yapılmasını gerektirebilecek herhangi bir tetikleyici/uyarı.

Tüm bu konular, yalnızca amaca uygun *in vivo* testler tasarlamak için değil, aynı zamanda belirli koşullar altında bir *in vivo* çalışmanın neden gerekli olmadığını gerekçelendirmek için de dikkate alınmalıdır. Hayvan testleri, hayvanların korunması hakkında yönetmelikte belirtilen hükümlere uygun olmalıdır⁶.

Bozunma ürünleri ve metabolitler

Maddelerin etkileri açısından değerlendirilmesi bağlamında, çevreye salındığında veya hayvanlar tarafından alındığında, bir maddenin bozunma veya metabolizma yoluyla dönüştürülebileceğine dikkat etmek önemlidir. Bu süreçler ve sonuçlarının genel değerlendirmede dikkate alınması gerekebilir.

Biyotik veya abiyotik şekilde, ortamdaki dönüşüm süreçlerinin bir sonucu olarak bozunma ürünleri oluşabilir. Bozunmaya uğrayan maddeyi bozunma ürünlerinden ayırt etmek için, ilki genellikle ana madde olarak anılır.

Hidroliz, doğrudan veya dolaylı fotoliz veya oksidasyon gibi abiyotik çevresel süreçlerin bir sonucu olarak bozunma ürünleri oluşabilir. Aerobik veya anaerobik biyobozunmanın bir sonucu olarak, yani mikrobiyal aktivite nedeniyle de oluşabilirler. Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi ihtiyacı gösteriyorsa, yani test sisteminden anlaşılan şekilde uygun bir zaman çerçevesi içinde ortamda kararlı bozunma ürünleri oluşuyorsa veya PBT/vPvB kriterleri karşılanıyorsa, bozunma ürünleri daha ileri araştırma gerektirir. Benzer şekilde, bozunma ürünlerinin çevresel zararlılık sınıflandırma kriterlerini karşılayıp karşılamadığını değerlendirmek de düşünülebilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7b, Kısım R.7.9).

Metabolitler, biyobozunma nedeniyle oluşan (metabolit terimi, biyobozunma ürünü terimiyle eş anlamlıdır) veya ana maddenin alımından sonra maruz kalan organizmalarda biyodönüşümün (metabolizma) sonucu olarak oluşan dönüşüm ürünlerini ifade eder. Metabolik yollar ve dolayısıyla metabolitlerin kimliği tam olarak biliniyor olabilir veya olmayabilir.

⁶ 13/12/2011 tarihli ve 28141 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik.

Genellikle ikincisi geçerlidir. Ayrıca aynı maddeler için metabolik yollar, farklı tür (filum) ve/veya trofik seviyelere ait çeşitli organizmalar arasında farklılık gösterebilir veya göstermeyebilir. Bununla birlikte, laboratuvar testleri süresince oluşan metabolitlerin toksisitesi, yalnızca testlerin gözlem süresinden sonra ortaya çıkan gecikmiş etkiler hariç olmak üzere, ana maddeleri tarafından yansıtılacaktır. Metabolik yollar ve metabolitler hakkında bilgi, toksisite testlerinin planlanmasını ve odaklanmasını ve toksikolojik bulguların anlaşılmasını artırabilir (*BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.7c, Bölüm R.7.12*). Bu nedenle, bazı durumlarda, benzer metabolik dönüşüme uğrayan yapısal olarak yakından ilişkili maddeler için gruplama yaklaşımlarını kullanmak mümkün olabilir (bkz. *BG ve KGD Rehberinde QSAR ve maddelerin gruplandırılmasına ilişkin rehber* Kısım R.6 Bölüm R.6.2).

Biyodönüşüm süreçleri yükseltgenme içerdiğinde, metabolitler genellikle ana maddeden daha az hidrofobiktir. Bu çok genel bir kuraldır ve her zaman geçerli olmayabilir; ancak geçerli olduğunda, genellikle bunun metabolitlerin zararlılık profili için etkileri vardır. Örneğin, yükseltgenme süreçlerinden sonra oluşturulan daha polar metabolit, normalde daha düşük bir yüzeye tutunma potansiyeline sahiptir ve bu nedenle, metabolitlerin toprak ve çökelti ortamları için ilgisi normalde ana maddeninkinden daha düşüktür. Bu tür daha az hidrofobik metabolitler ayrıca organizmalardan ana maddeye göre daha hızlı atılma eğilimindedir. Bu nedenle, hem biyobirikim potansiyeli hem de narkotik toksisitesi daha düşük olma eğilimindedir.

Yapısal olarak ilgili maddelerin metabolik yollarındaki benzerlikler, metabolitlerin durumuna ve doğasına bağlı olarak daha ileri araştırmadan feragat etmek için bir gösterge görevi görebilir.

Metallerin ve özellikle metalik maddelerin çevrede organik maddelerle aynı şekilde bozunmadığı unutulmamalıdır. Genellikle çözünme yoluyla çözünmüş forma dönüşürler.

Toksisite testi için uygun uygulama yolunun seçimi

Bir madde için, belirli sonlanma noktalarına ilişkin, özellikle akut veya tekrarlı doz toksisitesi, ayrıca üreme toksisitesi, kronik toksisite ve kanserojenite için KKDİK gerekliliklerini karşılamak üzere ek toksisite testi ihtiyacı belirlendikten sonra, hangi maruz kalma yolunun/yollarının daha uygun olduğuna karar verilmelidir. Bu tür testlerin genel amacı, test maddesinin insanlar üzerindeki potansiyel zararını belirlemektir. İnsanlar normal olarak maddelere soluma, deri ve oral olmak üzere üç yoldan biri veya birden fazla yol aracılığıyla maruz kalabilir. Genel olarak, belirli bir testte hangi maruz kalma yolunun göz önünde bulundurulacağına dair nihai karar, ilgili sonlanma noktası için gereklilikler, ilgili test yöntemlerinde verilen öneri, maddenin fizikokimyasal özellikleri de dahil olmak üzere tüm mevcut bilgiler, insan maruz kalması, yapı-aktivite ilişkileri (SAR) veya maddenin kendisi üzerinde mevcut toksisite testlerinden elde edilen veriler ışığında alınmalıdır.

İlgili uygulama yolunu kullanan yeterli deneysel etki verisi mevcut değilse, uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon, zararı değerlendirmek için alternatif bir yöntem olabilir.

Bununla birlikte, bu yaklaşım yalnızca sistemik etkiler için kullanılmalı ve bir maddenin solunmasını takiben akciğerlerde tahriş gibi lokal etkiler için kullanılmamalıdır. Uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon, yalnızca uygulama yoluna özgü etkilerin beklenmediği durumlarda önerilir. Bu nedenle, uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon, ek belirsizlikler dikkate alınarak durum bazında değerlendirilmelidir. Uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyonun yüksek derecede belirsizlikle ilişkili olduğu ve uzman değerlendirmesine dayanarak dikkatle yürütülmesi gerektiği unutulmamalıdır. Ardından gelen risk değerlendirmesinde, uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon yoluyla ortaya çıkan belirsizlikler, örneğin DNEL belirlenmesinde değerlendirme faktörünün ayarlanmasıyla dikkate alınmalıdır (bkz. Bölüm R.8 *BG ve KGD Rehberi insan sağlığı için doz-[konsantrasyon] cevap karakterizasyonu* Bölüm R.8.4.3). Toksisite testlerine yönelik bu stratejik yaklaşım hakkında daha fazla rehberlik *BG ve KGD Rehberi* Bölüm R.8 içerisinde verilmektedir.

Maddenin çevresel etkisinin değerlendirilmesi

Bir maddenin çevresel etkisinin değerlendirilmesi ile ilgili olarak, o maddenin çevre ile etkileşimi önemli bir husustur. Bir maddenin davranışı ve hareketi, büyük ölçüde içsel fizikokimyasal özelliklerine göre belirlenir. Maddenin fizikokimyasal özelliklerine ilişkin bilgi, çok ortamlı davranış ve taşıma modellerinden (örn., Mackay seviye 3 modelleri) elde edilen sonuçlarla birlikte, birincil önem taşıyan çevresel katman/katmanların tanımlanmasını sağlar. Bu tür bilgiler aynı zamanda daha yüksek kademeli testlerin önceliklendirilmesini de belirleyecektir. Bu konuya ilişkin daha kapsamlı rehberlik ve değerlendirmeler Bölüm R.16 *Çevresel Maruz Kalma Tahmini* içerisinde verilmektedir.

R.7.1 Fizikokimyasal özellikler

Nanomalzemelerin karakterizasyonu ile ilgili olarak kayıt ettirenlere tavsiyeler, [BG ve KGD Rehberi](#), *Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli: Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler*, bölüm 2, Nanomalzemeler için RIP-oN 2 kaynaklı fizikokimyasal özelliklere ilişkin öneriler içerisinde bulunabilir.

R.7.1.1 Fizikokimyasal özelliklere giriş

KKDİK Yönetmeliğinin 11. Maddesine göre, kayıt amacıyla, kayıt ettirene ilişkin ve mevcut olan tüm fizikokimyasal bilgiler teknik dosyaya dahil edilmelidir, bu bilgilere örnekler aşağıda sağlanmıştır:

- maddenin içsel özelliklerine ilişkin veriler (örneğin, erime noktası/donma noktası, kaynama noktası, buhar basıncı, yoğunluk);
- SEA Yönetmeliği uyarınca sınıflandırma ve etiketleme belirlemek amacıyla bir maddenin fiziksel zararlarını (örneğin alevlenirlik) değerlendirmek üzere gerekli veriler;
- zararlılık değerlendirmesi ve sağlık ve çevre sınıflandırması için ek veriler (örn. viskozite, n-oktanol/su dağılım katsayısı).

Bazı fizikokimyasal özellikler - özellikle patlayıcı, alevlenir ve oksitleyici özellikler - fiziksel zararlarla yakından bağlantılıdır. Bu özellikleri değerlendirmenin en dolaysız yolu, ilgili fiziksel zararlılıklar için maddenin sınıflandırılmasıdır. Dolayısıyla, fiziksel zararlılık sınıflandırması ile patlayıcı, alevlenir ve oksitleyici özelliklere ilişkin bilgi gereklilikleri arasında bir bağlantı vardır. Bu, aşağıda (bkz. [Tablo R.7.1-1](#)) ve bu sonlanma noktalarını ele alan çeşitli bölümlerde ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Yıllık 100 ton veya üzeri miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için KKDİK Yönetmeliği Ek 9 uyarınca (ayrıca bkz. [Tablo R.7.1-1](#)) bazı ek fizikokimyasal veriler gereklidir.

Daha fazla ayrıntı, belirli sonlanma noktalarına ayrılmış bölümlerde verilmiştir.

R.7.1.1.1 Fizikokimyasal özelliklere ilişkin bilgi gereklilikleri

KKDİK Yönetmeliği Ek 1, kimyasal güvenlik değerlendirmesi hükümleri SEA Yönetmeliğinde belirtilen sınıflandırma kriterlerine uyarlanacak şekilde düzenlenmiştir.

KKDİK Yönetmeliği Madde 11 ve KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4 uyarınca ihtiyaç duyulan bilgiler (SEA Yönetmeliği Bölüm 1 ve 2'ye göre zararlılık sınıflandırması) genellikle tamamlayıcıdır, ancak bazı durumlarda farklı olabilir. Bunun nedeni, 27092 sayılı SAE Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliği altındaki sınıflandırma kriterlerinin ve/veya test yöntemlerinin farklı olmasıdır. Bu aynı zamanda SEA Yönetmeliği uyarınca gerçekleştirilen sınıflandırmaların, SAE Yönetmeliğine kıyasla farklı zararlılık sınıfları ve kategorileri sistemine dağılmış olmasıyla da ifade edilir

⁷ Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik, Ek 1.

Örneğin, 27092 sayılı SAE Yönetmeliği kapsamında patlayıcı olarak sınıflandırılan maddeler ve karışımlar, SEA Yönetmeliği kapsamında patlayıcılar veya kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ya da organik peroksitler olarak sınıflandırılabilir veya hatta alevlenir katılar, oksitleyici katılar olarak sınıflandırılabilir veya hiç sınıflandırılmayabilirler.

SEA Yönetmeliğinin sınıflandırma kuralı, KKDİK Ek 7'de açıkça değerlendirilmemiştir ve bu nedenle KKDİK kapsamındaki bilgi gerekliliklerinin bir parçası olarak anlaşılmalıdır. Özellikle, KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin 1. sütununda belirtilen bazı başlıklar, yani 'patlayıcı özellikler', 'alevlenirlik' ve 'oksitleyici özellikler', SEA Yönetmeliği zararlılık sınıflarını kapsıyor olarak yorumlanmalıdır.

SEA Yönetmeliğine göre fiziksel zararlılık sınıfları, 27092 sayılı SAE Yönetmeliğine göre karşılık gelen sınıflandırmalardan farklı şekilde yapılandırılmıştır. Buna rağmen, SEA Yönetmeliğinin fiziksel zararlılık sınıflarının çoğu, KKDİK Ek 6 ila 9'a göre bilgi gerekliliklerinin belirli başlığına açık bir şekilde atanabilir. Bununla birlikte, bazı SEA fiziksel zararlılık sınıfları için - özellikle 'kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar' zararlılık sınıfı ve 'organik peroksitler' zararlılık sınıfı için - patlayıcı ve/veya alevlenir özelliklere sahip olabilecek olmaları nedeniyle, belirli bir başlığa atanmaları basit değildir. Bu nedenle, bazı zararlılık sınıfları aşağıda [Tablo R.7.1-1](#)'de iki kez listelenmiştir. Bu atamanın yalnızca örnek olarak verildiği ve bu rehber dokümanın SEA Yönetmeliğine göre yapılandırılması amacıyla yapıldığı, ancak yine de KKDİK Ek 6 ila 9'a göre ilgili bilgi gerekliliklerine atanmaya olanak tanıdığı unutulmamalıdır.

SEA Yönetmeliği Madde 2(3)'e göre, SEA Yönetmeliği tehlikeli malların hava, deniz, karayolu, demiryolu veya iç su yollarıyla taşınması için uygulanamaz (SEA Yönetmeliği Madde 35 kapsamında ambalajların etiketlenmesine ilişkin özel kuralların geçerli olduğu durumlar dışında). Tehlikeli malların taşınması, Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin Birleşmiş Milletler Tavsiyeleri (UN-RTDG) ve ilgili yasal araçlar (ADR, RID, ADN, IMDG Kodu ve ICAO TI) kapsamındadır; bu araçlarda ve SEA Yönetmeliğinde listelenen kriterlerin sınıflandırma amaçları için aynı olması amaçlanmıştır. Böylelikle, SEA ve taşıma mevzuatı için ortak olan bir zararlılık sınıfında sınıflandırılan bir madde (veya karışım) normalde her iki sisteme göre aynı şekilde sınıflandırılacaktır. Bu nedenle, bir maddenin taşıma sınıflandırması, SEA Yönetmeliği uyarınca fiziksel zararlılıklar için maddenin (veya karışımın) sınıflandırılması ve etiketlenmesi için bir bilgi kaynağı olabilir. Bununla birlikte, taşıma sınıflandırmalarının SEA ile ilgili tüm zararlılık kategorilerini kapsamadığı ve yalnızca test verileri ve kriterlerinden (örneğin, testten ziyade deneyime dayalı veya yalnızca belirli özel hükümlere sahip bağlantılarda geçerli sınıflandırmalar) başka hususlara da dayalı olabileceği unutulmamalıdır. Sonuç olarak, taşıma sınıflandırmaları SEA uyarınca sınıflandırmaya göre farklı olabilir. Benzer şekilde, bir taşıma sınıflandırmasının olmaması, maddenin (veya karışımın) SEA Yönetmeliği altında sınıflandırılmaması gerektiği anlamına gelmez. Sonuç olarak, UN-RTDG amaçları için test edilmiş ve SEA Yönetmeliği gereği aynı prosedürün izlendiği bir madde söz konusu olduğunda, aynı bilgiler durum bazında KKDİK Yönetmeliğine uyum göstermek için kullanılabilir. Yukarıda açıklanan yaklaşımla ilgili sınırlamalar, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 1.7.2.1 içerisinde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Kayıt dosyasının hazırlanması için, kayıt yaptırılanların KKDİK Madde 11'de listelenen tüm bilgileri sunmaları gerekir. KKDİK Yönetmeliği Ek 1 ve Madde 11(a)(vii) ile bağlantılı olarak, Madde 15(1), Ek 6 ila 11'in KKDİK'e uygulanmasından elde edilen bilgiler için bir Kapsamlı Çalışma Özeti sağlanmasını gerektirir. Yürütülen değerlendirmeyi kolaylaştırmak ve ayrıca bir tonaj güncellemesi durumunda kayıt ettirenin kaynaklarını korumak için, kayıt ettirenlerin Kapsamlı Çalışma Özeti KKS dosyasının 4. bölümü altındaki fizikokimyasal sonlanma noktalarını kapsamak için de kullanmaları **önerilir**. Bu rehber, her bir fizikokimyasal özellik bölümünün altında, her bir ilgili sonlanma noktası için verilecek ayrıntılı bilgilerin bir listesini içerir. KKS'deki tüm sonlanma noktaları için ortak olan bilgilerle ilgili genel hususlar hakkında daha fazla rehberlik sağlanmadığı unutulmamalıdır.

Bu hususlar için, daha fazla rehberlik Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (ÇŞB) Web sitesinden erişilebilecek rehber dokümanlarda (<https://kimyasallar.csb.gov.tr/rehber-dokumanlar/18>) bulunabilir.

Sınıflandırma ile yakından bağlantılı olan patlayıcı özellikler ve oksitleyici özellikler gibi bu sonlanma noktaları SEA Yönetmeliğine göre değerlendirilmelidir. Bu sonlanma noktaları için, çift testten kaçınmak üzere tercihen SEA Yönetmeliğinde kullanılan test yöntemleri kullanılmalıdır. Sınıflandırma ile bağlantılı olmayan sonlanma noktaları için tercih edilen test yöntemleri, Test Yöntemi Yönetmeliğinde bulunanlardır. Bazı sonlanma noktaları için (örneğin alevlenirlik), Test Yöntemi Yönetmeliğinde raporlanan standart test yönteminde birden fazla test prosedürüne atıfta bulunulur. Seçilen prosedür, söz konusu maddeye uygun olmalı ve geçerlilik aralığı içinde çalışmalıdır.

Aşağıdaki tabloda ([Tablo R.7.1-1](#)) fiziksel zararlılık sınıflandırmalarıyla doğrudan bağlantılı olan fizikokimyasal özelliklerin, olmayanlardan ayırt edilebilmesi için, ilkinin gri ile gölgelendirildiğine ve ayrıca farklı sonlanma noktaları için tercih edilen test yöntemlerinin kalın metin ile belirtildiğine dikkat edilmelidir.

Tablo R.7.1-1 KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ile 9'da belirtilen bilgi gereklilikleri ve Test Yöntemi Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemleri

KKDİK Yönetmeliği Madde 10 (a) (vi) uyarınca bilgi gerekliliği (parantez içindeki no., KKDİK Ek 7 ile 9'daki tablodaki ilgili numaradır)	Test Yöntemi Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	Revize R.7(a) rehberind eki bölüm	SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi
Erime/Donma noktası (7.2)	A.1 Erime/Donma sıcaklığı	R.7.1.2	geçerli değildir	geçerli değildir
Kaynama noktası (7.3)	A.2 Kaynama sıcaklığı	R.7.1.3	geçerli değildir	geçerli değildir
Bağıl yoğunluk (7.4)	A.3 Bağıl yoğunluk	R.7.1.4	geçerli değildir	geçerli değildir
Buhar basıncı (7.5)	A.4 Buhar basıncı	R.7.1.5	geçerli değildir	geçerli değildir
Yüzey gerilimi (7.6)	A.5 Yüzey gerilimi	R.7.1.6	geçerli değildir	geçerli değildir
Suda çözünürlük (7.7)	A.6 Suda çözünürlük	R.7.1.7	geçerli değildir	metaller için - Dönüşüm/Çözünme Protokolü (BM GHS Ek 10)
n-oktanol / su dağılım katsayısı (7.8)	A.8 Dağılım katsayısı	R.7.1.8	geçerli değildir	geçerli değildir

Parlama noktası (7.9)	A.9 Parlama noktası	R.7.1.9	geçerli değildir	SEA Ek 1 bölüm 2.6.4.4
Alevlenirlik (7.10)	A.11 Alevlenirlik (gazlar)	R.7.1.10.1	Alevlenir gazlar ⁸ (2.2)*	ISO 10156 EN 1839
	sıvılar için: bkz. Parlama noktası	R.7.1.10.2	Alevlenir sıvılar (2.6)*	bkz. SEA, Ek 1, Bölüm 2.6.4.4, Tablo 2.6.3
	A.10 Alevlenirlik (katılar)	R.7.1.10.3	Alevlenir katılar (2.7)*	BM Test N.1
	geçerli değildir	R.7.1.10.4	Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar (2.8)*	BM Test serisi A - H
	A.13 Katıların ve sıvıların piroforik özellikleri	R.7.1.10.5	Piroforik sıvılar (2.9)*	BM Test N.3
		R.7.1.10.6	Piroforik katılar (2.10)*	BM Test N.2
	geçerli değildir	R.7.1.10.7	Kendiliğinden ısınan maddeler ve karışımlar (2.11)*	BM Test N.4
	A.12 Alevlenirlik (Su ile temas)	R.7.1.10.8	Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler ve karışımlar (2.12)*	BM Test N.5
	geçerli değildir	R.7.1.10.9	Organik peroksitler (2.15)*	BM Test serisi A - H
Patlayıcı özellikler (7.11)	A.14 Patlayıcı özellikler	R.7.1.11.1	Patlayıcılar (2.1)*	BM Test serisi 1 ila 3 (sınıflandırma için 4 ila 6 arasındaki diğer test serileri gereklidir)
	geçerli değildir	R.7.1.11.2 bkz. R.7.1.10.4	Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar (2.8)*	A.14 (yalnızca mevcut veriler)
	geçerli değildir	R.7.1.11.3 Bkz. R.7.1.10.9	Organik peroksitler (2.15)*	A.14 (yalnızca mevcut veriler)

⁸ Bilimsel ve teknik gelişmelere uyum amacıyla, madde ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve ambalajlanması hakkındaki SEA Yönetmeliği Ek 1, Bölüm 2.2 Alevlenir gazlar içerisindeki kriterler, kimyasal olarak kararsız gazlar için alt sınıflandırmalar dahil edilerek düzenlenmiştir.

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı (7.12)	A.15 Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı (sıvılar ve gazlar)	R.7.1.12.1	Gazlar ve sıvılar için*	geçerli değildir
	A.16 Katılar için bağlı kendiliğinden tutuşma sıcaklığı	R.7.1.12.2 , R.7.1.10.7	Katılar için* Not: Bu sonlanma noktası için bilgi üretmek üzere BM Test N.4 tercih edilir. Bkz. R.7.1.10.7 .	geçerli değildir
Oksitleyici özellikler (7.13)	geçerli değildir	R.7.1.13.1	Oksitleyici gazlar (2.4) *	ISO 10156
	A.21 Oksitleyici özellikler (sıvılar)	R.7.1.13.2	Oksitleyici sıvılar (2.13) *	BM Test O.2
	A.17 Oksitleyici özellikler (katılar)	R.7.1.13.3	Oksitleyici katılar (2.14) *	BM Test O.1
Granülometri (7.14)	geçerli değildir	R.7.1.14	geçerli değildir	geçerli değildir
Yüzeye tutunma/Yüzeyden sıyrılma (7.15)	geçerli değildir	R.7.1.15	geçerli değildir	geçerli değildir
Organik çözücülerde kararlılık ve bozunma ürünleri (7.16)	geçerli değildir	R.7.1.16	geçerli değildir	geçerli değildir
Ayrışma sabiti (7.17)	geçerli değildir	R.7.1.17	geçerli değildir	geçerli değildir
Viskozite (7.18)	geçerli değildir	R.7.1.18	geçerli değildir	geçerli değildir

* Zararlılık sınıfı veya kategorisinin KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (4) (a) içerisinde listelenip listelenmediğinden bağımsız olarak, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin (gerekli olduğunda) KKDİK Yönetmeliği Madde 15'e göre yapılması gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinin Madde 10 (a) (iv)'e göre, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bir madde kaydının teknik dosyası, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4'te belirtildiği gibi maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin bilgileri içermelidir.

İlave olarak, SEA Yönetmeliği, KKDİK Yönetmeliğinin (KKDİK Madde 11 bilgi üretimini gerektirmediği aşağıdaki zararlılık sınıflarına (Tablo R.7.1-2) sahiptir:

Tablo R.7.1-2 KKDİK Yönetmeliğinin bilgi üretimini gerektirmediği SEA Yönetmeliği zararlılık sınıfları

SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğe göre ilgili test yöntemi	Revize R.7(a) rehberindeki bölüm	KKDİK Yönetmeliği Madde 10(a) (vi) uyarınca bilgi gerekliliği	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi
Aerosoller ⁹ (2.3)	geçerli değildir	0	geçerli değildir	2008/47/EC ile tadil edilmiş 75/324/EC uyarınca test yöntemleri (UN-MTC Bölüm 31 ile uyumlu hale getirilmiştir)
Basınç altındaki gazlar (2.5)	geçerli değildir	R.7.1.21.2	geçerli değildir	geçerli değildir
Metaller için aşındırıcı (2.16)	geçerli değildir	R.7.1.21.3	geçerli değildir	BM Test C.1 (UN-MTC Bölüm 37.4)

KKDİK bilgi gerekliliklerine uymak için, kayıt ettirenler, uygun SEA zararlılık sınıfına göre yorumlanması ve uygulanması gereken Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin bireysel test yöntemlerinde verilen hükümler de dahil olmak üzere, KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ila 11'deki tabloların sütun 2'sine göre uyarlanma için özel kuralları dikkate almalıdır. Sonrasında, KKDİK Yönetmeliği Ek 11'e göre diğer uyarlamalar, SEA Yönetmeliği Madde 10 ve SEA kriterlerinin kendileri, yani SEA Ek 1 Kısım 2'de sağlanan uyarlanma olasılıkları ile birlikte okunmalıdır.

Fizikokimyasal veriler çoğunlukla sayısaldır ve SI birimlerinde sağlanmalıdır. Normalde sayısal bir değer veya aralık gereklidir. İlgili olduğu durumlarda, sıcaklık ve/veya basınç ve/veya konsantrasyon seviyesi veya aralığı vb. gibi test koşulları ve sayısal değerdeki tahmini belirsizlik hakkında ek bilgiler sağlanmalıdır. Ayrıca, test sırasında yapılan herhangi bir gözlemin ayrıntıları (örn. erime veya kaynama sırasında bozunma, dağılım sırasında emülsiyon oluşumu) raporlanmalıdır.

R.7.1.1.2 Fizikokimyasal özellikler hakkında mevcut bilgiler

Temel madde karakterizasyonu için yayınlanmış birçok veri kaynağı ve zararlılık değerlendirmesi için ilave bilgiler bulunmaktadır. İlgili referanslar, ilgili sonlanma noktası altında listelenmiştir.

R.7.1.1.3 Fizikokimyasal özellikler hakkında mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Nanomalzemelerin karakterizasyonu ile ilgili olarak kayıt ettirenlere tavsiyeler, [BG ve KGD Rehberi](#), *Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli olan Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler* bölüm 2.1.3 Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi içerisinde bulunabilir.

Deneysel veriler

Ayrıca, KKDİK Yönetmeliği Madde 14(3)'e göre, maddelerin kendine özgü özellikleri hakkında bilgi üretmeye yönelik testler, Maddelerin ve Karışımların Fiziko-Kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik içerisinde belirtilen test yöntemlerine veya Avrupa standartları (<http://www.cen.eu/Pages/default.aspx>) veya OECD rehberleri (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>) gibi tanınan diğer uluslararası test yöntemlerine uygun olarak yapılmalıdır.

KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1 uyarınca testlerden elde edilen veriler, KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3) içerisinde belirtilen ilgili test yöntemleriyle üretilen verilere eşdeğer olarak kabul edilebilir. Fiziksel zararlılık sınıflandırması amacıyla veriler SEA Yönetmeliği Madde 10 (3)'de belirtilen test yöntemleri kullanılarak elde edilebilir. Fizikokimyasal özellikler için test yöntemleri, Maddelerin ve Karışımların Fiziko-Kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklanırken, fiziksel zararlılık sınıflandırması amacıyla tercih edilen testler SEA Ek 1 Kısım 2'de, UN-MTC ve uygulanabilir standartlar referans gösterilerek verilmiştir. [Tablo R.7.1-1](#)'de, her sonlanma noktası için tercih edilen test yöntemi kalın olarak vurgulanmıştır. SEA Yönetmeliğinde atıfta bulunulan test yöntemleri, tehlikeli malların taşınması için de kullanılır. Bu nedenle, fizikokimyasal özellikler ve fiziksel zararlılıklar hakkındaki mevcut bilgiler, taşıma için sınıflandırma amacıyla gerçekleştirilen testlerden de kaynaklanıyor olabilir. Bu tür test verileri, KKDİK Yönetmeliğine göre bilgi gereklilikleri için kullanılabilir. Bununla birlikte, taşıma sınıflandırmasının, SEA ile ilgili tüm zararlılık kategorilerini kapsamadığı ve yalnızca test verileri ve kriterleri dışında başka hususlara da dayalı olabileceği akılda tutulmalıdır (örn. testlerden ziyade deneyime dayanan veya yalnızca belirli özel hükümlerle bağlantılı olarak geçerli olan sınıflandırmalar). Sonuç olarak, taşıma sınıflandırmaları SEA uyarınca sınıflandırmadan farklı olabilir. Bu tür sınırlamalar, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 1.7.2.1'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Test için ilgili kabul edilmiş standartların geçerli olduğu durumlarda, en son güncellemelerin kullanılması tavsiye edilir; bunlara aşağıda belirtilenler örnek olmak üzere çok sayıda web sitesi üzerinden erişilebilir:

1. EN standartları;
2. [ISO standartları](#);
3. [IEC standartları](#).

EN veya ISO standartlarının ulusal sürümleri, [CEN Web sitesi](#) üzerinden erişilebilen ulusal standardizasyon kuruluşları aracılığıyla edinilebilir.

İncelemelerde değerlendirilen ölçülen değerler ve atanmış önerilen değerlere, hesaplanan değerlere kıyasla öncelik verilir. Mevcut bilgilerin analizini karakterize eden ana kriterler şunlardır:

- **Deneysel veriler** Fizikokimyasal özellikler değerlendirilirken, yöntemlerin araştırılan maddeye uygun olması ve geçerlilik aralıklarında çalışması kaydıyla ilk elden deneysel sonuçlara (birincil referanslar) öncelik verilir. Yöntemlerle ve ölçümlerin doğal belirsizliği ile ilgili uygun dokümantasyon sağlanmalıdır.
- **Test dışı bilgiler** (A) maddesinde açıklanan bilgiler mevcut değilse, QSPR, çapraz okuma veya ikincil veri kaynakları (örn. el kitabı verileri), KKDİK Ek 11 kısıtlamaları dahilinde sonlanma noktası bölümlerinde (bu rehberde 7.2 ila 7.19) açıklanan sınırlamalara göre kullanılabilir.

Ölçüm belirsizliği

Test verilerinin ölçüm belirsizliği vardır. Bazı test yöntemleri, belirsizlikleri hakkında bilgi içerir ve daha sonra bu test yöntemleri kullanılarak oluşturulan test verileri için bunlara başvurulabilir. Ölçüm belirsizliğinin test yöntemi tarafından belirtilmediği durumlarda, belirsizliğin genel olarak kabul edilen ölçüm belirsizliği tahmin süreçleri ile belirlenmesi tavsiye edilir (örn. ISO/IEC Rehberi 98-3:2008 uyarınca).

Fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi için kalite güvence

Fizikokimyasal özelliklere ilişkin test verileri yeterli kalitede olmalıdır, yani güvenilir olmalıdır. Normalde, bu yalnızca ilgili tanınmış bir kalite sistemi (örn. İyi Laboratuvar Uygulamaları) veya ilgili tanınmış bir standart (örn. EN ISO/IEC 17025) ile uyumlu laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilen testlerle elde edilebilir. SEA Yönetmeliği Madde 10 (5) uyarınca, SEA amaçlarıyla fiziksel zararlılıklar için yeni testlerin gerekli olduğu durumlarda, ilgili tanınmış kalite sistemine uygun olarak veya ilgili tanınmış bir standarda uyan laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmelidir.

DeneySEL olmayan veriler

Bazı fizikokimyasal sonlanma noktaları için Nicel Yapı Özellik İlişkileri (QSPR) modelleri mevcuttur¹⁰. Uygulanabildiği yerde, herhangi bir belirli QSPR modelinin ayrıntıları her bir sonlanma noktası altında verilmiştir.

QSPR modellerinin çoğu, eğitim madde setleri kullanılarak oluşturulmuştur. Model, ölçülenlerle en yakından eşleşen eğitim maddelerinin değerlerini hesaplamak için optimize edilmiş olacaktır. Bu nedenle, QSPR tahmin tekniklerinin kullanılması uzman değerlendirmesi gerektirir. Hesaplanan değerlerin makul olduklarından ve kullanılan modelin uygunluğundan emin olmak için kontrol edilmesi gerekir.

Geçerli bir model, seçtiğiniz analog maddeler için ölçülenlerle makul ölçüde uyumlu değerler verecektir (yani veri boşluğu olan madde için, modelin eğitim setinde benzer maddeler olmalıdır). Modeller, modelin referans setinden çok farklı olan maddelerin özelliklerini çok iyi tahmin edemeyebilir. Bu nedenle, model teste gerek kalmadan maddeniz için tahmini bir değer sağlamak üzere kullanılabilir. Diğer bir kontrol, değerlerin gerçekçi olmasıdır. Bu, hesaplanan değerlerin benzer maddeler ve ilgili sonlanma noktaları için ölçülen değerlere çapraz referansıyla yapılabilir. Sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılayacak bir değeri belirlemek için bağımsız bir yöntem olarak bir QSAR yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

QSPR modellerinin kalitesinin değerlendirilmesi

Avrupa Komisyonu ve OECD üye ülkeleri, 2004 yılında (Q)SAR/(Q)SPR modellerinin doğrulanması için beş ilkeyi benimsemiştir (OECD_a, 2004). Bu ilkelere göre, geçerli bir (Q)SPR modelinde 1) deneysel koşulları açıkça belirtilmiş tanımlanmış bir sonlanma noktası; 2) kesin bir algoritma; 3) ne tür maddeler için tahminlerin yapılabileceğini tanımlayan tanımlanmış bir uygulanabilirlik alanı; 4) uyum iyiliği, sağlamlık ve öngörü kapasitesi için uygun ölçütler; ve 5) mümkünse mekanik bir yorum olmalıdır.

¹⁰ 2013 yılında Environmental Research dergisinde SAR ve QSAR içerisinde "REACH için fiziko-kimyasal özelliklerin QSPR tahmini" başlıklı kapsamlı bir inceleme belgesi yayınlanmıştır (Dearden, J.C., Rotureau, P., Fayet G. (2013). QSPR prediction of physico-chemical properties for REACH, SAR and QSAR (REACH, SAR ve QSAR için fiziko-kimyasal özelliklerin QSPR tahmini), Environmental Research, Cilt. 24, No. 4, 279-318).

Bu ilkeler, ECB web sitesinde özetlenmiştir ve [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6 "QSAR ve maddelerin gruplandırılması", Alt Bölüm R.6.1.3 içerisinde daha kapsamlı şekilde ele alınmıştır.

Ayrıca, bu ilkelerin pratik bir özeti, nicel yapı aktivite ilişkileri hakkında uzman grubun raporunda verilmiştir (OECD^b 2004).

Çapraz okuma tahminlerinin kalitesinin değerlendirilmesi

Bu paragraf çapraz okuma yaklaşımının temel kavramlarını açıklamaktadır. Bu konuya ilişkin kapsamlı bilgi, maddelerin gruplandırılmasına ilişkin rehberde bulunabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6: 'QSAR ve kimyasalların gruplandırılması', Bölüm R.6.2).

Bir çapraz okuma/analog yaklaşımı, belirli bir özelliğin bir veya daha fazla kimyasal yapı üzerindeki ilişkisini değerlendirir ve ardından bu bilginin başka bir madde için uygunluğuna ilişkin bazı değerlendirmeler (nitel veya nicel) yapar (bkz. Ek 11, KKDİK). Bir çapraz okuma iki maddeyi¹¹ içerebileceğinden, özelliği bilinmeyen madde üzerindeki çıkarımın arkasındaki gerekeçyi detaylandırmak büyük önem taşır. Bir analog madde:

- incelenen madde ile aynı temel yapısal özellikleri ve aynı fonksiyonel grupları içermelidir;
- Bilinen fizikokimyasal özellikler söz konusu olduğunda incelenen maddeninkiyle karşılaştırılabilir bir fizikokimyasal profile sahip olmalıdır;
- ilgilenilen özelliğin nicelendirilmesi için genellikle kullanılan ilgili moleküler tanımlayıcılar için karşılaştırılabilir değerlere sahip olmalıdır (yani suda çözünürlük tahminleri için aşırı molar refraktivite ve hidrojen bağı verme ve alma kapasitesi);
- yaklaşık olarak aynı moleküler ağırlığa sahip olmalıdır.

Çapraz okumanın yorumlayıcı analizi genellikle bir uzman kararı değerlendirmesinin sonucudur ve bu nedenle sonuçları desteklemek için her zaman ayrıntılı dokümantasyon sağlanmalıdır. Pratikte fizikokimyasal özellikler için çapraz okumanın genellikle tavsiye edilmediğini belirtmek önemlidir, çünkü güvenilir veriler normalde mevcut olmalı veya kolayca elde edilebilir olmalıdır. Bu, özellikle SEA Yönetmeliği Madde 10 (2)'ye göre güvenilir test verilerinin mevcut olması gereken fiziksel zararlılık ile ilgili fizikokimyasal özellikler için geçerlidir. Bu nedenle, sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için değer üretmek üzere bağımsız bir yöntem olarak çapraz okuma kullanılıyorsa, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.5'te verilen kriterler karşılanmalıdır.

Fizikokimyasal özellikler için ikincil ve geçmiş veri kaynaklarının kullanımı

Verilerin güvenilirliği, test maddesinin kimliği ve saflığı, ölçümü yapmak için kullanılan metodoloji ve bunun ilgili tanınmış bir kalite sistemine (örn. İyi Laboratuvar Uygulamaları) (Ek 6, KKDİK) uygun olarak yapılıp yapılmadığı hakkında bilgi sağlanarak gösterilmelidir.

Sayısal fizikokimyasal veriler özellikle veri geri dönüşümüne yatkındır (bir veritabanından diğerine, genellikle orijinal kaynak ve bağlamsal bilgilerin kaybedilmesiyle aktarım).

¹¹ Bir çapraz okuma, ikiden fazla maddeyi de içerebilir: bire bir (tek bir madde için tahmin yapmak üzere kullanılan bir analog) b) çoktan bire (tek bir madde için tahmin yapmak üzere kullanılan iki veya daha fazla analog) c) birden çoğa (iki veya daha fazla madde için tahmin yapmak üzere kullanılan bir analog) d) çoktan çoğa (iki veya daha fazla madde için tahmin yapmak üzere kullanılan iki veya daha fazla analog).

İkincil ve geçmiş kaynaklardan gelen veriler yeterli olmalıdır ve sonlanma noktasının sınıflandırma, PBT/vPvB değerlendirmesi ile ilgili olduğu, diğer sonlanma noktaları için argümanlardan feragat etmenin temeli olduğu veya risk değerlendirmesinin sonucu üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğu durumlarda özellikle önemlidir. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1 veya Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

R.7.1.1.4 Fizikokimyasal bilgilerin genel tutarlılığı

Belirli bir madde için fizikokimyasal veriler, iki veya daha fazla özellik için uyumsuz değerler içeremez (yani, normal sıcaklıkta yüksek kaynama noktası ve yüksek buhar basıncı). Bu tutarlılık kontrolü her zaman yapılmalıdır ve ölçülen değerler QSPR modellerinden gelen tahminlerle önemli ölçüde çeliştiğinde özellikle yararlı olabilir. Aslında, bu durumda, tutarsızlıkların olası nedenini belirlemek için bilinen fizikokimyasal özelliklerin daha geniş bir değerlendirmesi yapılmalıdır.

Sınıflandırma ve etiketleme ve kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlandırılması

Fizikokimyasal özelliklere ilişkin veriler, yalnızca fiziksel bir zararlılığın varlığını veya yokluğunu belirlemekle kalmaz, aynı zamanda çevre ve insan sağlığına ilişkin kimyasal güvenlik değerlendirmesinin bölümleri üzerinde de bir etkiye sahiptir. Değerlendirme, maddenin yaşam döngüsünün tüm aşamalarından insanlar ve çevre için oluşturduğu riski belirler. Buna imalat, aktarım, kullanım ve bertaraf dahildir. İlk olarak, fizikokimyasal veri seti, insan ve çevresel maruz kalma tahmini amacıyla girdi parametrelerini sağlar. Örneğin, hem işyerinde hem de tüketici kullanımında insanların muhtemel maruz kalmasını tahmin etmek ve alevlenir/patlayıcı buhar/toz-hava karışımları oluşturma olasılığını tahmin etmek için buhar basıncı ve partikül boyutu bilgisi gereklidir. Uçuculuk (buhar basıncı) veya partiküllerin boyutu ve yapısı, soluma yoluyla maruz kalma potansiyelinin göstergeleridir. Partikül boyutu, olası cilt maruz kalmasını ve toz patlaması zararının varlığını belirlemek için de önemlidir. Viskozite, aspirasyon zararının belirlenmesinde önemli bir parametredir. Proses sıcaklığındaki bir maddenin fiziksel hali, olası zararların belirlenmesi için önemlidir. Ayrıca, (eko)toksikolojik çalışmaların doğru planlanması ve test koşullarının optimizasyonu için fiziko-kimyasal veriler gereklidir.

R.7.1.1.5 Fizikokimyasal özelliklere giriş için referanslar

Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin Tavsiyeler, Test ve Kriterler El Kitabı, Birleşmiş Milletler. . http://www.unece.org/trans/danger/publi/manual/manual_e.html

CLP Kriterlerinin Uygulanmasına İlişkin Rehber, Versiyon 4.0 - 2013, ECHA. <http://echa.europa.eu/web/guest/guidance-documents/guidance-on-clp>

OECD_a (2004) (Q)SAR Doğrulanmasına İlişkin İlkeler <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/validationofqsarmodels.htm>

OECD_b (2004) Test ve Değerlendirme Serisi No. 49 (Nicel) Yapı-Aktivite İlişkilerinin [(Q)SAR] Doğrulanmasına İlişkin Prensipler hakkında (Q)SAR Uzman Grubundan Rapor. Nicel yapı aktivite ilişkileri üzerine özel Uzman Grubu 2. Toplantısı [http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2004\)24&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2004)24&doclanguage=en)

R.7.1.2 Erime noktası/donma noktası

R.7.1.2.1 Özellik türü

Erime noktası, bir maddenin tanımlanmasına ve bir maddenin fiziksel halinin (sıvı veya katı¹²) belirlenmesine katkıda bulunur. Fiziksel hale göre bir dizi fiziksel zararlılık sınıfı ayırt edilir. Bu nedenle, bir maddenin erime noktası ve bunun sonucunda sıvı veya katı olarak tanımlanması, doğru zararlılık sınıfının atanmasında da sonuçlara sahiptir. Ayrıca, buhar basıncı ile birlikte erime/donma noktası, belirli koşullar altında (örn. çevresel koşullar, imalat süreci koşulları) bir maddenin fiziksel hali (sıvı veya katı) için bir gösterge görevi görür. Sonuç olarak, çevresel ilişki açısından erime noktası, maddenin çevresel ortam (su, toprak ve hava) içinde ve arasında dağılımının bir göstergesini verebilir.

R.7.1.2.2 Tanım

Erime sıcaklığı, atmosferik basınçta katı halden sıvı hale faz geçişinin meydana geldiği sıcaklık olarak tanımlanır ve bu sıcaklık ideal olarak donma sıcaklığına karşılık gelir. Birçok maddenin faz geçişi bir sıcaklık aralığında gerçekleştiğinden, genellikle erime aralığı olarak tanımlanır. Bazı maddeler için donma veya katılaşma noktasının belirlenmesi daha uygundur.

Maddenin belirli özelliklerinden dolayı yukarıdaki parametrelerin hiçbiri uygun şekilde ölçülemediğinde, bir akma noktası uygun olabilir.

R.7.1.2.3 Test yöntemi/yöntemleri

Genel olarak, test için Maddelerin ve Karışımların Fiziko-Kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik içerisindeki A.1 Yöntemi veya OECD Test Rehberi 102 kullanılmalıdır. A.1 içerisinde verilen herhangi bir prosedür, kapsam ve uygulanabilirlik özellikleri dahilinde kullanılabilir. Bununla birlikte, bozunma başlangıcı ve enerji gibi maddenin termal kararlılığı hakkında ek bilgi verdikleri için Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) veya Diferansiyel Termal Analiz (DTA) yönteminin kullanılması tavsiye edilir. Erime noktası çalışması sırasında bozunma meydana gelirse, kaynama noktasının belirlenmesine gerek yoktur. Bu durumda, DSC kullanılmışsa, deneyin inert gaz altında yapılması düşünülmelidir.

R.7.1.2.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlanma olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, erime/donma noktası için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Çalışmanın - 20°C'lik alt sınırın altında yapılması gerekmez.'

Bu nedenle, KKDİK Yönetmeliği Ek 7, -20°C'lik bir alt sınırın altındaki erime noktasının belirlenmesini gerektirmez. Nicel yapı aktivite ilişkisinin -50°C veya daha düşük bir erime noktasını gösterdiği durumlar dışında, alt sınır test yoluyla doğrulanmalıdır.

¹² Fiziksel hallerin tanımları SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 1.0'da bulunabilir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Ek 11, bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler (çalışma raporları veya literatür verileri) mevcutsa, bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Mevcut veriler için bir kaynağın (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve dolayısıyla Ek 11, Bölüm 1.1.1'deki kriterlerin tam olarak karşılanmadığı durumlarda veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlik sağlayan birkaç kaynağın mevcut olduğu durumlarda, kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Sonrasında, Ek 11, bölüm 1.2 kriterleri karşılanmalıdır¹³.

(Q)SAR

Erime noktasının belirlenmesi için (Q)SAR yaklaşımları tavsiye edilmez, çünkü sınıflandırma/risk değerlendirme amaçları için doğruluk yeterli değildir ($\pm 25^{\circ}\text{C}$ veya daha fazla).

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Erime noktasının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Erime noktasına ulaşılmadan önce bazı maddeler bozunur veya süblimleşir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.2.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar, genellikle erime noktasını belirgin şekilde düşürecekleri için erime noktası üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.2.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- yöntemin türü veya standarda veya uygulanan test yöntemine referans.

Sonuçlar ve tartışma

- ölçülen kaynama noktası değeri ($^{\circ}\text{C}$);

¹³ Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST), literatür erime noktası verilerinin değerlendirilmesi için kullanılan yararlı bir istatistiksel yaklaşıma sahiptir (ref.: <http://webbook.nist.gov/chemistry/site-cal.html#AVG>).

- varsa sıcaklık artış hızı;
- bozunma veya süblimleşme sıcaklığı (geçerliyse);
- varsa ölçüm belirsizliği;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar rapor edilmelidir. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Erime noktası/donma noktası ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.2	7 7.2	Erime noktası / donma noktası	E.4.3	3.2

R.7.1.3 Kaynama noktası

R.7.1.3.1 Özellik türü

Kaynama noktası:

- bir maddenin karakterizasyonuna ve fiziksel halinin (gaz veya sıvı) belirlenmesine katkıda bulunan;
- fiziksel hale dayalı olarak bazı fiziksel zararlılık sınıflarının ayırt edilmesi nedeniyle, doğru zararlılık sınıfının atanmasının dayanağı olan;
- alevlenir sıvıların kategoriler içerisinde sınıflandırılması için gerekli olan;
- maddenin çevresel katmanlarının (hava, toprak ve su) içindeki ve arasındaki dağılımını gösteren bir gösterge sağlayan;
- buhar basıncı ile korelasyon gösteren ve bu nedenle bir maddenin buhar olarak solunabilir olup olmadığına veya alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımları oluşturup oluşturmayacağına gösterge sağlayan;
- fiziksel zararlılık değerlendirmesi için önemli olan bir özelliktir.

R.7.1.3.2 Tanım

Normal kaynama noktası, bir sıvının buhar basıncının 101,3 kPa'ya eşit olduğu sıcaklıktır.

Not: Buhar basıncı, belirli bir sıcaklıkta 101,3 kPa veya üzerine eşitse, bu maddenin o sıcaklıkta tamamen gaz halinde olduğu anlamına gelir. $\leq 20^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda durum böyleyse, madde aynı zamanda SEA Yönetmeliğine göre bir gazdır.

R.7.1.3.3 Test yöntemi/yöntemleri

Test için Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik içerisindeki A.2 Yöntemi veya OECD Test Rehberi 103 kullanılmalıdır. Kapsam ve uygulanabilirlik özellikleri dahilinde herhangi bir belirleme yöntemi kullanılabilir. DSC, tek bir testte erime ve kaynama noktasının belirlenmesine izin verir. Benzer şekilde, dinamik yöntem uygulandığında olduğu gibi, bazı maddeler için hem 'kaynama noktası' hem de 'buhar basıncını' belirlemek için tek bir test kullanılabilir.

Yüksek kaynama noktalı sıvılar veya 101.3 kPa veya üzerine ulaşılmadan önce bozunabilen, kendiliğinden oksitlenen vb. sıvılar için, buhar basıncı eğrisinden düşük basınçlarda kaynama noktasının türetilmesi amacıyla, kaynama noktasının inert gaz altında veya azaltılmış basınçta belirlenmesi tavsiye edilir.

Patlayıcı maddeler, piroforik maddeler veya kendiliğinden tepkimeye giren maddeler karakterize edilecekse, kaynama noktasının tespiti genellikle mümkün değildir. Piroforik maddeler için, inert gaz veya düşük basınç altında yapılan testler düşünülmelidir.

Standartların uygulanabilir olduğu yerlerde, en son güncellemelerin kullanılması tavsiye edilir; bunlara çok sayıda web sitesi aracılığıyla erişilebilir ve yukarıdaki Bölüm [R.7.1.1.3](#) içerisinde incelenebilir.

R.7.1.3.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlanma olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, kaynama noktası için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- gazlar için; veya
- 300 °C'nin üzerinde eriyen ya da kaynama öncesi ayrışan katı maddeler. Bu durumlarda azaltılmış basıncın altındaki kaynama noktası tahmin edilebilir ya da hesaplanabilir veya
- kaynama öncesinde ayrışan maddeler (örneğin kendinden oksitlenme, yeniden düzenleme, bozunma, ayrışma vb). "

Bu nedenle, KKDİK Yönetmeliği Ek 7, aşağıdaki durumda kaynama noktasının belirlenmesini gerektirmez:

- madde gaz ise;

Bununla birlikte, bazı gazlar için kaynama noktası ilgili olabilir. SEA Yönetmeliğinde, kaynama noktası gazları sıvılardan ayırmak için ana kriterdir (bkz. Ek 1, bölüm 1.0: Gaz, (i) 50°C'de 300 kPa'dan (mutlak) yüksek bir buhar basıncı olan; veya (ii) 101.3 kPa'lık standart basınçta 20°C'de tamamen gaz halinde bulunan bir madde anlamına gelir). Bu nedenle, sıvıdan gaza geçişin 20°C'ye yakın gerçekleştiği sınır durumlarda kaynama noktasını bildirmek önemlidir.

- Maddenin erime noktası 300°C'nin üzerinde ise veya erime noktası çalışması sırasında herhangi bir kimyasal değişiklik meydana geldiğinde;
- madde ortam basıncında kaynamadan önce bozunuyorsa.

Bu gibi durumlarda, düşük basınç altında (0.2 kPa'ya kadar) mümkünse bozunma olmadan kaynama noktası belirlenmelidir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Ek 11, bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler (çalışma raporları veya literatür verileri) mevcutsa, bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Mevcut veriler için bir kaynağın (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve dolayısıyla Ek 11, Bölüm 1.1.1'deki kriterlerin tam olarak karşılanmadığı durumlarda veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlik sağlayan birkaç kaynağın mevcut olduğu durumlarda, kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Sonrasında, Ek 11, bölüm 1.2 kriterleri karşılanmalıdır¹⁴.

(Q) SAR

Kaynama noktasının belirlenmesi için, yöntemin ortalama mutlak hatasının 2 K'den düşük olduğu durumlar dışında, sınıflandırma/risk değerlendirmesi amacıyla (Q)SAR yaklaşımları önerilmez.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Kaynama noktasının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Aşağıdaki durumlarda test mümkün değildir:

- madde patlayıcı ise;
- madde kendiliğinden tepkimeye giriyorsa;
- erime noktası çalışması sırasında herhangi bir kimyasal değişiklik meydana geliyorsa;
- 0.2 kPa'nın altındaki düşük basınçlarda bile sıvı kaynama noktasına ulaşılmadan önce bozunuyorsa.

Bu gibi durumlarda, risk değerlendirmesi amacıyla çevresel koşullar altında göz önünde bulundurulması gerekenin maddenin kendisi mi yoksa bozunma ürünleri mi olduğunun belirlenmesine olanak sağlamak için (azaltılmış) basınca ilişkin bozunma sıcaklığı raporlanmalıdır. Tespit yönteminin detayları da raporlanmalıdır.

Diğer uyarlanma olanakları

Taşıma sınıflandırması ile bağlantılı olarak oluşturulmuş, kaynama noktasına ilişkin SEA Yönetmeliğinde belirtilenlerle aynı testler ve sınıflandırma ilkeleri ile oluşturulan verilerin, durum bazında olmak üzere KKDİK gerekliliklerini karşıladığı kabul edilebilir. KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

¹⁴ Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST), literatür kaynama noktası verilerinin değerlendirilmesi için kullanılan yararlı bir istatistiksel yaklaşıma sahiptir (ref.: <http://webbook.nist.gov/chemistry/site-cal.html#AVG>).

R.7.1.3.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar kaynama noktası üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.3.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- yöntemin türü veya standarda veya uygulanan test yöntemine referans.

Sonuçlar ve tartışma

- ölçülen kaynama noktası değeri (C);
- basınç değeri ve birim;
- varsa sıcaklık artış hızı;
- bozunma (eğer mevcutsa);
- varsa ölçüm belirsizliği;
- °C cinsinden kaynama / erime noktası değeri (kaynama noktasının belirtilen düşük basınçlarda belirlendiği durumlar hariç standart basınca göre düzeltilmiş) (yukarıdaki gibi, ancak ayrı bir alan bloğunda);
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.



Not: Kaynama noktasının düşük basınçta tespit edildiği durumlarda, ortam basıncında bir tespit yapılması mümkün değildir. Standart basınçta kaynama noktası, sadece bir buhar basıncı eğrisinin bilindiği durumlarda buhar basıncı eğrisinin ekstrapolasyonu ile elde edilebilir.

Bu gibi durumlarda bile, bu düzeltilmiş/ekstrapole edilmiş kaynama noktası yalnızca nominal olabilir ve potansiyel olarak yanıltıcı olabilir çünkü ortam basıncında tespit edilmesi mümkün değildir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Kaynama noktası hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.3	7 7.3	Kaynama noktası	E.4.4	3.3

R.7.1.4 Bağlı yoğunluk

R.7.1.4.1 Özellik türü

Gaz halindeki malzemeler için bağlı yoğunluk, atmosfere yüksek konsantrasyonlarda tahliye edildiğinde çökme veya dağılma eğilimini belirlemek için değerlidir. Gaz halindeki maddelerin bağlı yoğunluğu, İdeal Gaz Yasası kullanılarak moleküler ağırlıktan hesaplanabilir.

Çözünmeyen sıvılar ve katılar için, (mutlak) yoğunluk maddenin çökmesinde belirleyici bir faktör olacaktır.

R.7.1.4.2 Tanım

Bir maddenin yoğunluğu (ρ), kütesinin (m) ve hacmine (V) bölümüne eşittir:

$$\rho = m/V \quad \text{SI birimleri (kg/m}^3\text{)}$$

Bağlı yoğunluk, yoğunluğu 1'e ayarlanmış bir standart ile ilgilidir. Birimi yoktur. Gazlar için standart olarak hava kullanılır, bu nedenle bağlı yoğunluğu 1'den az olan gazlar havadan daha hafiftir (ve değeri 1'in üzerinde olanlar havadan daha ağırdır).

Katıların veya sıvıların bağlı yoğunluğu (D_{420}) bir hacim incelenecek maddenin (20°C'de belirlenmiş) kütesi ile aynı hacimdeki suyun (4°C'de belirlenmiş) kütesi arasındaki orandır (bu sıcaklıkta su maksimum yoğunluktadır, yani 999.975 kg/m³).

R.7.1.4.3 Test yöntemi/yöntemleri

(Mutlak) yoğunluğun belirlenmesine yönelik test yöntemleri katılar ve sıvılar için uygulanabilir. [Tablo R.7.1-3](#) ilgili test yöntemlerini listelemektedir.

Tablo R.7.1-3 Yoğunluğun belirlenmesi için test yöntemleri

Yöntem	Uygulanabilirlik	Maksimum Dinamik Viskozite (Yalnızca Sıvılar)/Pa.S
Hidrometre	Sıvılar	5
Hidrostatik denge	Katılar ve Sıvılar	5
Daldırma topu (batan gövde)	Sıvılar	20
Piknometre	Katılar ve Sıvılar	500
Hava karşılaştırmalı piknometre	Katılar	-
Salınımlı yoğunluk ölçer	Sıvılar	5

Bağlı yoğunluk için Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik A.3, farklı yöntemler ve farklı türdeki maddelerin gerçek ölçümleri hakkında teknik bilgiler içeren standartların bir listesini içerir.

R.7.1.4.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, bağıl yoğunluk için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki durumlarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- *madde yalnızca belirli bir çözücü içerisinde çözeltide kararlıysa ve çözelti yoğunluğu çözücünün yoğunluğuna benziyorsa. Bu gibi durumlarda çözelti yoğunluğunun çözücü yoğunluğundan yüksek veya düşük olduğunun belirtilmesi yeterli olacaktır ya da*
- *madde oda sıcaklığında gaz olması halinde. Bu durumda yapılan hesaplar esas alınarak, moleküler ağırlık ve ideal gaz kanunlarından bir tahmin yürütülür."*

Sıvılar için, yöntem seçimini etkileyebileceğinden dinamik viskozitenin bir göstergesinin olması yararlıdır. Test maddelerinin fiziksel hali her zaman homojen olmalıdır, bu özellikle içsel kabarcıkların oluşabileceği yüksek viskoziteli maddeler için geçerlidir; bu durumlarda test maddesinin tüm içsel kabarcıklar yok olana kadar dinlenmesine izin verilmelidir.

Özet, yoğunluk ve ölçüldüğü sıcaklığa ait sayısal değeri, test malzemesi kimliğini, kullanılan numunenin saflığını, fiziksel hali, kullanılan yöntemi ve rehberi ve referans maddeyi (varsa) içermelidir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır¹⁵.

(Q)SAR

(Q)SAR genellikle bağıl yoğunluğun belirlenmesi için uygulanamaz.

Bu sonlanma noktası için genellikle deneysel ölçümler vardır ve bu nedenle bu özelliğe yönelik QSPR modelleri çevre literatüründe özel bir ilgi görmemiştir. Belirli bir maddenin yoğunluğunu hesaplamak için çeşitli yazılım programları kullanılabilir, ancak yöntemlerin dokümantasyonu ve doğrulanması sınırlıdır.

¹⁵ NIST, literatür verilerinin değerlendirilmesi için kullanılan yararlı bir istatistiksel yaklaşıma sahiptir (ref.: <http://webbook.nist.gov/chemistry/site-cal.html#AVG>).

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Bağıl yoğunluğun belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Teknik olarak mümkün olmamasına dayanılarak bağıl yoğunluk testinden feragat edilmesi uygulanamaz.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.4.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar yoğunluk üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Bu etki safsızlığın miktarına ve yoğunluğuna bağlıdır; dolayısıyla, safsızlık miktarı ne kadar yüksekse ve ana bileşenin ve safsızlığın yoğunlukları arasındaki fark ne kadar yüksekse, etki o kadar yüksek olur. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Yoğunluk, sıcaklığa bağlıdır. Mümkün olduğu sürece tespitler 20°C'de yapılmalıdır.

R.7.1.4.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- yöntemin türü veya standarda veya uygulanan test yöntemine referans.

Sonuçlar ve tartışma

- sıcaklık (°C);
- bağıl (gazlar için)/mutlak (sıvılar ve katılar için) yoğunluk değeri (birimsiz);
- varsa ölçüm belirsizliği;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Bağıl yoğunluk hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.4	7 7.4	Bağıl yoğunluk	E.4.5	3.4

R.7.1.5 Buhar basıncı

R.7.1.5.1 Özellik türü

Buhar basıncı:

- madde karakterizasyonuna yönelik olan;
- bazı toksikolojik ve çevresel zararların değerlendirilmesi için anahtar parametre görevi gören;
- bir maddenin buhar olarak solunabilir olup olmadığına ya da alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımları oluşturup oluşturmayacağına dair göstergeler sağlayan;
- Henry Kanunu sabiti ([Ek R.7.1-1](#)) ve hava/toprak dağılım katsayısı üzerinden sulu bir ortamdan veya topraktan bir maddenin uçuculuğunun belirlenmesine izin veren;
- depolama, taşıma ve kullanım sırasında güvenliği sağlamak için doğru konteynerin/kabın belirlenmesini sağlayan;
- fiziksel zararlılık değerlendirmesi için önemli olan bir özelliktir.

R.7.1.5.2 Tanım

Bir maddenin buhar basıncı, sabit sıcaklıkta katı veya sıvı bir maddenin üzerindeki doyumluk basıncı olarak tanımlanır. Termodinamik dengede, saf bir maddenin buhar basıncı yalnızca sıcaklığın bir fonksiyonudur.

R.7.1.5.3 Test yöntemi/yöntemleri

Test için Maddelerin ve Karışımların Fiziko-Kimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik içerisindeki A.4 Yöntemi veya OECD Test Rehberi 104 (Buhar basıncı) kullanılmalıdır. Bu testi yapmak için maddenin yapısı, erime noktası ve kaynama noktası hakkında ön bilgi sahibi olmakta fayda bulunmaktadır.

Buhar basıncı değerlerinin tüm aralığı için geçerli tek bir ölçüm prosedürü yoktur. Bu nedenle, $< 10^{-10}$ ila 10^5 Pa arasında buhar basıncının ölçümü için birden fazla yöntemin kullanılması önerilir. Test yönteminin seçimi için, kapsam ve uygulanabilirlik özellikleri dikkate alınmalıdır. Sonuçlar, kaynama noktası, parlama noktası vb. gibi diğer fiziksel verilerle tutarlılık açısından kontrol edilmelidir.

Buhar basıncının en az iki sıcaklıkta, uçucu maddeler için (150°C 'ye kadar kaynama noktası) tercihen 20°C 'de ve 50°C 'de belirlenmesi tavsiye edilir.

Standartların uygulanabilir olduğu yerlerde en son güncellemelerin kullanılması tavsiye edilir, daha fazla bilgi için Bölüm [R.7.1.1.3](#) incelenebilir.

R.7.1.5.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, buhar basıncı için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Erime noktası 300°C 'nin üzerinde ise çalışmanın yapılması gerekmez.

Erime noktası 200 °C ila 300 °C arasındaysa, alınan ölçülerin ya da kabul görmüş hesaplama yönteminin esas alındığı sınır değeri yeterli olacaktır.

Standart kaynama noktası < 30°C olan maddeler için buhar basıncı testi gerekli değildir, çünkü bu maddeler ölçüm sınırının (10⁵ Pa) üzerinde buhar basıncına sahip olacaktır.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Buhar basıncının belirlenmesi için, deneyle belirleme mümkün değilse (Q)SAR yaklaşımları kullanılabilir.

Buhar basıncı sıcaklığa dayalıdır. Bu bağımlılık, termodinamik prensiplere dayalı olarak Grain (Grain, 1982) tarafından modellenmiştir. Buhar basıncı için uygulanabilecek tahmin yöntemleri, ilgili sıcaklıkta sıvı veya gaz halindeki bileşikler ve katı ve sıvı bileşikler için farklılık gösterir. İki Antoine denklemi ile tahmin edilebilirken, ikincisi, aynı zamanda buharlaşma ısısını da hesaba katan Watson korelasyonu ile tahmin edilebilir. Mackay ve ark. (1982) tarafından açıklanan başka bir yöntem, yalnızca hidrokarbonlar ve halojenli hidrokarbonlar için geçerlidir. Ayrıca, Grain modeli tüm katılar, sıvılar ve gazlar için geçerli olacak şekilde değiştirilmiştir. Bu yöntemler günümüzde hala pratik kullanımdadır.

OECD rehberi 104, Watson korelasyonunun 10⁵ Pa ila 10⁻⁵ Pa arasındaki basınç aralığında uygulanabilir olduğunu bildirmektedir. Her durumda, hesaplanan basınç 1 Pa'dan düşükse, özellikle kaynama noktası deneysel olarak belirlenmediğinde, buhar basıncı için tahmin edilen değerlerin büyük belirsizliğe maruz kalabileceği belirtilmelidir (OECD monograf 67). Bu belirsizlik, Henry Kanunu sabitini tahmin etmek üzere tahmin edilen değer suda çözünürlükle birlikte kullanılırsa daha da artar.

OECD çevre monografi 67, yukarıda bahsedilen yöntemlerin tümünü açıklar ve OECD rehberi 104 buhar basıncının hesaplanması için Watson korelasyonunun kullanımını destekler, ancak diğer hesaplama yöntemlerini özellikle reddetmez.

Organik bileşiklerin fiziko-kimyasal özelliklerini tahmin etmeye yönelik el kitabı (Reinhard ve Drefahl, 1999), termodinamik özelliklere dayanan ve Mackay yönteminin uygulanmasının tartışılması yoluyla Mishra ve Yalkowsky tarafından detaylandırılan başka bir yöntemi bildirmektedir (Mackay ve ark., 1982).

Mishra ve Yalkowsky'nin denklemi, aynı veri setinde Mackay yönteminden önemli ölçüde daha iyi tahminler vermiştir (Mishra ve Yalkowsky, 1991).

Buhar basıncını tahmin etmede etkili olduğu kanıtlanan bir başka metodoloji, grup katkısı yaklaşımlarına dayanmaktadır. Bu stratejiyi kullanan birkaç model önerilmiştir (Reinhard ve Drefahl, 1999; bkz. [Tablo R.7.1-4](#)).

Tablo R.7.1-4 Grup katkısı yaklaşımı ve buhar basıncı

Bileşikler	Yazarlar	Metodoloji	İstatistik
Alkil aromatik bileşikler	Amidon ve Anik	Grup katkısı yaklaşımı	Standart hata ... Serbest buharlaşma enerjisi tahmini için 1,1 kJ
Mono-, di-, tri- ve tetra yer değişimli	Hoshino ve ark.	Grup katkısı yaklaşımı	Ortalama hata %3.7 Maks. hata %30.9
Perflorlanmış doymuş hidrokarbonlar	Kelly ve ark.	Grup katkısı yaklaşımı	Aritmetik ortalama sapma <% 0.5

Buhar basıncının tahmini için çok sayıda başka model mevcuttur ve Schwarzenbach ve ark. (1993), Delle Site (1996), Sage ve Sage (2000) ve Dearden (2003) bunların çoğunu incelemiştir. Buhar basıncı nicel yapı özellik ilişkilerinde (QSPR) kullanılan tanımlayıcılar, fizikokimyasal, yapısal ve topolojik tanımlayıcıları ve grup katkılarını içerir. Katritzky ve ark. (1998), 411 farklı organik kimyasalın buhar basıncını (25 °C'deki atmosferlerde) modellemek için $r_2 = 0.949$ standart hata = 0.331 log birimi ile 4 CODESSA tanımlayıcısı kullanmıştır. Birçok çalışma (Andreev ve ark. 1994, Kühne ve ark. 1997, Yaffe ve Cohen 2001), bir sıcaklık aralığı boyunca buhar basınçlarının tahminine olanak tanımaktadır.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Buhar basıncının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Standart kaynama noktası < 30°C olan maddeler için buhar basıncı testi gerekli değildir, çünkü bu maddeler ölçüm sınırının (10^5 Pa) üzerinde buhar basıncı değerine sahip olacaktır.

Ölçüm sırasında ayrışan veya kararsız veya patlayıcı olan maddeler için buhar basıncının belirlenmesi teknik olarak mümkün olmayabilir. Bu ayrıca kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve organik peroksitler için geçerlidir.

Piroforik maddelerin deneysel olarak kullanımı zor olabilir. Numune hazırlama ve ölçüm sırasında tamamen inert koşullar sağlanamıyorsa, uygun bir hesaplama yönteminin kullanılması önerilir.

Ölçüm cihazının önemli metalik parçalarını tahrip edecek aşındırıcı maddeler durumunda da bir hesaplama yöntemi uygulanmalıdır.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.5.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar buhar basıncı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Etki, safsızlık miktarına ve bu safsızlığın buhar basıncına bağlıdır. Küçük miktarlardaki uçucu safsızlıklar, buhar basıncını birkaç basamak artırabilir. Ölçümlerin yapılmasında ve sonuçların yorumlanmasında bu akılda tutulmalıdır.

Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Numunede sonucu etkileyebilecek uçucu safsızlıklar varsa, madde saflaştırılabilir. Test yöntemi A.4, teknik malzeme için buhar basıncını alıntı yoluyla belirtmenin de uygun olabileceğini belirtmektedir. Bununla birlikte, safsızlıkların gösterebileceği büyük etki göz önünde bulundurulduğunda (yukarıya bakınız), bunun yapılması kesinlikle tavsiye edilmemektedir.

R.7.1.5.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- yöntem türü veya cihazın tanımı veya uygulanan standarda veya test yöntemine referans

Sonuçlar ve tartışma

- eğer testten feragat edilirse feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir;
- en az iki sıcaklık için buhar basıncının ölçülen değeri;
- 20 veya 25 °C'de buhar basıncının tahmini (bu sıcaklıklarda ölçülmezse);
- eğer geçiş (hal değişikliği, bozunma) gözlenirse, aşağıdakilere dikkat edilmelidir:
 - değişimin doğası;
 - değişimin gerçekleştiği sıcaklık.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Buhar basıncı hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.6	7 7.5	Buhar basıncı	E.4.7	3,6

R.7.1.5.7 Buhar basıncına ilişkin referanslar

Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi / Bölüm 1: Fiziksel-Kimyasal özellikler, Test No. 104: Buhar Basıncı, OECD Kodu: 979910401E1, Temmuz 2006.

Andreev N.N, Kuznetsov S.E, Storozhenko S.Y. (1994) Prediction of vapour pressure and boiling points of aliphatic compounds (Alifatik bileşiklerin buhar basıncının ve kaynama noktalarının tahmini). Mendeleev Commun. 173-174.

Grain C.F., (1982) Handbook of chemical property estimation methods (Kimyasal özellik tahmin yöntemleri el kitabı). New York, Mc Graw-Hill

Delle Site A. (1996) The vapour pressure of environmentally significant organic chemicals: a review of methods and data at ambient temperature (Çevresel açıdan önemli organik kimyasalların buhar basıncı: ortam sıcaklığında yöntem ve verilerin incelenmesi). J. Phys. Chem. Ref. Data 26:157-93.

Dearden JC. (2003) Quantitative structure-property relationships for prediction of boiling point, vapour pressure, and melting point (Kaynama noktası, buhar basıncı ve erime noktasının tahmini için nicel yapı-özellik ilişkileri). Environ Toxicol Chem 22(8):1696-709.

Katritzky AR, Y. W, Sild S, Tamm T, Karelson M. (1998) QSPR studies on vapour pressure, aqueous solubility, and the prediction of water-air partition coefficients (Buhar basıncı, suda çözünürlük ve su-hava dağılım katsayılarının tahmini üzerine QSPR çalışmaları). J. Chem. Inf. Comput. Sci. 38:720-5.

Kühne R, Ebert RU, Schüürmann G. (1997) Estimation of vapour pressures for hydrocarbons and halogenated hydrocarbons from chemical structure by a neural network (Bir sinir ağı ile kimyasal yapıdan hidrokarbonlar ve halojenli hidrokarbonlar için buhar basınçlarının tahmini). Chemosphere 34:671-86.

Mackay D, Bobra A, Chan W, Shiu WY. (1982) Vapour pressure correlation for Low-Volatility Environmental Chemicals (Düşük Uçuculuğa Sahip Çevresel Kimyasallar için buhar basıncı korelasyonu). Environ. Sci. Technol. 16:645-9.

Mishra DS, Yalkowsky SH. Estimation of vapour pressure of some organic compounds (Bazı organik bileşiklerin buhar basıncının tahmini). Ind. Eng. Chem. Res. 1991;30:1609-12.

Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Yöntem 104 "Buhar Basıncı Eğrisi"

Reinhard M, Drefahl (1999). A. Handbook for Estimating Physico-Chemical Properties of Organic Compounds (Organik Bileşiklerin Fiziko-Kimyasal Özelliklerinin Tahmin Edilmesi için El Kitabı). New York: Wiley.

Sage M.L, Sage G.W.(2000) Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals (Kimyasallar için Özellik Tahmin Yöntemleri El Kitabı). Boca Raton, FL: Lewis.

Schwartzenbach, R.P., Gswend, P.M., Imboden, D.M. (1993). Environmental Organic Chemistry (Çevresel Organik Kimya). John Wiley and Sons.

Yaffe D, Cohen, Y (2001) Neural network based temperature-dependent quantitative structure property relationships (QSPRs) for predicting vapour pressure of hydrocarbons (Hidrokarbonların buhar basıncını tahmin etmek için sinir ağı tabanlı sıcaklığa bağlı nicel yapı özellik ilişkileri (QSPR)). J. Chem. Inf. Comput. Sci. 41:463-477.

R.7.1.6 Yüzey gerilimi

R.7.1.6.1 Özellik türü

Sulu çözeltilerin yüzey gerilimi ölçümleri önemlidir, çünkü suyun yüzey geriliminin azalması çözeltilerin özelliklerini ve diğer fizikokimyasal ölçümleri etkileyebilir.

R.7.1.6.2 Tanım

- Yüzey gerilimi:

'Yüzey alanı birimi başına serbest yüzey entalpisi yüzey gerilimi olarak adlandırılır' (Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik).

Yüzey gerilimi aşağıdaki şekilde ifade edilir: N/m (SI birimi) veya mN/m (SI alt birimi). Eski cgs sisteminde $1 \text{ N/m} = 10^3 \text{ dyne/cm}$ veya $1 \text{ mN/m} = 1 \text{ dyne/cm}$.

Bir maddenin sulu çözeltisinin yüzey gerilimi, maddenin yüzey aktif olup olmadığını belirlemek için kullanılabilir.

- Yüzey aktif madde (sümfaktan):

'Yüzey aktif madde', yüzey aktif özelliklere sahip olan ve suyun yüzey gerilimini azaltabilen, su-hava ara yüzünde yayılma veya tek katmanlı adsorpsiyon oluşturabilen, emülsiyon ve/veya mikroemülsiyon ve/veya miseller oluşturabilen ve su-katı arayüzlerinde adsorpsiyon sağlayabilen cins ve boyutta bir veya daha fazla hidrofilik ve bir veya daha fazla hidrofobik gruptan oluşan deterjanlarda kullanılan herhangi bir organik madde ve/veya karışımına gelir.' (bkz.Deterjanlar Hakkında Yönetmelik Madde 4(1)(n)).

R.7.1.6.3 Test yöntemi/yöntemleri

Testler, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin A.5 bölümünde belirtilen yöntemlerden birine göre yapılmalıdır. Bu yöntemler çoğu kimyasal maddeye uygulanabilir.

Testi yapmadan önce maddenin suda çözünürlüğü, yapısı, hidroliz özellikleri ve misel oluşumu için kritik konsantrasyon hakkında ön bilgi sahibi olmak faydalıdır.

Yüzey gerilimi ölçümleri, test süresi boyunca hidrolize karşı kararlı olan ve $> 1 \text{ mg/l}$ konsantrasyonlarda suda çözünebilen bir test malzemesi gerektirir. Ölçümler, çözünürlük sınırının %90'ında veya 1 g/l 'de (viskozitenin izin verdiği yerlerde), hangisi daha küçükse o yöntem seçilerek yapılmalıdır.

R.7.1.6.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, yüzey gerilimi için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

"Çalışmanın yalnızca aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmesi gerekir:

- yapı esas alındığında yüzey aktivitesi bekleniyor ya da tahmin edilebiliyorsa ya da
- yüzey aktivitesi maddenin istenen bir özelliğini teşkil ediyorsa.

20 °C'de suda çözünürlüğü 1 mg/l altındaysa, testin yapılması gerekmez."

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q) SAR

Bu rehberin yazım tarihinde, yüzey geriliminin yeterince doğru tahminleri için güvenilir (Q)SAR yöntemleri mevcut değildir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Yüzey geriliminin belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbirisi geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Su veya hava ile reaksiyona giren (hidroliz, piroforik, gaz gelişimi, vb.) reaktif maddeler için test yapmak mümkün olmayabilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.6.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Yüzey geriliminin ölçülmesi için halka veya plaka tansiyometre yöntemleri tercih edilir. Ölçümdeki hata 0.1–0.3 mN/m mertebesinde. Standart protokollerin ve İLU prosedürlerinin kullanılması tavsiye edilir. Maddelerdeki yüzey aktif safsızlıklar bazı durumlarda yanlış pozitif yüzey gerilimi ölçümlerine yol açabilir.

R.7.1.6.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- test malzemesinin kimliği: genel konular dışında, aktif safsızlıkların yüzey gerilimi sonuçları etkilerse, belirtilmelidir.

Sonuçlar ve tartışma

- yüzey gerilimi değeri ve birimi (tercihen mN/m veya N/m, ancak diğer birimler de kabul edilebilir);
- çözeltinin konsantrasyonu*¹⁶;
- çözeltinin yaşı*;
- kullanılan su veya çözelti türü *;
- (çözeltinin) değişken denge süresi ile tekrarlı ölçümlerden elde edilen sonuçlar;
- ölçümün olası zamana bağlılığını değerlendirmek için birden fazla ölçüm sonuçları sağlanmalıdır. Denge süreleri dakikalardan saatlere değişkenlik gösterebilir. Ölçümler, sabit bir yüzey gerilimine ulaşıldığını kanıtlamak için yeterli olmalıdır;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Yüzey gerilimi hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.10	7 7.6	Yüzey gerilimi	E.4.11	3.9

¹⁶ *Test A.5 içerisinde belirtilen şekilde. Yüzey gerilimi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik içerisinde açıklanmıştır.

R.7.1.7 Suda çözünürlük

Nanomalzemelere ilişkin suda çözünürlüğün karakterizasyonu ile ilgili olarak kayıt ettirenlere tavsiyeler [BG ve KGD Rehberi Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli olan Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler](#), Bölüm 2.2.1 Suda çözünürlük içerisinde bulunabilir

R.7.1.7.1 Özellik türü

Suda çözünürlük, birçok nedenden ötürü önemli bir parametredir:

- bir test maddesinin hareketliliği büyük ölçüde sudaki çözünürlüğü ile belirlenir. Genel olarak, çözünürlüğü yüksek maddelerin su döngüsü ile dağılma olasılığı daha yüksektir;
- suda çözünür maddeler insanlara ve diğer canlı organizmalara erişim kazanır;
- suda çözünürlük hakkında bilgiler, bir dizi davranış (örn. biyolojik bozunma, biyolojik birikim) ve etki çalışmaları için test koşullarının oluşturulması amaçlı bir ön koşuldur;
- aynı zamanda K_{ow} , K_{oc} ve Henry Kanunu Sabiti ([Ek R.7.1-1](#)) gibi diğer çevresel parametrelerin türetilmesi için de kullanılır. Ayrıca bazı QSAR modelleri için girdi olarak kullanılır;
- suda çözünürlük, belirli fizikokimyasal ve ekotoksikolojik sonlanma noktalarından feragat etmek için düzenleyici amaçlı bir tetikleyici olarak kullanılır.

R.7.1.7.2 Tanım

'Maddenin sudaki çözünürlüğü, maddenin verilen sıcaklıkta sudaki doyumluk kütle derişimi olarak tanımlanır. Sudaki çözünürlük birim olarak çözelti hacmi başına düşen kütle ile ifade edilir. SI birimi ise kg/m^3 'tür (ayrıca gram/litre de kullanılabilir)' (bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik, A.6, bölüm 1.2).

Organik bileşiklerin karışımları (örn. petrol ürünleri), suyla temas ettiklerinde tek bileşenli bileşiklerden farklı davranırlar. Petrol maddeleri tipik olarak hidrofobiktir ve suda düşük çözünürlük sergiler. Bununla birlikte, yapı çeşitliliğini yansıtan şekilde, hidrokarbon bileşenler geniş bir su çözünürlüğü aralığı sergileyecektir. Bu nedenle, bu maddeler için suda çözünürlük ölçümleri, kompleks bileşimleri nedeniyle yükleme hızına bağlıdır. Bu suda çözünürlük davranışı, bu kompleks maddeler için sucul toksisite testlerinin yürütülmesini ve yorumlanmasını etkiler. Kompleks bileşim ve genellikle düşük olan suda çözünürlük, biyobozunurluk çalışmalarının seçimini ve yürütülmesini de etkiler.

Sonuç olarak, tek bir maddenin suda çözünürlüğüne ilişkin yukarıdaki tanım, birden fazla bileşenli veya bileşimi bilinmeyen veya değişen (UVCB) maddeler gibi çok bileşenli maddeler, diğer bir deyişle kompleks maddeler için geçerli değildir. Bu tür durumlarda 'çözünürlüğün' genellikle kabul edilen anlamı, "tanımlanmış koşullar kümesi altında dengede oluşan sulu çözeltinin bileşimidir". Sıcaklık ve birim hacim su başına eklenen madde miktarı ("yükleme"), dikkate alınması gereken ana faktörlerdir. Tüm bileşenler için dengeye erişildiğini tespit etmek her zaman mümkün olmayabilir; bu durumlarda, test kaplarının çalkalama zamanı ve tipi de açıklanmalıdır.

Benzer test sorunları, inorganik bileşikler için de geçerlidir. Aynı metalin bileşikleri arasında, suda çözünürlük birkaç basamak farklılık gösterebilir. Metal bileşiklerin çözünürlüğündeki farklılıklar, metalin türü ve sulu ortamın özellikleri ile ilgilidir. Yüksek çözünürlüğe sahip inorganik metal bileşikler, normal prosedürlerle değerlendirilebilir.

Eser miktarda çözünür metal bileşikleri için, bir çözünürlük ürünü termodinamik olarak hesaplanabilir (örn., Kimyasal Termodinamik Analiz Birimi ('F*A*C*T', FACT-Win versiyon 3.05) kullanılarak). Metaller genellikle çözünmez olmakla birlikte, element halindeki metaller, çözünür veya eser miktarda çözünür katyonik veya anyonik ürünler oluşturmak üzere su veya seyreltik sulu bir elektrolit ile reaksiyona girebilir. Bu işlem sırasında metal oksitlenecek veya nötr veya sıfır yükseltgenme durumundan daha yüksek yükseltgenme durumuna dönüşecektir. Metallerin ve eser miktarda çözünür metal bileşiklerinin dönüşümü/çözünmesine ilişkin OECD Test Rehberi (OECD, 2001), metallerin ve eser miktarda çözünür metal bileşiklerin, çevrede genellikle meydana gelen koşulları temsil eden bir dizi standart laboratuvar koşulları altında, sulu ortamda, çözünür, biyoyararlanılabilir iyonik ve diğer metal içeren türleri üretebilme oranını ve kapsamını belirlemek için kullanılabilir. Dönüşüm/çözünme testlerinin sonuçları, sucul ortam zararlılık sınıflandırması amaçları için kullanılacaktır.

R.7.1.7.3 Test yöntemi/yöntemleri

Nispeten çözünür maddelerden çok düşük çözünürlüğe sahip maddelere kadar, sudaki tüm çözünürlük değerleri aralığını kapsayacak tek bir yöntem mevcut değildir. Genel test rehberleri (OECD Yöntemi 105; Yöntem A.6, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik), tüm çözünürlük değerleri aralığını kapsayan ancak uçucu maddelere uygulanamayan iki test yöntemi içerir. Suda çözünürlük belirlenmeleri, normalde standart test rehberlerine göre (OECD Yöntemi 105; AB Yöntemi A.6) distile suda 20°C'de yürütülür. Bu standart fiziko-kimyasal rehberler kullanılarak belirlenen çözünürlük verileri, test malzemesi tuz içeren sulu çözeltilerde veya farklı test sıcaklıklarında (veya her ikisinde) (örneğin ekotoksikolojik test ortamı) çözülsünse farklılık gösterebilir.

Yöntemler, suda kararlı olan esasen saf maddelere uygulanmalıdır. Uygun yöntemlerin ayrıntıları [Tablo R.7.1-5](#)'te gösterilmektedir.

Tek bileşenli maddelerin ve kompleks sıvı ve katı karışımlarının belirlenmesi için bir dizi standartlaştırılmış yöntem mevcuttur. Metaller ve eser miktarda çözünür inorganik metal bileşikleri için, standart koşullar altında çözünmüş orana dönüşümü ölçmek için özel bir suda çözünürlük yaklaşımı tasarlanmıştır. Test yöntemleri uçucu maddelere uygulanabilir değildir. İncelenen test maddelerinin olabildiğince saf olmalarına ve çözünürlük seviyelerinin mümkün olduğunca özel bir analitik yöntem kullanılarak analitik şekilde belirlenmesine özen gösterilmelidir. Özellikle uzun süreli dengeleme gerekiyorsa (örn., 'yavaş karıştırma' yöntemleri), test maddesinin bozunmasını en aza indirmek için önlemler alınmalıdır.

Suda çözünürlüğün ölçülmesi, genellikle kimyasal tekniklere ilişkin aşırı talepler getirmez. Bununla birlikte, eser miktarda çözünür bileşiklerin çözünürlüğünün ölçülmesi, dağılmış malzeme eklenmeden malzemenin doymuş çözeltilerinin oluşturulması için son derece dikkatli olmayı gerektirir; özgün analiz yöntemleri, çözeltideki düşük seviyeleri (ppb-ppm altı) her durumda belirleyebilir. Bu tür bileşikler için raporlanan suda çözünürlük verileri, genellikle kayda değer hatalar içerebilir.

Tablo R.7.1–5 Suda çözünürlüğün belirlenmesi için test yöntemleri

Yöntem detayları	Uygulamalar ve gereklilikler	Tekrarlanabilirlik ve hassasiyet
<p>Kolon elüsyon yöntemi</p> <p>Test maddesinin cam boncuklar, silika jel veya kum gibi inert bir taşıyıcı malzeme ve aşırı miktarda test maddesi ile yüklenmiş bir mikro kolondan suyla elüsyonuna dayanır. Suda çözünürlük, elüatın kütle konsantrasyonu sabit olduğunda belirlenir.</p> <p>Test maddesinin kütle konsantrasyonu analitik olarak belirlenir.</p>	<p>Yalnızca esasen saf maddelere uygulanabilir</p> <p>Düşük çözünürlükler için kullanılır ($< 10^{-2}$ g/l)</p> <p>Organik maddeler, ancak hareketli yağlar veya sıvılar değil</p>	<p>$< \%30$;</p> <p>1 µg/l'ye kadar</p>
<p>Şişe yöntemi</p> <p>Test maddesi, test sıcaklığının biraz üzerinde bir sıcaklıkta su içinde çözülür. Doğunluğa ulaşıldığında, karışım soğutulur ve dengeye ulaşmak için gerektiği kadar karıştırılarak test sıcaklığında tutulur.</p> <p>Test maddesinin kütle konsantrasyonu analitik olarak belirlenir.</p>	<p>Esasen saf maddelere ve ayrıca kompleks maddelere uygulanabilir.</p> <p>Daha yüksek çözünürlükteki ($> 10^{-2}$ g/l) test maddeleri için uygun hızlı karıştırma tekniklerinin (300-400 rpm) kullanımı.</p> <p>Düşük çözünürlüklü ($< 10^{-2}$ g/l) test maddeleri için uygun yavaş karıştırma tekniklerinin (< 100 rpm) kullanımı (Letinski ve ark., 2002)</p> <p>Test maddesini ve suyu dengelemek için geçen süreyi belirlemek üzere denge çalışması gerektirir</p>	<p>$< \%15$;</p> <p>1 µg/l'ye kadar</p>
<p>OECD Test ve Değerlendirme Serisi No. 29 - Sulu ortamda Metallerin ve Metal Bileşiklerinin Dönüşümü/Çözünmesi Hakkında Rehber Doküman.</p>	<p>Tüm metaller ve eser miktarda çözünür inorganik metal bileşiklerine uygulanabilir</p>	<p>/</p>

R.7.1.7.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, suda çözünürlük için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- madde pH 4, 7 ve 9 değerlerinde hidrolitik olarak kararsız ise (12 saatten az yarı ömür) ya da
- madde suda kolay oksitleniyorsa.

Madde suda çözülüyorsa, analitik yöntemin tespit sınırlamasına kadar sınırlama testi gerçekleştirilir. "

İyonlaşabilir maddeler için, suda çözünürlüğün pH bağımlılığı bilinmelidir. En azından test suyunun pH değerinin belirlenmesi gerekir. Deniz risk değerlendirmesi bağlamında, pK_a 8'e yakın olduğunda deniz suyu kullanılarak gerçekçi ölçümler elde edilmesi gerekli olabilir.

Uçucu bileşikler için buhar basıncı hakkında bilgi sahibi olmak faydalı olabilir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Moleküler ağırlık, erime noktası, kaynama noktası, yoğunluk ve suda çözünürlük gibi çoğu fiziksel özellik, Verschueren'in Organik Kimyasallar Üzerine Çevresel Veri El Kitabı (1983), Howard'ın Çevresel Davranış ve Maruz Kalma Verileri El Kitabı, Cilt. I ve II (1990), Lide'nin CRC Fizik ve Kimya El Kitabı, Lange'nin Kimya El Kitabı, Merck İndeksi, Aldrich Katalogu, Kirk-Othmer Kimyasal Teknoloji Ansiklopedisi Kimya El Kitabı ve Riddick ve ark. (1986) gibi diğer el kitabı derlemeleri örnek olmak üzere yaygın olarak kullanılan çevresel El Kitaplarından elde edilebilir

Alternatif olarak, HSDB (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/11933>) gibi çeşitli çevresel veri tabanlarında arama yapılması, maddelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin özetlerini sağlayacaktır.

Literatürde aynı ürün için geniş bir çözünürlük aralığı bulmak alışılmadık bir durum değildir. En eski literatür çalışmaları genellikle en yüksek çözünürlük değerlerini verir: Bunun nedeni, ürünlerin başlangıçta bugünkü kadar saf olmaması ve ayrıca çözünmüş ürün ile herhangi bir safsızlık arasında ayırım yapmayan, özgün olmayan yöntemlerin kullanılmasıdır. Bu tür bileşikler için raporlanan suda çözünürlük verileri, genellikle kayda değer hatalar içerebilir. Bu nedenle, verilerin güvenilirliği, test maddesinin kimliği ve saflığı, ölçümü yapmak için kullanılan metodoloji ve bunun İyi Laboratuvar Uygulamaları standartlarına göre yapılıp yapılmadığı hakkında bilgi sağlanarak gösterilmelidir.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

İkincil veri kaynakları bir kanıt ağırlığı yaklaşımında kullanılabilir ve toplu olarak suda çözünürlük için belirli bir değerin seçilmesini destekleyebilir. Bu ikincil kaynaklar, uzman incelemesinden geçmiş verilerin eleştirel bir değerlendirmesine ve bunun sonucunda suda çözünürlük için güvenilir ve temsili bir değerin seçimine dayanmalıdır. Klimisch kodlarının kullanımı, bu ikincil kaynaklara genişletilebilir ve yetkili bir ikincil kaynak kullanılırken, sınırlı geçerliliğe sahip bir güvenilirlik kodu (2) atanmalıdır.

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Organik bir çözünen maddenin suda çözünmesi için öncelikle çözünen moleküllerin birbirinden ayrılması gerekir. İkinci olarak, çözücü molekülleri, çözünen maddeyi barındıracak kadar büyük bir boşluk oluşturmak için birbirlerinden kısmen ayrılmalıdır. Çözünen madde boşluğu kapladığında, çözünen madde ile çözücü arasında yeni çekici kuvvetler olacaktır. Son olarak, çözünüm kabuğundaki su molekülleri, komşu su moleküllerine ekstra H-bağları oluşturacaktır. Bu nedenle, suda çözünürlük yalnızca çözünen maddenin suya olan ilgisine değil, aynı zamanda kendi yapısına olan ilgisine de bağlıdır. Birbirlerine güçlü bir şekilde bağlı olan moleküller, onları ayırmak için önemli miktarda enerji gerektirir. Bu aynı zamanda, bu tür bileşiklerin yüksek erime noktalarına (katılar için) sahip olduğu anlamına gelir. Genel olarak, yüksek erime sıcaklığına sahip katılar, herhangi bir çözücü içinde zayıf çözünürlüğe sahiptir.

Bir molekülün kristal kafesinden çıkarılması entropide bir artış anlamına gelir ve bunun doğru bir şekilde modellenmesi zor olabilir. Bu nedenle, çözünürlük ölçümleri üzerindeki deneysel hatanın oldukça yüksek olabileceği gerçeğinin yanı sıra (genellikle yaklaşık 0.5 log birim olduğu varsayılır), suda çözünürlük tahmini, oktanol/su dağılımının tahmini kadar doğru değildir. Bununla birlikte, suda çözünürlüğün tahmin edilmesi üzerine birçok makale (Dearden 2006) ve bir kitap (Yalkowsky ve Banerjee 1992) ve bir dizi inceleme yayınlanmıştır (Lyman 1990, ECETOC 1998, Reinhard ve Drefahl 1999, Mackay 2000, Schwarzenbach ve ark. 2003, Dearden 2006). Ayrıca bu amaç için kullanılabilen bir dizi yazılım programı da vardır (ECETOC 2003, Dearden 2006). Livingstone (2003), nicel yapı özellik ilişkilerinden ve ticari yazılımlardan suda çözünürlük tahminlerinin güvenilirliğini tartışmıştır.

Suda çözünürlüğün bildirilebileceği çeşitli yollar olduğuna dikkat edilmelidir: saf suda, belirli bir pH düzeyinde, belirli bir iyonik kuvvette, ayrılmamış türler olarak (içsel çözünürlük) veya diğer çözücüler veya çözünen maddeler varlığında. Çözünürlükler ayrıca farklı birimlerde, örneğin g/100 ml, mol/litre, mol oranı olarak raporlanır. Karşılaştırma için iyi bir temel oluşturduğundan, mol/litre kullanımı önerilir.

Katılar için, molekülleri kristal kafesinden çıkarmak için çalışmalar yapılmalıdır ve bunu açıklamanın en basit yolu, katıların davranışını hesaba katmak üzere bir erime noktası terimi içeren Yalkowsky ve arkadaşlarının genel çözünürlük denklemi (GSE) olarak adlandırdıkları denklemi kullanmaktır. (Sanghvi ve ark. 2003):

$$\log S_{\text{sulu}} = 0.5 - \log K_{\text{ow}} - 0.01(\text{MP} - 25)$$

burada, MP erime noktasıdır (°C). Erime noktası terimi, 25°C'de veya altında eriyen bileşikler için sıfır olarak alınır. Hesaplanan $\log K_{\text{ow}}$ ve erime noktası değerleri genel çözünürlük denkleminde kullanılabilir, ancak ölçülen değerler tercih edilir. Genel çözünürlük denklemiyle hesaplanan ve $\log S_{\text{sulu}}$ aralığı - 13 ila + 1 (mol L⁻¹'de S) olan, elektrolit olmayan 1026 maddenin suda çözünürlükleri 0.38 log birimlik bir standart hataya sahiptir.

Doğrusal çözünüm enerjisi tanımlayıcılarının kullanılmasıyla çok geniş çeşitlilikteki veri seti için iyi tahminler elde edilmiştir (Abraham ve Le 1999). Bunlar polarite/polarize edilebilirlik için iki terim, çözünen molekülün hidrojen bağ verici ve alıcı kapasitesinin toplamını ve moleküler hacmin bir ifadesini içermiştir.

Abraham ve Le denkleminde göre, suda çözünürlüğü kontrol eden ana faktörler, her ikisi de çözünürlüğün moleküler mekanizmalarında önemli unsurlar olan hidrojen bağ alma kapasitesi ve moleküler boyut gibi görünmektedir.

Çözünürlük sıcaklıkla önemli ölçüde değişebilir ve çözünürlük verilerinin belirli bir sıcaklıkta rapor edilmesi önemlidir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Suda çözünürlüğün belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Bu sonlanma noktası için, test neredeyse her zaman mümkün olmalı ve suda çözünürlük genellikle deneysel olarak belirlenmelidir. Bununla birlikte, doymuş test çözeltilerinin yüksek viskozitesi normal karıştırmayı engellediğinde, şişe yöntemiyle test yapılmayabilir. Maddenin özelliklerinin bir sonucu olarak çalışmayı yürütmek teknik olarak mümkün değilse (örn. suyla temas halinde alevlenir maddeler veya suda kolay oksitlenebilen maddeler), KKDK Yönetmeliği Ek 11, Bölüm 2'de açıklanan standart test rejiminin uyarlanmasına yönelik genel kurallara göre testin yapılmaması söz konusu olabilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir. Bununla birlikte, kompleks maddeler için, bu tür testlerden elde edilen bilgiler ilgili değildir veya pratik kullanıma yönelik değildir ve bu nedenle, verilerin sonraki değerlendirmelerle ilgisiz olduğu durumlarda testin yapılmasından feragat edilebilir.

R.7.1.7.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Test maddesinin suda çözünürlüğü, safsızlıkların varlığından önemli ölçüde etkilenebilir.

Kompleks bir madde için, ölçülen çözünürlük eklenen test maddesinin miktarına bağlıdır. Pratik terimlerle, çözünürlük verileri en az iki yükleme hızı (örn. 100 mg/l ve 1000 mg/l) kullanılarak oluşturulur. Suda çözünürlüğün belirlenmesindeki doğruluk, test maddesinin suda çözünürlüğü düştükçe azalır (örn. OECD Yöntemi 105'te referans madde verileri için gösterildiği gibi). Suda çözünürlükleri <10 µg/l olan test maddeleriyle çalışırken, nihai ekstraktın içine dağılmış materyalin girmesini önlemek için önlemlerin alınması gerekir.

Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.7.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- ön testten elde edilen sonuçlar (varsa);
- kimyasal kimlik ve safsızlıklar (varsa ön arıtma adımı);
- doyma süreci sırasında su sıcaklığı;
- kullanılan analitik yöntem;
- kimyasal kararsızlık kanıtı;
- sonuçların yorumlanmasıyla ilgili tüm bilgiler.

Kolon elüsyon yöntemi ise:

- her numune için konsantrasyonlar, akış hızları ve pH;
- en az beş numunenin ortalama ve standart sapmaları;
- en az ardışık iki çalışmanın her biri için ortalama;

- destek malzemesinin doğası ve yük durumu;
- kullanılan çözücü.

Şişe yöntemi ise :

- her numunenin pH'ı;
- bireysel analitik belirlemeler ve ortalama;
- farklı şişeler için değerlerin ortalaması.

Sonuçlar ve tartışma & Başvuru Sahibinin Özeti ve sonucu

- belirli bir sıcaklıkta (°C) sudaki çözünürlük (mg/l cinsinden);
- pH değeri ve test maddesi konsantrasyonu;
- çözünürlüğün tanımı (uygun ise);
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Suda çözünürlük hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.8	7 7.7	Suda çözünürlük	E.4.9	3.8

R.7.1.7.7 Suda çözünürlük ile ilgili referanslar

Abraham M.H. ve Le J. (1999) The correlation and prediction of the solubility of compounds in water using an amended solvation energy relationship (Değiştirilmiş bir çözünüm enerjisi ilişkisi kullanılarak bileşiklerin suda çözünürlüğünün korelasyonu ve tahmini). *J. Pharm. Sci.* 88, 868-880.

Dearden J.C. (2006) *In silico* prediction of aqueous solubility (Suda çözünürlüğün in silico tahmini). *Expert Opinion on Drug Discovery* 1, 31-52.

EC Yöntemi A6. "Suda Çözünürlük", Direktif 92/69/EEC, Avrupa Toplulukları Resmi Gazetesi, O.J. L383 A)

EC Yöntemi A7. "Hidroliz", Direktif 92/69/EEC, Avrupa Toplulukları Resmi Gazetesi, O.J. L383 A)

ECETOC Teknik Rapor No. 74: *Kimyasalların Çevresel Davranışı ve Etkilerinin Değerlendirilmesinde QSAR*. ECETOC, Brüksel, 1998.

ECETOC Teknik Rapor No. 89: (Q)SAR: *Kimyasal yönetim uygulamaları açısından insan sağlığı ve çevresel sonlanma noktaları için piyasadaki mevcut yazılımın değerlendirilmesi*. ECETOC, Brüksel, 2003.

Livingstone D.J. (2003) Theoretical property predictions (Teorik özellik tahminleri). *Current Topics in Med. Chem.* 3, 1171-1192.

Letinski, D.J., Connolly, M.J., Peterson, D.R. ve Parkerton, T.F. (2002) "Slow-stir water solubility measurements of selected alcohols and diesters" (Seçilmiş alkol ve diesterlerin yavaş karıştırılan suda çözünürlük ölçümleri), *Chemosphere*, 48, 257 - 265).

Mackay D. Solubility in water (Suda çözünürlük). Kaynak: Boethling R.S. and Mackay D. (Ed.), *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals: Environmental and Health Sciences (Kimyasallar için Özellik Tahmin Yöntemleri El Kitabı: Çevre ve Sağlık Bilimleri)*. Lewis, Boca Raton, FL, 2000, s. 125-139.

OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları, 2000. Sayı 23. Zor maddelerin ve karışımların sucul toksisite testine ilişkin rehber doküman.

OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, 2001. OECD Test ve Değerlendirme Serisi No. 29, Sulu ortamda Metallerin ve Metal Bileşiklerinin Dönüşümü/Çözünmesi Hakkında Rehber Doküman.

Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi – Yöntem 105 "Suda Çözünürlük"

Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi – Yöntem 111 "pH Fonksiyonu Olarak Hidroliz"

Reinhard M. ve Drefahl A. Handbook for Estimating Physico-chemical Properties of Organic Compounds (Organik Bileşiklerin Fiziko-kimyasal Özelliklerinin Tahmini için El Kitabı). Wiley, New York, 1999.

Sanghvi T., Jain N., Yang G. ve Yalkowsky S.H. (2003) Estimation of aqueous solubility by the general solubility equation (GSE) the easy way (Suda çözünürlüğün genel çözünürlük denklemi (GSE) ile kolay yoldan tahmini). *QSAR Comb. Sci.* 22, 258-262.

Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M. ve Imboden D.M. (2003) *Environmental Organic Chemistry (Çevresel Organik Kimya)*, 2. baskı, Wiley, Hoboken, NJ.

Yalkowsky S.H. ve Banerjee S. (1992). Aqueous Solubility: Methods of Estimation for Organic Compounds (Suda Çözünürlük: Organik Bileşikler İçin Tahmin Yöntemleri). Marcel Dekker, New York.

R.7.1.8 N-oktanol/su dağılım katsayısı

Nanomalzemelere ilişkin suda çözünürlüğün karakterizasyonu ile ilgili olarak kayıt ettirenlere tavsiyeler [BG ve KGD Rehberi Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli olan Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler](#), Bölüm 2.2.2 n- oktanol/su dağılım katsayısı içerisinde bulunabilir.

R.7.1.8.1 Özellik türü

n-oktanol/su dağılım katsayısı (K_{ow}) temel fizikokimyasal parametrelerden biridir ve çevresel dağılım, emilim, biyoyararlanım, biyokonsantrasyon, biyobirikim ve ayrıca insan toksisitesi ve ekotoksitesite için çok sayıda tahmin modelinde ve algoritmasında kullanılır. Bu nedenle, kimyasal güvenlik değerlendirmesi, sınıflandırma ve etiketleme ve PBT değerlendirmesi/taraması (gerektiği yerlerde) için K_{ow} kritik bir parametredir.

Tüm tonaj bantlarında bir K_{ow} değerinin oluşturulması gereklidir (> 1 t/y; KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10'a göre bilgi gereklilikleri).

R.7.1.8.2 Tanım

n-oktanol / su dağılım katsayısı (K_{ow}), büyük ölçüde karışmayan çözücüler n-oktanol ve sudan oluşan iki fazlı bir sistemde çözünmüş bir maddenin denge konsantrasyonlarının oranı olarak tanımlanır. Özellik orta derecede sıcaklığa bağlıdır ve tipik olarak 25°C'de ölçülür. Tanım ve birimler hakkında daha fazla bilgi için Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik, test yöntemi A.8, bölüm 1.2 incelenmelidir.

R.7.1.8.3 Test yöntemi/yöntemleri

Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin test yöntemi A.8, iki test prosedürü açıklar; Şişe Çalkalama yöntemi (OECD Test Rehberi 107) yoluyla doğrudan bir ölçüm ve HPLC yöntemini kullanan bir korelasyon yaklaşımıdır (OECD Test Rehberi 117). Şişe Çalkalama yöntemi -2 ila 4 log K_{ow} aralığı ve HPLC yöntemi 0 ila 6 aralığı içerisindedir.

Yöntemlerin uygulanabilirliği, madde türüne ve test maddesindeki safsızlık miktarına bağlı olarak farklılık gösterir. Yöntemlerden hiçbiri, bireysel çözünürlüğe dayalı bir tahmini değer veya hesaplama ayrıntılarıyla birlikte hesaplanan bir değer sağlanması gereken yüzey aktif malzemelere uygulanamaz. Herhangi bir sonlanma noktası ve tahmin yönteminde olduğu gibi, tahmin yönteminin dokümantasyonu ve eğitim seti, zwitteriyonik veya yüzey aktif maddeler gibi özel madde kategorilerine uygulanabilir olup olmadığına karar vermek için dikkatlice incelenmelidir.

Kullanılan yöntem bakılmaksızın, log $K_{ow} > \sim 5$ düzeylerinde yüksek hassaslıkta ölçümler, sulu fazda küçük miktarlarda oktanolün yer alması ve ölçülen log K_{ow} değerlerinin potansiyel olarak olduğundan daha düşük tahmin edilmesine yol açması nedeniyle karmaşıklaşır. log K_{ow} ölçümü için doğrudan yöntemlerin tümü, test malzemesinin oktanol ya da su içinde ve tercihen her iki matris içinde ölçülmesini gerektirir.

Ek olarak, OECD test rehberi 123, Yavaş karıştırma yöntemi, bu sonlanma noktası için veri oluşturmak için kullanılabilir.

Tablo R.7.1–6 n-oktanol/su dağılım katsayısının belirlenme yöntemleri

Yöntem detayları	Tekrarlanabilirlik	Uygulanabilirlik aralığı
<p>Şişe Çalkalama yöntemi (AB A.8/OECD Test Rehberi 107) :</p> <p>Şişe Çalkalama yöntemi varsayılan prosedürdür. Düşük ila orta hidrofobik maddeler için doğru sonuçlar verdiği kabul edilir. Log K_{ow} değeri yüksek olması beklenen maddeler için alternatif yöntemler önerilir. Oktanol ve su fazlarında test malzemesinin konsantrasyonunu belirlemek için uygun bir analitik yöntem ihtiyacı vardır. Kütle dengesi hususları uygulanarak, test malzemesini yalnızca daha az çözünür fazda ölçmek mümkün olabilir. Ancak, bu yaklaşım, bildirilen değerdeki güvenilirliği önemli ölçüde azaltır.</p> <p>Bu teknik, yüzey aktif bileşikler (şüfaktanlar) veya hızla hidrolize uğrayan bileşikler için uygun değildir.</p>	<p>Üç tekrar +/- 0.3 log K_{ow} içinde olmalıdır</p>	<p>-2 < log K_{ow} < 4</p>
<p>HPLC Yöntemi (AB A.8, OECD Test Rehberi 117)</p> <p>Bu, log K_{ow} tahmini için nispeten hızlı bir yoldur. Doğrudan ölçülmez, ancak bir dizi referans madde için log k (kapasite faktörü) ile log K_{ow} arasındaki korelasyondan ölçülür. Bu nedenle, referans maddelerin log K_{ow} ölçümünün kalitesine bağlıdır (genellikle şişe çalkalama yöntemi ile ölçülür). Log k: log K_{ow} korelasyonunu oluşturmak için, test malzemesine benzer kimyasal işlevselliğe sahip bir dizi referans bileşik kullanılmalıdır. Genel olarak, HPLC yöntemi, şişe çalkalama yöntemine göre safsızlıklara daha az hassastır. RP-HPLC, güçlü asitler ve bazlar, metal kompleksleri veya yüzey aktif maddeler için veya çok farklı madde sınıflarında ölçümler için önerilmez. HPLC yöntemi, kimyasal homologların karışımlarının K_{ow} değerini ölçmek için de çok uygundur.</p>	<p>Üç tekrar +/- 0.1 log K_{ow} içinde olmalıdır</p>	<p>0 < log K_{ow} < 6</p>
<p>Yavaş karıştırma yöntemi (OECD Test Rehberi 123)</p> <p>Bu, şişe çalkalama prosedürüne alternatif olarak geliştirilmiş daha yeni bir yöntemdir (OECD Test Rehberi 107, AB A.8).</p> <p>Yavaş karıştırmanın çalkalamaya göre avantajı, emülsiyon oluşumunun azalmasıdır. Yöntemin dengeye gelmesi için birkaç gün gerekir. Yöntemin yüksek verimli bir yaklaşıma uyarlanması zor olabilir. Diğer doğrudan yöntemlerde olduğu gibi, oktanol ve su fazlarındaki test malzemesinin konsantrasyonunu ölçmek için uygun bir analitik yöntem ihtiyacı vardır.</p> <p>NB: Radyoaktif işaretli maddeler (diğer testlerde kullanılmak üzere sentezlenebilir), doğru log K_{ow} değerinin belirlenmesi için çok yararlı olabilir.</p> <p>AB A.8 içerisindeki bireysel çözünürlüklere dayalı tahmin yöntemi</p> <p>Bu yöntem, dağılım katsayılarının, materyalin oktanol ve su içindeki çözünürlük oranına dayalı olarak tahmin edilmesini sağlar. Bazı maddeler için (örneğin bazı yüzey aktif maddeler ve pigmentler), OECD 107'ye göre dağılım katsayısının ölçülmesi teknik olarak uygun değildir (veya iyi bir uygulama değildir).</p>	<p>0.15 – 0.3 Log K_{ow} aralığından laboratuvar içi medyan standart sapma (Tolls ve ark., 2003).</p>	<p>Doğrulama, bu yöntemin Log K_{ow} 8.3 değerine kadar çok hidrofobik maddeler için de kullanılabileceğini göstermiştir (OECD 2003, Tolls ve ark., 2003).</p>

<p>Bu tür maddeler için doymuş suda çözünürlük (OECD 105) ve doymuş oktanol çözünürlüğü (şu anda mevcut bir rehber yoktur, ancak OECD 105 ilkelerine dayanmaktadır) oranını elde etmek mümkün olabilir. Ancak, bu yöntemin dezavantajı, su ve çözücü fazı arasındaki etkileşimi içermemesidir (yani yüksek Kow değerine sahip bir madde, "oktanole çekilmek" yerine "sudan dışarı itilir"). Bu, oktanol çözünürlüğü ve K_{ow} arasında tipik olarak gözlemlenen zayıf korelasyonu açıklar (Dearden, 1990, Sijm ve ark., 1999). Oktanöl/doymuş su ve su/doymuş oktanol kullanıldığında, oranın biraz daha temsili olduğu bulunmuştur.</p> <p>Bu nedenle, bir oran tahmini, oktanöl/su dağılım katsayısı (Kow) için daha az tercih edilen ancak kabul edilebilir bir alternatif olacaktır, ancak diğer Kow değerleri ile aynı şekilde türetilmediği için dikkatle yaklaşılmalıdır (OECD Test Rehberi 107).</p>		
--	--	--

R.7.1.8.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, n-oktanöl/su dağılım katsayısı için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Madde inorganik ise çalışmanın yapılması gerekmez. Test yapılamıyorsa (örneğin maddenin ayrışması, yüksek yüzey aktivitesine sahip olması, testin yapılması sırasında aşırı tepki vermesi, suda ya da oktanölde çözünmemesi ya da yeterli derecede saf bir maddenin elde edilmesinin mümkün olmaması durumlarında), logP için hesaplanan değer ve hesaplama yönteminin detayları belirtilir. '

Bireysel çözünürlüklerden tahmin dahil olmak üzere deneysel test mümkün değilse, log K_{ow} normalde molekülün yapısına dayalı uygun bir sayısal yöntemle hesaplanmalıdır.

Hızlı hidroliz durumunda, kayıt ettirenin hidroliz sonlanma noktası çalışma kaydı (çalışma özeti) şeklinde kanıt sunması gerekir ve bunun yerine hidroliz ürünleri için test yapmayı düşünmelidir, çünkü kaydedilecek maddenin risk değerlendirmesinin yapılması için ilgili bozunma ürünlerinin özellikleri (çevresel ve toksikolojik) hakkında bilgi gereklidir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

KGD, sınıflandırma ve etiketleme ve PBT değerlendirmeleri için gerekli olduğundan, K_{ow} bilgilerinin raporlanmasından genellikle feragat edilemez (inorganik maddeler hariç).

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Log K_{ow}, madde veritabanlarında yaygın olarak belgelenen bir özelliktir. Log K_{ow} bilgilerini toplayan ve internette mevcut olan birçok halka açık ve ticari veritabanı vardır. Halka açık veri tabanlarına bir örnek, "fiziko-kimyasal" özellikler altında "Sonlanma noktası bölümü" içinde ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımıdır (<http://www.qsartoolbox.org>).

Log Kow bilgileri, KKS formatında dosyanın bir parçası olarak ÇSB'a gönderilmelidir (<https://ecbs.cevre.gov.tr/>).

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Ölçülen değerlere, hesaplanan değerlere kıyasla öncelik verilir. Organik maddeler için deneysel olarak elde edilen yüksek kaliteli K_{ow} değerleri veya incelemelerde değerlendirilen ve önerilen değerler olarak atanan değerler, diğer K_{ow} tayinlerine göre tercih edilir. Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Yüksek kalitede deneysel veri bulunmadığında veya deneysel yöntemlerin güvenilir olmadığı biliniyorsa, log K_{ow} için geçerli nicel yapı-aktivite ilişkileri kullanılabilir (örn. kanıt ağırlığı yaklaşımında). Bu özellik için çok sayıda ölçülen log K_{ow} değeri ve sağlam QSAR modelinin mevcut olması nedeniyle, nicel yapı-aktivite ilişkileri bazı durumlarda bir molekülün dağılım katsayısını tek bir teste kıyasla daha yüksek doğrulukla tahmin edebilir. Bu tür geçerli QSAR modelleri, uygulanabilirliklerinin iyi karakterize edildiği maddelerle sınırlı olmaları halinde kullanılabilir. Ek 7, 7.8'deki veri gerekliliklerini karşılamak için bağımsız bir değer kaynağı olarak kullanılmak üzere, nicel yapı-aktivite ilişkileri Ek 11, 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

n-oktanol/su dağılım katsayısının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.8.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıkların test maddesindeki etkisi, referans gösterilen test rehberlerinde tartışılmaktadır.

Test edilmesi zor maddeler:

K_{ow} değerinin doğru şekilde belirlenmesini veya ölçümünü zorlaştıran belirli yapısal veya fiziko-kimyasal özellikler vardır. Test edilmesi zor maddeler arasında az çözünür, uçucu, yüzey aktif, iyonlaşabilir maddeler, madde karışımları ve ayrıca fototransformasyon, hidroliz, oksitlenme veya biyotik bozunma gibi süreçler nedeniyle hızlı bozunmaya maruz kalan maddeler bulunur.

İyonlaşabilir maddeler ve tuzlar için mevzuata uygun K_{ow} belirleme rehberi:

K_{ow} tipik olarak bir maddenin nötr, ayrışmamış formunun dağılım katsayısı olarak tanımlanır. Bununla birlikte, iyonlaşabilir bir maddenin çevrede (pH genellikle 5-9 aralığında) ayrışma olasılığının bağıl boyutu, özellikle oktanol-su dağılım katsayısı ve suda çözünürlüğü olmak üzere fizikokimyasal özellikleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olabilir, bunlar da davranış ve hareketi etkiler.

Log Kow, biyokonsantrasyon/biyobirikim potansiyelini tahmin etmek için rutin olarak kullanıldığından, bu özellik PBT bağlamında özellikle önemlidir. Çevreyle ilgili bir pH aralığında (pKa 5-9) ayrıışan maddeler için, Kow değerleri nötr form için ve tercihen ayrıca ayrıışmış form için türetilmelidir. Bazı durumlarda, her iki türün log Kow değeri arasında 4-5 kat fark kaydedilmiştir. Ayrıışmış molekül için pH 7 düzeyi civarında belirlenen değer (bazen Dow olarak adlandırılır), PBT ve kimyasal güvenlik değerlendirmesi için daha gerçekçi kabul edilir.

Pratik deneyimlere dayalı olarak aşağıdaki rehberlik sağlanmıştır:

Normal pH aralığında basit asitler ve bazlar:

- HPLC yöntemi, asitler ve bazların iyonlaşmamış formlarına uygulanır, ancak yine de pH 2 ila 9 aralığında tutulmalıdır (ancak pH 5 ila 9 tercih edilir).
- Şişe çalkalama yöntemi için, çalışmanın mümkünse maddenin iyonlaşmadığı bir pH'ta veya iyonlaşma derecesinin en aza indirildiği bir pH'ta yürütüldüğü bir yaklaşım izlenmelidir.
- Doğrulanmış QSAR tahminleri asitler ve bazlar için faydalı olabilir.

Zwitteriyonik maddeler:

- Zwitteriyonlar için, geçerli bir Kow değeri geliştirmek üzere şişe çalkalama yöntemi kullanılmalıdır. Oktanoldeki bileşiğin iyonik yük modeli bilinmese bile, değer pratik ve kullanışlı bir parametreyi temsil eder. Hem su hem de oktanoldeki tüm dengelerin tam bir tanımını beklemek mantıklı değildir. Böyle bir çalışmanın pH değeri, oktanol dağılma olasılığını maksimize etmek için, bu değer pH 5 ila 9 aralığında olduğu sürece, 7 değerinde veya izo-elektrik noktası (molekülün net elektrik yükünün olmadığı pH değeri) olmalıdır. Her iki pH değerini de vermeye gerek yoktur.
- HPLC yöntemi kullanılmamalıdır. Olağan tahmin yöntemleri geçerli olmalıdır, ancak özel dikkat gösterilmelidir.
- Doğrulanmaları kaydıyla QSAR tahminleri faydalı olabilir.

Organik bileşiklerin tuzları:

- Şişe çalkalama yöntemi, genellikle pH 7 değerinde veya oktanol dağılma potansiyelini en üst düzeye çıkaran 5 ila 9 aralığındaki herhangi bir pH'ta kullanılmalıdır. Tuzlar için, kimyasal bileşime kıyasla analitik yöntemin doğası dikkate alınmalıdır. İdeal olan, her iki fazda da kation ve anyonu** ayrı ayrı izlemektir. Yalnızca bir yarısı analiz edilebildiği zaman, elde edilebilecek en iyi sonuç olsa bile sonuç kısmi olarak anlaşılmalıdır.
- HPLC ile tahmin, tüm tuz için geçerli değildir.
- QSAR yöntemleri, tuzun her bir yarısının özelliklerinin değerlendirilmesinde değerli olacaktır. Mevcut tahmin yöntemleri iyon çiftinin Kow değerini tahmin edemez.

Yüzey aktif maddeler için mevzuata uygun Kow belirleme rehberi:

Çoğu durumda, yüzey aktif maddeler için oktanol ve suda çözünürlüklere dayalı olarak hesaplanan bir Kow değeri ilk seçenek olacaktır. Hesaplanan bir değeri ölçülen bir değerle karşılaştırmak da yararlıdır. Hesaplama yaklaşımları için, sistemin pH değerinin dikkate alınması gerekir (bu, yüzey aktif maddenin iyonlaşmasını belirler - bkz. Bölüm [R.7.1.17](#)).

DeneySEL yöntemlerin hiçbirisi yüzey aktif maddelerin K_{ow} değerini belirlemek için çok uygun değildir. Şişe çalkalama yöntemi, yüzey aktif maddeler için en az uygun deneySEL yöntemdir. HPLC metodolojisi ikincil etkileşimler nedeniyle başarısız olabilir ve iyonik güç dalgalanmalarına karşı hassastır. Teoride, yavaş karıştırma yöntemi en iyisidir, ancak yine de mükemmel olduğu kanıtlanmamıştır. Yavaş karıştırma kullanılıyorsa, yüzey aktif maddeyle başlarken sadece oktanolde değil, her iki fazda da tutarlı bir sonuç gösterilmesi gerekir. Yüzey aktif maddeler için bir çalışma yaklaşımı, oktanol ve suda ölçülen çözünürlüklerin karşılaştırılması olabilir. Bununla birlikte, gerçekçi olmayan düşük K_{ow} değerlerinin yapaylığından kaçınmak için, sudaki kritik misel konsantrasyonunu (CMC) çözünürlük sınırı olarak almak akıllıca olacaktır.

Karışımlar için mevzuata uygun K_{ow} belirleme rehberi:

Karışımların farklı bileşenlerinin fiziko-kimyasal testlerde ve dolayısıyla *in vivo* olarak ve çevrede önemli ölçüde farklı davranışlara sahip olması mümkündür. Bu nedenle fiziko-kimyasal testler için sunulan sonuçların, karışımın tek bir bileşen olarak görülmesinden ziyade her bir bileşeni temsil etmesini sağlamak önemlidir. Bileşenlerin bilindiği ve kolayca tanımlanabildiği basit karışımlar için bu, K_{ow} için ayrı değerlerin sunulması anlamına gelebilir. Kompleks karışımlar için, HPLC yöntemi K_{ow} belirlenmesi için idealdir ve belirli bir aralıktaki madde oranının bir göstergesiyle birlikte tanımlanmış bir değer aralığı sunulmalıdır (örn., bileşenlerin >% 90'ı 4-5 aralığında log K_{ow} değerine sahiptir), bu şekilde sonuçların öneminin risk değerlendirmesinde yansıtılmasına izin verilmiş olur. HPLC yöntemi, tipik olarak karışım halinde olan petrol ürünleri için de tavsiye edilir.

R.7.1.8.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

Şişe çalkalama yöntemi (AB A.8/OECD Test Rehberi 107):

- her iki fazda test maddesinin denge konsantrasyonları;
- iki fazın bağıl hacimleri;
- analitik yöntem/yöntemler.

Hesaplama yöntemi (AB A.8):

- yöntemin tanımlanması;
- yöntemin çalışma ilkesi;
- yöntem referansı;
- işlenen parçaların K_{ow} değerlerini doğrulamak için seçilen kaynak hakkında bilgi;
- yöntemin uygulanabilirliği.

HPLC yöntemi (AB A.8/OECD Test Rehberi 117) :

- kullanılan kolon/kolonlar;
- hareketli faz (bileşim, tampon, pH);
- literatürdeki ilgili K_{ow} değerlerine sahip referans maddeleri;
- ölçülen konsantrasyonlar.

Yavaş karıştırma yöntemi (OECD Test Rehberi 123):

- etiketli maddelerin etiket saflığı ve molar aktivite (uygun olan yerlerde);
- numune alma zamanları;
- test kaplarının ve karıştırma koşullarının açıklaması;
- tekrar sayısı;

- deney sırasındaki sıcaklık;
- test başlangıcında, sırasında ve sonrasında kalan 1-oktanol ve su hacimleri;
- test maddesinin 1-oktanol ve su içinde zamanın bir fonksiyonu olarak belirlenmiş konsantrasyonları;
- kullanılan test kabı ve karıştırma koşullarının tanımı (karıştırma çubuğunun ve test kabının geometrisi, mm cinsinden girdap yüksekliği ve mümkün olduğunda: karıştırma hızı);
- test maddesini belirlemek için kullanılan analitik yöntemler (tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti) ve miktar tayin limiti;
- numune alma zamanları;
- sulu fazın ve kullanılan tamponların pH'ı, iyonlaşabilir moleküller için pH ayarlandığında;
- tekrar sayısı;
- kütle dengesinin gösterilmesi;
- sıcaklık ve deney sırasındaki standart sapma ya da sıcaklık aralığı;
- konsantrasyon oranının zamana karşı gerilemesi.

Sonuçlar ve tartışma

- Log Kow için son değer;
- Kow değerleri ve ortalamaları;
- bireysel Kow değerlerinin standart sapması;
- hesaplandığında teorik değer;
- test çözeltilerinin sıcaklığı (°C);
- sulu çözelti/çözeltilerin pH değeri/değerleri;
- tamponların bileşimi ve konsantrasyonu;
- stok çözeltisinin konsantrasyonu;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden herhangi bir sapma ve bunun nedenleri veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Dağılım katsayısı hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.7	7 7.8	Dağılım katsayısı	E.4.8	3.7

R.7.1.9 Parlama noktası

R.7.1.9.1 Özellik türü

Parlama noktası:

- madde karakterizasyonuna yönelik;
- alevlenir sıvıların sınıflandırılmasına yönelik;
- fiziksel zararlılık değerlendirmesi için önemli olan bir özelliktir.

R.7.1.9.2 Tanım

Parlama noktası, 101.325 kPa'ya düzeltilmiş bir basınçta sıvının en düşük sıcaklığıdır (öngörülen şekilde ölçülür), bu durumda bir ateşleme kaynağının uygulanması, sıvının buharının anlık olarak tutuşmasına ve belirtilen test koşulları altında alevin sıvının yüzeyi boyunca yayılmasına neden olur (bkz. bölüm 1.2, Test Yöntemi A.9).

R.7.1.9.3 Test yöntemi/yöntemleri

Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik'ten test yöntemi A.9 - Parlama noktası kullanılabilir. Uygun yöntemler SEA Yönetmeliği Ek 1, 2.6.4.4, Tablo 2.6.3'te listelenmiştir.

Kullanılacak yöntem, sıvının özellikleri (viskozite, mevcut halojenli bileşikler) ve standardın kapsamı dikkate alınarak seçilmelidir.

Yüksek bozunma potansiyeline sahip maddeler için, test edilen madde miktarını azaltmak için küçük miktarlarda sıvı kullanan bir yöntem (örn. EN ISO 3679: Parlama noktasının belirlenmesi - Hızlı denge kapalı kap yöntemi) önerilir.

Sınıflandırma amacıyla, en az iki test çalışmasının ortalamasının kullanılması tavsiye edilir. Denge dışı bir yöntem kullanılırken, deneysel olarak belirlenen parlama noktasının sınıflandırma veya kategori atama için sınırlama kriterinin $\pm 2^\circ\text{C}$ aralığında olduğu tespit edilirse, belirlemenin bir denge yöntemi ile tekrarlanması önerilir.

R.7.1.9.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, parlama noktası için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- *madde inorganik ise;*
- *madde sulu çözeltiler için yalnızca 100 °C'nin üzerinde parlama noktalarına sahip olan uçucu organik bileşenler içeriyorsa, veya*
- *tahmin edilen parlama noktası 200 °C'nin üzerinde ya da*
- *parlama noktası, mevcut tanımlanmış malzemelerin özelliklerinden uyarlama (interpolasyon) yoluyla tam olarak tahmin edilebiliyorsa. "*

İlk madde şu şekilde daha ayrıntılı belirtilmelidir:

- Kovalent bağların olduğu durumlar dışında madde inorganiktir;

bunun nedeni, kovalent bağlara sahip bazı inorganik sıvıların alevlenir olmasıdır (örn. CS₂, N₂H₂, HCN). Üçüncü madde, yalnızca iyi doğrulanmış bir tahmin modeli kullanıldığında uygulanmalıdır.

Dördüncü madde yalnızca, parlama noktasını tahmin etmek üzere doğru bir şekilde interpolasyon yapabilmek için mevcut karakterize edilmiş malzemelerden yeterli güvenilir deneysel veri olduğunda uygulanmalıdır.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Parlama noktasının belirlenmesi için kanıt ağırlığı mümkün değildir.

(Q)SAR

Parlama noktasının belirlenmesi için, nicel yapı aktivite ilişkisinin ortalama mutlak hatasının 2°C'nin altında olduğu durumlar dışında, sınıflandırma/risk değerlendirmesi amacıyla QSAR yaklaşımları önerilmez.

Halojenli olmayan sıvılar için, buhar basıncı eğrisine ve maddenin alt patlama sınırına dayalı hesaplama bir tarama testi olarak kullanılabilir ve hesaplanan değer ilgili sınıflandırma kriterinden en az 5°C daha yüksekse, deneysel olarak bir parlama noktasının belirlenmesine gerek yoktur.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Parlama noktasının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Bu, aşağıdaki durumlarda geçerlidir:

- sıvı patlayıcı ise;
- sıvı piroforik veya kendiliğinden tepkimeye giren bir sıvı ise;
- erime noktası çalışması sırasında bozunma meydana geliyorsa;
- bazı safsızlıklar, tutuşma kaynağı üzerinde sonuçları bozacak/geçersiz kılacak bir etkiye sahipse.

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Kesin ve tutarlı literatür verileri mevcutsa, parlama noktasının deneysel olarak belirlenmesine gerek yoktur.

Taşıma sınıflandırması ile bağlantılı olarak oluşturulmuş, parlama noktasına ilişkin SEA Yönetmeliğinde belirtilenlerle aynı testler ve sınıflandırma ilkeleri ile oluşturulan veriler KKDİK gerekliliklerini karşılayabilir, ancak bu durum bazında kontrol edilmelidir.

R.7.1.9.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar parlama noktası üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Etki, miktara ve safsızlığın buhar basıncına bağlıdır. Konsantrasyonları %0,5'in altında olsa bile, özellikle kaynama noktaları önemli ölçüde daha düşükse, parlama noktası üzerinde güçlü bir etkiye sahip olabilirler. Daha yüksek kaynama noktasına sahip safsızlıklar normalde parlama noktası üzerinde hiçbir etkiye sahip olmayacaktır.

Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.9.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- standarda veya uygulanan test yöntemine referans;
- açık kap veya kapalı kap (sınıflandırma amacıyla sadece kapalı kap yöntemlerine izin verilir);
- denge veya denge dışı yöntem.

Sonuçlar ve tartışma

- doğrulanmış parlama noktası ve birimi;
- yöntemde belirtildiği gibi tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik hakkında veri;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Parlama noktasıyla ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.11	7 7.9	Parlama noktası	E.4.12	3.10

R.7.1.10 Alevlenirlik

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'ye göre bazı bilgi gereklilikleri, SAE Ek 2 içerisinde verilen "zararlı ifadelerine" karşılık gelecek şekilde ifade edilmiştir. Maddeler ve karışımlar (müstahzarlar) için, SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma ve etiketleme zorunludur. Sonuç olarak, alevlenirlik ile ilişkili özellikler, maddenin SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırılması kapsamındadır. Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve organik peroksitlerin "Alevlenirlik" başlığına atandığı ve "Patlayıcı özellikler" başlığının altına yalnızca bir çapraz referans eklendiği unutulmamalıdır, çünkü bu iki zararlılık sınıfı patlayıcı ve/veya alevlenir özelliklere sahip olabilir.

Tablo R.7.1-7 KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Alevlenirlik' bilgi gerekliliğine SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA'ya göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ile destekleyici bağlantı.

KKDİK Yönetmeliği Madde 10 (a) uyarınca bilgi gerekliliği (parantez içindeki no., KKDİK Ek 7 ile ilgili numaradır)	SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Revize R.7(a) rehberind eki bölüm	Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğe göre ilgili test yöntemi	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Kriterleri Uygulama Rehberind eki Bölüm (örn. RIP 3.6)
Alevlenirlik (7.10)	Alevlenir gazlar ¹⁷ (2.2)*	R.7.1.10.1	A.11 Alevlenirlik (gazlar)	ISO 10156 EN 1839	2.2
	Alevlenir sıvılar (2.6)*	R.7.1.10.2	sıvılar için: bkz. Parlama noktası	bkz. SEA, Ek 1, Bölüm 2.6.4.4, Tablo 2.6.3	2.6
	Alevlenir katılar (2.7)*	R.7.1.10.3	A.10 Alevlenirlik (katılar)	BM Test N.1	2.7

¹⁷ Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum açısından, SEA yönetmeliğinde kimyasal olarak kararsız gazlar için alt sınıflandırmalar dahil edilerek SEA Ek 1, Bölüm 2.2 Alevlenir gazlar içerisindeki kriterler düzenlenmiştir.

Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar (2.8)*	R.7.1.10.4	geçerli değildir	BM Test serisi A - H	2.8
Piroforik sıvılar (2.9)*	R.7.1.10.5	A.13 Katıların ve sıvıların piroforik özellikleri	BM Test N.3	2.9
Piroforik katılar (2.10)*	R.7.1.10.6		BM Test N.2	2.10
Kendiliğinden ısınan maddeler ve karışımlar (2.11)*	R.7.1.10.7	geçerli değildir	BM Test N.4	2.11
Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler ve karışımlar (2.12)*	R.7.1.10.8	A.12 Alevlenirlik (Su ile temas)	BM Test N.5	2.12
Organik peroksitler (2.15)*	R.7.1.10.9	geçerli değildir	BM Test serisi A - H	2.15

* Zararlılık sınıfının veya kategorisinin KKDİK Yönetmeliğinde Madde 15 (4) (a) içerisinde listelenip listelenmediğine bakılmaksızın, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin (gerektiğinde) KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (3)'e göre yapılması gerektiğine dikkat edilmelidir. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinde Madde 11 (1)(a)(4)'e göre, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bir madde kaydının teknik dosyası, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4'te belirtildiği gibi maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin bilgileri içermelidir.

İlave olarak, bazı maddelerin sınıflandırmaya yol açmayan alevlenir özelliklere sahip olduğuna dikkat edilmelidir. Örnekler aşağıda belirtilmiştir:

- 20°C ve standart basınçta alevlenir aralığı olmayan (ve bu nedenle alevlenir gazlar olarak sınıflandırılmayan) gazlar, daha yüksek sıcaklıklarda ve/veya basınçta (örneğin amonyak) alevlenir bir aralığa sahip olabilir;
- parlama noktası olmayan (ve bu nedenle alevlenir sıvılar olarak sınıflandırılmayan) sıvılar bir patlama aralığına sahip olabilir (özellikle halojenli hidrokarbonlar).

Bu tür özelliklerle ilgili bilgiler de dosyada belirtilmelidir.

R.7.1.10.1 Alevlenir gazlar

Tanım

'Alevlenir gaz, 20°C'de ve 101,3 kPa standart basınçta hava ile alevlenir aralığı olan bir gaz veya gaz karışımı anlamına gelir' (SEA Yönetmeliği Ek 1, Bölüm 2.2.1).

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Alevlenir gazlar, alevlenirlik aralıklarına bağlı olarak iki kategoriye ayrılır (SEA Yönetmeliği Ek 1, Bölüm 2.2.2. Tablo 2.2.1).

Sınıflandırma kriterleri ve test yöntemi/yöntemleri hakkında ayrıntılı rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.2¹⁸ içerisinde bulunabilir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, alevlenirlik için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- *madde, patlayıcı ya da piroforik özellikler taşıyan bir katı maddeyse. Bu özellikler her zaman için alevlenirlikten önce ele alınmalıdır veya*
- *gazlar söz konusu olduğunda, soygazlar içeren bir karışımdaki alevlenir gazın derişimi havayla karıştırıldığında alt sınırdan daha düşükse,*
- *havayla temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler söz konusu olduğunda. "*

İlgili noktalar başka kelimelerle ifade edilebilir (ilk nokta bu bölümle ilgili değildir), yani çalışmanın yürütülmesine gerek yoktur:

- bir karışımdaki alevlenir gazın konsantrasyonu hava ile karıştırıldığında alt sınırın altında ise;
- gaz hava ile temas ettiğinde kendiliğinden tutuşuyorsa.

Hava ile temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan gazlar piroforiktir ve bu nedenle alevlenir gazlardır.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- *Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler*

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Birçok gaz, SEA Yönetmeliği Ek 6'da Alev. Gaz 1 veya Alev. Gaz 2 olarak sınıflandırılır ve ilave olarak alevlenir gazlar, sınıflandırmaları SEA Yönetmeliğine göre Alev. Gaz 1'e karşılık gelen şekilde UN-RTDG içerisinde listelenmiştir.

¹⁸ Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum açısından, SEA yönetmeliğinde kimyasal olarak kararsız gazlar için alt sınıflandırmalar dahil edilerek SEA Ek 1, Bölüm 2.2 Alevlenir gazlar içerisindeki kriterler düzenlenmiştir. Sonuç olarak, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), Bölüm 2: Fiziksel zararlılıklar, maddeler ve karışımlar için geçerli olan 4. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyumu dikkate alacak şekilde yeniden yapılandırılmıştır. 4. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum uygulandığında, [SEA kriterleri uygulama rehberindeki](#) güncel olmayan alt bölüm 2.2.1 Alevlenir gazları silmek için bir rehber düzeltmesi yapılacaktır.

- Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

SEA Yönetmeliği Ek 6'da veya UN-RTDG içerisinde sınıflandırılmamış gazlar için, çoğu gaz için alevlenirlik aralığını veren bol miktarda bilimsel literatür mevcuttur (örn., IEC 60079-20-1 *Alevlenir gazlar ve buharlar için veriler, elektrikli cihazların kullanımı* - (revizyon altında).

- (Q)SAR

Şu anda, gazların patlama (/alevlenirlik) sınırlarının belirlenmesi için genellikle (Q)SAR uygulanamaz.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Alevlenir gazların belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Alevlenir olmadığı bilinen gazlar için daha ileri uyarlanma mümkündür. Örnekler nitrojen, asal gazlar (helyum, neon, argon, kripton, ksenon), karbon dioksit ve sülfür hekzaflorüdüdür. KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Testler, normal imalat sürecinde karşılaşılan gazdaki en düşük safsızlık konsantrasyonu ile gerçekleştirilmeli ve nem içeriği % mol ile eşit veya daha az olmalıdır. Seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının kullanımının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

Havada alevlenirlik aralığına sahip tüm gazlar , SEA Yönetmeliği Ek 6 Tablo 3.2'ye göre farklı şekilde sınıflandırılmadıkça, 'Çok kolay alevlenir F+; R12' olarak sınıflandırılır. Bu, SEA Yönetmeliğine göre (Kategori 1 veya 2) alevlenir gazlar olarak sınıflandırılan tüm gazların 'Çok kolay alevlenir F+; R12 ' olarak sınıflandırıldığı anlamına gelir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- test sıcaklığı;
- test edilmiş konsantrasyonlar.

Sonuçlar ve tartışma ve Başvuru Sahibinin Özeti ve sonucu (sonuçların yorumlanması)

- % hacim cinsinden alt ve üst patlama sınırları gösterilir;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

SEA sınıflandırma gerekliliklerine göre alevlenir gazların testleri için, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.2 ve 2008/47/CE Direktifi incelenmelidir.

R.7.1.10.2 Alevlenir sıvılar**Tanım**

Alevlenir sıvı, alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımları oluşturabilen bir sıvı anlamına gelir. SEA Yönetmeliği kapsamında, "Alevlenir sıvı", 60°C'den fazla olmayan bir parlama noktasına sahip sıvı anlamına gelir (bkz. SEA Ek 1, bölüm 2.6.1).

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Alevlenir sıvılar, kaynama noktalarına ve parlama noktalarına göre SEA Yönetmeliği kriterleri uyarınca (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.6, tablo 2.6.1) üç kategoride sınıflandırılır. Sürekli alevlenirlik bilgisine dayalı olarak 35°C'nin üzerinde bir parlama noktasına sahip Alev. Sıvı Kat. 3 için istisna mümkündür (bkz. SEA Ek 1, bölüm 2.6.4.5).

Ayrıca, $\geq 55^{\circ}\text{C}$ ile $\leq 75^{\circ}\text{C}$ arasında bir parlama noktasına sahip gaz yağları, dizel ve hafif ısıtma yağları, SEA Yönetmeliğine göre Kategori 3 alevlenir sıvılar olarak görülebilir (SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.6, tablo 2.6.1).

Ayrıca, EUH018 - '*Kullanımda alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımı oluşturabilir*', SEA Yönetmeliği kapsamında sınıflandırılan ve parlama noktası olmamasına rağmen alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımları oluşturabilen maddelere atanmalıdır. (örn. CH_2Cl_2 , $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3$ Bu gibi durumlarda alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımının oluşup oluşmayacağına EN 1839'a göre patlama sınırlarının belirlenmesine veya EN 15794'e göre patlama noktalarının belirlenmesine bağlı olarak karar vermek mümkündür. Alt patlama sınırını veya alt patlama noktasını belirlemek yeterlidir.

Sınıflandırma kriterleri ve test yöntemi/yöntemleri hakkında ayrıntılı rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.6 içerisinde bulunabilir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

"Alevlenirlik" (7.10), "kaynama noktası" (7.3) ve "parlama noktası" (7.9) girişleri birbiriyle ilgilidir. Son iki giriş için, bu belgedeki ilgili bölümler incelenebilir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, alevlenirlik için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- *madde, patlayıcı ya da piroforik özellikler taşıyan bir katı maddeyse. Bu özellikler her zaman için alevlenirlikten önce ele alınmalıdır veya*
- *gazlar için, inert gazlarla bir karışım içerisindeki alevlenir gazın konsantrasyonu, hava ile karıştırıldığında konsantrasyon her zaman [yani 'sürekli'] alt sınırın altında olacak kadar düşükse; veya*
- *havayla temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler söz konusu olduğunda. "*

İlgili noktalar farklı kelimelerle anlatılabilir (ilk iki nokta bu bölümle ilgili değildir), 3. madde alevlenirlik için KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin hava ile temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler için test gerektirmediğini belirtir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- *Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler*

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- **Kanıt ağırlığı**

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- **(Q)SAR**

Ek 7, 7.8'deki veri gerekliliklerini karşılamak için bağımsız bir değer olarak kullanılmak üzere, QSAR modelleri Ek 11, 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır. "Kaynama noktası" (7.3) ve "parlama noktası" (7.9) girişleri de birbiriyle ilgilidir, bu nedenle daha fazla bilgi için her bir QSAR alt bölümü incelenebilir.

Sürekli yanıcılık

Şu anda (Q)SAR bulunmamaktadır.

Daha fazla referans için ayrıca [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), bölüm 2.6 incelenmelidir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

"Kaynama noktası" (7.3) ve "parlama noktası" (7.9) yine birbiriyle ilgilidir. Bu girişlerin her ikisi için de bu belgedeki ilgili bölümler incelenmelidir.

Sürekli yanıcılık

Sürekli yanıcılığın belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir Aşağıdaki durumlarda test yapmak mümkün

değildir:

- sıvı patlayıcı ise;
- sıvı piroforik veya kendiliğinden tepkimeye giren bir sıvı ise;

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Kapalı kap yöntemi ile belirlendiğinde kaynama noktası ve parlama noktası, onaylanmış literatürden patlama sınırları veya alt patlama noktası ile ilgili verilerin kullanılması (bkz. aşağıdaki bölüm Diğer bilgiler/referanslar) mümkündür. Taşıma sınıflandırmasıyla ilgili olarak oluşturulan kaynama noktası verileri de Ek 11 gerekliliklerini karşılayabilir. Taşıma sınıflandırması ile ilgili olarak üretilen parlama noktasına ilişkin veriler, kapalı kap yöntemleri kullanılmışsa Ek 11 gerekliliklerini karşılayabilir. Bununla birlikte, "alevlenir sıvı" olarak taşıma sınıflandırmasının olmadığı durumlarda dikkatli olunmalıdır, çünkü bazı maddeler parlama noktası olmamasına rağmen alevlenir/patlayıcı buhar-hava karışımları oluşturabilir.

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Safsızlıklar; belirsizlikler Kaynama noktası:

Safsızlıklar ana bileşenin kaynama noktasını etkileyecektir. Etki, safsızlığın miktarına ve kaynama noktasına bağlıdır. Miktar ne kadar yüksek ve ana bileşenin ve safsızlığın kaynama noktaları arasındaki fark ne kadar yüksekse, etki o kadar yüksek olur.

Parlama noktası:

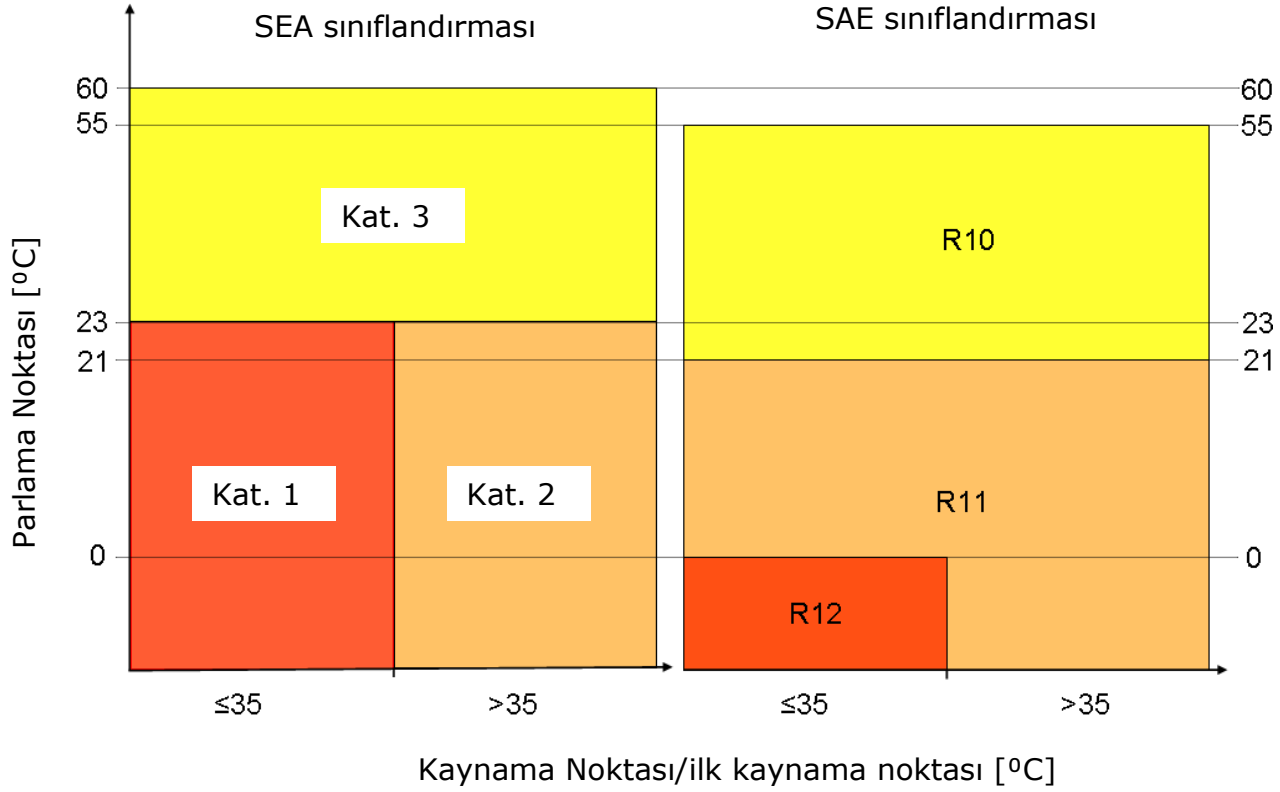
Bir numune ana bileşenden daha düşük kaynama noktasına sahip safsızlıklar içerdiğinde özel dikkat gösterilmelidir. Konsantrasyonları %0,5'in altında olsa bile, özellikle kaynama noktaları önemli ölçüde daha düşükse, test sonucu üzerinde güçlü bir etkiye sahip olabilirler. Daha yüksek kaynama noktasına sahip safsızlıklar normalde parlama noktası üzerinde hiçbir etki göstermez.

Sürekli yanıcılık:

Daha düşük kaynama noktasına sahip safsızlıklar, yanmayı sürdürme yeteneğini etkileyebilir. Bununla birlikte, safsızlıkların etkisini ölçmek henüz mümkün değildir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

Kaynama noktası ve parlama noktası hakkındaki verilere dayanarak, ilgili SAE kriterlerine göre SAE sınıflandırması mümkündür. SEA sınıflandırması ile SAE sınıflandırması arasında basitleştirilmiş doğrudan bir çevrim mümkün değildir, aşağıdaki şekil incelenmelidir ([Şekil R.7.1-1](#)).



Şekil R.7.1-1 SAE ve SEA sınıflandırmasının karşılaştırması

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Alevlenir sıvı olarak sınıflandırmayla ilgili verileri (parlama noktası ve kaynama noktası) raporlayan fizikokimyasal çalışmalar, ilgili KKS sonlanma noktası kayıtlarında raporlanacaktır.

Malzeme ve yöntemler

Bkz. bölüm [R.7.1.9](#) Parlama noktası ve [R.7.1.3](#) Kaynama noktası.

Sonuçlar ve tartışma

- doğrulanmış parlama noktası ve birimi;
- yöntemde belirtildiği gibi tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik hakkında veri;
- ölçülen kaynama noktası değeri (C);
- basınç değeri ve birim;
- sıcaklık artışı hızı;
- bozunma (mevcutsa);
- varsa ölçüm belirsizliği;

- °C cinsinden kaynama noktası değeri (kaynama noktasının düşük basınçlarda belirlendiği durumlar hariç standart basınca göre düzeltilmiştir) (yukarıdaki gibi, ancak ayrı bir alan bloğunda);
- varsa patlama sınırları;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

Ayrıca bkz. R.7.1.3 Kaynama noktası ve 0 Parlama noktası. SEA sınıflandırma gerekliliklerine göre alevlenir sıvıların testleri için, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.6 incelenmelidir.

R.7.1.10.3 Alevlenir katılar

Tanım

'Alevlenir bir katı, kolay yanabilen veya sürtünmeye bağlı olarak yangına neden olabilen veya katkıda bulunabilen bir katıdır. Kolay yanabilen katılar, yanan bir kibrit gibi bir yakma kaynağı ile kısa bir süre temas ettiğinde kolayca tutuşan ve alevi hızla yayılan, toz halinde, granüler halde veya macun kıvamındaki zararlı maddeler veya karışımlardır' (bkz. SEA Yönetmeliği, Ek 1 Bölüm 2.7.1).

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Katı maddeler ve karışımlar, UN-MTC bölüm 33.2.1'de açıklanan BM Test N.1 kullanılarak yanma davranışlarına göre iki kategoride alevlenir olarak sınıflandırılır (bkz. SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.7).

[SEA kriterleri uygulama rehberinde](#) Bölüm 2.7 alevlenir katıların SEA sınıflandırması, BM Test N.1 ve SAE ile UN-RTDG yönetmelikleriyle ilişkisi hakkında ayrıntılı bilgi verir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, alevlenir katılar için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- madde, patlayıcı ya da piroforik özellikler taşıyan bir katı maddeyse. Bu özellikler her zaman için alevlenirlikten önce ele alınmalıdır veya

- *gazlar söz konusu olduğunda, soygazlar içeren bir karışımdaki alevlenir gazın konsantrasyonu, hava ile karıştırıldığında konsantrasyon her zaman [yani 'sürekli'] alt sınırın altında olacak kadar düşükse; veya*
- *havayla temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler söz konusu olduğunda. "*

İlk maddeyle ilgili olarak, bir katının alevlenirliğinin test edilmesi, SEA Yönetmeliğindeki sınıflandırmanın bir parçasıdır. [SEA kriterleri uygulama rehberinin](#), sınıflandırma gereklilikleri hakkındaki 2.7 bölümü de incelenmelidir. Patlayıcı özelliklere sahip maddeler için, alevlenir katı olarak sınıflandırma testleri feragat edilebilir. Bu, patlayıcılar, organik peroksitler ve kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar olarak sınıflandırılan maddeler ve karışımlar için geçerlidir.

İkinci madde, bu sonlanma noktası için geçerli değildir.

Üçüncü madde ile ilgili olarak, hava ile temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler, SEA Yönetmeliğinde tanımlanan şekilde piroforik maddelerdir (bkz. [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.10). Bu tür maddeler SEA Yönetmeliği uyarınca alevlenir katılar olarak değil, piroforik katılar olarak sınıflandırılır.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- *Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler*

Alevlenirlik büyük ölçüde partikül boyutuna, yüzey işlemine ve diğer parametrelere bağlı olduğundan literatür verileri - mevcut olsa bile - kullanılmamalıdır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

A.10 test yönteminden elde edilen mevcut veriler, alevlenir katı olarak sınıflandırmanın geçerli olmadığını gösteriyorsa (sonuç: kolay alevlenir değildir), daha fazla test yapmaya gerek yoktur. Bununla birlikte, A.10 test yöntemi "kolay alevlenir" sonucuna varırsa, ıslatılmış bölgenin etkisini BM Test N.1'de açıklandığı gibi belirlemek de gerekecektir.

- *Kanıt ağırlığı*

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- *(Q)SAR*

Şu anda alevlenir katılar için genellikle (Q)SAR geçerli değildir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

- *Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı* Şu anda, gruplama ve çapraz okuma geçerli değildir.

- *Test teknik olarak mümkün değildir*

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Uygun bir tarama testi, maddenin alevlenir olmadığını açıkça gösteriyorsa, daha fazla test gerekli değildir (ayrıca bkz. [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.7.4.2). Uygun bir tarama testi örneği, VDI rehberinde (VDI Rehberi, 1990) açıklanan yanma indeksidir, eğer 3 veya daha az yanma indeksi belirlenirse, madde alevlenir bir katı olarak sınıflandırılmamalıdır ve başka test gerekmez.

SEA Yönetmeliğine göre patlayıcılar, organik peroksitler, kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar ile piroforik veya oksitleyici katılar olarak sınıflandırılan maddeler ve karışımlar, alevlenir katılar olarak sınıflandırma için dikkate alınmamalıdır (bkz. [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.7.3).

Bununla birlikte, bir madde UN-MTC içerisinde açıklandığı gibi BM Test Serisi 1 veya 2'de pozitif sonuç veriyorsa, ancak BM Test Serisi 6'ya göre patlayıcı olarak sınıflandırmadan muaf tutulmuşsa, alevlenir bir katı olarak sınıflandırmak için bir test yapılmalıdır.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar bir katının alevlenirliği üzerinde büyük bir etkiye sahip olma eğiliminde değildir. Bununla birlikte, saf halde alevlenir olmayan bir katı, alevlenir organik sıvılar veya organometalik safsızlıklar içeriyorsa, daha hızlı yanabilir ve böylece alevlenir hale gelebilir. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının kullanımının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SEA Yönetmeliğine göre alevlenir katı olduğu belirlenen herhangi bir madde, SAE yönetmeliğine göre 'F; R11' olarak sınıflandırılmalıdır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standarda veya test yöntemine referans

Katı alevlenirliği:

- ön testin ve/veya ana testin yapılıp yapılmadığı gösterilir;
- nem içeriği;
- tanecik boyutu ve dağılımı (varsa) (bkz. [R.7.1.14](#) Granülometri).

Sonuçlar ve tartışma

- yanma süresi belirtilir
- ıslanan bölgenin geçişi/geçemeyişi (BM Testi N.1 durumunda);
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

VDI Rehberi 2263, bölüm 1, (1990): "Tozların Güvenlik Özelliklerinin Belirlenmesi için Test Yöntemleri".

SEA sınıflandırma gerekliliklerine göre alevlenir katıların testleri için, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.7 de incelenmelidir.

R.7.1.10.4 Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar

SEA Yönetmeliğinde kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ayrı bir zararlılık sınıfıdır. Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.8.2.3'te verilen sınıflandırma kriterlerine göre "Tip A-G" arasındaki yedi kategoriden birinde sınıflandırılır.

Aşağıda "Tanım" alt bölümünde bahsedildiği gibi, kendiliğinden tepkimeye giren maddeler için, UN-MTC Kısım I içerisinde Test Serisi 1 - 8'e göre patlayıcı olarak test gerçekleştirilmez (bkz. Patlayıcılar). Ancak, Test Serileri A - H içerisinde, darbe (katılar ve sıvılar) ve sürtünmeye (yalnızca katılar) hassasiyet testleri dahil edilmemiştir. Risk değerlendirmesi ile güvenli kullanım ve elleçleme için, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklandığı gibi test yöntemi A.14'e göre veriler (mevcutsa) veya BM Test 3 (a) (ii) BAM düşen çekiç cihazı ve Test 3 (b) (i) BAM sürtünme cihazına göre veriler (bkz. R.7.1.11), kayıt dosyasında (KKDİK Ek 7, 7.11) ve güvenlik bilgi formunda zararlılık iletişiminin bir parçası olmalıdır.

Tanım

Kendiliğinden tepkimeye giren bir maddenin tanımı, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.8.1'de verilmiştir:

'Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler veya karışımlar, oksijen (hava) katılımı olmadan dahi güçlü bir ekzotermik ayrışmaya uğrayabilecek termal olarak kararsız sıvı veya katı maddeler veya karışımlardır. Bu tanım, bu bölüme göre patlayıcı, organik peroksit veya oksitleyici olarak sınıflandırılan maddeleri ve karışımları kapsamaz. Bir formülasyon laboratuvar testlerinde kapalı bir kap içinde ısıtıldığında, patlamaya, hızla tutuşmaya veya şiddetli bir etki göstermeye yatkın ise, kendiliğinden tepkimeye giren bu madde veya karışımın patlayıcı özellikler taşıdığı kabul edilir. '

Tanımla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.8.1 ve 2.8.2'de verilmektedir.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Sınıflandırma ilkeleri, SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.8.2 ve 2.8.4'te verilmiştir. Sınıflandırmayla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.8.4, 2.8.5 ve 2.8.6 içerisinde verilmektedir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

Yalnızca bölüm tanımında tanımlanan kendiliğinden tepkimeye giren maddeler UN-MTC, Kısım II test serisi A - H'ye göre test edilmelidir.

SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.8.2.1, kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Kendiliğinden tepkimeye giren herhangi bir madde veya karışım, aşağıdaki durumlar haricinde bu sınıfta kendiliğinden tepkimeye giren madde veya karışım olarak sınıflandırma için değerlendirilmelidir:

- a. 2.1'de verilen kriterlere göre patlayıcıysa;
- b. %5 veya daha fazla yanıcı organik madde içeren oksitleyici madde karışımlarının 2.8.2.2'de tanımlanan prosedüre göre kendiliğinden tepkimeye giren maddeler olarak sınıflandırılması dışında 2.13 veya 2.14'te verilen kriterlere göre oksitleyici sıvılar veya katıllarsa;
- c. 2.15'te verilen kriterlere göre organik peroksitler ise;
- d. bozunma ısı 300 J/g'den azsa; veya
- e. kendiliğinden hızlanan bozunma sıcaklıkları (SADT), 50 kg'lık bir ambalaj için 75°C'den yüksekse¹⁹.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Halihazırda test edilmiş ve sınıflandırılmış bir dizi madde ve karışım, UN-RTDG, bölüm 2.4.2.3.2.3 içerisinde listelenmiştir. Mevcut bilgilerin kaynağı taşımacılık sınıflandırması olabilir. Daha fazla bilgi, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 1.7.2.1 ve 2.8.6 içerisinde verilmektedir.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

¹⁹ BM RTDG, alt bölüm 28.1, 28.2, 28.3 ve Tablo 28.3 incelenmelidir.

- Kanıt ağırlığı

Kendiliğinden tepkimeye giren maddelerin ve karışımların belirlenmesi için kanıt ağırlığı mümkün değildir.

- (Q)SAR

Şu anda kendiliğinden tepkimeye giren maddelerin belirlenmesi için (Q)SAR genellikle geçerli değildir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Şu anda, gruplandırma ve çapraz okuma geçerli değildir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Güvenlik nedenleriyle, az sayıda madde yalnızca seyreltilmiş biçimde işlenebilir ve test edilebilir, UN-RTDG, bölüm 2.4.2.3.2.3'te listelenen maddeler ve karışımlara bakılmalıdır.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Az safsızlıklar termal kararlılık üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Bu yönlerle ilişkin temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.8.4.3 içerisinde verilmektedir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SAE Yönetmeliğinde kendiliğinden tepkimeye giren maddeler kapsamamaktadır. Diğer SAE sınıflarında sınıflandırılabilirler (örn. patlayıcı madde, alevlenir katı veya sıvı). Ayrıca, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.8.6.1 incelenmelidir.

Kayıt dosyasında KKS materyalleri ve yöntemlerinde hangi bilgiler gereklidir?

- Bkz. UN-MTC, Bölüm 2, sınıflandırma prosedürleri ve test serileri A-H.

Sonuçlar ve tartışma

Kendiliğinden tepkimeye giren maddelere ilişkin aşağıdaki veriler sunulmalıdır:

- kendiliğinden reaktif madde türü;
- bozunma enerjisi (değer ve belirleme yöntemi);
- Kendiliğinden hızlanan bozunma sıcaklığı (SADT), kendiliğinden hızlanan bozunma sıcaklığının ilgili olduğu hacim ile birlikte;
- patlama özellikleri (Evet/Kısmi/Hayır);
- tutuşma özellikleri (Evet hızlı/Evet yavaş/Hayır);
- kapalı kaptaki ısıtmanın etkisi (Şiddetli/Orta/Düşük/Hayır);
- mümkünse patlayıcı gücü (Düşük değil/Düşük/Yok).

Kendiliğinden tepkimeye giren madde türünü atamak için, UN-RTDG 2.4.2.3.2.3 uyarınca halihazırda atanmış kendiliğinden tepkimeye giren maddelerin listesi, atamanın UN-MTC uyarınca test/testlere dayandığı durumlarda kullanılabilir.

İlgili temel test verileri, ilgili BM belgelerinden, BM'nin Tehlikeli Malların Taşınması konusundaki uzmanlar komitesinden, yetkili makamlar veya endüstri tarafından üretilen test raporlarından veya diğer güvenilir kaynaklardan toplanabilir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Aşağıdaki örnek (Şekil R.7.1-2), yukarıda belirtilen verilerin kimyasal güvenlik raporunda (KGR) nasıl belgelenebileceğini göstermektedir:

Şekil R.7.1-2 Örnek 2,2'-Azodi (izobütironitril)

BM Test serisi A - H	Test yöntemi	Sonuçlar + Değerlendirme	Notlar
Patlamanın yayılması	A.5	"evet"	Serbest yoğunluk (kg/m ³): 366 Parçalanmış uzunluk (cm): 40
Tutuşmanın yayılması #1	C.1	"evet, yavaşça"	68 ms
Tutuşmanın yayılması #2	C.2	"hayır"	
Kapalı kapta ısıtmanın etkisi #1	Koenen E.1	"şiddetli"	Sınırlayıcı çap 3.0 mm Parçalanma türü: F
Kapalı kapta ısıtmanın etkisi #2	DPVT E.2	"orta"	Sınırlayıcı çap 5.5 mm
Patlayıcı güç	F.4	"düşük değil"	Ortalama net genişleme (cm ³): 18
SADT	H.4	50 °C	500 ml Dewar kabı
Yetkili merci onay numarası	<i>Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin BM Tavsiyeleri, Test ve Kriterler El Kitabından örnek</i>		

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

"Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler" zararlılık sınıfı için KKS'de bir şablon veri seti mevcut değildir. KKS'de özel bir bölüm bulunmadığı sürece, KKS bölüm 4.23'teki 'Ek fiziko-kimyasal bilgiler' içinde 'Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler' sonlanma noktası başlığı altında test sonuçları eklenmelidir. KGR'de, bilgiler alevlenirlik altına dahil edilmelidir.

Diğer bilgiler / referanslar

Sınıflandırma testleri, ek testler ve mevcut bilgiler hakkında temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.8 içerisinde verilmektedir.

R.7.1.10.5 Piroforik sıvılar

Tanım

Piroforik sıvının tanımı, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.9.1'de verilmiştir:

"Piroforik sıvı, çok küçük miktarlarda dahi hava ile temasa girdikten sonra beş dakika içerisinde tutuşabilen sıvı madde veya karışımdır."

Tanımla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.9.1 ve 2.9.2'de verilmektedir.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Sınıflandırma ilkeleri, SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.9.2'te verilmiştir.

Bir piroforik sıvının kriterleri aşağıda verilen şekildedir: 'Sıvı, eylemsiz bir taşıyıcıya konulduğunda ve hava ile temas ettiğinde 5 dakika içerisinde tutuşur veya; 5 dakika içerisinde bir filtre kağıdını tutuşturur veya kömürleştirir.'

Sınıflandırmayla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.9.1, 2.9.2, 2.9.3 ve 2.9.4 içerisinde verilmektedir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

Madde piroforik bir madde ise, kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi ile diğer alevlenirlik testlerinin yapılması gerekli değildir. Bununla birlikte, suyla temas halinde alevlenirlik ilgili olabilir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

UN-MTC içerisindeki BM Test N.3 de tehlikeli malların taşınması (ADR ve RID) yönetmeliklerine göre sınıflandırma için kullanılır. Söz konusu sıvı, BM Test N.3 sonuçlarına göre ADR/RID Sınıf 4.2, ambalajlama grubu I'e ait olarak sınıflandırılmışsa, SEA kriterlerine göre piroforik bir sıvıdır. ADR/RID ambalajlama grubu I, doğrudan SEA Kategori 1'e karşılık gelir.

SAE'ye göre, sıvılar ve sıvılar için piroforik özelliklerin değerlendirilmesi amacıyla Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik A.13 yöntemi kullanılır. Bu yöntem, BM Test N.3 ile aynıdır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- (Q)SAR

(Q)SAR uygulanması mümkün değildir, ancak kimyasal yapının değerlendirilmesi bir maddenin piroforik özelliklerini hariç tutmak için kullanılabilir. Kimyasal yapıya ilişkin bu tür bir değerlendirme, imalat ve elleçleme konusundaki deneyimle bağlantılı şekilde, resmi olarak bir kanıt ağırlığı argümanının bir parçasını oluşturabilir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Kimyasal yapının değerlendirilmesi, bir maddenin piroforik özelliklerini tahmin etmek için kullanılabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Piroforik özelliklerden dolayı fizikokimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik sonlanma noktaları üzerinde başka testler yapılamaz.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Bu yönlere ilişkin daha fazla temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.9 içerisinde verilmektedir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SAE ve SEA Yönetmeliklerinin test yöntemleri bu sonlanma noktası için aynı olduğundan, sınıflandırmada bir farklılık yoktur, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.9.6 da incelenmelidir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standarda veya test yöntemine referans

Bu durumda kullanım tecrübesinin yeterli olabileceği unutulmamalıdır.

Sonuçlar ve tartışma

- döküldüğünde tutuşma meydana gelip gelmediği veya filtre kağıdının kömürleşip kömürleşmediği;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

Sınıflandırma testleri, ek testler ve mevcut bilgiler hakkında temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.9 içerisinde verilmektedir.

R.7.1.10.6 Piroforik katılar

Tanım

Piroforik katının tanımı SEA Yönetmeliği Ek 1, Bölüm 2.10.1'de verilmiştir.

'Piroforik katı, çok küçük miktarlarda dahi hava ile temasa girdikten sonra beş dakika içerisinde tutuşabilen bir katı madde veya karışımdır.'

Tanımla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.10.1 ve 2.10.2'de verilmektedir.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Sınıflandırma ilkeleri, SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.10.2'te verilmiştir.

Bir piroforik katının kriterleri aşağıda verilen şekildedir: *'Katı, hava ile temas ettikten sonra 5 dakika içinde tutuşur.'*

Sınıflandırmayla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.10.1, 2.10.2, 2.10.3 ve 2.10.4 içerisinde verilmektedir.

Standart test rejiminin uyarlanması

[KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları](#)

Madde piroforik bir madde ise, kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi ile diğer alevlenirlik testlerinin yapılması gerekli değildir. Bununla birlikte, suyla temas halinde alevlenirlik ilgili olabilir.

[KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları](#)

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

UN-MTC içerisindeki BM Test N.2 de tehlikeli malların taşınması (ADR ve RID) yönetmeliklerine göre sınıflandırma için kullanılır. Söz konusu katı, BM Test N.2 sonuçlarına göre ADR/RID Sınıf 4.2, ambalajlama grubu I'e ait olarak sınıflandırılmışsa, SEA Yönetmeliği kriterlerine göre piroforik bir katıdır. ADR/RID ambalajlama grubu I, doğrudan SEA Kategori 1'e karşılık gelir.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- (Q)SAR

(Q)SAR uygulanması mümkün değildir, ancak kimyasal yapının değerlendirilmesi bir maddenin piroforik özelliklerini hariç tutmak için kullanılabilir. Kimyasal yapıya ilişkin bu tür bir değerlendirme, imalat ve elleçleme konusundaki deneyimle bağlantılı şekilde, resmi olarak bir kanıt ağırlığı argümanının bir parçasını oluşturabilir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Kimyasal yapının değerlendirilmesi, bir maddenin piroforik özelliklerini tahmin etmek için kullanılabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Piroforik özelliklerden dolayı fizikokimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik sonlanma noktaları üzerinde başka testler yapılamaz.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Partikül boyutu önemli bir rol oynayabilir. Bu yönere ilişkin daha fazla temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.10 içerisinde verilmektedir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SAE ve SEA Yönetmeliklerinin Tüzüğü'nün test yöntemleri bu sonlanma noktası için aynı olduğundan, sınıflandırmada herhangi bir farklılık yoktur, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.10.6 da incelenmelidir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- tanecik büyüklüğü ve dağılımı (eğer uygulanabilirse);

Bu durumda kullanım tecrübesinin yeterli olabileceğini unutmayın.

Sonuçlar ve tartışma

- döküldüğünde tutuşma meydana gelip gelmediği ;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

Sınıflandırma testleri, ek testler ve mevcut bilgiler hakkında temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.10 içerisinde verilmektedir.

R.7.1.10.7 Kendiliğinden ısınan maddeler ve karışımlar

Tanım

Geniş bir yüzeye tutunan katılar ve sıvılar için, havayla tepkime ve ardından tutuşma yoluyla kendiliğinden ısınma meydana gelebilir. SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.11.1.1'e göre:

'Kendiliğinden ısınan bir madde veya karışım, piroforik sıvı veya katı madde dışında, hava ile tepkimeye girerek ve enerji gerektirmeksizin kendiliğinden ısınmaya yatkın bir sıvı veya katı madde ya da karışımdır; bu madde veya karışım sadece büyük miktarlarda (kilogram) ve uzun bir süre sonunda (saatler veya günler sonra) tutuştuğundan piroforik sıvı veya katı maddelerden farklıdır.'

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Kendinden ısınan maddeler ve karışımlar, SEA Yönetmeliği kriterlerine göre iki kategoride sınıflandırılır (bkz. Bölüm 2.11, tablo 2.11.1). Genel olarak, kendiliğinden ısınma yalnızca hava ile temas halindeki katılar için meydana gelir. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 2.11, bu olgu hakkında ayrıntılı temel bilgiler sağlamaktadır.

Standart test rejiminin uyarlanması

[KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları](#)

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, kendiliğinden tutuşma sıcaklığı için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- madde patlayıcıysa ya da oda sıcaklığında havayla temasında kendinden tutuşabiliyorsa, veya*
- havada alevlenir olmayan sıvılar için, örn. 200°C'ye kadar parlama noktası yoksa, veya*
- alevlenme aralığı bulunmayan gazlar için ya da*
- maddenin erime noktası 160°C veya daha düşükse ya da maddenin kendinden 400°C'ye kadar ısınması ilk sonuçlarda görülüyorsa katı maddeler için. "*

İlk madde, patlayıcı olan veya oda sıcaklığında hava ile kendiliğinden tutuşan maddeler için veri gerekli olmadığını belirtir.

İkinci ve üçüncü madde bu sonlanma noktası için geçerli değildir.

Dördüncü madde ile ilgili olarak, KKDİK amaçları doğrultusunda, aşağıdaki şekilde sınıflandırılan katılar için veriye gerek yoktur:

- piroforik ; veya
- patlayıcı, kararsız veya bölüm 1.1 ila 1.6; veya
- organik peroksit; veya
- kendiliğinden tepkimeye giren madde.

Ayrıca, erime noktası 160°C'nin altında olan maddeler için veri gerekli değildir. Bu, aynı zamanda, sıvıların bu yönetmeliğin amaçları doğrultusunda bu sonlanma noktası için test edilmesine gerek olmadığı anlamına gelir. KKDİK Yönetmeliği Ek 7, 'eğer ön sonuçlar maddenin 400°C'ye kadar kendiliğinden ısınmasını kapsamazsa' feragat edilmesine izin verir. Burada, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik, yöntem A.16 referans alınmaktadır. Bununla birlikte, kriterler çok açık değildir ve bu nedenle, bunun yerine SEA Yönetmeliği sınıflandırma kriterlerine atıfta bulunulması ve aksi takdirde feragat edilmesi önerilir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- [Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 \(3\)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler](#)

Literatür verileri - mevcut olsa bile - kullanılmamalıdır çünkü kendiliğinden ısınma büyük ölçüde partikül boyutuna, yüzey işlemine ve diğer parametrelere bağlıdır.

Mevcut verilerin kullanılması, testin nitelikli bir kurum tarafından gerçekleştirilmiş olması koşuluyla mümkündür. Yöntem A.16'ya göre bir testten elde edilen mevcut veriler, kendiliğinden ısınan bir madde olarak sınıflandırmanın geçerli olmadığını gösteriyorsa, daha fazla teste gerek yoktur. Bununla birlikte, A.16 test yöntemi verilerinin SEA Yönetmeliği kriterleri açısından yorumlanması, uygun uzman bilgisi gerektirir.

- [Kanıt ağırlığı](#)

Kendiliğinden ısınan maddelerin ve karışımların belirlenmesi için kanıt ağırlığı mümkün değildir.

- [\(Q\)SAR](#)

Şu anda kendiliğinden ısınan maddeler ve karışımlar için (Q)SAR genellikle geçerli değildir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

- [Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı](#)

Şu anda, gruplandırma ve çapraz okuma geçerli değildir.

- [Test teknik olarak mümkün değildir](#)

Bazı durumlarda, test gerçekleştirilirken ekzotermik bozunma meydana gelebilir ve testlerin gerçekleştirilmesi ve sonuçların yorumlanması açısından özel dikkat gerekli olacaktır; [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), bölüm 2.11.4.4.3 incelenmelidir.

Bu gibi durumlarda bu özelliklerin belirlenmesi mümkün olmayabilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Birleşmiş Milletler Test ve Kriterler Kılavuzuna göre, eğer bir tarama testinin sonuçları sınıflandırma testi ile yeterince ilişkilendirilebiliyorsa ve uygun bir güven aralığı uygulanıyorsa kendiliğinden ısınan maddeler veya karışımlar için sınıflandırma prosedürünün uygulanmasına gerek yoktur. Tarama testlerine örnekler aşağıda verilmiştir:

- 1 litrelik bir hacim için referans sıcaklığın 80 K üzerinde başlangıç sıcaklığına sahip Grever Fırın testi (VDI rehberi, 1990);
- 1 litrelik bir hacim için referans sıcaklığın 60 K üzerinde bir başlangıç sıcaklığına sahip Yığın Toz Tarama Testi (Gibson ve ark., 1985).

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir. Feragat ve tarama kriterleri hakkında detaylar için, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.11.4.2 incelenmelidir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Partikül boyutu önemli bir rol oynayabilir. Bu yönere ilişkin daha fazla temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.11 içerisinde verilmektedir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

Bu zararlılık sınıfı SAE Yönetmeliği içerisinde tanımlanmamıştır, bu nedenle çevrim mümkün değildir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- ön testin ve/veya ana testin yapılıp yapılmadığı gösterilir;
- nem içeriği;
- tanecik büyüklüğü ve dağılımı (varsa).

Sonuçlar ve tartışma

- Bireysel testler ve sınıflandırma sonuçları için elde edilen sıcaklık artışı belirtilir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

ÇŞB rehber dokümanı, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.11'de kendiliğinden ısınma özelliği, SEA sınıflandırması, ilgili test yöntemi ve UN-RTDG ile ilişki hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir.

VDI Rehberi 2263, bölüm 1 (1990): "Tozların Güvenlik Özelliklerinin Belirlenmesi için Test Yöntemleri".

Gibson, N. Harper, D.J. Rogers (1985): 'Evaluation of the fire and explosion risks in drying powders (Tozların kurutulmasında yangın ve patlama risklerinin değerlendirilmesi)', Plant Operations Progress, 4 (3), 181-189.

R.7.1.10.8 Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler

Tanım

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.12.1 aşağıdaki tanımı sağlar:

"Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran madde veya karışımlar, su ile tepkimeye girerek aniden alevlenir hale gelmeye veya tehlikeli miktarlarda alevlenir gaz çıkarmaya yatkın olan katı veya sıvı madde ya da karışımlardır."

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma, suyla temas üzerine üretilen gaz kendiliğinden tutuşursa ve/veya alevlenir gazın üretildiği reaksiyonun hızı ≥ 1 L/kgsa ise gereklidir.

Üretilen gaz kendiliğinden tutuşursa, bu, üretilen gazın piroforik olduğu anlamına gelmeyebilir, ancak bu genellikle reaksiyon ısısının gazın tutuşmasına neden olmak için yeterli olması durumunda geçerlidir.

Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddelerin ve karışımların sınıflandırılması için test yöntemi UN-MTC içerisinde (BM Test N.5, bkz. Bölüm 33.4) açıklanmıştır. Bu yöntem, SEA Yönetmeliği Ek 1, Kısım 2'de belirtilmektedir ve bu yöntemin kullanılması ve yeni testler yapılırsa Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik test yöntemi A.12'nin uygulanmaması şiddetle tavsiye edilir. BM Test N.5, şiddete ve reaksiyon hızına bağlı olarak üç kategoriye ayrılmayı öngörürken, test yöntemi A.12 maddelerin daha fazla bölünmesine izin vermez. Ayrıca, test prosedüründeki bazı farklılıklar nedeniyle her iki yöntemin sonuçları biraz farklılık gösterebilir (bu farklılıklar için bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 2.12.6). Bu nedenle yalnızca BM Test N.5 uygulanarak gereksiz testlerden kaçınılabilir çünkü daha ayrıntılı bilgilerle sonuçlanır (ve her durumda, sınıflandırma ve taşımacılık gibi başka amaçlar için uygulanmalıdır).

SAE Yönetmeliğine göre sınıflandırmaya dayalı veriler mevcut olabilir. Bununla birlikte, dikkate alınması gereken BM Test N.5 ve A.12 yöntemleri arasında farklılıklar vardır. Bunlar, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 2.12.6.'da ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Test yönteminin kendisi hakkında ayrıntılı rehberlik [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.12.4.4.1'de bulunabilir.

Standart test rejiminin uyarlanması

[KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları](#)

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, alevlenirlik için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- *madde, patlayıcı ya da piroforik özellikler taşıyan bir katı maddeyse. Bu özellikler, alevlenirlik düşünülmeden önce daima dikkate alınmalıdır; veya*
- *gazlar söz konusu olduğunda, soygazlar içeren bir karışımdaki alevlenir gazın derişimi havayla karıştırıldığında alt sınırdan daha düşükse,*
- *havayla temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler söz konusu olduğunda. "*

Birinci madde patlayıcı maddeler için geçerlidir çünkü bunlar su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler olarak sınıflandırılmamıştır. Bu durumda testlerden feragat edilebilir.

Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler için diğer feragat olasılıkları geçerli değildir.

Piroforik maddeler açısından ilk girdi doğru değildir çünkü piroforik maddeler, SEA Yönetmeliği tarafından atıfta bulunulan BM Test N.5'e göre suyla temas halinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler olarak sınıflandırılabilir. BM Test N.5, açık şekilde, piroforik maddelerin nitrojen altında test edilmesini gerektirir (bkz. UN-MTC, bölüm 33.4.1.3.1).

İkinci girdi uygulanabilir değildir, çünkü gazlar, su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddelerin zararlılık sınıfına girmez.

Aynı nedenlerden dolayı, son girdi (hava ile temas ettiğinde kendiliğinden tutuşan maddeler için feragat mümkündür) bu durumda da geçerli değildir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- *Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler*

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- *Kanıt ağırlığı*

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- *(Q)SAR*

Şu anda su ile temas halindeki bir maddenin alevlenir gazlar çıkarıp çıkarmadığını ve eğer öyleyse gaz oluşum oranını tahmin etmek için QSPR modeli bulunmamaktadır.

- *Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı*

Şu anda, gruplandırma ve çapraz okuma geçerli değildir.

- *Test teknik olarak mümkün değildir*

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test mümkün olmalıdır. Maddenin kararlı bir çözelti oluşturmak için suda çözünür olduğu biliniyorsa veya su ile tepkimeye girmediği açıkça biliniyorsa (örn. su ile imal edildiği veya yıkandığı için), test gerekli değildir.

Diğer uyarlanma olanakları

Belirli zararlılık sınıflarında sınıflandırma, başka fiziksel zararlılık sınıflarına atamayı öngörmez veya en azından normalde bu zararlılık sınıfındaki sınıflandırma ile eşleşmez:

Patlayıcılar, kendiliğinden tepkimeye giren maddeler veya organik peroksitler olarak sınıflandırılan maddeler bu zararlılık sınıfında (veya başka herhangi bir fiziksel zararlılık sınıfında) sınıflandırılmaz. Patlayıcılar için, bu, KKDİK Yönetmeliği Ek 7, sütun 2'ye göre uyarlanma olanaklarının ilk girdisinde değerlendirilir (yukarıya bakın).

Oksitleyici maddeler genellikle alevlenirlik açısından değerlendirilmez ve bu nedenle de bu zararlılık sınıfında sınıflandırılmaz (ancak bazı istisnalar olabilir).

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

BM Test N.5 ve A.12 yöntemlerinin açıklamaları çok ayrıntılı değildir ve bu nedenle kullanılan cihaz veya prosedür açısından teknik değişikliklere izin verir. Test protokolü, gaz oluşum oranını ölçmek için özellikle belirli bir yöntem öngörmez. Bu test yöntemi için laboratuvarlar arası bir karşılaştırma, laboratuvarların - test yöntemlerinin açıklamasının sağladığı özgürlüğe dayanılarak - bu testi gerçekleştirirken farklı yaklaşımlar uyguladığını göstermiştir. Dahası, laboratuvarlar arası karşılaştırma, test sonuçlarının oldukça geniş bir aralıkta değiştiğini göstermiştir. Bu nedenle, bu test yönteminin doğruluk ve kesinlik açısından ihmal edilemeyecek kadar küçük bir belirsizliğe sahip olduğu unutulmamalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Deniz suyu özel bir ilgi konusu olabilir (deniz taşımacılığı durumunda).

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

Su ile temas halinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler SAE Yönetmeliği altında 'F; R15 '(1'den 3'e kadar olan kategorilerin toplamı 'F; R15' e karşılık gelir) olarak sınıflandırılır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- tanecik büyüklüğü ve dağılımı.

Sonuçlar ve tartışma

- tam testin gerçekleştirilip gerçekleştirilmediği veya belirli bir adım/aşamada sonlandırılıp sonlandırılmadığı belirtilir;
- oluşan gazın madde kimliği;
- oluşan gazın kendiliğinden tutuşup tutuşmadığı belirtilir;

- gaz oluşum oranı (test sonlandırılmadığı sürece);
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Alevlenirlik ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.13	7 7.10	Alevlenirlik	E.4.14	3.12

Diğer bilgiler / referanslar

ÇŞB belgesi [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.12'de su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler ve karışımlar, SEA sınıflandırmaları, ilgili test yöntemi ve tehlikeli malların taşınması yönetmelikleri ile ilişkileri hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir.

Janès ve ark., 'Su ile temas halinde alevlenir gazlar çıkaran maddelerin karakterizasyonuna yönelik BM N.5 test yönteminin iyileştirilmesine doğru (Towards the improvement of UN N.5 test method intended to the characterization of substances which in contact with water emit Flammable Gases)', gözden geçirilmiş formda Journal of Loss Prevention in the Process Industries'e sunulmuştur.

BM Test N.5 / EC A.12 'Su ile temas ettiğinde alevlenir gazlar çıkaran maddeler' yöntemi üzerine laboratuvarlar arası test' 2007, Kunath, K., Lüth, P., Uhlig, S., ISBN 978-3- 9814634-1-5, http://www.bam.de/de/service/publikationen/publikationen_medien/short_report_rv_un_n_5.pdf

R.7.1.10.9 Organik peroksitler

SEA Yönetmeliğinde organik peroksitler ayrı bir zararlılık sınıfıdır. Organik peroksitler, SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 2.15.2'de verilen sınıflandırma kriterlerine göre 'Tip A - G' aralığında yedi kategoriden birinde sınıflandırılır.

Aşağıda, Tanım alt bölümünde bahsedildiği gibi, organik peroksitler, UN-MTC Kısım I içerisinde Test Serisi 1 ila 8'e göre patlayıcı olarak test edilmekten hariç tutulmuştur (bkz. [R.7.1.11.1 Patlayıcılar](#)). Ancak, Test Serileri A - H içerisinde, darbe (katılar ve sıvılar) ve sürtünmeye (yalnızca katılar) hassasiyet testleri dahil edilmemiştir. Risk değerlendirmesi ile güvenli kullanım ve elleçleme için, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklandığı gibi test yöntemi A.14'e göre veriler (mevcutsa) veya BM Test 3 (a) (ii) BAM düşen çekici cihazı ve Test 3 (b) (i) BAM sürtünme cihazına göre veriler (bkz. [R.7.1.11](#)), kayıt dosyasında (KKDİK Ek 7, 7.11) ve güvenlik bilgi formunda zararlılık iletişiminin bir parçası olmalıdır.

Tanım

Organik peroksit tanımı SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.15.1'de verilmiştir:

'Organik peroksitler, bivalent -O-O- yapısı içeren ve bir veya iki hidrojen atomunun yerini organik radikaller aldığı hidrojen peroksit türevleri olarak kabul edilebilecek olan sıvı veya katı organik maddelerdir. En az bir organik peroksit içeren organik peroksit karışımları (formülasyonları) organik peroksit olarak değerlendirilir. Organik peroksitler, kendiliğinden hızlanan ekzotermik ayrışmaya uğrayabilen, termal olarak kararsız madde veya karışımlardır. Ayrıca, aşağıda belirtilen özelliklerden birini veya birkaçını taşıyabilirler:

- (i) patlayıcı ayrışmaya yatkın;
- (ii) hızlı bir şekilde yanan;
- (iii) darbe veya sürtünmeye duyarlı;
- (iv) diğer maddelerle etkileşiminde tehlikeli olabilen.

Karışımın (formülasyonun) laboratuvar testlerinde kapalı bir kap içinde ısıtılması ile, patlama, hızla tutuşma veya şiddetli bir etki oluşturma gözlemlenebiliyorsa, söz konusu organik peroksidin patlayıcı özellikler taşıdığı kabul edilir. '

Tanımla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.15.1 ve 2.15.2'de verilmektedir.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Sınıflandırma ilkeleri, SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.15.2 ve 2.15.4'te verilmiştir. Sınıflandırmayla ilgili temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.15.3, 2.15.4, 2.15.5, 2.15.6 ve 2.15.7 içerisinde verilmektedir.

Standart test rejiminin uyarlanması

[KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları](#)

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.15.1'de tanımlandığı şekilde, sadece organik peroksitler, UN-MTC, Kısım II test serisi A - H'ye göre test edilmelidir.

SEA Yönetmeliği Ek 1, bölüm 2.15.2.1. organik peroksitler için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması için aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki durumlar hariç tüm organik peroksitler, organik peroksit olarak sınıflandırılır:

- (a) % 1,0'den fazla hidrojen peroksit içermeyen, organik peroksitlerden gelen ve % 1,0'den fazla olmayan mevcut oksijen; veya
- (b) % 1,0'den fazla fakat %7,0'den az hidrojen peroksit içeren organik peroksitlerden gelen ve % 0,5'ten fazla olmayan mevcut oksijen.



NOT: Bir organik peroksit karışımının mevcut oksijen içeriği (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır:

$$16 \times \sum_i^n \left(\frac{n_i \times c_i}{m_i} \right)$$

burada:

n_i = organik peroksit i molekülü başına peroksijen grubu sayısı;

c_i = organik peroksit (i) konsantrasyonu (kütle yüzdesi);

m_i = organik peroksit (i)'nin moleküler kütlesi.'

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Halihazırda test edilmiş ve sınıflandırılmış bir dizi madde ve karışım, UN-RTDG, bölüm 2.5.3.2.4 içerisinde listelenmiştir.

Mevcut bilgilerin kaynağı özellikle taşımacılık sınıflandırması olabilir. Daha fazla bilgi, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 1.7.2.1 ve 2.15.6 içerisinde tanımlanmaktadır. KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

Organik peroksitlerin belirlenmesi için kanıt ağırlığı mümkün değildir. Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- (Q)SAR

Şu anda organik peroksitler için QSAR genellikle geçerli değildir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Şu anda, gruplama ve çapraz okuma geçerli değildir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Birden fazla madde, güvenlik nedenleriyle, yalnızca seyreltilmiş formda işlenebilir ve test edilebilir, bunun için UN TDG, 2.5.3.2.4'te listelenen maddeler ve karışımlar incelenmelidir. Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Az safsızlıklar termal kararlılık üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Bu yönere ilişkin temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.15.4 içerisinde verilmektedir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SAE Yönetmeliğinde organik peroksitler oksitleyici maddeler olarak sınıflandırılır ve bunlardan birkaçı patlayıcı özelliklere sahiptir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler**Malzeme ve yöntemler**

- Bkz. UN MTC, Bölüm 2, sınıflandırma prosedürleri ve test serileri A-H.

Sonuçlar ve tartışma

Organik peroksitlere ilişkin aşağıdaki veriler sunulmalıdır:

- eğer testten feragat edilirse feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir;
- organik peroksit türü;
- Kendiliğinden hızlanan bozunma sıcaklığı (SADT), SADT'nin ilgili olduğu hacim ile birlikte;
- patlama özellikleri (Evet/Kısmi/Hayır);
- tutuşma özellikleri (Evet hızlı/Evet yavaş/Hayır);
- kapalı kaptaki ısıtmanın etkisi (Şiddetli/Orta/Düşük/Hayır);
- eğer varsa patlayıcı güç (Düşük değil/Düşük/Yok).

Aşağıdaki örnek ([Şekil R.7.1-3](#)), yukarıda belirtilen verilerin KGR içerisinde nasıl belgelenebileceğini göstermektedir:

Şekil R.7.1-3 Örnek: Di-tert-butil peroksit

BM Test serisi A - H	Test yöntemi	Sonuçlar + Değerlendirme	Notlar
Patlamanın yayılması	A.1	"Hayır"	Parçalanmış uzunluk (cm): 16
Tutuşmanın yayılması #1	C.1	"Evet, yavaşça"	Maksimum basınç (kPa): > 2070 690 ila 2070 kPa arası basınç yükselmesi süresi (ms): 100
Tutuşmanın yayılması #2	C.2	"Hayır"	tutuşma hızı (mm/s): 0,27
Kapalı kaptaki ısıtmanın etkisi #1	Koenen E.1	"Hayır"	Sınırlayıcı çap (mm): < 1,0 Parçalanma türü (ve parçalar): 0
Kapalı kaptaki ısıtmanın etkisi #2	DPVT E.2	"Orta"	Sınırlayıcı çap (mm): 3,5
Patlayıcı güç	F.3	"düşük değil"	Genleşme (cm ³ /10 g test numunesi): 28
Patlayıcı güç	F.4	"düşük değil"	Ortalama net genişleme (cm ³): 12
SADT	H.4	80 °C	500 ml Dewar kabı
Yetkili merci onay numarası	<i>Tehlikeli Malların Taşınmasına İlişkin BM Tavsiyeleri, Test ve Kriterler El Kitabından örnek</i>		

Organik peroksit türünün atanması için, atamanın UN MTC uyarınca bir teste dayanması durumunda, UN RTDG bölüm 2.5.3.2.4'e göre halihazırda atanmış organik peroksitlerin listesi kullanılabilir.

İlgili temel test verileri, ilgili BM belgelerinden, BM'nin tehlikeli malların taşınması konusundaki uzman komitesinden, yetkili merciler veya endüstri tarafından üretilen test raporlarından veya diğer güvenilir kaynaklardan (örn. özel veritabanı 'DATATOP' gibi) toplanabilir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

KKS'de 'organik peroksitler' zararlılık sınıfı için bir Şablon veri seti mevcut değildir. KKS'de belirli bir bölüm olmadığı sürece bölüm 4.27 'Ek fiziko-kimyasal bilgiler' içerisindeki test sonuçları 'organik peroksitler' sonlanma noktası başlığı altına eklenmelidir. Organik peroksitler hakkındaki bilgiler, KKS bölüm 4.15 "Oksitleyici özellikler" içerisine dahil edilmemelidir. Kayıt dosyasında bilgiler alevlenirlik altında yer almalıdır.

Diğer bilgiler / referanslar

Sınıflandırma testleri, ek testler ve mevcut bilgiler hakkında temel bilgi ve rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#) bölüm 2.15 içerisinde verilmektedir.

"DATATOP" veri tabanından veriler, TNO veri tabanının ağ geçidi denetleyicisinden elde edilebilir,
Enerji Yüklü Malzemeler Bölümü, Lange Kleiweg 137, 2288GJ, Rijswijk Hollanda.

Organik peroksitlerin depolama gruplarına atanması amacıyla organik peroksitlerin kullanımı ve depolanması için rehberlik sağlayan ve güvenli standartları özetleyen çeşitli ulusal rehberler mevcuttur (örn. Hollanda Direktifi: Tehlikeli Maddeler Hakkında Yayın Serisi 8 (PGS 8) Organik Peroksitlerin Depolanması, İngiltere HSE: Organik peroksitlerin depolanması ve kullanımı - Rehber Notu CS21 veya Alman rehberi: BGV B4).

R.7.1.11 Patlayıcı özellikler

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'ye göre bazı bilgi gereklilikleri, SAE Ek 2 içerisinde verilen "tehlike ifadelerine" karşılık gelecek şekilde ifade edilmiştir. Maddeler ve karışımlar (müstahzarlar) için, SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma ve etiketleme zorunludur. Sonuç olarak, patlayıcı özellikler maddenin SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma kapsamındadır. Aşağıdaki tabloda (Tablo R.7.1-8) gösterildiği gibi zararlılık sınıflarının "Patlayıcı özellikler" başlığına atanması, bu nedenle bu belgenin KKDİK Yönetmeliği Ek 7'ye uygun olarak yapılandırılmasının bir yolu olarak anlaşılmalıdır. Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve organik peroksitlerin öncelikli olarak 'Alevlenirlik' başlığına atandığı ve aşağıdaki 'Patlayıcı özellikler' alt bölümlerinde 'Alevlenirlik' başlığı altındaki ilgili alt bölüme sadece çapraz referans verildiği belirtilmelidir, çünkü bu iki zararlılık sınıfı patlayıcı ve/veya alevlenir özelliklere sahip olabilir.

Tablo R.7.1-8 KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Patlayıcı özellikler' bilgi gerekliliğine SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA Yönetmeliğine göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve SEA Kriterleri Uygulama Rehberi ile destekleyici bağlantı.

KKDİK Yönetmeliği Madde 10 (a) (vi) uyarınca bilgi gerekliliği (parantez içindeki no., KKDİK Ek 7 ile 9'daki tablodaki ilgili numaradır)	SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Revize R.7(a) rehberindeki bölüm	Test Yöntemi Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Kriterleri Uygulama Rehberindeki Bölüm (örn. RIP 3.6)
Patlayıcı özellikler (7.11)	Patlayıcılar (2.1)*	R.7.1.11.1	A.14 Patlayıcı özellikler	BM Test serisi 1 ila 3 (sınıflandırma için 4 ila 6 arasındaki diğer test serileri gereklidir)	2.1
	Kendiliğinden tepkimeye giren madde veya karışımlar (2.8)*	R.7.1.11.2 Bkz. R.7.1.10.4	geçerli değildir	A.14 (yalnızca mevcut veriler)	2.8
	Organik peroksitler (2.15)*	R.7.1.11.3 Bkz. R.7.1.10.9	geçerli değildir	A.14 (yalnızca mevcut veriler)	2,15

* Zararlılık sınıfının veya kategorisinin KKDİK Yönetmeliğinde Madde 15(4)(a) içerisinde listelenip listelenmediğine bakılmaksızın, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (3)'e göre yapılması gerektiğine dikkat edilmelidir. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinde Madde 11 (1)(a)(4)'e göre, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bir madde kaydının teknik dosyası, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4'te belirtildiği gibi maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin bilgileri içermelidir.

İlave olarak, bazı maddelerin sınıflandırmaya yol açmayan patlayıcı özelliklere sahip olduğuna dikkat edilmelidir. Örnekler aşağıda belirtilmiştir:

- BM Test Serisi 1 veya 2'de pozitif sonuç veren ancak BM Test Serisi 6'daki ambalajlarına göre patlayıcı olarak sınıflandırmadan muaf olan maddeler;
- sadece mekanik olarak hassas olan maddeler. Bunlar, UN-MTC Ek 6, Kısım 3'e göre tarama prosedürüne dayalı olarak patlayıcı özelliklere sahip olabilecek ve patlayıcı, kendiliğinden tepkimeye giren veya organik peroksit olarak sınıflandırılmayan maddeler ve karışımlar için, 40 J veya daha az darbe hassasiyeti (BM Test Serisi 3 (a) (ii) ile belirlenir) ve/veya 360 N veya daha az sürtünme hassasiyeti (Test Serisi 3 (b) (i) ile belirlenir) olan maddelerdir.

Bu tür maddeler diğer zararlılık sınıflarında sınıflandırılabilir (örn. alevlenir katılar, oksitleyici katılar, metaller için aşındırıcı) veya hiç sınıflandırılmayabilir. Bu tür patlayıcı özelliklerle ilgili bilgiler de dosyada belirtilmelidir.

R.7.1.11.1 Patlayıcılar

Alevlenir sıvılar ve tozlar tarafından oluşturulan patlayıcı atmosferlerin bu bölümün konusu olmadığı dikkate alınmalıdır.

Tanım

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.1.1 aşağıdaki gibi tanımlamaktadır:

'Bir patlayıcı madde veya karışım çevreye zarar verecek sıcaklıkta, basınçta ve hızda gaz üretme hususunda kendiliğinden kimyasal tepkimeye sebep olabilecek katı veya sıvı bir madde veya maddeler karışımıdır. Gaz oluşturmaları dahi piroteknik maddeler de bu tanıma dahildir.

Bir piroteknik madde veya karışım patlayıcı olmayan, kendiliğinden devam eden ekzotermik kimyasal tepkimelerin sonucu olarak ısı, ışık, ses, gaz veya duman ya da bunların kombinasyonu yoluyla bir etki oluşturmak amacıyla tasarlanmış bir madde veya madde karışımıdır.

Bir kararsız patlayıcı termal olarak kararsız olan ve/veya normal işleme, taşıma ve kullanım açısından oldukça hassas olan bir patlayıcı madde veya karışımıdır

Bir patlayıcı eşya bir veya daha fazla patlayıcı madde veya karışım içeren bir eşyadır.

Bir piroteknik eşya bir veya daha fazla piroteknik madde veya karışım içeren bir eşyadır.

Bir kasıtlı patlayıcı pratik, patlayıcı ve piroteknik etki oluşturma amacıyla üretilen bir madde, karışım veya eşyadır.'

Organik Peroksitler ve Kendiliğinden Tepkimeye Giren Maddeler de patlayıcı özelliklere sahip olabilir ve taramaya tabi tutulmalıdır. Organik peroksitler için Bölüm [R.7.1.11.3](#) 'e ve Kendiliğinden Tepkimeye Giren Maddeler ve Karışımlar için Bölüm [R.7.1.11.2](#) incelenmelidir.

Kasıtlı patlayıcı

19/08/2017 tarihli ve 30159 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Sivil Kullanım Amaçlı Patlayıcı Maddelerin Belgelendirilmesi, Piyasaya Arzı ve Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik sivil kullanım amaçlı patlayıcı maddelerin belgelendirilmesi, işaretlenmesi ve gerekli emniyet şartlarının belirlenmesi, piyasaya arz edilmesi, piyasa gözetimi ve denetimine ilişkin usul ve esasları düzenler.

Piroteknik eşyaların piyasaya sürülmesine ilişkin 2013/29/EC sayılı Direktif, piroteknik eşyaların iç pazarda serbest dolaşımını sağlamak için tasarlanmış kuralları belirler ve aynı zamanda insan sağlığının ve kamu güvenliğinin yüksek düzeyde korunmasını ve tüketicilerin korunması ile güvenliği ve çevrenin korunmasına ilişkin ilgili hususların dikkate alınmasını sağlar. Türkiye'de söz konusu direktifi uyumlaştıran yönetmelik ise 02/10/2016 tarihli ve

29845 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Piroteknik Maddelerin Belgelendirilmesi, Piyasaya Arzı ve Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik'tir.

Piroteknik eşyalar (SEA, Ek I, Bölüm 2.1.1.2) SEA Yönetmeliği için patlayıcı olarak ve taşımacılık için sınıf 1 olarak sınıflandırılır (bkz. UN-RTDG). Piroteknik Maddelerin Belgelendirilmesi, Piyasaya Arzı ve Denetlenmesi Hakkında Yönetmeliğin 17. Maddesi ve Ek 2'sine göre uygunluk değerlendirme prosedürleri, başvuru sahibine bir AB tip inceleme sertifikası vermek zorunda olan onaylanmış kuruluşlar tarafından yürütülür. AB tip inceleme sertifikasında yer alan tüm veriler, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bilgi gereklilikleri için yeterlidir.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Bu sınıftaki maddeler, karışımlar ve eşyalar, SEA Yönetmeliği Ek 1, Şekil 2.1.2'deki akış şemasına göre kararsız patlayıcı olarak sınıflandırılır. Test yöntemleri UN-MTC Bölüm 1'de açıklanmaktadır.

Kararsız bir patlayıcı olarak sınıflandırılmayan patlayıcılar, SEA Yönetmeliği Ek 2.1'in 2.1.2.2 numaralı paragrafında belirtilen altı kısımdan birinde, UN-MTC Bölüm I Test Serisi 2-8 Tablo 2.1.1'de belirtilen testlerin sonuçlarına göre sınıflandırılmalıdır. Patlayıcılar ambalajından çıkarılırsa veya orijinal veya benzer ambalajlar dışındaki ambalajlarda yeniden ambalajlanırsa, yeniden test edilmelidir. Bir madde, test serisi 1 veya 2'nin herhangi birinde pozitif sonuç verirse, bu, Test Serisi 6'da 'Patlayıcı' olarak sınıflandırılmasa bile, kimyasal maddenin KKDİK kayıt dosyasında belirtilmelidir.

Patlayıcı sınıfına geçici kabul edilmeye karar vermek için kullanılan test yöntemleri, 1'den 4'e kadar numaralandırılmış dört seri halinde gruplandırılmıştır (bkz. SEA Ek 1, Şekil 2.1.2).

Daha büyük miktarlarda teste geçmeden önce küçük miktarlarda malzeme kullanılarak belirli testlerin yapılması test uzmanlarının güvenliği açısından önemli olabilir. Bu nedenle, test prosedürünün Test Serisi 3 ile başlatılması şiddetle tavsiye edilir, çünkü bu testler nispeten küçük numune boyutları içerir ve bu da personel için riski azaltır.


Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, patlayıcı özellikler için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

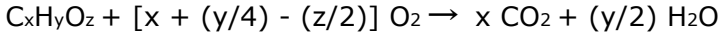
'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- molekül içinde patlayıcı özelliklerle ilişkilendirilen hiçbir kimyasal grubu bulunmuyorsa, veya*
- madde, oksijen içeren patlayıcı özelliklerle ilişkili kimyasal gruplar içeriyorsa ve hesaplanan oksijen dengesi -200 'ün altındaysa; veya*
- organik madde veya organik maddelerden oluşan homojen bir karışım, patlayıcı özelliklerle ilişkilendirilen kimyasal gruplar içeriyor ancak ekzotermik ayrışma enerjisi 500 J/g 'ın altında ve ekzotermik ayrışma başlangıcı 500 °C 'nin altındaysa; veya*
- organik malzemeleri bulunan inorganik oksitleyici maddelerin karışımları söz konusu olduğunda inorganik oksitleyici maddenin derişimi aşağıdaki gibiyse:*
 - UN Ambalajlama Grubu 1 (yüksek zararlılık) veya II (orta seviye zararlılık) verildiğinde kütle olarak %15'den az,*
 - UN Ambalajlama Grubu III (düşük zararlılık) verildiğinde kütle olarak %30'dan az.*

 **Not:** Organik malzemelerin ekzotermik ayrışma enerjisi 800 J/g'dan az ise, patlama ilerleme testi ya da patlayıcı darbelere duyarlılık testi yapılması gerekmez.

 **Oksijen Dengesinin kullanımına ilişkin not:**

Oksijen dengesi aşağıda belirtilen kimyasal tepkime için hesaplanır:



Aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır:

$$\text{Oksijen dengesi} = -1600 [2x + (y/2) - z] / \text{molekül ağırlığı};$$

Oksijen dengesi sadece nitrat grupları içeren bileşikler için geliştirilmiştir ve sadece organik maddeler için geçerlidir. Kullanımının diğer oksijen içeren gruplara sahip molekülleri kapsayacak şekilde genişletilmesi özenle gerçekleştirilmelidir. Örnek olarak, hidroksil gruplarının varlığı oksijen dengesini daha yüksek değerlere doğru güçlü bir şekilde etkilerken, bu grup patlayıcı özelliklere katkıda bulunmaz. İlave olarak, örneğin halojenlerin bulunması alevlenirliği ve patlayıcılığı azaltma eğilimindedir, ancak bu hesaba katılmaz.

Ayrıca UN-MTC Ek 6, Bölüm 3 de incelenmelidir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

Patlayıcı özelliklerin açıkça hariç tutulabildiği maddelerde kanıt ağırlığı uygulaması mümkündür. Kanıt ağırlığına kapsamlı ve güvenilir literatür referansları eşlik etmelidir.

- (Q)SAR

Şu anda, (potansiyel) patlayıcı özelliklerin değerlendirilmesine yardımcı olmak için yeterli doğruluk ve güvenilirliğe sahip bilinen bir QSPR/(Q)SAR yazılımı bulunmamaktadır. DSC testi pahalı değildir ve hızlıdır ve madde ile bağlantılı potansiyel zararlılıkların belirlenmesi için şiddetle tavsiye edilir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Kimyasal yapı değerlendirmesi, resmi olarak 2. sütun feragatının bir parçasını oluşturacaktır. Daha fazla bilgi için [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), Kısım 2:

Fiziksel Zararlılıklar, Bölüm 2.1 Patlayıcılar incelenmelidir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Maddenin özelliklerinin bir sonucu olarak çalışmanın yapılması teknik olarak mümkün değilse, patlayıcılar için test yapılmayabilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Molekül içerisinde patlayıcı özelliklerle ilişkilendirilen kimyasal gruplar yoksa testlerden feragat edilebilir. Alevlenir gazlar/sıvılar veya yanıcı katılar tarafından potansiyel patlayıcı atmosfer oluşumu patlayıcı bir özellik olarak kabul edilmez ve bu nedenle bu başlık altında raporlanmamaktadır.

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Küçük miktarlardaki başka bileşikler, bir maddeye patlayıcı özellik veren kimyasal tepkimeyi artırabilir veya baskılayabilir. Dolayısıyla, safsızlıklar bir maddenin patlayıcı özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SAE Yönetmeliği için patlayıcılar, alev etkisi altında patlayabilen veya şoka veya sürtünmeye dinitrobenzene göre daha duyarlı olan maddeler ve müstahzarlardır.

SAE Yönetmeliğine göre patlayıcı olarak sınıflandırılan maddelerin yeniden sınıflandırılması:

Eski SAE rejimi altında, patlayıcı özelliklerin testleri, test yöntemi A.14 uygulanarak gerçekleştirilmiştir. SEA Yönetmeliği uyarınca sınıflandırma amacıyla, bu test, termal hassasiyet için negatif sonuç alınması durumunda yeterli değildir. Test yöntemi A.14, 2 mm'lik bir sınırlayıcı çapla dururken, BM Test E.1, 1 mm'lik açıklığa kadar ilerler.

SEA Yönetmeliğine göre test, UN-MTC Bölüm I'de açıklananlarla aynıdır. Bu nedenle, SEA Yönetmeliği Ek 7'deki çevrim tablosunda (E, R2) ve (E, R3)'den SEA kriterlerine sınıflandırma için doğrudan bir çevrimin mümkün olmadığı belirtilmektedir.

Dolayısıyla, SEA Yönetmeliği'nde bölüm 2.1.4.2 içerisindeki tarama prosedürü bir madde veya karışımı potansiyel bir patlayıcı olarak tanımlıyorsa, sınıflandırma için uygun veriler gereklidir.

Ayrıca, test yöntemi A.14 veya BM Test serisi 3 test 3a veya 3b'nin gerçekleştirilmesinden elde edilen veriler, bir maddenin darbeye veya sürtünmeye duyarlı olduğunu gösteriyorsa, bu bilgiler KKDİK kayıt dosyasında sunulmalıdır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler Malzeme ve yöntemler

- standarda veya uygulanan test yöntemine referans;
- test edilen maddenin tanımı.

Sonuçlar ve tartışma

- eğer testten feragat edilirse feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir;
- testten feragat edilmediği takdirde, BM Test El Kitabı ve sonuca göre (patlayıcı ya da patlayıcı değil) yapılan testler dosyada belgelenmelidir. BM Test Serisi 3a ve 3b'ye göre mekanik hassasiyet testi, BM Test Serisi 1 veya 2 pozitif sonuç verirse yapılmalı ve belgelenmelidir. Test yöntemi A.14'e göre veriler mevcutsa, sonuçlar BM Test serisi 3a ve 3b yerine kullanılabilir.

'Yeni patlayıcı madde' varsayımsal maddesi için sınıf 1 prosedürünün uygulanmasından elde edilen özetlenmiş sonuçların nasıl sunulacağına dair aşağıda bir örnek verilmiştir ([Şekil R.7.1-4](#)).

Şekil R.7.1–4 Sınıf 1 kabul prosedürünün uygulanmasının sonuçları

1. Maddenin adı	Yeni patlayıcı madde
2. Genel veriler	2.1 Bileşim: teknik olarak saf 2.2 Fiziksel hali : İnce kristal toz 2.3 Renk : Sarı
3. Kutu 2	Madde, pratik bir patlayıcı veya piroteknik etki oluşturmak amacıyla mı imal edilmiştir? 3.1 Cevap: Hayır
4. Kutu 3	4.1 Patlama İlerlemesi: BM Test A.1 Sonuç: "-", patlama ilerlemesi yok 4.2 Kapalı kapta ısıtmanın etkisi: 4.2.1 Koenen testi (test 1(b)) Sonuç: "+", 4.2.2 Zaman/basınç testi (test 1(c)(i)) Sonuç: "-", kapalı kapta tutuşma üzerinde etki yok 4.5 Çıkış: Kutu 4'e git
5. Kutu 4	Patlayıcı bir madde mi? 5.1 Test Serisi 1'den cevap: Evet 5.2 Çıkış : Kutu 5'e git
6. Kutu 5	6.1 Şoka hassasiyet: BM Test A.1 test sonucuna dayanır Sonuç "-" 6.2 Kapalı kapta ısıtmanın etkisi: Koenen testi (test 2(b)): sınırlayıcı çap 2,5 mm Sonuç: "+" 6.3 Çıkış : Kutu 6'ya git
7. Kutu 6 :	Madde, Sınıf 1'e kabul edilemeyecek kadar duyarsız mı? 7.1 Test Serisi 2'den cevap: Hayır 7.2 Varılan Sonuç : Sınıf 1 için dikkate alınması gereken madde (kutu 8) 7.3 Çıkış : Kutu 9'a git

8. Kutu 9	<p>Test Serisi 3</p> <p>8.1 Termal Kararlılık: DSC ölçüm verilerine dayanır</p> <p>8.2 Sonuç: termal olarak kararlı</p> <p>8.3 Darbe hassasiyeti: BAM düşen çekiç testi (test 3(a)(ii)) Sonuç: "-", test edilmiş biçimde taşınması çok tehlikeli değil</p> <p>8.4 Sürtünme hassasiyeti : BAM sürtünme testi (test 3(b)(i)) Sonuç: "-", test edilmiş biçimde taşınması çok tehlikeli değil</p> <p>8.5 Çıkış : Kutu 10'a git</p>
9. Kutu 10	<p>Madde termal olarak kararlı mı?</p> <p>9.1 DSC verilerinden cevap: Evet</p> <p>9.2 Çıkış : Kutu 11'e git</p>
10. Kutu 11	<p>Madde, test edildiği biçimde taşınmak için çok tehlikeli mi?</p> <p>10.1 Test Serisi 3(a)(ii) ve 3(b)(i)'den cevap: Hayır</p> <p>10.2 Çıkış : Kutu 18'e git</p>
11. Varılan Sonuç	<p>SINIF 1'E GEÇİCİ KABUL</p> <p>11.1 Çıkış : Sınıf 1 atama prosedürü uygulanır</p>

Şekil R.7.1–5 Sınıf 1 atama prosedürünün uygulanmasının sonuçları

1. Kutu 19	<p>Madde Kısım 1.5 için aday mı?</p> <p>1.1 Cevap : Hayır</p> <p>1.2 Çıkış : Kutu 25'e git</p>
2. Kutu 25	<p>2.1 BM Test 6(a) ve 6(c), madde BM Testi A.1'de patlama ilerlemesi göstermediği ve ayrıca BM testi 1(c)(ii)'de tutuşma ilerlemesi olmadığı için gerçekleştirilmemiştir.</p> <p>2.2 BM Test 6 (c)</p> <p>Numune koşulları: 1 × 30 kg fiber varil Gözlemler: Sadece siyah duman ve is ile yavaş yanma meydana gelmiştir.</p> <p>2.3 Çıkış : Kutu 26'ya git</p>
3. Kutu 26	<p>Sonuç kütleli bir patlama mı?</p> <p>3.1 Test Serisi 6'dan cevap: Hayır</p> <p>3.2 Çıkış : Kutu 28'e git</p>
4. Kutu 28	<p>En büyük zararlılık tehlikeli yansıtımlardan mı?</p> <p>4.1 Test Serisi 6'dan cevap: Hayır</p> <p>4.2 Çıkış : Kutu 30'a git</p>
5. Kutu 30	<p>En büyük zararlılık tehlikeli patlama veya yansıtım zararı olmadan ısı yayılımı ve/veya şiddetli yanma mı?</p> <p>5.1 Test Serisi 6'dan cevap: Hayır</p> <p>5.2 Çıkış : Kutu 32'ye git</p>

6. Kutu 32	Yine de ateşleme veya başlatma durumunda küçük bir zararlılık var mı? 6.1 Test Serisi 6'dan cevap: Hayır 6.2 Çıkış : Kutu 35'e git
7. Kutu 35	Madde veya eşya, pratik bir patlayıcı veya piroteknik etki oluşturmak amacıyla mı imal edilmiştir? 7.1 Cevap : Hayır 7.2 Çıkış : Kutu 38'e git
8. Varılan Sonuç	SINIF 1 DEĞİLDİR 8.1 Çıkış : Başka bir sınıf / bölüm düşünülmelidir

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Patlayıcılık hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.14	7 7.11	Patlayıcılık	E.4.15	3.13

Diğer bilgiler / referanslar

Patlayıcıların sınıflandırılması ve test edilmesiyle ilgili daha fazla bilgi, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.1'de bulunabilir.

Gharagheizi F. Quantitative structure-property relationship for prediction of the lower flammability limit of pure compounds (Saf bileşiklerin alt alevlenirlik sınırının tahmini için nicel yapı-özellik ilişkisi). Energy & Fuels 22 (2008) 3037-3039.

Gharagheizi F. A new group contribution-based model for estimation of lower flammability limit of pure compounds (Saf bileşiklerin alt alevlenirlik sınırının tahmini için yeni bir grup katkısına dayalı model). J. Haz. Mat. 170 (2009a) 595-604.

R.7.1.11.2 Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler ve karışımlar

Kendiliğinden tepkimeye giren maddeler öncelikli olarak "Alevlenirlik" başlığına atanmıştır, bu nedenle lütfen [R.7.1.10.4](#) bölümünü de inceleyiniz.

Kendiliğinden tepkimeye giren maddelerin darbeye (katılar ve sıvılar) ve sürtünmeye (yalnızca katılar) hassasiyeti, bu maddelerin belirgin patlayıcı özelliklere sahip olması durumunda, maddelerin güvenli kullanımı için önemli olabilir. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklanan test yöntemi A.14'e göre veriler mevcutsa, bu bilgi kayıt dosyasındaki zararlılık iletişiminin bir parçası olmalıdır (KKDİK Ek 7, 7.11).

R.7.1.11.3 Organik peroksitler

Organik peroksitler öncelikli olarak "Alevlenirlik" başlığına atanmıştır, bu nedenle lütfen [R.7.1.10.9](#) bölümünü de inceleyiniz.

Organik peroksitlerin darbeye (katılar ve sıvılar) ve sürtünmeye (yalnızca katılar) hassasiyeti, bu maddelerin belirgin patlayıcı özelliklere sahip olması durumunda, maddelerin güvenli kullanımı için önemli olabilir. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklanan test yöntemi A.14'e göre veriler mevcutsa, bu bilgi kayıt dosyasındaki zararlılık iletişiminin bir parçası olmalıdır (KKDİK Ek 7, 7.11).

R.7.1.12 Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'de kullanılan terminoloji çok kesin değildir. Bu nedenle, yorumlamada bazı rehberler gerekli görünmektedir:

Sıvılar ve gazlar için "kendi kendine tutuşma" yerine "**kendiliğinden tutuşma**" terimi kullanılır. Kendiliğinden tutuşabilirlik, tesislerin ve ekipmanların patlamadan korunmasında (Avrupa'da ATEX) sıcaklık sınıflarının atanması için büyük önem taşımaktadır.

Geniş bir yüzeye tutunan katılar ve sıvılar için, havayla tepkime ve ardından tutuşma yoluyla **kendiliğinden ısınma** meydana gelebilir. SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.11'e göre, kendiliğinden ısınan bir madde veya karışım, piroforik sıvı veya katı madde dışında, hava ile tepkimeye girerek ve enerji gerektirmeksizin kendiliğinden ısınmaya yatkın bir sıvı veya katı madde ya da karışımdır; bu madde veya karışım sadece büyük miktarlarda (kilogram) ve uzun bir süre sonunda (saatler veya günler sonra) tutuştuğundan piroforik sıvı veya katı maddelerden farklıdır. Bu nedenle, katılar aşağıdaki bölümde kendiliğinden ısınan maddeler altında ele alınmıştır.

Tablo R.7.1–9 SEA zararlılık sınıflarının KKDİK Yönetmeliği, Ek 7 ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik uyarınca "Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı" bilgi gerekliliğine atanması.

KKDİK Yönetmeliği Madde 10 (a) (vi) uyarınca bilgi gerekliliği (parantez içindeki no., KKDİK Ek 7 ila 9'daki tablodaki ilgili numaradır)	SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Revize R.7(a) rehberin eki bölüm	Test Yöntemi Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Kriterleri Uygulama Rehberindeki Bölüm (örn. RIP 3.6)
Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı (7.12)	Gazlar ve sıvılar için*	R.7.1.12.1	A.15 Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı (sıvılar ve gazlar)	geçerli değildir	geçerli değildir
	Katılar için* Not: Bu sonlanma noktası için bilgi üretmek üzere BM Test N.4 tercih edilir. Bkz. R.7.1.10.7 .	R.7.1.12.2 , R.7.1.10.7	A.16 Katılar için bağıl kendiliğinden tutuşma sıcaklığı	geçerli değildir	Bölüm 2.11

* Zararlılık sınıfı veya kategorisinin KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (4) (a) içerisinde listelenip listelenmediğinden bağımsız olarak, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin (gerekli olduğunda) KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (3)'e göre yapılması gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinin Madde 11(1) (a) (4)'e göre, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bir madde kaydının teknik dosyası, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4'te belirtildiği gibi maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin bilgileri içermelidir.

R.7.1.12.1 Kendiliğinden tutuşma

Özellik türü

Sıvılar ve gazlar için "kendi kendine tutuşma" yerine "kendiliğinden tutuşma" terimi kullanılır. Kendiliğinden tutuşabilirlik, tesislerin ve ekipmanların patlamadan korunmasında (Avrupa'da ATEX) sıcaklık sınıflarının atanması için büyük önem taşımaktadır. Bu bölümde sadece **kendiliğinden tutuşma** olgusu tartışılacaktır.

Tanım

Kendiliğinden tutuşma derecesi, kendiliğinden tutuşma sıcaklığı cinsinden ifade edilir. Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı, test yönteminde tanımlanan koşullar altında test maddesinin hava ile karıştırıldığında tutuşacağı en düşük sıcaklıktır.

Test yöntemi/yöntemleri

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığını test etmek için, çeşitli ulusal ve uluslararası standartlara (örn. EN 14522, vb.) atıfta bulunulan (EC) Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin A.15 yöntemi kullanılmalıdır. Test prosedürü, havanın varlığında sıcak bir yüzeyle tutuşabilen gazlara, sıvılara ve buharlara uygulanabilir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, kendiliğinden tutuşma sıcaklığı için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın yapılması gerekmez:

- madde patlayıcıysa ya da oda sıcaklığında havayla temasında kendinden tutuşabiliyorsa, veya*
- havada alevlenir olmayan sıvılar için, örneğin: 200°C'ye kadar parlama noktası yok ise; veya*
- alevlenme aralığı bulunmayan gazlar için ya da*
- maddenin erime noktası 160°C veya daha düşükse ya da maddenin kendinden 400°C'ye kadar ısınması ilk sonuçlarda görülüyorsa katı maddeler için.'*

Bu şu anlama gelir:

Gazlar için:

Yalnızca SEA Yönetmeliğine göre alevlenir olarak sınıflandırılan gazlar dikkate alınmalıdır.

Sıvılar için:

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik, yöntem A.15'e göre belirlenmelidir. Aşağıdaki şekilde sınıflandırılan sıvılar için veri gerekmez:

- piroforik; veya
- patlayıcı, kararsız veya bölüm 1.1 ila 1.6; veya
- organik peroksit; veya
- kendiliğinden tepkimeye giren madde.

Ayrıca, 200°C'ye kadar parlama noktası olmayan sıvılar için kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesine gerek yoktur. Pratikte, 350°C'nin üzerinde bir kaynama noktasına sahip sıvılar, 200°C'nin altında bir parlama noktasına sahip olmaz. Bu nedenle, parlama noktası bilinmiyorsa, bu gibi durumlarda kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi gerekli değildir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- **Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler**

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- **Kanıt ağırlığı**

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi için kanıt ağırlığı yaklaşımı mümkün değildir. Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- **(Q)SAR**

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi için, (Q)SAR yaklaşımları sınıflandırma/risk değerlendirmesi amacıyla kesinlikle önerilmez.

- **Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı**

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

Bununla birlikte, metil bileşiklerinden etil ve propil bileşiklerine ve tersi yönde çapraz okuma mümkün değildir.

- **Test teknik olarak mümkün değildir**

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Oda sıcaklığının altında bozulan veya nemle şiddetli bir şekilde tepkimeye giren maddelerin test edilmesi zor olabilir. Bu gibi durumlarda teknik nedenlerden dolayı testten feragat edilebilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı, katalitik safsızlıkların varlığıyla önemli ölçüde azaltılabilir. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler**Malzeme ve yöntemler**

- cihazın tanımı veya uygulanan test yöntemi veya standarda referans;
- kullanılan numune miktarı.

Sonuçlar ve tartışma

- kendiliğinden tutuşma sıcaklığının değeri veya aralığı;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Sıvılar/gazlar için: gözlemler (örn., hava ile bozunma, nem ile reaksiyonlar, vb.)

Katılar için aşağıda bölüm [R.7.1.12.2](#) incelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Kendiliğinden tutuşma sıcaklığı hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.12	7 7.12	Kendiliğinden alevlenirlik	E.4.13	3.11

R.7.1.12.2 Kendiliğinden ısınan maddeler

Geniş bir yüzeye tutunan katılar ve sıvılar için, havayla tepkime ve ardından tutuşma yoluyla **kendiliğinden ısınma** meydana gelebilir. SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.11'e göre aşağıdaki tanım sağlanmıştır:

'Kendiliğinden ısınan bir madde veya karışım, piroforik sıvı veya katı madde dışında, hava ile tepkimeye girerek ve enerji gerektirmeksizin kendiliğinden ısınmaya yatkın bir sıvı veya katı madde ya da karışım; bu madde veya karışım sadece büyük miktarlarda (kilogram) ve uzun bir süre sonunda (saatler veya günler sonra) tutuştuğundan piroforik sıvı veya katı maddelerden farklıdır.'

ÇŞB rehber dokümanı [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.11'de kendiliğinden ısınma özelliği, SEA sınıflandırması, ilgili test yöntemi ve SAE ve tehlikeli malların taşınmasına ilişkin yönetmelikler ile ilişki hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir.

Daha fazla bilgi ve detay için bu rehber dokümanın [R.7.1.10.7](#) bölümü incelenmelidir.

R.7.1.13 Oksitleyici özellikler

Maddeler ve karışımlar (müstahzarlar) için, SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma ve etiketleme zorunludur. Sonuç olarak, oksitleyici özelliklere ilişkin bilgi gereklilikleri, doğal olarak maddenin SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırılmasıyla kapsamaktadır. Bununla birlikte, SEA Yönetmeliğine göre fiziksel zararlılıklar, KKDİK Ek 7 uyarınca fizikokimyasal özelliklerden tamamen farklı şekilde yapılandırılmıştır. Aşağıdaki tabloda (Tablo R.7.1-10) gösterildiği gibi zararlılık sınıflarının 'oksitleyici özellikler' başlığına atanması, bu nedenle bu belgenin KKDİK Yönetmeliği Ek 7'ye uygun olarak yapılandırılmasının bir yolu olarak anlaşılmalıdır.

Tablo R.7.1-10 KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'ye göre 'Oksitleyici özellikler' bilgi gerekliliğine SEA zararlılık sınıflarının atanması ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA Yönetmeliğine göre test yöntemi arasındaki korelasyon ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ile destekleyici bağlantı.

KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1)(a) uyarınca bilgi gerekliliği (parantez içindeki no., KKDİK Ek 7 ila 9'daki tablodaki ilgili numaradır)	SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Revize R.7(a) rehberind eki bölüm	Test Yöntemi Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	SEA Kriterleri Uygulama Rehberindeki Bölüm (örn. RIP 3.6)
Oksitleyici özellikler (7.13)	Oksitleyici gazlar (2.4) *	R.7.1.13.1	geçerli değildir	ISO 10156	2,4
	Oksitleyici sıvılar (2.13) *	R.7.1.13.2	A.21 Oksitleyici özellikler (sıvılar)	BM Test O.2	2,13
	Oksitleyici katılar (2.14) *	R.7.1.13.3	A.17 Oksitleyici özellikler (katılar)	BM Test O.1	2,14

* Zararlılık sınıfı veya kategorisinin KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (4) (a) içerisinde listelenip listelenmediğinden bağımsız olarak, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin (gerekli olduğunda) KKDİK Yönetmeliği Madde 15 (3)'e göre yapılması gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliğinde Madde 11 (1)(a)(4)'e göre, KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bir madde kaydının teknik dosyası, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Bölüm 4'te belirtildiği gibi maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin bilgileri içermelidir.

R.7.1.13.1 Oksitleyici gazlar

Tanım

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.4.1 oksitleyici gazların aşağıdaki tanımını sağlamaktadır:

'Oksitleyici gaz, genellikle oksijen vererek diğer malzemelerin yanmasına havadan daha fazla neden olan veya katkı sağlayan herhangi bir gaz veya gaz karışımıdır.'

'Havadan daha fazla' kriteri, ayrıca, Bölüm 2.4.1'deki Tablo 2.4.1 altında bir Not içerisinde 'tadil edilmiş ISO 10156 Standardında belirtilen bir yöntemle belirlenen %23,5'ten fazla oksitleme gücü' şeklinde tanımlanmıştır.

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

Tüm oksitleyici gazlar, oksitleyici gaz, Kategori 1 (Oksit. Gaz 1, H270) olarak sınıflandırılır. Sınıflandırma kriterleri ve test yöntemi/yöntemleri hakkında ayrıntılı rehberlik, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), bölüm 2.4 içerisinde bulunabilir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, oksitleyici özellikler için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- madde patlayıcı ise, veya*
- madde kolay alevlenir ise, veya*
- madde organik peroksit ise, veya*
- madde, örneğin kimyasal yapı esas alındığında (örneğin oksijen ve halojen atomları içermeyen organik maddeler, bu elementler kimyasal olarak azot ya da oksijene bağlı değildir ya da oksijen ve halojen atomları içermeyen inorganik maddeler) yanıcı malzemelere ekzotermik olarak tepki gösteremiyorsa.*

Ön testte maddenin oksitleyici özellikleri bulunduğu açıkça görülüyorsa, tam testin katılar için yapılması gerekmez

Gaz halindeki karışımların oksitleyici özelliklerinin belirlenmesine yönelik hiçbir test yöntemi bulunmadığı durumlarda, bu özelliklerin değerlendirmesi, karışım içindeki gazların oksitleyici potansiyelinin havadaki oksijenin oksitleyici potansiyeli ile karşılaştırılması üzerine kurulu tahmin yöntemiyle belirlenir.'

Yukarıdaki girdilere göre, gaz aşağıda belirtilen durumlarda ise çalışmanın yürütülmesine gerek yoktur:

- kolay alevlenir olarak sınıflandırılıyorsa; veya*
- karbon veya hidrojen dışındaki elementlere kimyasal olarak bağlı oksijen, flor ve/veya klor içermiyorsa.*

Yukarıda belirtilen diğer girdiler bu sonlanma noktası için geçerli değildir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Çok fazla oksitleyici gaz yoktur. Çoğu oksitleyici gaz, UN-RTDG ve ISO 10156 içerisinde kendi halinde tanımlanır: 2010 *Gaz tüpleri - Gazlar ve gaz karışımları: - Tüp vana çıkışlarının seçimi için yangın potansiyelinin ve oksitleme kapasitesinin belirlenmesi.*

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

ISO 10156 veya UN-RTDG'de sınıflandırılmayan gazlar için test sonuçlarına atıfta bulunan bilinen hiçbir bilimsel literatür bulunmamaktadır.

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- (Q)SAR

Şu anda, gazların oksitleyici sınırlarının belirlenmesi için genellikle (Q)SAR uygulanamaz. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir. Bununla birlikte, kimyasal yapının değerlendirilmesi, bir maddenin oksitleyici davranışını dışlamak için kullanılabilir. Muhtemelen, bu ilişki gelecekteki QSPR yöntemlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Oksitleyici gazların belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Teknik sınıfa ait oksitleyici gazların normal safsızlık seviyesi testin sonucunu etkilemez. Testler, normal imalat sürecinde karşılaşılan gazdaki en düşük safsızlık konsantrasyonu ile gerçekleştirilmeli ve nem içeriği %0.01 mol düzeyine eşit veya daha az olmalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

ISO 10156'da açıklanan test yöntemine göre pozitif test sonucu olan tüm gazlar 'Oksitleyici O, R8' olarak sınıflandırılır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler**Malzeme ve yöntemler**

- uygulanan standarda referans.

Sonuçlar ve tartışma

- eğer test pozitif ise, gazın 'oksitleyici' olduğunu gösterir;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Oksitleyici özellikler hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.15	7 7.13	Oksitleyici özellikler	E.4.16	3.14

Diğer bilgiler / referanslar

Oksitleyici gazların sınıflandırılması ve test edilmesiyle ilgili daha fazla bilgi, *SEA kriterleri uygulama rehberi*, bölüm 2.4 içerisinde bulunabilir.

Test yöntemi ISO 10156'da açıklanmıştır. Test niteldir. Test sırasında reaksiyon gözlenirse, değerlendirilecek gaz oksitleyicidir.

Birden fazla gaz için, testler sırasında gözlemlenen patlama aralıklarından bir 'oksijen eşdeğerlik katsayısı' (Ci) çıkarılmıştır. Ci faktörleri, oksitleyici gazların listesiyle birlikte ISO 10156'da listelenmiştir.

R.7.1.13.2 Oksitleyici sıvılar**Tanım**

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.13.1 içerisinde oksitleyici sıvıların aşağıdaki tanımı sağlanmaktadır:

'Oksitleyici sıvı, kendiliğinden pek yanmayan ancak genel olarak oksijen oluşturarak diğer materyallerin yanmasına neden olan veya katkı sağlayan bir sıvı madde veya karışımdır.'

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

SEA Yönetmeliğine göre, bir sıvı, UN-MTC içerisinde BM Test O.2'ye (Kısım III, Bölüm 34) göre testte en az %65 nitrik asit sulu çözeltisi kadar oksitleyici ise oksitleyici bir sıvı olarak sınıflandırılır. SEA Yönetmeliği, Oksitleyici Sıvılar için üç kategoriye sahiptir. Kategori ayrıca, çeşitli referans oksitleyicilerle karşılaştırılarak BM Test O.2 ile belirlenir.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, oksitleyici özellikler için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- *madde patlayıcı ise, veya*
- *madde kolay alevlenir ise, veya*
- *madde organik peroksit ise, veya*
- *madde, örneğin kimyasal yapı esas alındığında (örneğin oksijen ve halojen atomları içermeyen organik maddeler, bu elementler kimyasal olarak azot ya da oksijene bağlı değildir ya da oksijen ve halojen atomları içermeyen inorganik maddeler) yanıcı malzemelere ekzotermik olarak tepki gösteremiyorsa.*

Ön testte maddenin oksitleyici özellikleri bulunduğu açıkça görülüyorsa, tam testin katılar için yapılması gerekmez

Gaz halindeki karışımların oksitleyici özelliklerinin belirlenmesine yönelik hiçbir test yöntemi bulunmadığı durumlarda, bu özelliklerin değerlendirmesi, karışım içindeki gazların oksitleyici potansiyelinin havadaki oksijenin oksitleyici potansiyeli ile karşılaştırılması üzerine kurulu tahmin yöntemiyle belirlenir.'

İlk girdi, patlayıcı maddelerin oksitleyici özellikler açısından test edilmemesi gerektiğini belirtir. Örneğin, oksitleyici fonksiyonel gruplara sahip organik maddeler patlayıcı olabilir ve olası patlayıcı davranışları dışlamak için ilk olarak UN-MTC Ek 6'daki patlayıcı özelliklere yönelik tarama prosedürlerinden geçmelidir. Bu tür maddeler ayrıca termal olarak kararsız olabilir ve kendiliğinden tepkimeye girebilir. SEA Yönetmeliğine göre Patlayıcı olarak sınıflandırılmış maddeler, patlayıcı oldukları bilindiğinden normalde oksitleyici özellikler açısından test edilmemelidir.

İkinci girdi, kolay alevlenir maddelerin oksitleyici özellikler için test edilmesine gerek olmadığını belirtir. Bu durumda 'kolay alevlenir' ifadesinin ne anlama geldiği ('çok kolay alevlenir' ve 'alevlenir' anlamına gelip gelmediği) çok açık olmasa da, düşük parlama noktasına sahip veya piroforik sıvılar nadiren oksitleyicidir. Bu, SEA Yönetmeliğine göre Alevlenir Sıvılar kategori 1 veya 2 veya Piroforik Sıvılar olarak sınıflandırılan sıvıların normalde oksitleyici özellikler açısından test edilmesine gerek olmadığı anlamına gelir. Oksitleyici fonksiyonel gruplar içeriyorlarsa, bu tür maddeler bunun yerine kendiliğinden tepkimeye giren veya patlayıcı davranışlar gösterebilir.

Üçüncü girdi, organik peroksitlerin oksitleyici özellikler açısından test edilmemesi gerektiğini belirtir. Organik peroksitler, kimyasal yapılarıyla ayırt edilir ve SEA Yönetmeliğinin Organik Peroksitler zararlılık sınıfı prosedürlerine göre değerlendirilmelidir, bu belgenin [R.7.1.10.9](#) Bölümünde incelenebilir.

Dördüncü girdiye göre feragat, belirli moleküler yapısal özelliklerin olmamasına dayanır. SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.13.4'teki ifade daha nettir ve prensip olarak UN-MTC Ek 6'nın 6. bölümündeki ifade ile aynıdır.

Sütun 1'den uyarlama için özel kurallara yönelik Sütun 2'den alıntı yapılan yukarıdaki son iki paragraf bu sonlanma noktası için geçerli değildir.

SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 2.13.4.1'e göre, aşağıdaki durumlarda bir organik sıvının oksitleyici özellikler açısından değerlendirilmesi gerekmez:

- a. *madde veya karışım oksijen, flor veya klor içermiyorsa; veya*
- b. *madde veya karışım oksijen, flor veya klor içeriyor ve bu elementler kimyasal olarak sadece karbon veya hidrojene bağlanıyor ise.'*

İnorganik sıvılar için, madde herhangi bir oksijen veya halojen atomu içermiyorsa, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.13.4.2'ye göre oksitleyici özelliklerin değerlendirilmesinin yapılması gerekmez.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- **Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler**

UN-MCT içerisindeki BM Test O.2, UN-RTDG'ye göre sınıflandırma için ve sonuç olarak tehlikeli malların taşınması ile ilgili çeşitli düzenlemelerde (örn. ADR ve RID) de kullanılır. Tehlikeli malların taşınmasına ilişkin yönetmeliklere göre BM Test O.2 sonuçlarına dayalı şekilde Bölüm 5.1'e ait olarak sınıflandırılan bir sıvı, SEA Yönetmeliği kriterlerine göre Oksitleyici Sıvıdır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- **Kanıt ağırlığı**

Bir sıvının oksitleyici bir sıvı olup olmadığının belirlenmesi için kanıt ağırlığı mümkün değildir. Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- **(Q)SAR**

Bu rehberin yazım tarihinde, oksitleyici özelliklerin yeterince doğru tahminleri için güvenilir bir (Q)SAR yöntemi mevcut değildir. Bununla birlikte, yukarıda açıklandığı gibi, kimyasal yapının değerlendirilmesi, bir maddenin oksitleyici davranışını dışlamak için kullanılabilir. Muhtemelen, bu ilişki gelecekte QSPR yöntemlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir. Kimyasal yapının bu şekilde değerlendirmesi, resmi olarak KKDİK Ek 7 Sütun 2 uyarlama gerekçesinin bir parçasını oluşturacaktır.

- **Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı**

Bir sıvının oksitleyici bir sıvı olup olmadığının belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

- **Test teknik olarak mümkün değildir**

Feragat olasılıklarından hiçbirisi geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Bazı oksitleyici maddeler ısıtıldığında ayrışabilir.

Maddeler zaman zaman selüloz ile selülozun oksitlenmesi dışında başka şekillerde tepkimeye girebilir (örneğin selüloz içindeki kimyasal bağları kırarak). Bunun için, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.13.4.4 de incelenmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

Küçük safsızlıklar, çok güçlü oksitleyiciler olmadıkları sürece genellikle testi etkilemeyecektir. Safsızlıkların bir etkisi olup olmadığını belirlemek için uzman değerlendirmesi kullanılmalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Az sayıda madde, selülozun saf oksidasyonundan başka reaksiyonlar gösterebilir veya bozunabilir. Eğer bundan şüpheleniliyorsa, uzman görüşü alınmalıdır. Bunun için, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.13.4.4 de incelenmelidir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SEA kriterlerine göre oksitleyici sıvı olarak sınıflandırılan herhangi bir madde normalde SAE Yönetmeliğine göre R8 veya R9 risk ibaresi ile sınıflandırılmalıdır. Risk ibaresi R9 ile sınıflandırma için SAE kriterleri çok kesin değildir, ancak SEA sınıflandırması Kategori 1 ise, selüloz ile reaksiyon şiddetliyse (örn. testte kendiliğinden tutuşma meydana gelirse) madde R9 risk ibaresi ile sınıflandırılmalıdır.

SAE Yönetmeliğinde, sıvıların oksitleyici özelliklerinin değerlendirilmesi için Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik A.21 test yöntemi kullanılır. Bu yöntem, SEA Yönetmeliğinde kullanılan UN-MTC BM Test O.2 ile prensipte aynıdır. Bununla birlikte, SAE, SEA Yönetmeliğinin kategorilerine karşılık gelen herhangi bir bölümlenme yapmaz ve bu nedenle A.21 test yönteminde yalnızca bir referans madde kullanılır. Maddelerin sınıflandırılması için SEA Yönetmeliği yöntemi kullanıldığından, A.21 test yöntemi yerine BM Test O.2'nin kullanılması şiddetle tavsiye edilir.

Bunun nedeni, O.2 test yönteminin bir maddenin (veya karışımın) oksitleme davranışı hakkında daha ayrıntılı bilgi vermesidir, çünkü daha fazla referans karışım kullanılır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standarda veya test yöntemine referans

Sonuçlar ve tartışma

- kendiliğinden tutuşma testinin sonuçları gösterilir;
- test maddesi için ortalama basınç yükselme süresi gösterilir;
- referans madde/maddeler için ortalama basınç yükselme süresi gösterilir;
- sonuçların yorumlanması;
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Oksitleyici özellikler hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.15	7 7.13	Oksitleyici özellikler	E.4.16	3.14

Diğer bilgiler / referanslar

ÇŞB rehber dokümanı [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.13'te oksitlenme özelliği, SEA sınıflandırması, BM Test O.2 ve SAE ve tehlikeli malların taşınmasına ilişkin yönetmelikler ile ilişki hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir.

R.7.1.13.3 Oksitleyici katılar

Tanım

SEA Yönetmeliği, Ek 1, bölüm 2.14.1 içerisinde oksitleyici katıların aşağıdaki tanımı sağlanmaktadır:

'Oksitleyici katı, kendiliğinden alevlenir olmayıp oksijen oluşturarak diğer malzemelerin yanmasına neden olabilen veya katkı sağlayabilen katı bir madde veya karışım anlamına gelir.'

Sınıflandırma kriterleri ve ilgili bilgiler

SEA Yönetmeliğine göre, bir katı, UN-MTC BM Test O.1'e (Kısım III, Bölüm 34) göre gerçekleştirilen testlerde, en azından selüloz ile 3:7 karışım halindeki potasyum bromat kadar oksitleyici ise, oksitleyici bir katı olarak sınıflandırılır. Test, bir selüloz karışımının ve test edilen katı maddenin yanma davranışına dayanmaktadır. SEA Yönetmeliği, oksitleyici katılar için üç kategoriye sahiptir. Kategori ayrıca, selüloz ve potasyum bromatın referans karışımları ile karşılaştırılarak UN-MTC içerisindeki BM Test O.1 aracılığıyla belirlenir²⁰.

Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, oksitleyici özellikler için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- *madde patlayıcı ise, veya*
- *madde kolay alevlenir ise, veya*
- *madde organik peroksit ise, veya*

²⁰ Bu rehberin yazıldığı tarihte, Test O.1: Oksitleyici katılar testinin değiştirilmesi için BM düzeyinde çalışmalar devam etmektedir. Bu, referans maddenin değiştirilmesini ve ölçüm için gravimetrik bir yöntemin uygulanmasını içerir. Daha fazla bilgi için, aşağıdaki bağlantıda bulunan UUN/SCEGHS/23/INF.17 belgesi incelenmelidir: <http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/doc/2012/dgac10c4/UN-SCEGHS-23-INF17.doc-UN-SCETDG-41-INF.43e.pdf> .

- *madde, örneğin kimyasal yapı esas alındığında (örneğin oksijen ve halojen atomları içermeyen organik maddeler, bu elementler kimyasal olarak azot ya da oksijene bağlı değildir ya da oksijen ve halojen atomları içermeyen inorganik maddeler) yanıcı malzemelere ekzotermik olarak tepki gösteremiyorsa.*

Ön testte maddenin oksitleyici özellikleri bulunduğu açıkça görülüyorsa, tam testin katılar için yapılması gerekmez

Gaz halindeki karışımların oksitleyici özelliklerinin belirlenmesine yönelik hiçbir test yöntemi bulunmadığı durumlarda, bu özelliklerin değerlendirmesi, karışım içindeki gazların oksitleyici potansiyelinin havadaki oksijenin oksitleyici potansiyeli ile karşılaştırılması üzerine kurulu tahmin yöntemiyle belirlenir.'

İlk girdi, patlayıcı maddelerin oksitleyici özellikler açısından test edilmemesi gerektiğini belirtir. Örneğin, oksitleyici fonksiyonel gruplara sahip organik maddeler patlayıcı olabilir ve olası patlayıcı davranışları dışlamak için ilk olarak UN-MTC Ek 6'daki patlayıcı özelliklere yönelik tarama prosedürlerinden geçmelidir. Bu tür maddeler ayrıca termal olarak kararsız olabilir ve kendiliğinden tepkimeye girebilir.

İkinci girdi, kolay alevlenir maddelerin oksitleyici özellikler için test edilmesine gerek olmadığını belirtir. Bu durumda 'kolay alevlenir' ifadesinin ne anlama geldiği ('çok kolay alevlenir' ve 'alevlenir' anlamına gelip gelmediği) çok açık olmasa da, SEA yönetmeliğine göre Alevlenir Katılar veya Piroforik Katılar olarak sınıflandırılan katılar nadiren oksitleyicidir. Oksitleyici fonksiyonel gruplar içeriyorlarsa, bu tür maddeler bunun yerine kendiliğinden tepkimeye giren veya patlayıcı davranışlar gösterebilir.

Üçüncü girdi, organik peroksitlerin oksitleyici özellikler açısından test edilmemesi gerektiğini belirtir. Organik peroksitler, kimyasal yapılarıyla ayırt edilir ve SEA Yönetmeliğinin Organik Peroksitler zararlılık sınıfı prosedürlerine göre değerlendirilmelidir, bu belgenin [R.7.1.10.9](#) Bölümünde incelenebilir.

Dördüncü girdiye göre feragat, belirli moleküler yapısal özelliklerin olmamasına dayanır. SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.14.4'teki ifade daha nettir ve prensip olarak UN-MTC Ek 6'nın 6. bölümündeki ifade ile aynıdır.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin son maddesinin altındaki daha fazla testten feragat etmeye izin veren ilk not, '*Ön testte maddenin oksitleyici özellikleri bulunduğu açıkça görülüyorsa, [...]*' ifadesi, yalnızca SAE sınıflandırma sistemine ait olduğu için tercih edilen test yöntemi **olmayan** Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik A.17 test yöntemi kullanılırken geçerlidir. SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma için kullanılan BM Test O.1 herhangi bir ön test içermez.

Sütun 2'den alınan son not 'Sütun 1'den uyarılma için özel kurallar' bu sonlanma noktası için geçerli değildir. İnorganik katılar için, madde herhangi bir oksijen veya halojen atomu içermiyorsa, SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 2.14.4.2'ye göre oksitleyici özelliklerin değerlendirilmesinin yapılması gerekmez.

SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 2.14.4.1'e göre, aşağıdaki durumlarda bir organik katının oksitleyici özellikler açısından değerlendirilmesi gerekmez:

- a. madde veya karışım oksijen, flor veya klor içermiyorsa; veya*
- b. madde veya karışım oksijen, flor veya klor içeriyor ve bu elementler kimyasal olarak sadece karbon veya hidrojene bağlanıyor ise.'*

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

- Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

UN-MCT içerisinde BM Test O.1 aynı zamanda UN-RTDG'ye göre sınıflandırma için ve sonuç olarak tehlikeli malların taşınması ile ilgili çeşitli düzenlemelerde (örn. ADR ve RID) de kullanılır. Tehlikeli malların taşınmasına ilişkin yönetmeliklere göre BM Test O.1 sonuçlarına dayalı şekilde Bölüm 5.1'e ait olarak sınıflandırılan bir katı, SEA Yönetmeliği kriterlerine göre oksitleyici katıdır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

- Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

- (Q)SAR

Bu rehberin yazım tarihinde, oksitleyici özelliklerin yeterince doğru tahminleri için güvenilir bir (Q)SAR yöntemi mevcut değildir. Bununla birlikte, yukarıda açıklandığı gibi, kimyasal yapının değerlendirilmesi, bir maddenin oksitleyici davranışını dışlamak için kullanılabilir. Muhtemelen, bu ilişki gelecekte (Q)SPR yöntemlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir. Kimyasal yapının bu şekilde değerlendirmesi, resmi olarak Sütun 2 uyarılma savunmasının bir parçasını oluşturacaktır.

- Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Oksitleyici katıların belirlenmesi için çapraz okuma genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, homolog seriler içinde interpolasyon hala mümkün olabilir.

- Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Bazı maddeler ısındığında bozunabilir. Maddeler, selülozun oksitlenmesi dışında başka şekillerde zaman zaman selüloz ile tepkimeye girebilir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

Safsızlıklar; belirsizlikler

BM Test O.1 (şu anda) ölçüm cihazı olarak çıplak göz kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Yalnızca uzman görüşü ve kapsamlı deneyim ile testin sonucu doğru bir şekilde değerlendirilebilir ve o zaman bile belirsizlikler ortaya çıkabilir.

Küçük safsızlıklar, çok güçlü oksitleyiciler olmadıkları sürece genellikle testi etkilemeyecektir. Safsızlıkların bir etkisi olup olmadığını belirlemek için uzman değerlendirmesi kullanılmalıdır.

Az sayıda madde, selülozun saf oksidasyonundan başka reaksiyonlar gösterebilir veya bozunabilir. Eğer bundan şüpheleniliyorsa, uzman görüşü alınmalıdır. Tanecik boyutu ve boyut dağılımı, test sonuçları üzerinde etkili olabilir.

SAE sınıflandırmasına nasıl karar verilir?

SEA Yönetmeliği kriterlerine göre oksitleyici katı olarak sınıflandırılan herhangi bir madde normalde SAE Yönetmeliğine göre R8 veya R9 risk ibaresi ile sınıflandırılmalıdır. Risk ibaresi R9 ile sınıflandırma için SAE kriterleri çok kesin değildir, ancak SEA Yönetmeliği sınıflandırması Kategori 1 ise, selüloz ile reaksiyon şiddetliyse madde R9 risk ibaresi ile sınıflandırılmalıdır.

SAE Yönetmeliğinde, katıların oksitleyici özelliklerinin değerlendirilmesi için Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik A.17 test yöntemi kullanılır. Bu yöntemin prensibi büyük ölçüde UN-MTC BM Test O.1 ile aynı olmasına rağmen, deneysel kurulum, referans madde (baryum nitrat) ve ölçülen miktar farklıdır. Bununla birlikte, SAE Yönetmeliği, SEA Yönetmeliğinin kategorilerine karşılık gelen herhangi bir bölümlenme yapmaz. Maddelerin sınıflandırılması için SEA Yönetmeliği kullanıldığından, A.17 yönteminin (SAE sınıflandırma sistemine ait) kullanılması tavsiye edilmez. Bunun yerine, daha fazla referans karışım kullanıldığından, bir maddenin (veya karışımın) oksitleyici davranışı hakkında daha ayrıntılı bilgi verecek olan BM Test O.1 kullanılmalıdır.

Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- cihazın tanımı ve boyutları veya uygulanan standart veya test yöntemine referans;
- tanecik büyüklüğü ve dağılımı.

Sonuçlar ve tartışma

- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

BM Test O.1 kullanılmışsa:

- şiddetli bir reaksiyonun gözlemlenip gözlemlenmediği belirtilir;
- test karışımı için maksimum yanma süresi belirtilir;
- referans karışımlar için maksimum yanma süresi belirtilir;
- ilgili özel gözlemler de dahil olmak üzere sonuçların yorumlanması;
- sonucun tahmini doğruluğu (yanlılık ve kesinlik dahil).

A.17 test yöntemi kullanılmışsa:

- ön testte şiddetli bir reaksiyonun gözlenip gözlemlenmediği belirtilir;
- test karışımı için maksimum yanma süresi belirtilir;
- referans karışım için maksimum yanma süresi belirtilir;
- ilgili özel gözlemler de dahil olmak üzere sonuçların yorumlanması;
- sonucun tahmini doğruluğu (yanlılık ve kesinlik dahil).

Kullanılan rehber yönteminden (ve bunun nedenlerinden) herhangi bir sapma veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Oksitleyici özellikler hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.15	7 7.13	Oksitleyici özellikler	E.4.16	3.14

Diğer bilgiler / referanslar

ÇŞB rehber dokümanı [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) bölüm 2.14'te oksitlenme özelliği, SEA sınıflandırması, BM Test O.1 ve SAE ve tehlikeli malların taşınmasına ilişkin yönetmelikler ile ilişki hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir.

R.7.1.14 Granülometri

Kayıt ettirenlere nanomalzemelerin granülometri karakterizasyonu ile ilgili olarak tavsiyeler, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli: Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler, bölüm 2.2.3 Granülometri içerisinde bulunabilir.

R.7.1.14.1 Özellik türü

Granülometri, bir maddenin belirli bir fiziko-kimyasal özelliği değildir. Orijinal partikül boyutu dağılımı, kullanılan endüstriyel işleme yöntemlerine büyük ölçüde bağlıdır ve sonraki çevresel veya insan dönüşümlerinden de etkilenebilir. Partikül boyutu genellikle mikrometre cinsinden ölçülür (= 10^{-6} m; μm ; 'mikron').

Granülometri, aşağıdaki gibi hususları etkilediği için bir maddenin toksik özellikleri açısından büyük önem taşır:

- insanların maruz kalma yolu ve soluma yoluyla toksisite;
- hayvan testleri için uygulama yolunun seçimi;
- bir organizmada alımın etkinliği;
- çevrede dağılım.

Granülometri, yanıcı/patlayıcı toz-hava karışımları oluşturma olasılığı gibi özellikleri etkilediği için yanıcı tozlar için önemlidir.

Genel olarak, tüm toz malzemeler farklı partikül boyutlarına (partikül boyutu dağılımı) sahiptir, bu nedenle, partikül boyutu dağılımının sunulması (örneğin partikül boyutu karşısında kütle, partikül boyutu karşısında partikül sayısı vb. histogramı kullanılarak) verileri yorumlamak için gereklidir.

Solunum yoluyla maruz kalma durumunda, insan toksisitesinin solunum sisteminde birikim yeri ile ilişkili olacağı iyi bilinmektedir. Birikim yeri, esas olarak, yaygın şekilde partikülün aerodinamik çapının ele alınması yoluyla değerlendirilen partikül özelliklerine (boyut, şekil, yoğunluk vb.) dayalıdır (aşağıdaki tanıma bakınız). Bu nedenle, genel yaklaşım, kütle oranlarını (örneğin, EN 481 veya EPA PM Oranları tarafından tanımlanan sağlıkla ilgili oranlar) kullanmak olmuştur. Örneğin, Avrupa'da, EN 481'in yayımlanmasından itibaren, toz malzemeler için OEL değerleri bir veya birkaç oran için (içe çekilebilir, torasik veya solunabilir) tanımlanmıştır.

Foto santrifüj yöntemi - ISO 13318-2:2007 içerisinde açıklanan partikül boyutu dağılımı belirleme yöntemi, sıvılarda dağılabilen tozlara, çamur formunda bulunan tozlara ve bazı emülsiyonlara uygulanabilir. Analiz için tipik partikül boyutu aralığı, yaklaşık 0.1 μm ile 5 μm 'dir. Yöntem, tüm partiküllerin aynı yoğunluğa ve benzer şekillere sahip olduğu ve süspansiyon sıvısında kimyasal veya fiziksel değişikliğe uğramadığı tozlara uygulanabilir. Genellikle partiküllerin sıvının yoğunluğundan daha yüksek bir yoğunluğa sahip olması gereklidir.

Işık Sönmeli Sıvı Kaynaklı Partikül Sayacı - ISO 21501-3:2007'de, sıvı içinde askıda tutulan partiküllerin boyutunu ve partikül sayısı konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan, ışık sönmeli sıvı kaynaklı partikül sayacı (LSLPC) için bir kalibrasyon ve doğrulama yöntemi açıklanmaktadır. Işık sönmeli yöntem, tekli partikül ölçümlerine dayanır ve bu yöntemle ölçülen partiküllerin tipik boyut aralığı 1 μm ile 100 μm arasındadır.

Işık Dağıtım Sıvı Kaynaklı Partikül Sayacı - ISO 21501-2:2007'de, sıvı içinde askıda tutulan partiküllerin boyutunu ve partikül sayısı konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan, ışık dağıtım sıvı kaynaklı partikül sayacı (LSLPC) için bir kalibrasyon ve doğrulama yöntemi açıklanmaktadır. Işık dağıtım yöntemi, tekli partikül ölçümlerine dayanır ve bu yöntemle ölçülen partiküllerin tipik boyut aralığı 0.1 μm ile 10 μm arasındadır.

Santrifüjlü X-ışını yöntemi - ISO 13318-3:2004'te açıklanan partikül boyutu dağılımı belirleme yöntemi, çamur halinde bulunan sıvılar veya tozlar içinde dağılabilen tozlara uygulanabilir. Analiz için tipik partikül boyutu aralığı, yaklaşık 0.1 µm ila 5 µm'dir. Yöntem, tüm partiküllerin aynı etkin yoğunluğa, kimyasal bileşime ve benzer şekillere sahip olduğu tozlara uygulanabilir.

CEN belgesi, EN 481 "İşyeri Atmosferleri - havada taşınan partiküllerin ölçümü için boyut oranı tanımları" (CEN 1993), içe çekilebilir, torasik ve solunabilir boyut oranlarının tanımlarını ve bu oranları ölçmek amacıyla numune alma aletleri için hedef özellikleri (kurallar) sağlar. Mevcut standart, işyerinde havayla taşınan partiküllerin solunmasından kaynaklanan olası sağlık etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılacak partikül boyutu oranları için numune alma kurallarını tanımlar. EN 481'de tanımlanan farklı partikül boyutları şunlardır:

- içe çekilebilir oran (burun ve ağız tarafından içe çekilebilir partiküllerin kütle oranı). 100 µm'den büyük partiküller içe çekilebilir kuralı içerisine dahil değildir;
- torasik oran (gırtlaktan geçen solunmuş taneciklerin kütle oranı). Torasik oran kuralı, havadaki aerodinamik çapı 10 µm olan partiküllerin %50'sinin torasik orana ait olduğunu belirler;
- solunabilir oran (solunan partiküllerin alveollere ulaşan kütle oranı) Solunabilir oran kuralı, aerodinamik çapı 4 µm olan partiküllerin %50'sinin solunabilir orana ait olduğunu belirler.

R.7.1.14.2 Tanımlar

Aerodinamik çap: geçerli sıcaklık, basınç ve bağıl nem koşulları altındaki partikül ile, durgun havadaki yerçekimi kuvvetine bağlı olarak aynı terminal hıza (düşme hızı) sahip 1 g.cm⁻³ yoğunluklu bir kürenin çapı (CEN, 1993). Aerodinamik çap, farklı boyutlara, şekillere ve yoğunluklara sahip partikülleri karşılaştırmak için kullanılır ve bu tür partiküllerin solunum sisteminde nerede birikebileceğini tahmin etmek için faydalı bir parametredir. Solunum yolundaki birikimle kendi başlarına ilişkilendirilemeyen gerçek çapların temsilleri olan "optik", "ölçülmüş" veya "geometrik" çaplara karşılık olarak kullanılır.

Partikül yayılım çapı: 0.5 µm'den küçük aerodinamik çapa sahip partiküller için partikül aerodinamik çapın yerine partikül yayılım çapı kullanılmalıdır. Yayılım için uygun eşdeğer çap yayılım (hareketlilik) çapıdır. Bu, geçerli sıcaklık, basınç ve bağıl nem koşulları altında partikülle aynı yayılım katsayısına sahip bir kürenin çapı olarak tanımlanır.

İlgilenilen parametre, etkin hidrodinamik yarıçap veya etkin Stoke yarıçapı R_s 'dir. Partikül boyutu dağılımı (etkin hidrodinamik yarıçap) suda çözünmezlik hakkında bilgi gerektirir. Lif uzunluğu ve çap dağılımları, ürünün lifli doğası ve lifli şeklin elektron mikroskobu koşulları altında kararlılığı hakkında bilgi gerektirir.

Lif: en boy oranı (uzunluk/çap > 3) ve çapı < 100 µm olan suda çözünmeyen bir partiküldür. < 5 µm uzunluğundaki liflerin dikkate alınmasına gerek yoktur.

Partikül: Maddenin tanımlanmış fiziksel sınırları olan küçük bir parçası. (ISO/TS 27687:2008)

Aglomerasyon: Ortaya çıkan dış yüzey alanının, ayrı ayrı bileşenlerin yüzey alanlarının toplamına benzer olduğu, zayıf şekilde bağlanmış agregasyon partiküllerinin veya bu ikisinin karışımının bir koleksiyonu (ISO/TS 27687:2008).

Agregasyon: Ortaya çıkan dış yüzey alanının, ayrı ayrı bileşenlerin hesaplanan yüzey alanlarının toplamından önemli ölçüde daha küçük olabileceği güçlü bir şekilde bağlanmış veya kaynaşmış partiküller içeren tanecikler (ISO/TS 27687:2008).

R.7.1.14.3 Test yöntemleri

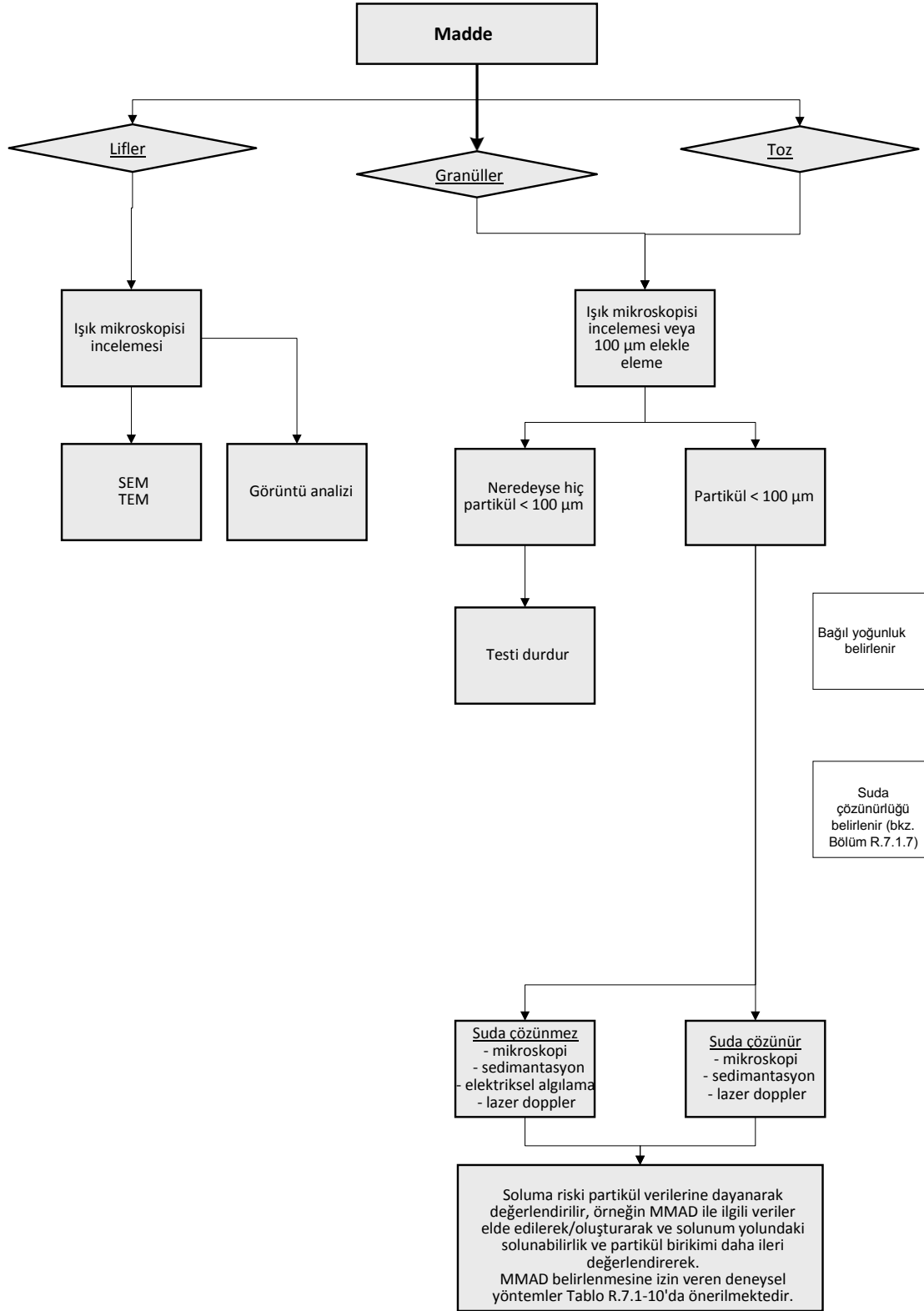
Partikül boyutu ölçümleri için birçok yöntem mevcuttur ancak bunların hiçbiri tüm boyut aralığına uygulanamaz (bkz. [Tablo R.7.1-11](#)). Eleme, mikroskopik çöktürme ve yıkama teknikleri en yaygın şekilde kullanılmaktadır. Partikül boyutu dağılımını belirleme yöntemleri, suda ve havada çözünmeyen parçacıkların taşınması ve çökmesi hakkında bilgi sağlamak için tasarlanmıştır. Solunabilir ve içe çekilebilir partiküllerin partikül boyutu dağılımının belirlenmesi için uygun yöntemleri detaylandıran bütünlük bir test stratejisi [Şekil R.7.1-6](#)'da gösterilmektedir.

Partikül boyutu dağılımı ve lif uzunluğu ve çap dağılımlarının belirlenmesi için yöntemlerin ayrıntıları OECD Test Rehberi 110'da ve 'Kimyasal Maddelerin Partikül Boyutu Dağılımı, Lif Uzunluğu ve Çap Dağılımının Belirlenmesine İlişkin Rehber Doküman' içerisinde özetlenmiştir (JRC, 2002).

Partikül boyutu dağılımı, havadaki toz olarak değil, incelenen malzeme üzerinde gerçekleştirilir.

Kullanılan yöntemin ölçüm ilkesi, partikülün ne türde çapının belirlenebileceğini belirleyecektir: örneğin, ışık saçılımı kullanılırken optik çap veya çarpma cihazları kullanılırken aerodinamik çap olabilir. Kütle medyan aerodinamik çapı (MMAD) belirleyen yöntemler, uygun üretim ekipmanı ve doğru numune alma teknikleri kullanılarak temsili test atmosferlerinin oluşturulmasını gerektirir. Havadaki partiküller (toz, duman, sis), nebülize partiküller (yaş aerosol) veya dağılmış partiküller (kuru aerosol) durumunda kullanılabilirler.

Şekil R.7.1-6 Granülometri için bütünleşik test stratejisi



Tablo R.7.1–11 Bir malzemenin partikül boyutu dağılımını belirleme yöntemleri

Yöntem ve detaylar	Malzeme ve boyut aralığı	MMAD
<p>Mikroskopik inceleme</p> <p>Partiküllerin şeklini ve boyutunu etkilememek için numunelerin doğrudan hazırlanması tercih edilir.</p> <p>Bu yöntem, partiküllerin boyut dağılımını belirler.</p>	<p>Her çeşit partikül</p> <p>Boyut aralığı: 0,5–5000 mikron (ışık mikroskobu) ve <0,1–10 mikron (SEM/TEM)</p>	<p>MMAD belirlenem ez</p>
<p>Eleme</p> <p>Tel örgü elekler ve delikli metal levha elekler kullanılarak eleme, solunabilir ve içe çekilebilir boyuttaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun değildir, çünkü aralıkları yalnızca 100-10000 mikrondur.</p> <p>Mikro gözenekli (mesh) elekler (5-100 mikron aralığında) daha iyi sonuçlar verebilir. Bununla birlikte, bu elekler genellikle mekanik veya ultrasonik titreşim ile birlikte çalıştırıldıkları için, medyan boyut ve formda değişiklik meydana gelebilir.</p> <p>Eleme, solunabilir boyuttaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun değildir, ancak daha büyük partiküllerin belirlenmesi için uygun olabilir.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller</p> <p>Boyut aralığı: 100–10000 mikron (tel örgü/metal elekler) ve 5-100 (mikromesh)</p>	<p>MMAD belirlenem ez</p>
<p>Çöktürme (yerçekimsel çökme)</p> <p>Yöntem, partiküllerin sıvı içinde yerçekimsel olarak çökmesine dayanır ve etkin hidrodinamik yarıçap belirlenir. Etkin hidrodinamik yarıçap dağılımı, iki değer arasında > % 20 farklılık görülmeyen şekilde 3x ölçülmelidir. Yarıçap dağılım eğrisini çözmek için yeterli sayıda yarıçap aralığı kullanılmasını gerektirir. Kalibrasyon malzemesi olarak lateks kürelerin ikili veya üçlü karışımları (2-100 mikron) önerilir.</p> <p>Yöntem, solunabilir ve içe çekilebilir boyuttaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun olabilir.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller</p> <p>Boyut aralığı: 2-200 mikron</p>	<p>MMAD belirlenem ez</p>
<p>Elektriksel Algılama Alanı (örn. Coulter) yöntemi</p> <p>Örnekler, elektrolitik bir çözelti içinde süspansiyon haline getirilir. Parçacık bir açıklıktan çekilirken, iletkenlikteki değişiklik parçacık boyutunun bir ölçüsünü verir. Önemli parametre, hem yoğunluğa hem de çapa bağlı olan sıvı fazdaki çökme hızıdır. Birkaç g/cm³ yoğunluğa sahip partiküller belirlenebilir.</p> <p>Akışkan içinde tam elektrik izolatör olan partiküllere uygulanabilir. Partiküller ve akışkan arasındaki yoğunluk farkı çok büyük olmamalıdır.</p> <p>Yöntem, solunabilir ve içe çekilebilir boyuttaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun olabilir.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller (iletken olmayan)</p> <p>Boyut aralığı: 1-1000 mikron</p>	<p>MMAD belirlenem ez</p>

<p>Faz Doppler Anemometrisi</p> <p>Pahalı bir tekniktir. Partikül boyutu dağılımı havada veya sıvı içinde ölçülebilir. Yöntem, partiküllerin bilinen kırılma indisine sahip ve küresel olduklarını varsayar.</p> <p>Yöntem, solunabilir ve içe çekilebilir boyuttaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun olabilir.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller</p> <p>Boyut aralığı: 0.5-80 mikron (havada); 0.5-1000 mikron (sıvıda)</p>	<p>MMAD belirlenemez</p>
<p>Lif uzunluğu ve çap dağılımlarının belirlenmesi</p> <p>Bilinen lifli veya lif salan maddelerle veya diğer verilerle benzerlikleri karşılaştırarak liflerin mevcut olma olasılığını incelemek için kullanılan ışık mikroskobu. Lifin kırılmasını ve topaklanmasını önlemek için numune hazırlama sırasında çok dikkatli olunması gerekir. Havadaki liflerle bulaşmasını önlemek için de özen gösterilmelidir.</p> <p>Numuneler, (a) hafifçe elle çalkalama veya vorteks (Tüp) karıştırma yoluyla suda süspansiyon oluşturarak veya (b) kuru malzemenin doğrudan bakır bant üzerine doğrudan aktarılmasıyla veya kuru liflerin atomizör veya pipet kullanılarak püskürtülmesi yoluyla hazırlanabilir.</p> <p>Uzunluk ve çap dağılımları bağımsız olarak en az iki kez ölçülmeli ve en az 70 lif sayılmalıdır. Belirli bir histogram aralığında hiçbir değer >% 50 veya 3 fiber (hangisi daha büyükse) farklılık göstermemelidir. Uzun ince liflerin varlığı, daha fazla, daha hassas ölçümlere ihtiyaç olduğunu gösterir.</p>	<p>Lifli ürünler</p> <p>Boyut aralığı: 0,1 mikron kadar küçük ve 100 mikron kadar büyük çaplar ve 5 mikron kadar küçük ve 300 mikron kadar büyük uzunluklar</p>	

Malzemelerin havada toz üretme eğilimi (malzemenin *tozluluğu*) hakkında doğru bilgiye sahip olmak avantajlıdır. Endüstride kullanılan çeşitli işleme ve kullanma türlerini temsil eden ve kopyalayan tek bir tozluluk testi yöntemi yoktur. Tozluluk ölçümü, kullanılan test cihazına, tozun özelliklerine ve çeşitli çevresel değişkenlere bağlıdır (yani tozluluk, 'kendi halinde tozun' bir ölçümü değildir). EN 481'de tanımlanan sağlıkla ilgili aerosol oranlarına göre, yığın malzemelerin tozluluğunu ölçmek için bir dizi yöntem vardır. İki yöntem (döner tambur yöntemi ve sürekli damlatma yöntemi) EN 15051 'İşyeri atmosferleri - Yığın malzemelerin tozluluğunun ölçülmesi - Gereklilikler ve referans test yöntemleri' (CEN, 2006) belgesinde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tozluluk göreceli bir terimdir (standart bir test prosedürü sırasında yayılan toz miktarından türetilmiştir). Bu, seçilen yöntem, test edilen yığın malzemenin durumuna ve özelliklerine ve testlerin gerçekleştirildiği çeşitli çevresel değişkenlere bağlıdır. Bu nedenle, EN 15051'deki iki yöntem farklı sonuçlar sağlayabilir (yöntemler, işleme süreçlerini temsil etmeyi amaçlamaktadır). Standart 3 bölüme ayrılmıştır (bir genel bölüm ve her yöntem için bir bölüm). Standartta açıklanan yöntemler (Tablo R.7.1-12), EN 481 tarafından tanımlanan sağlıkla ilgili oranlar açısından tozluluğu belirlemek için kullanılır. Partikül boyutu dağılımını elde etmek için daha fazla analiz (örneğin, toz toplama aşamalarındaki içeriğin analizi) kullanılabilir. Bu yöntemler, uygun üretim ekipmanı ve doğru numune alma teknikleri kullanılarak temsili test atmosferlerinin oluşturulmasını gerektirir.

Tablo R.7.1–12 Havada dağılmış veya nebülize partikülleri oluşturma/numune alma yöntemleri

Yöntem ve detaylar	Malzeme ve boyut aralığı	MMAD
<p>Kademeli ayırıştırıcı</p> <p>Kademeli ayırıştırıcılar, bir aerosolün (yani bu bağlamda bir toz bulutunun) boyut dağılımını elde etmek için kullanılabilir. Hava numuneleri, partiküllerin bir darbe alt tabakası üzerinde biriktirildiği birkaç aşamadan oluşan bir cihaz aracılığıyla alınır. Partiküller, aerodinamik çaplarına bağlı olarak belirli bir aşamaya kadar etki gösterecektir.</p> <p>Kesme boyutu, numune almadan önce ve sonra her aşamanın tartılmasıyla ve bu hesaplamalardan türetilen MMAD ile her aşamadaki jet hızlarından hesaplanabilir.</p> <p>Bu, partiküllerin boyut dağılımını ölçmek için iyi oluşturulmuş bir tekniktir (tüm bir kütle oranlarının hesaplanmasına izin verir). Bazı modeller, EN 481 tarafından tanımlanan sağlıkla ilgili 3 oranı verecek şekilde özel olarak tasarlanmıştır.</p> <p>Kademeli ayırıştırma yöntemini kullanımı sırasında yığın aerosol karakterizasyonu ve tek partikül analizi için yöntemler hakkında özel bilgiler içeren ISO/TR 27628:2007 de incelenmelidir.</p>	<p>Aerosol içindeki partiküller</p> <p>Boyut aralığı: 0.1-20 ve 0.5-80 mikron</p>	<p>MMAD, uygun bağlı bir analitik teknikle belirlenebilir.</p>
<p>Lazer saçılımı/kırınımı</p> <p>Genel olarak, gelen ışığın saçılması, bir detektör tarafından ölçülen belirgin bir model verir. Bu teknik, partikül özelliğine bağlıdır - yani, malzemenin, aynı zamanda partikül boyutuna da bağlı olan benzersiz saçılma ve kırınım özellikleri vardır. Cihazı benzer bir materyalle (ölçülecek materyal ile aynı boyut aralığında) kalibre etmek önemlidir.</p> <p>Lazer saçılma teknikleri, geometrik parçacıklar, yani küreler, küpler ve monokristaller için uygundur. Partikül boyutu optik olarak oluşturulacaktır. MMAD, bir hesaplama düzeltmesi yoluyla hesaplanabilir.</p> <p>Yöntemlerin düzeltmeleri ve sınırlamaları hakkında daha fazla bilgi CEN/TR 16013-1 ve CEN/TR 16013-2 içerisinde bulunabilir.</p> <p>Ayrıca, optik modelinde küresel bir partikül şekli varsayan bir teknik olup, yöntemin olası sınırlamalarını dikkate alan ISO 13320: 2009 Partikül boyutu analizi - lazer kırınım yöntemleri de incelenmelidir. Ortaya çıkan partikül boyutu dağılımı, diğer fiziksel ilkelere (örneğin sedimantasyon, eleme) dayalı yöntemlerle elde edilenden farklıdır.</p>	<p>Her çeşit partikül</p> <p>Boyut aralığı: 0,1 um ila 3 mm (özel cihaz ve koşullarla, boyut aralığı 3 mm'nin üzerine ve 0,1 mm altına genişletilebilir)</p>	<p>MMAD belirlenebilir.</p>

<p>Döner tambur yöntemi (prEN 15051-2)</p> <p>Bu yöntem, dönen bir tamburdaki bir malzemenin tekrarlı şekilde kaldırılması ve düşürülmesi ile üretilen havada asılı bir toz bulutunun boyut seçici şekilde örneklenmesine dayanır. Tamburdan çekilen hava, özel olarak tasarlanmış bir çıkış ve iki gözenekli poliüretan köpük ve bir membran filtreden oluşan 3 aşamalı bir bölümlendirme sisteminden geçer. Her toplama aşamasında toplanan toz kütlesi, biyolojik olarak ilgili boyut oranlarının doğrudan bir ölçüsünü vermek için gravimetrik olarak belirlenir. Bu yöntem, endüstrideki çok çeşitli malzeme işleme süreçlerini taklit eder ve havada taşınan bir malzemenin biyolojik olarak ilgili boyut işlevlerini belirler.</p> <p>Bu yöntem, solunabilir, torasik veya ie çekilebilir oranları belirlemek için uygundur.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller/ufalanabilir ürünler</p> <p>Boyut aralığı: 0.5-10,000 mikron</p>	<p>MMAD belirlenemez.</p>
<p>Sürekli damlatma yöntemi (prEN 15051-3)</p> <p>Bu yöntem, yavaş bir dikey hava akımında malzemenin sürekli olarak tekli damlatılmasıyla üretilen havada asılı toz bulutunun boyut seçici şekilde örneklenmesine dayanmaktadır. Malzemenin damlatılmasıyla açığa çıkan toz, hava akımı tarafından ie çekilebilir ve solunabilir kısımlara ayrıldığı bir numune alma bölümüne iletilir.</p> <p>Bu yöntem, solunabilir ve ie çekilebilir oranları belirlemek için uygundur.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller/ufalanabilir ürünler</p> <p>Boyut aralığı: 0.5-10,000 mikron</p>	<p>MMAD belirlenebilir.</p>

Tablo R.7.1–13 Yalnızca içe çekilebilir oranları ölçen veya ayrıntılı dağılımlar vermeyen yöntemler

Yöntem ve detaylar	Malzeme ve boyut aralığı	MMAD
<p>Yıkayarak ayırma (Elütriasyon)</p> <p>Partiküller, değişen hızlarda bir kolon üzerine çekilir. Hız, partikül boyutunu hesaplamak için kullanılır ve geriye kalan numunenin belirli bir hızdaki ağırlığı, dağılımı hesaplamak için kullanılır. Yöntem, > 15 mikron partiküllerle sınırlıdır.</p> <p>Yöntem, solunabilir boyuttaki parçacıkların dağılımını belirlemek için uygun değildir, ancak içe çekilebilir boyuttaki parçacıkların dağılımını belirlemek için uygun olabilir.</p>	<p>Kuru tozlar/granüller</p> <p>Boyut aralığı: 15-115 mikron</p>	<p>MMAD belirlenemez.</p>
<p>Hava jetli elek</p> <p>Hava, ince bir elek üzerinde ağırlıklı bir numuneden aspire edilir ve ağırlık kaybı ölçülür. Yöntem, incelenen malzemenin yüzdürülmeyen oranını tahmin edebilir. Parçacıkların topaklanması, güvenilmez değerlere neden olacaktır. Ayrıca, tespit alt sınırı sadece 10 mikron olduğundan, bu yöntem solunabilir boyuttaki parçacıkların dağılımını belirlemek için uygun değildir.</p> <p>Yöntem, solunabilir kısımdaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun değildir, ancak 10 ila 10000 mikron arasındaki partiküllerin dağılımını belirlemek için uygun olabilir.</p>	<p>Her çeşit partikül</p> <p>Boyut aralığı: 10-10000 mikron</p>	<p>MMAD belirlenemez.</p>
<p>Siklonlar</p> <p>Siklon kullanımı, 4.25 ve 100 mikronda siklon kesme noktalarının oluşturulmasıyla test atmosferlerinde solunabilir ve/veya içe çekilebilir partiküllerin mevcut olup olmadığını belirlemeye yönelik basit bir yaklaşımdır.</p> <p>Siklondan geçen parçacıkların ağırlığı ölçülerek, 10 mikrondan küçük partiküllerin boyut dağılımını belirlemek için daha karmaşık yöntemlerin uygulanmasının gerekip gerekmediğine karar verilebilir.</p> <p>Bu yöntem, solunabilir, torasik veya içe çekilebilir oranları belirlemek için uygundur.</p>	<p>Her çeşit partikül</p> <p>Boyut aralığı: 0.1-200 mikron</p>	<p>MMAD belirlenemez.</p>

R.7.1.14.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 7'nin 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Sütun 2, granülometri için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır.

'Madde katı olmayan veya granüler formda piyasaya arz edildiyse ya da kullanıldıysa çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez.'

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Bir maddenin granülometrisi büyük ölçüde endüstriyel işleme yöntemlerine ve muhtemelen malzemenin kullanımına da bağlı olduğundan, granülometri ile ilgili yayınlanan herhangi bir veri yalnızca belirli numune veya süreçle ilgili olacaktır.

Partikül özelliklerine ilişkin verilerin derlenmesini ve değerlendirilmesini içeren bir dizi web sitesi ve elektronik veri tabanı vardır. Bununla birlikte, partikül boyutu verilerini sağlayan sınırlı sayıda referans kitabı bulunmaktadır.

Partikül boyutu dağılımı için çeşitli ulusal ve uluslararası standart yöntemlerin eşdeğerliği test edilmemiştir ve bilinmemektedir.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Verilerin birden fazla kaynaktan elde edilebildiği bazı durumlarda (örn. farklı partilerin partikül boyutu dağılımı hakkında bilgi veya farklı yöntemlerden bilgi), bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Partikül boyutunu tahmin etmek için QSPR/(Q)SAR araçları yoktur ve bu nedenle verilerin deneysel olarak belirlenmesi gerekecektir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Şu anda, gruplama ve çapraz okuma geçerli değildir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Katılar veya granüllü maddeler için test her zaman mümkün olmalıdır.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.14.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Çöktürme ve Coulter sayacı ölçümleriyle ilgili belirli bir sorun vardır. Lif uzunluğu ve çap dağılımları ölçülürken safsızlıkların partikül şekli üzerindeki etkisi dikkate alınmalıdır.

Numune olarak kullanılan küçük miktarlar, çok fazla miktarlardan (kilogramdan) oluşan ürün serilerini temsil etmelidir; bu nedenle numune alma ve numune kullanımı büyük özen gerektirir.

İletken olmayan bir sıvıdaki iletken olmayan partiküllerin elektriksel olarak yüklenerek, belirli bir büyüklükteki partiküllerin gerçeği temsil etmeyen şekilde çökmesine neden olabileceği için de büyük özen gösterilmelidir. Ayrıca, partikül boyutu dağılımının belirlenmesi sürecinde partiküllerin elektrostatik yükünün hesaba katılması çok önemlidir. Elektrostatik olarak yüklü parçacıklar farklı davranır ve numune almayı etkileyebilir.

Agregasyon ve aglomerasyon arasında ayırım yapmak faydalıdır. Agregasyon güçlü kuvvetler tarafından bir arada tutulur ve kalıcı olduğu düşünülebilirken, aglomerasyon zayıf kuvvetlerle bir arada tutulur ve belirli koşullar altında parçalanabilir. Küçük partiküller genellikle aglomerasyon oluşturduğundan, birincil partikül boyutunun belirlenmesinden önce numunenin ön işleminden geçirilmesi (örn. dağıtıcı maddelerin eklenmesi, çalkalama veya düşük seviyeli ultrasonik işlem) gerekebilir. Bununla birlikte, partikül boyutu dağılımını değiştirmekten kaçınmak için büyük özen gösterilmelidir.

R.7.1.14.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzeme ve yöntemler

- herhangi bir sonikasyon, öğütme veya dağıtıcı madde ilavesi (varsa) gibi numune hazırlama;
- eğer bir süspansiyon ortamı kullanılırsa (örn. sedimantasyon testi): ortam tipi, sıcaklık, pH değeri, maddenin konsantrasyonu ve süspansiyon ortamındaki çözünürlüğü gösterilir;
- kullanılan yöntemin türü.

Sonuçlar ve tartışma

- partikül boyutu alanında: ortalama ve standart sapma;
- farklı geçiş alanlarındaki partikül boyutu dağılımında: boyut ve dağılım;
- varsa, partikül şekli hakkında yaklaşık bilgiler (örneğin küresel, plaka benzeri, iğne şeklinde);
- lifler için: liflerin uzunluğu ve çapı belirtilir.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Partikül boyutu dağılımı (Granülometri) hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.5	7 7.14	Partikül boyutu dağılımı (Granülometri)	E.4.6	3.5

R.7.1.14.7 Diğer bilgiler / referanslar

CEN 1993	EN 481: İş yeri atmosferleri. Havadaki partiküllerin ölçümü için boyut oranı tanımları
CEN 2006	EN 15051: İş yeri atmosferleri. Yığın malzemelerin tozluluk ölçümü - Gereklilikler ve referans test yöntemleri
JRC (2002)	"Kimyasal Maddelerin Partikül Boyutu Dağılımı, Lif Uzunluğu ve Çap Dağılımının Belirlenmesine İlişkin Rehber Doküman", ISBN 92-894-3704-9, EUR 20268 EN, http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/11111111/5555
OECD Test Rehberi 110	Test No. 110: Partikül boyutu dağılımı/lif uzunluğu ve çap dağılımları
prEN 15051-1 rev	İşyerinde maruz kalma - Yığın malzemelerin tozluluğunun ölçülmesi - Bölüm 1: Gereklilikler ve test yöntemlerinin seçimi
prEN 15051-2	İşyerinde maruz kalma - Yığın malzemelerin tozluluğunun ölçülmesi - Bölüm 2: Döner tambur yöntemi
prEN 15051-3	İşyerinde maruz kalma - Yığın malzemelerin tozluluğunun ölçülmesi - Bölüm 3: Sürekli damlatma yöntemi
(ISO/TS 27687:2008)	Nanoteknolojiler-Nano nesnelere için terminoloji ve tanımlar- Nanopartikül, nanofiber ve nanoplaka
CEN/TR 16013-1:2010	İşyerinde maruz kalma. Aerosol izleme için doğrudan okuma aletlerinin kullanımına ilişkin rehber. Belirli uygulamalar için izleme seçimi
CEN/TR 16013-2:2010	İşyerinde maruz kalma. Aerosol izleme için doğrudan okuma aletlerinin kullanımına ilişkin rehber. Optik partikül sayacıları kullanılarak havadaki partikül konsantrasyonlarının değerlendirilmesi

R.7.1.15 Yüzeğe tutunma(adsorpsiyon)/Yüzeyden sıyrılmaya(desorpsiyon)

Nanomalzemelerin yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılmaya karakterizasyonu ile ilgili olarak kayıt ettirenlere tavsiyeler, [BG ve KGD Rehberi Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli: Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler](#), bölüm 2.2.4 Yüzeğe tutunma/Yüzeyden sıyrılmaya içerisinde bulunabilir.

R.7.1.15.1 Özellik türü

Yüzeğe tutunma/yüzeyden sıyrılmaya, bir maddenin belirli bir fizikokimyasal özelliği değildir. Bu özellik, bir maddenin katı yüzeylere bağlanma kapasitesini (veya "yapışkanlığını") belirtir ve bu nedenle çevresel dağılım davranışını anlamak için gereklidir.

Yüzeğe tutunma/yüzeyden sıyrılmaya ilişkin bilgiler çevresel maruz kalma modelleri için temel bir girdidir, çünkü:

- askıdaki maddeye tutunma, atık su arıtma tesislerindeki (AAT) sudan önemli bir fiziksel giderme süreci olabilir. Bu da, eğer toprağa yayılırsa, atık su çamurunun topraktaki maddenin ana kaynağı olduğu anlamına gelebilir;
- Alıcı sularda askıdaki maddenin yüzeyine tutunma, yüzey suyundaki konsantrasyonu ve çökeltideki konsantrasyonu etkiler;
- Bir maddenin toprak yüzeyinden sıyrılmaya ilişkin hareketliliğini ve yüzeye veya yeraltı sularına ulaşma potansiyelini doğrudan etkiler.

Sonuç olarak, yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılmaya hakkındaki bilgiler, çökelti veya toprakta yaşayan organizmalara karşı toksisiteyi değerlendirmek için test stratejilerinde de önemli bir faktördür.

Biyolojik yüzeylere (örn. solungaçlar, deri vb.) güçlü bir şekilde tutunan maddeler, biyobirikim sonrasında daha yüksek organizmalarda toksik etkilere yol açabilir.

Bilgi, aynı zamanda çevresel sürekliliğin değerlendirilmesiyle de ilgilidir. Örneğin, bir madde yüksek düzeyde emici ise (mikroorganizmalar için daha az biyoyararlanım olduğundan), çökelti ve topraktaki bozunma oranlarının da varsayılan olarak azaldığı varsayılır. Bu, bazı durumlarda toprak/çökelti temsil testinin değerlendirilmesine yol açabilir.

Son olarak, test performansı için pratik çıkarımlar olabilir: Yüzeylere güçlü bir şekilde tutunan maddelerin sucul sistemlerde test edilmesi zor olabilir.

R.7.1.15.2 Tanım

Madde ile bir yüzey arasındaki geçici (tersine çevrilebilir) veya kalıcı bağlanma (örn., van der Waals etkileşimleri, hidroksil gruplarına hidrojen bağlanması, iyonik etkileşimler, kovalent bağlanma vb.) yüzeye tutunmaya neden olur. OECD rehberleri daha fazla bilgi sunmaktadır (OECD 2000a, OECD 2000b, OECD 2001, OECD 2002).

Organik karbonla normalize edilmiş yüzeye tutunma katsayısı (K_{oc}), toprağın veya çökeltinin organik madde bileşeninde emilen bir madde konsantrasyonunun, dengede sulu fazdakine oranıdır. Diğer bir deyişle, $K_{oc} = K_d/f_{oc}$ olup, burada K_d yüzeye tutunma için dağılım katsayısıdır ve f_{oc} organik karbon içeriği - toprakta veya çökeltide bulunan organik karbon oranıdır. Buna karşılık, K_d bir maddenin topraktaki (C_s) konsantrasyonunun dengede sulu fazdaki (C_{aq}) konsantrasyonuna deneysel oranıdır:

$K_d = C_s/C_{aq}$. Organik maddeyle normalleştirilmiş dağılım katsayısı (K_{om}) benzer şekilde tanımlanır, ancak organik karbon içeriğinden ziyade toprağın organik madde içeriğini ifade eder (OECD, 2000a).

R.7.1.15.3 Test yöntemi/yöntemleri

Bir maddenin atık su çamuru, çökelti ve/veya toprağın yüzeyine tutunması, artan karmaşıklık sırasına göre

[Tablo R.7.1-14](#) 'te tablo halinde verilen çeşitli yöntemler kullanılarak ölçülebilir veya tahmin edilebilir. Ayrışma sabiti (uygunsa) testten önce bilinmelidir. Buhar basıncı, suda ve organik çözücülerdeki çözünürlük, oktanol-su dağılım katsayısı ve kararlılık/bozunurluk ile ilgili bilgiler de yararlıdır.

Tablo R.7.1-14 Yüzeğe tutunma ölçümü için yöntemler

Yöntem ve Açıklama	Uygulanabilirlik/Notlar
<p>Doğal biyobozunurluk testi ile yüzeğe tutunma kontrolü (OECD Test Rehberi 302B)</p> <p>Bir Zahn-Wellens doğal biyobozunurluk testinde giderme seviyesinden AAT çamuruna tutunma kapsamının tahmini. (örneğin OECD Test Rehberi 302B).</p> <p>3 saatlik değer önerilir. Normalde 24 saati aşan değerler kullanılmaz. 24 saate kadar yüzeğe tutunma için veri bulunmadığında, bunun ötesinde zaman ölçeklerinden elde edilen veriler yalnızca yüzeğe tutunmanın 7 günlük üst sınırla tek giderme mekanizması olması durumunda kullanılabilir.</p>	<p>Suda çözünen yüzeğe tutunma kapasitesi yüksek maddeler</p>
<p>HPLC yöntemi: OECD Test Rehberi 121; AB C.19: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak Toprak ve Arıtma Çamuru Üzerindeki Tutunma Katsayısının (K_{oc}) Tahmini (Orijinal Rehber, kabul tarihi 22 Ocak 2001)</p> <p>Bilinen K_{oc} değerine sahip referans maddeleriyle (tercihen yapısal olarak test maddesiyle ilişkili) kalibrasyon, test maddesinin K_{oc} değerinin tahmin edilmesine izin verir. Test maddesinin K_{oc} değeri, referans maddelerin kalibrasyon aralığı içinde yer almalıdır.</p>	<p>log K_{oc} ölçümü 1.5 ila 5.0 aralığında.</p> <p>Çeşitli kimyasal türleri için onaylanmıştır, ayrıntılar için test rehberi incelenmelidir.</p> <p>Az çözünür ve uçucu maddeler ve karışımlar.</p> <p>İyonlaşabilir maddeler: İyonlaşmış ve iyonlaşmamış formlar uygun tampon çözeltilerinde test edilir; burada test bileşiğinin en az %10'u, pH 5.5 ila 7.5 pH aralığında bozunacaktır.</p> <p>Belirtilen maddeler için uygun olmayabilir: kolon, çözücü veya diğer test sistemi bileşenleri ile tepkimeye giren maddeler; yüzey aktif maddeler; kil mineralleri gibi inorganik toprak bileşenleriyle belirli bir şekilde etkileşime giren maddeler; inorganik bileşikler; orta ila güçlü asitler ve bazlar.</p>
<p>Aktif çamur üzerinde maddelerin yüzeğe tutunma parti testi (ISO 18749)</p> <p>Atık su arıtma tesislerinde aktif veya birincil çamur üzerinde maddelerin yüzeğe tutunma derecesini belirlemek için tarama yöntemi (ISO, 2004). Yöntem, yüzeğe tutunma ve diğer giderme yöntemleri (kompleks oluşumu, topaklanma, çökme, sedimentasyon veya biyobozunurluk gibi) arasında ayırım yapmaz.</p>	<p>Aşağıda belirtilen maddeler için uygundur:</p> <p>suda çözünür veya kararlı süspansiyonlara/dispersiyonlara/emülsiyonlara olanak tanıyan,</p> <p>abiyotik süreçlerle önemli ölçüde giderilmeyen (örn. sıyırma/köpürtme),</p> <p>aktif çamurda topakları çözmeyen,</p> <p>kolay biyobozunur olmayan ve yeterince hassas bir analitik yöntemle sahip olan.</p>

<p>Çökelti ve toprak yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma izotermi (OPPTS 835.1220)</p> <p>ABD-EPA rehberine (OPPTS, 1996) göre üç toprak türü kullanan tarama yöntemi.</p>	
<p>Kesikli denge yöntemi (OECD Test Rehberi 106, AB C.18: Kesikli Denge Yöntemi Kullanılarak Yüze Tutunma - Yüzeyden Sıyrılma (Güncellenmiş Rehber, 21 Ocak 2000'de kabul edilmiştir)</p> <p>Test, bir dizi gerçek toprak kullanır ve böylelikle, HPLC (OECD 121) yönteminden daha gerçekçi bir senaryoyu temsil eder.</p>	<p>Diğer teknikler kullanılarak güvenilir bir şekilde belirlenemeyen K_{oc} değerlerine sahip maddeler için kullanılır (örn. yüzey aktif maddeler).</p> <p>Madde için test konsantrasyonları aralığında güvenilir bir nicel analitik yöntem gerektirir.</p> <p>İyonlaşabilen maddeler için, toprak tipleri geniş bir pH aralığını kapsamalıdır.</p> <p>Az çözünür maddeler için ayarlamalar test rehberinde verilmiştir.</p>
<p>OECD Test Rehberi 312: Toprak Sütunlarında Sızıntı (Orijinal Rehber, kabul tarihi: 13 Nisan 2004)</p> <p>K_d değerleri, kolon sızıntı çalışmalarından türetilebilir.</p>	<p>Özellikle "şişe çalkalama" soğurma çalışmalarının denge süresi sırasında önemli ölçüde bozulan kararsız test maddeleri için K_d değerlerini tahmin etmek üzere uygun çalışma tasarımı</p>
<p>Taklit testleri ve doğrudan alan ölçümü: OECD rehber belge no. 22 dahil (OECD, 2000b).</p> <p>Monolit lizimetreler, dış ortam koşullarında bozulmamış bir toprak profilindeki maddelerin davranış ve hareketini incelemek için kullanılabilir. Sızıntı/tahliye suyu hacminin yanı sıra bir maddenin ve dönüşüm ürünlerinin konsantrasyonlarının izlenmesine izin verirler. Esas olarak pestisit çalışmalarında kullanılırlar. Hidrodinamik olarak izole edilmiş toprak katmanlarının yerinde (<i>in situ</i>) analiz edildiği yerlerde saha sızıntı çalışmaları da gerçekleştirilebilir. Bu tür çalışmalar en gerçekçi olsa da, tekrarlanabilirlikleri ve temsil etme kapasiteleri sınırlı olabilir (örneğin, büyük ölçekli toprak yapısının etkileri, hava olayları, uygulama sırasındaki toprak koşulları vb. nedeniyle). Bu yöntemlerden elde edilen verilere endüstriyel maddelerin büyük çoğunluğu için rastlanma olasılığı düşük olduğundan, burada daha fazla dikkate alınmayacaktır. Daha fazla bilgi pestisitlerin kaydına ilişkin rehberde bulunabilir.</p>	

R.7.1.15.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 8 ve 9'un 2. sütununa göre uyarlama olanakları

10 t/y veya üzeri miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için yüze tutunma (ve yüzeyden sıyrılma) ile ilgili tarama bilgisi gereklidir. Sonuçlara dayalı olarak, 100 t/y veya daha fazla miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için daha fazla bilgi (örneğin bir test) gerekebilir.

KKDİK Ek 8 ve 9'un 2. Sütunu iki muafiyet sağlamaktadır.

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- *fizikokimyasal özellikler esas alındığında, maddenin tutunma potansiyelinin düşük olması bekleniyorsa (örneğin madde düşük oktanol-su dağılım katsayısına sahipse) ya da*
- *madde ve ilgili bozunma ürünleri hızla parçalanıyorsa. "*

Diğer bir deyişle, madde ve ilgili bozunma ürünleri hızla bozunur. Bu nedenle, bir madde hidrolize olursa, hidroliz ürünlerinin yüzeye tutunma derecesini de belirlemek daha uygun olabilir.

Uygulamalarda, yüzeye tutunma potansiyeli için $\log K_{ow} = 3$ 'lük bir eşik değeri uygulanabilir. Bununla birlikte, suda çözünür olan ve düşük oktanol-su dağılım katsayısına sahip maddeler her zaman düşük bir yüzeye tutunma potansiyeline sahip olmadığından, bu kriter kullanılırken dikkatli olunmalıdır. pH bağımlılığı hakkında bilgi sahibi olmak önemli olduğundan (özellikle katyonik maddeler genellikle güçlü bir şekilde yüzeye tutunur), iyonlaştırıcı maddeler için ölçülen bir yüzeye tutunma katsayısına genellikle ihtiyaç duyulur. Benzer şekilde, yüzey aktif maddeler için ölçülen değerlere ihtiyaç duyulacaktır, çünkü K_{ow} değerleri (tahmin edilen veya ölçülen) bu tür maddeler için yüzeye tutunmanın zayıf göstergeleri olabilir. İyonlaşabilir maddeler için, dağılım katsayıları da değerlendirilen ortamın pH'ına göre düzeltilmelidir (bkz. Ek 2). Kompleks karışımlar için (örneğin UVCB), tek bir K_{oc} değeri kesin olmayacaktır. Bu gibi durumlarda, maddeye bağlı olarak bir dizi değer veya temsili bir değer verilebilir.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Yılda 10 ton veya üzeri miktarlarda imal veya tedarik edilen tüm organik maddeler için, ilk adım olarak K_{oc} çapraz okuma veya QSPR yöntemleri kullanılarak tahmin edilmelidir. Özelliğin risk hesaplamasında önemli bir belirleyici olması muhtemelse (örn. bir hassasiyet analizini takiben), 100 t/y veya üzerinde miktarlarda imal veya tedarik edilen maddeler için daha güvenilir bir değer sağlamak üzere bir test yapılmalıdır. Genel olarak, $\log K_{ow}$ değeri 3'ün altında olan iyonlaşmayan maddeler için veya hızla bozunan maddeler için (bu durumda bozunma ürünleri daha alakalı olabilir) doğrulama testi beklenmez. HPLC yöntemi, yalnızca Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi için daha kesin veriler gerekli hale gelirse, kesikli denge yöntemiyle testte ilk adım olarak kullanılabilir. Kolon sızıntı çalışmaları bazı durumlarda bir seçenek olabilir (örneğin, şişe çalkalama emilim çalışmalarının denge süresi sırasında önemli ölçüde bozunan kararsız test maddeleri için).

Tahmin yöntemleri uygun değilse (örneğin, madde bir yüzey aktif madde olduğundan veya çevresel olarak ilgili pH'ta iyonize olabileceğinden), o zaman kesikli denge testinin yıllık 10 ton bandında değerlendirilmesi gerekebilir ve 100 ton/yıl bandı için gerekli olacaktır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Organik, iyonik olmayan maddelerin toprak emilimi (K_{oc}), genellikle oktanol-su dağılım katsayısından (K_{ow}) ve ayrıca suda çözünürlük gibi diğer özelliklerden tahmin edilebilir.

QSPR dahil bu tür yöntemler, ilk olarak bir maddenin nitel/nicel yüzeye tutunma katsayısını belirtmek için yararlıdır. Bazı durumlarda bu sonlanma noktası için tahmini bir değer yeterli olabilir. Bu tür durumlarda, tahmin edilen yöntemin, dikkate alınan madde türü için geçerli olduğu kanıtlanmalıdır (QSPR'nin kullanımı ve uygulanabilirliği için bkz. genel rehber) ve mümkünse farklı modellerden üretilen değerlerle bir hassasiyet analizi yapılmalıdır. KGD'de bir dizi değer kullanılması, yüzeye tutunma katsayısının maddenin çevresel davranışı için önemli bir faktör olup olmadığını vurgulamaya yardımcı olacaktır. Genel olarak, yüzeye tutunma katsayısının KGD'yi etkilemeyeceği belirtilirse, yani çökelti/toprak ortamları için herhangi bir risk tanımlanmazsa, tahmini bir değer yeterli olacaktır. Tahmin edilen değerler, deneysel ölçümün uygun olmadığı maddeler için, yani *kompleks maddeler* için gereklidir. Tahmini değerler ayrıca tarama testlerinin [örn. HPLC yöntemi (OECD 121; EC C19)] karşılaştırılması için faydalıdır. Yakın zamanda K_{oc} tahmini hakkında bir dizi inceleme yayınlanmıştır (Lyman 1990, Reinhard ve Drefahl 1999, Doucette 2000, Delle Site 2001, Doucette 2003, Dearden 2004). Doucette'in incelemesi (2000), log K_{oc} değerlerinin tahminine ilişkin üzerinde çalışılmış birkaç örnek içerir. K_{oc} hakkında ek bilgi Gerstl (1990), Briggs (1981) ve Nendza (1998) çalışmalarında bulunabilir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

K_{oc} için çapraz okuma ve/veya QSPR tahmini önemli tahmin araçlarıdır ve güvenilir ölçülen veriler yoksa ve model madde için geçerliyse, K_{oc} tahmini için kullanılan ilk yöntem olmalıdır. Bununla birlikte, bu seçenekler anlamlı ve geçerli bilgi vermiyorsa veya K_{oc} , KGD'de önemli bir faktör ise (tahmin edilen bir değere ve log $K_{ow} > 3$ değerine dayalı olarak çökelti/toprak ortamları için riskler belirtilirse), o zaman deneysel bir değer ölçülmelidir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Genel olarak, uygun bir standart yöntemle ölçülen dağılım katsayıları tercih edilir (ve bunlar genellikle çevresel olarak ilgili pH'ta ayrışan yüzey aktif maddeler ve iyonik maddeler için gereklidir).

Diğer uyarılanma olanakları

Öngörülmemiştir. K_{oc} çevre sınıflandırması veya PBT değerlendirmesi için doğrudan ilgili değildir. Ancak, maruz kalma değerlendirmesi için anahtar bir özelliktir, bu nedenle bilgi gerekliliğinden feragat edilmemelidir.

R.7.1.15.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar, yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma ölçümü üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Safsızlıkların yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılmanın belirlenmesini etkileyip etkilemeyeceği değerlendirilirken uzman kararı kullanılmalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.15.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

HPLC yöntemi (OECD Test Rehberi 121, AB C.19)

Malzemeler ve yöntemler

- HPLC ekipmanının ve çalışma koşullarının tanımı (kolon, hareketli faz, tespit araçları, sıcaklık);
- ölü zaman ve belirlenmesi için kullanılan yöntem;

- en az biri test maddesi için beklenen değerin üstünde ve biri de altında olan en az 6 ölçüm sonucu ile referans maddesi (kimlik, saflık, Koc, alıkonma süreleri);
- kolona verilen test ve referans maddelerin miktarları.

Sonuçlar ve tartışma

- test bileşiği için ortalama alıkonma verisi ve tahmini d log Koc değeri;
- bireysel ölçümlerden elde edilen tüm log Koc değerleri.

Kesikli denge yöntemi (OECD Test Rehberi 106, AB C.18)

Malzemeler ve yöntemler

- toprak tipleri hakkında detaylar (doğal ve numune alma alanları, organik C, kil içeriği ve toprak dokusu ile ilgili detaylar ve pH, ilgili ise Katyon Değişim Kapasitesi);
- test maddesi hakkında bilgi (nominal ve analitik test konsantrasyonları, test kabı yüzeyinde kararlılık ve yüzeye tutunma, eğer varsa çözüldürücü ajan (ve kullanımı için gerekçeler), varsa radyokimyasal saflık);
- test koşullarına ilişkin detaylar (örn. toprak/çözelti oranı, tekrar ve kontrol sayısı, sterilite, test sıcaklığı ve toprakla temastan önce ve sonra sulu fazın pH'ı);
- numune almayla ilgili detaylar (örn. sıklık, yöntem);
- maddenin tespiti için kullanılan analitik yöntemlerin ayrıntıları (tespit sınırı, % geri kazanım).

Sonuçlar ve tartışma

- toprak kuru kütlesi, toplam sulu faz hacmi, çalkalama ve santrifüjlemeden sonra çözültideki ve/veya toprağın içindeki test maddesi konsantrasyonu, dengeleme süresi, Koc, uygunsa kütle dengesi;
- ilgili ise hesaplamalarda yapılan düzeltmelerin açıklamaları (örn. kör çalışma).

Toprak kolonlarında sızıntı (OECD Test Rehberi 312)

Malzemeler ve yöntemler

- toprak tipleri hakkında detaylar (doğal ve numune alma alanları, organik C, kil içeriği ve toprak dokusu, Katyon Değişim Kapasitesi, yığın yoğunluk (dağılmış toprak için), su tutma kapasitesi ve pH);
- test maddesi hakkında bilgi (test maddesi miktarı ve uygunsa uygulanan referans madde, ilgili ise çözücü madde (ve kullanımı için gerekçeler), ilgili ise radyokimyasal saflık);
- test koşullarına ilişkin detaylar (tekrar sayısı ve kontrol sayısı, test sıcaklığı, yapay yağmur uygulama miktarı, sıklığı ve süresi);
- maddenin tespiti için kullanılan analitik yöntemlerin ayrıntıları (tespit sınırı, % geri kazanım);
- kullanılan referans maddesi.

Sonuçlar ve tartışma

- Koc, toprak bölmeleri ve sızıntı suları için konsantrasyonlar ve uygulanan dozun yüzdesi olarak ifade edilen sonuç tabloları;
- uygunsa kütle dengesi;
- sızıntı suyu hacimleri;
- sızıntı mesafeleri ve uygun olan yerlerde bağıl hareketlilik faktörleri.

Doğal biyobozunurluk testi ile yüzeye tutunma kontrolü (OECD Test Rehberi 302B)

Malzemeler ve yöntemler

- inokülüm hakkında detaylar;
- test maddesi hakkında bilgi (bakteri toksisitesi, test konsantrasyonu);
- test koşullarına ilişkin detaylar (kullanılan kör kontroller, inokülüm ve test bileşiği oranı (DOC olarak));
- numune alma ile ilgili detaylar (sıklık);
- DOC veya COD belirlenmesinde kullanılan analitik yöntemlerin detayları;
- referans madde.

Sonuçlar ve tartışma

- mümkünse 3 saatlik değere dayanarak, bu Zahn-Wellens doğal biyobozunurluk testinde giderme seviyesinden AAT çamuru yüzeyine tutunma derecesinin tahmini
- 24 saatin üzerindeki değerler normalde kullanılmamalıdır, ancak 24 saate kadar yüzeye tutunma için verilerin mevcut olmadığı durumlarda, bunun ötesindeki zaman ölçeklerinden gelen veriler, yüzeye tutunma tek uzaklaştırma mekanizması ise 7 günlük bir üst sınır ile kullanılabilir;
- ilgili ise biyobozunma inhibisyonunun test sonuçları.

Taklit testi/saha ölçümü (OECD Rehber Dokümanı 22)

Malzemeler ve yöntemler

- toprak tipleri (doğal ve numune alma alanları), organik C, kil içeriği ve toprak dokusu, pH ve Katyon Değişim Kapasitesi) ile ilgili detaylar;
- lizimetre ile ilgili detaylar;
- test maddesi hakkında bilgi (nominal ve analitik test konsantrasyonları, ilgili ise çözücü madde (ve kullanımı için gerekçeler), ilgili ise radyokimyasal saflık);
- test iklim koşulları (örn. hava sıcaklığı, güneş radyasyonu, nem, potansiyel buharlaşma veya yapay yağış oranı), toprak sıcaklığı ve toprak nemi ve çalışmanın süresi ile ilgili detaylar;
- numune alma ile ilgili detaylar (sıklık, yöntem);
- test maddesi tayini için kullanılan analitik yöntemlerin detayları (tespit sınırı,% geri kazanım)

Sonuçlar ve tartışma

- toprak katmanlarında test maddesi konsantrasyonu; Koc, uygunsa kütle dengesi ve konsantrasyonları ve toprak bölmeleri ve sızıntı suyu için uygulanan dozun yüzdesi
- ilgili ise hesaplamalarda yapılan düzeltmelerin açıklamaları (örn. kör çalışma).

Dağılım modellemesi

Malzemeler ve yöntemler

- model adı ve versiyonu;
- model geliştirme tarihi;
- model tipi tanımı, örn. kararlı durum, dinamik, termodinamik basınç, Gauss, Seviye I-IV, vb.;
- modelin kapsadığı çevresel katmanlar;
- model bölümlendirme ve çevresel özellikler hakkında bilgi;
- girdi parametreleri (dağılım ve bozunma davranışını değerlendirmek için gerekli minimum bilgi):
 - buhar basıncı;

- suda çözünürlük;
 - moleküler ağırlık;
 - oktanol-su dağılım katsayısı;
 - kolay biyobozunurluk hakkında bilgi;
 - inorganik maddeler için: dağılım katsayıları ve olası abiyotik dönüşüm ürünleri hakkında bilgi sahibi olunması tavsiye edilir.
- sıcaklık etkisi.

Sonuçlar ve tartışma

- anahtar maruz kalma yolları ve maddenin aralarında dağılımı.

Kullanılan rehber yönteminden herhangi bir sapma (ve bunun nedenleri) veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Yüzeye tutunma/Yüzeyden sıyrılma hakkında daha ayrıntılı rehberlik aşağıdaki bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
5.4.1	8 9.3.1	Yüzeye tutunma / yüzeyden sıyrılma	E.5.5.2	4.1.4
5.4.2	/	Henry Kanunu sabiti	E.5.5.3	4.1.4
5.4.3	X 9.3.4	Dağılım modellemesi	E.5.5.4	4.1.4
5.4.4	X 9.3.4	Diğer dağılım verileri	E.5.5.5	4.1.4

R.7.1.15.7 Diğer bilgiler / referanslar

Briggs G.G. (1981) Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol-water partition coefficients, water solubilities, bioconcentration factors and the parachor (Toprak adsorpsiyonu, oktanol-su dağılım katsayıları, suda çözünürlük, biyokonsantrasyon faktörleri ve paraşör arasındaki teorik ve deneysel ilişkiler). *J. Agric. Food Chem.* 29, 1050-1059.

Dearden J.C. (2004) QSAR modelling of soil sorption (Toprak emiliminin QSAR modellemesi). Kaynak: Cronin M.T.D. ve Livingstone D.J. (Ed.), *Predicting Chemical Toxicity and Fate (Kimyasal Toksikite ve Davranışın Öngörülmesi)*, CRC Press, Boca Raton, FL, s. 357-371.

Delle Site, A., (2001) Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants (Doğal emici/su sistemlerinde organik bileşiklerin emilimini etkileyen faktörler ve seçilen kirleticiler için emilim katsayıları). *J. Phys. Chem. Ref. Data* 30, 187- 439.

Doucette W.J. (2000) Soil and sediment sorption coefficients (Toprak ve çökelti emilim katsayıları). Kaynak: Boethling R.S. and Mackay D. (Ed.), *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals: Environmental and Health Sciences (Kimyasallar için Özellik Tahmin Yöntemleri El Kitabı: Çevre ve Sağlık Bilimleri)*. Lewis, Boca Raton, FL, s. 141-188.

Doucette W.J. (2003) Quantitative structure-activity relationships for predicting soil/sediment sorption coefficients for organic chemicals (Organik kimyasallar için toprak/çökelti emilim katsayılarını tahmin etmek için nicel yapı-aktivite ilişkileri). *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1771-1788

ECETOC (1998). Teknik Rapor No. 74: Kimyasalların Çevresel Davranışı ve Etkilerinin Değerlendirilmesinde QSAR. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi. Brüksel.

AB C.18 Kesikli Denge Yöntemi Kullanılarak yüzeye tutunma - yüzeyden sıyrılma.

AB C.19 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak toprakta ve atık su çamurunda yüzeye tutunma katsayısının (K_{oc}) tahmini.

Gerstl Z. Estimation of organic chemical sorption by soils (Toprak tarafından organik kimyasal emilim tahmini). *J. Contaminant Hydrology* (1990) 6, 357-375.

ISO (2004). *Su kalitesi: Aktif çamur yüzeyinde maddelerin tutunması - özel analitik yöntemler kullanılarak parti testi*. Uluslararası Standart ISO 18749. İlk baskı Şubat 2004.

Lyman W.J. Adsorption coefficient for soils and sediments (Toprak ve çökelti için yüzeye tutunma katsayısı). Kaynak: Lyman W.J., Reehl W.F. ve Rosenblatt D.H. (Ed.), *Handbook of Chemical Property Estimation Methods* (Kimyasal özellik tahmin yöntemleri el kitabı), American Chemical Society, Washington DC, 1990, s. 4.1-4.33.

Mueller, M. ve Kordell, W. (1996). Comparison of screening methods for the estimation of adsorption coefficients on soil (Toprakta yüzeye tutunma katsayılarının tahmini için tarama yöntemlerinin karşılaştırılması). *Chemosphere* 32(12), 2493-2504.

Nendza M. *Structure-Activity Relationships in Environmental Sciences (Çevre Bilimlerinde Yapı-Aktivite İlişkileri)*. Chapman & Hall, Londra, 1998.

OECD (2000a). Kesikli Denge Yöntemi Kullanılarak yüzeye tutunma - yüzeyden sıyrılma. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber No. 106.

OECD (2000b) Rehber Döküman No. 22: Dış Ortam Monolit Lizimetre Çalışmalarının Gerçekleştirilmesi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Paris.

OECD (2001). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak toprakta ve atık su çamurunda yüzeye tutunma katsayısının (K_{oc}) tahmini. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber No. 121.

OECD (2002) Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber (Taslak): Toprak Kolonlarında Sızıntı. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Paris.

OPPTS (1996). Çökelti ve toprak yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma izotermi. ABD Çevre Koruma Ajansı, Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi Davranış, Taşımacılık ve Dönüşüm Test Rehberi 835.1220. Nisan 1996 taslağı.

Poole S.K. ve Poole C.F. (1999) Chromatographic models for the sorption of neutral organic compounds by soil from air and water (Toprakta ve sudan nötr organik bileşiklerin emilimi için kromatografik modeller). *J. Chromatogr. A* 845, 381-400.

Reinhard M. ve Drefahl A. (1999). *Handbook for Estimating Physico-Chemical Properties of Organic Compounds (Organik Bileşiklerin Fiziko-Kimyasal Özelliklerinin Tahmin Edilmesi için El Kitabı)*. Wiley, New York.

SETAC (1993). Tatlı Su ve Deniz Ortamları için Çökelti Toksikitesi Testleri ve Biyoanalizler Hakkında Rehber Doküman. Kaynak: *8-10 Kasım 1993 tarihlerinde Hollanda, Renesse'de gerçekleştirilen Çökelti Toksikite Değerlendirmesi Çalıştayı*. Hill I, Mathiessen P, Heimbach F (ed). Çevresel Toksikoloji ve Kimya Derneği - Avrupa, Brüksel.

R.7.1.16 Organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünleri

R.7.1.16.1 Özellik türü

Organik çözücülerdeki kararlılık, ≥ 100 t/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için, yalnızca organik çözücü içindeki kararlılıkları kritik kabul edilirse gereklidir (KKDİK Ek 9, bölüm 7.15).

Test sonuçlarında güven sağlamak için bir bileşiğin organik bir çözücü içindeki kararlılığı hakkında bilgi sahibi olmanın önemli olduğu nadir durumlar vardır. Bununla birlikte, birçok madde için organik çözücülerdeki kararlılık kritik olmayacaktır ve test yapılmasına gerek yoktur.

Organik çözücülerdeki kararlılığın önemli olabileceğine dair örnekler aşağıda belirtilmiştir:

- belirli çözünürlük ölçümleri için (örn. oktanol-su dağılım katsayısı);
- reaktif çözeltilerinin, kuvvetlendirme standartlarının veya kalibrasyon standartlarının kararlılığını kontrol etmek için;
- bir test maddesi bir organik çözücü içinde bir çözelti halinde dozlandığında (örn. ekotoksisite çalışmaları);
- bir test maddesi, çevresel bir numuneden, bitki veya hayvan dokusundan veya diyet matrisinden (çeşitli fizikokimyasal özellik, ekotoksisite ve hayvan toksisitesi çalışmalarından kaynaklanan) organik bir çözücü ile özütlendiğinde ve analitik ölçüm için muhafaza edildiğinde.

R.7.1.16.2 Tanım

Bir organik çözücü içindeki bir test bileşiğinin kararlılığı üzerine bir çalışma, normalde, test bileşiğinin, organik çözücünün veya test maddesini içeren ekstraktın depolanması süresince bu koşullar altında kararlı olup olmadığını teyit etmek için belirli bir süre boyunca yapılır. Zaman içinde kararlılıkta belirli bir düşüş eğilimi olup olmadığını kontrol etmek için genellikle birkaç zaman dilimi seçilir.

Çalışma sırasında belirli bir zaman periyodunda test maddesinin kararlılığı, normalde, test maddesinin ilk başlangıç konsantrasyonu $t = 0$ ile karşılaştırıldığında zaman periyodunda çözücü ekstraktındaki test maddesinin konsantrasyonunun yüzdesi cinsinden ifade edilir, yani:

$$\frac{C_t}{C_0} \times \%100$$

burada C_t , $t = t_1, t_2, t_3, \dots, t_n$ zaman noktalarında çözücü ekstraktındaki test maddesinin konsantrasyonudur; ve C_0 , $t = 0$ zaman noktasında çözücü ekstraktındaki test maddesinin konsantrasyonudur.

R.7.1.16.3 Test yöntemi/yöntemleri

Bir dizi fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreç, bir test maddesinin organik bir çözücü içindeki gerçek konsantrasyonunda zaman içinde bir düşüşe neden olabilir. Bir çözücü içinde test maddesinin kararlılığına ilişkin bilgiler, özellikle numuneler saklanacaksa istenir. Bununla birlikte, bu tür kararlılık çalışmalarını gerçekleştirmek için genel olarak kabul edilmiş herhangi bir metodoloji görünmemektedir.

Bozunma oranını etkileyen faktörler arasında hidroliz, fotoliz ve oksidasyon oranları yer alır.

Tipik olarak, çözücü içindeki test maddesinin bir veya daha fazla konsantrasyonu hazırlanır ve hazırlandıktan hemen sonra analiz edilir (yani $t = 0$). Sonrasında, gerekli test koşulları altında (örn. sıcaklık, ışığın olmaması) uygun kaplarda saklanır ve ilgili süre boyunca düzenli aralıklarla orijinal test konsantrasyonlarında test maddesinin yeni hazırlanmış çözeltisi ile birlikte analiz edilir.

Her analiz zamanında, bir numune depodan alınır ve analiz için herhangi bir bölüntü almadan önce iyice karıştırılır. Analiz, saklama sırasında test maddesinde önemli bir kayıp olup olmadığını belirlemek için önerilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilir. Test maddesinin taze hazırlanmış standartlarının, depolanan numuneleri analiz ederken aynı zamanda organik çözücü içinde analiz edilmesi önemlidir, böylece numune alma, numune işleme ve analiz sırasında test maddesinde meydana gelebilecek herhangi bir kayıp dikkate alınır.

Kararlılık çalışması süresince sıcaklık rejiminin sürdürüldüğünden emin olmak için sıcaklığın kontrol edilebilmesi önemlidir.

Güvenilir bir analiz yönteminin mevcut olduğu durumlarda, uygun bilinen saflığa sahip etiketlenmemiş referans malzeme kullanılabilir. Analitik bir yöntemin hala geliştirilme aşamasında olduğu veya yeterince hassas olma ihtimalinin düşük olduğu durumlarda, mevcutsa radyoaktif etiketli bileşikler kullanılmalıdır. Radyoaktif-etiketli bileşiklerin kullanılması, test maddesinin organik çözücü içinde kararlı olmaması durumunda analiz süresini kısaltabilir ve herhangi bir bozunma ürününün tanımlanmasını kolaylaştırabilir.

Normalde, geri kazanım veya analat ekleme (spike) deneyleri çalışılmalıdır. Bir proje içinde test edilen ekleme seviyelerinin sayısı veya konsantrasyon aralığı, analistin kararına bırakılmalıdır.

Test maddesinin normal saklama koşulları altında kararsız olup olmadığını doğrulamak için rutin analitik protokollerin bir parçası olarak organik çözücülerdeki test maddesinin standartlarının kararlılığı kontrol edilerek daha fazla bilgi elde edilmelidir.

Sadece organik çözücülerde değil, aynı zamanda suda çözünürlük, yüzey gerilimi ve ekotoksitesite çalışmaları için test ortamının hazırlanması gibi diğer testlerin yürütülmesi sırasında da test maddesinin herhangi bir şekilde bozunmasını en aza indiren saklama koşullarını belirlemek için daha fazla test gerekli olabilir (OECD, 2000). Bozunma ürünü/ürünlerinin tanımlanması, sonraki ekotoksitesite çalışmalarında ana malzemeden daha toksik olma ihtimalinin olup olmadığının değerlendirilmesine izin verecektir.

R.7.1.16.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 9'un 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Ek 9 Sütun 2, organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünlerinin tanımlanması için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlar:

'Madde inorganik ise çalışmanın yapılması gerekmez.'

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Organik çözücülerdeki maddelerin kararlılık verileri normalde yayınlanmış standart fizikokimyasal veri kaynaklarında rapor edilmez. Zararlı Maddeler Veri Bankası (HSDB) ve Sax'ın "Endüstriyel Malzemelerin Tehlikeli Özellikleri" maddelerin kararlılığı ve saklama koşulları ile ilgili temel bilgi kaynaklarıdır.

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Şu anda organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünlerinin belirlenmesi için (Q)SAR genellikle geçerli değildir. (Q)SAR uygulanması mümkün değildir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Şu anda, gruplama ve çapraz okuma geçerli değildir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir.

Diğer uyarlanma olanakları

Öngörülmemiştir.

R.7.1.16.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar, organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünlerinin ölçümü üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Safsızlıkların organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünlerinin belirlenmesini etkileyip etkilemeyeceği değerlendirilirken uzman kararı kullanılmalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.16.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Bu sonlanma noktası, durum bazında yerine getirilmelidir. Bu içsel özelliği belgelemek için birkaç farklı yöntem kullanılabilirdiğinden, diğer sonlanma noktaları için tanımlanan şekilde kapsamlı çalışma özetlerinin taslağını hazırlamak için aynı strateji önerilmektedir. Uygulamalı Rehber 3 Bölüm 2: Kapsamlı çalışma özetleri nasıl bildirilir içerisinde açıklanan genel hususlar bu sonlanma noktası için de uygulanmalıdır. Tüm sonlanma noktasına özgü özellikler, kapsamlı çalışma özetinin, sonlanma noktalarının güvenilirliği ve eksiksizliği konusunda bağımsız bir değerlendirmeye izin vereceği şekilde tanımlanmalıdır. Tam çalışma raporunun amaçları, yöntemleri, sonuçları ve varılan noktalar bu uygulamalı rehberdeki diğer tüm sonlanma noktaları için şeffaf bir şekilde raporlanmalıdır.

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Organik çözücülerde kararlılık ile ilgili daha ayrıntılı rehber aşağıda belirtilen bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.17	9 7.15	Organik çözücülerde kararlılık ve ilgili bozunma ürünleri	E.4.18	3.15

R.7.1.16.7 Diğer bilgiler / referanslar

OECD Test ve Değerlendirme Serisi No. 23 - Zor Maddeler ve Karışımların Sucul Toksikite Testleri Hakkında Rehber Doküman, ENV/JM/MONO(2000)6

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2000\)6&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2000)6&doclanguage=en).

R.7.1.17 Ayrışma sabiti

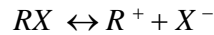
R.7.1.17.1 Özellik türü

Ayrışma sabiti ile ilgili bilgiler, zararlılık değerlendirmesi için **tamamlayıcı verilerdir** (OECD Test Rehberi 112, 1981). Bir maddenin suda ayrışması, çevre üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde önemlidir ve ayrıca maddenin emilim, dağılım, metabolizma ve boşaltımını (ADME) ve dolayısıyla insan sağlığı üzerindeki etkilerini etkileyebilir. Davranışını ve taşınmasını belirleyen şekilde maddenin formunu yönetir. Maddenin toprak ve çökeltiler üzerinde yüzeye tutunma ve biyolojik hücreler içerisine emilimini etkileyebilir.

Ayrışma sabiti, oktanol-su dağılım katsayısını (K_{ow}) ve toprağa tutunma dağılım katsayısını (K_{oc}) belirlemek için hangi yöntem veya koşulların kullanılması gerektiğine karar vermede önemli bir faktör olabilir. pH değerindeki hafif değişiklikler, özellikle pK_a değeri çevreyle ilgili pH aralığı içindeyse, maddenin çözelti içinde mevcut olduğu formu önemli ölçüde etkileyebilir²¹. Ayrışmış ve ayrışmamış türler, önemli ölçüde farklı suda çözünürlük ve dağılım katsayılarına sahip olabilir. Bu nedenle, önemli ölçüde farklı biyoyararlanım ve toksisite ortaya çıkabilir. Tuzların kristal kafesinden iyonlara ayrışmasının sonlanma noktası ayrışma sabiti tarafından kapsanmasının amaçlanmadığını belirtmek önemlidir. Bu nedenle bu bölüm sadece asit ayrışmasına (pK_a) atıfta bulunmaktadır.

R.7.1.17.2 Tanım

Ayrışma, bir maddenin iyonik olabilen iki veya daha fazla kimyasal türe tersinir şekilde ayrışmasıdır (OECD Test Rehberi 112, 1981). Süreç şu şekilde temsil edilebilir:



Bu süreç için ayrışma sabiti (K), suda dengedeki denklemin her iki tarafındaki türlerin konsantrasyonlarının oranı olarak ifade edilir:

$$K = \frac{[R^+][X^-]}{[RX]}$$

Katyon R^+ hidrojen olduğunda, madde bir asit olarak kabul edilebilir ve bu nedenle bu sabit bir asit ayrışma sabiti (K_a) haline gelir.

$$K_a = \frac{[H^+][X^-]}{[HX]}$$

Bir madde birden fazla asidik (veya bazik²²) gruba sahip olabilir ve ayrışma sabiti her ayrışma adımı için benzer şekilde türetilebilir.

²¹ Tatlı yüzey suları 4-9 aralığında pH değerlerine sahipken, deniz ortamları yaklaşık 8 olan sabit bir pH değerine sahiptir. pH normalde tarımsal topraklar ve atık su arıtma tesisi tankları için 5.5 ile 7.5 arasında değişir.

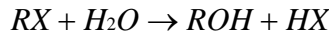
²² Baz kuvveti, eşlenik (konjuge) asidin asitliği olarak ifade edilir. pK_b terimi geçmişte bazikliği ifade etmek için kullanılmıştır, böylece aynı ölçek asitliğe ek olarak kullanılabilir - hangi terimin kullanıldığını kontrol etmek için eski kaynaklara atıfta bulunulurken dikkatli olunmalıdır. Tutarlılık için, bazların ayrışması tercihen konjuge asidin pK_a değeri kullanılarak ifade edilmelidir.

K_a aşağıdaki gibi pH ile ilişkilidir (burada $p = -\log_{10}$ 'dur):

$$pK_a = pH - \log_{10} \left(\frac{[X^-]}{[HX]} \right)$$

Uygulamada, bir ayrışma grubuna sahip basit bir madde için, pK_a iyonize ve iyonize olmayan formların eşit konsantrasyonda mevcut olduğu pH'a eşdeğerdir (yani, madde% 50 ayrışmaya uğramıştır).

Hidroliz, KKDİK Yönetmeliği Ek 8'e göre ayrı bir standart bilgi gerekliliği olduğu için, ayrışma ve hidroliz arasında ayırım yapmak önemlidir. Hidroliz, bir RX maddesinin su ile reaksiyonu, reaksiyon merkezinde X grubunun OH ile net yer değiştirmesi ile tanımlanır (OECD Test Rehberi 111, 2004).



R.7.1.17.3 Test yöntemi/yöntemleri

OECD test rehberi 112 (suda ayrışma sabitleri, kabul tarihi Mayıs 1981) bir maddenin pK_a değerini belirlemek için üç laboratuvar yöntemi açıklar. Üç yöntem, test rehberinde açıklandığı gibi belirli madde türleri için uygundur²³.

R.7.1.17.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Ek 9'un 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 9 Sütun 2, ayrışma sabiti için standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması amacıyla aşağıdaki özel kuralları sağlamaktadır:

'Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

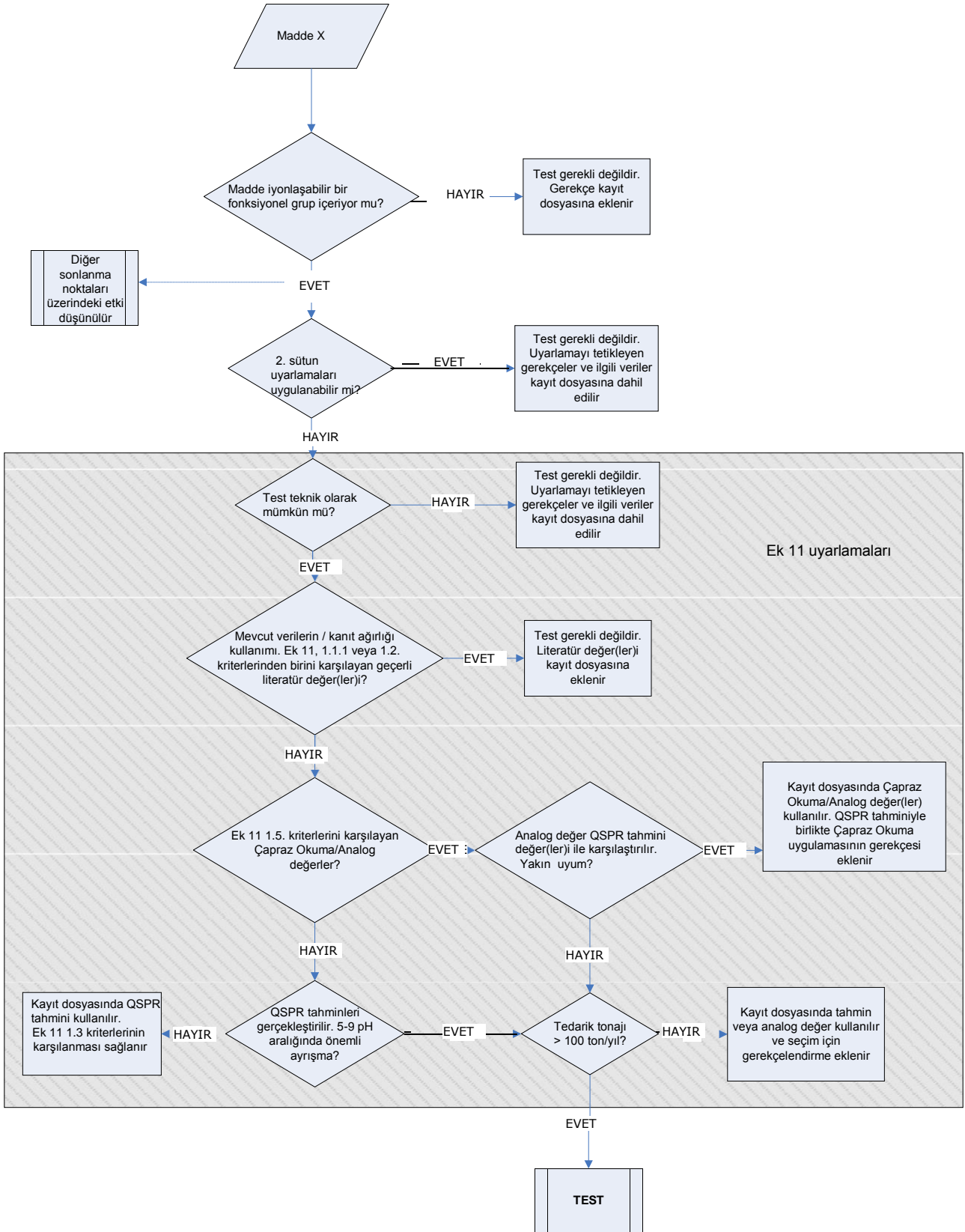
- *madde suda kararsız ise (12 saatten az yarı ömür) ya da kolaylıkla suda oksidize olabiliyorsa; veya*
- *bilimsel olarak testin yapılması imkansız ise (örneğin analitik yöntem yeterince duyarlı değil ise).'*

Yukarıdaki özel uyarlama kurallarının testten feragat etmek için kullanıldığı tüm durumlarda, uyarlama kuralını tetikleyen maddenin bu özelliğinin varlığını gösteren kanıt KKS dosyasında sağlanmalıdır, örneğin madde hidrolitik olarak kararsız olduğu için (yarı ömür < 12 saat) test yapılmazsa, bu durumda dosya, hidrolizle ilgili, yarı ömrün < 12 saat olduğunu açıkça gösteren geçerli veriler içermelidir.

OECD Test Rehberi 112'nin, eser miktarda çözünen maddelerin çözünmesine yardımcı olmak için az miktarda suyla karışabilen bir çözücünün kullanımına izin verdiğine dikkat edilmelidir. Bu nedenle, düşük çözünürlük, yalnızca suyla karışabilen çözücülerin varlığında analitik tekniklerle yüksek düzeyde çözünmez kalan ve saptanamayan maddeler için yukarıdaki sütun 2 kuralları bağlamında testin performansını engelleyecektir.

²³ Test yöntemi aşağıdaki bağlantıda mevcuttur: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-112-dissociation-constants-in-water_9789264069725-en

Şekil R.7.1–7 Ayrışma sabiti için bütünleşik test stratejisi



KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

Ayrışma sabiti için birçok literatür kaynağı mevcuttur; bazı referans ders kitapları ve çevrimiçi kaynaklar Bölüm [R.7.1.17.7](#)'de listelenmiştir. Bunlar yayınlanmış, geçerli veriler için aranmalıdır. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'de bahsedildiği üzere, bu tür verilerin kullanılabilmesi için bir dizi koşulun karşılanması gerekir. Diğer bir deyişle:

- 'sınıflandırma ve/veya risk değerlendirmesi için yeterli olması;
- çalışmanın yeterliliğinin değerlendirilmesi için yeterli dokümantasyonun sağlanmış olması; ve
- verilerin araştırması yapılan sonlanma noktası için geçerli olması ve çalışmanın kabul edilebilir bir kalite güvence düzeyi kullanılarak gerçekleştirilmiş olması. "

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlik kaynaklarının mevcut olduğu durumlarda, bir dizi farklı kaynaktan gelen verilerin, ayrışma sabiti için bir veya daha fazla ilgili QSPR tahminiyle desteklenen benzer bir değeri göstermesi koşuluyla, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q)SAR

Tahmini pK_a verileri geçerli QSPR yöntemleriyle oluşturulabilir. Genel olarak, uygun bir yöntemle ölçülen pK_a değerleri, QSPR tahminlerine tercih edilir. Tahmini bir pK_a değeri, maddenin çevresel olarak ilgili pH değerinde önemli ölçüde ayrışacağını gösteriyorsa, sonucu doğrulamak için bir test gerekebilir.

Çeşitli madde setlerinin pK_a değerlerini modellemek için birkaç girişimde bulunulmuştur. Klopman ve Fercu (1994), 2464 organik asitten oluşan bir setin pK_a değerlerini modellemek için MCASE metodolojisini kullanmış ve iyi tahminler elde etmiştir; yaklaşık 600 organik asit için bir test seti 0.5 pK_a birimlik standart hata vermiştir. Klamt ve ark. (2003), 0.49 pK_a birimlik standart hata ile 64 organik ve inorganik asidin pK_a değerlerini tahmin etmek için COSMO-RS metodolojisini kullanmıştır. pK_a tahmini için piyasada bulunan yazılımların karşılaştırması, Dearden ve ark. tarafından yapılmıştır. (2007).

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

100 t/y miktarından daha yüksek bir oranda tedarik edilen çevreyle ilgili pH değerlerinde ayrışacağı tahmin edilen iyonlaşabilir maddelerin çoğu için, tipik olarak ayrışma sabiti için bir test gerekecektir.

Güvenilir bir yöntemle ölçülen pK_a verilerinin mevcut olduğu benzer maddeler (analoglar) için çapraz okuma düşünülebilir. Bu değerler, pK_a için tahmin yöntemleriyle güçlendirilmelidir (örneğin, bir QSPR tahmininin sonucu; bkz. yukarıdaki bölüm). Bazı durumlarda, bir analogdan ayrışma sabitinin çapraz okuması kabul edilebilir.

Bununla birlikte, analog çapraz okuma ve tahmin edilen pK_a arasında önemli bir değişkenlik varsa, o zaman bir test yapılmalıdır.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbiri geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Maddenin özelliklerinin bir sonucu olarak testin teknik olarak mümkün olmadığı durumların, yüksek derecede reaktif veya kararsız maddelerle ve suyla temas halinde alevlenir gazlar çıkaran maddelerle sınırlı olması beklenir.

Diğer uyarlanma olanakları

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

Ayrışan grup olmaması

Madde, ilgili fonksiyonel grupların bulunmamasından dolayı ayrışmazsa, ayrışma sabiti ilgisizdir ve test bilgilerinin sağlanmasına gerek yoktur. Bununla birlikte, iyonlaşabilir gruplar her zaman açık olmayabilir (örneğin, $-S(=O)_2NH.C(=O)NH-$ fonksiyonunu içeren sülfonil üre herbisitlerde, asit grubu $S(=O)_2NH$ 'dir).



Bir madde suda beklenenden çok daha fazla çözünürse, bu ayrışmanın meydana geldiğinin bir göstergesi olabilir.

UVCB

İyonlaşabilir bileşenler içeren karmaşık kompleks (örn. UVCB) için pK_a değerlendirilmesi açıkça karmaşıktır. Uygunsa, temsilci bileşenin pK_a değerlerinin tahmini dikkate alınmalıdır.

R.7.1.17.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıklar, ayrışma sabiti ölçümü üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Safsızlıkların ayrışma sabitinin belirlenmesini etkileyip etkilemeyeceği değerlendirilirken uzman kararı kullanılmalıdır. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

Birden fazla ayrışma/denge reaksiyonlarının varlığı, ayrışma sabitlerinin belirlenmesini zorlaştırabilir. Çok sayıda ayrışan grubun varlığı ve/veya tautomerizasyon ve/veya zwitteriyonik formların varlığı nedeniyle çoklu ayrışma reaksiyonlarının meydana gelebileceği durumlarda, deneysel sonuçların yorumlanmasında özen gösterilmelidir. Modeller eşzamanlı denge/ayrışmaları hesaba katmayabileceğinden, bu tür maddeler için QSPR tahminleri de dikkatlice analiz edilmelidir. İlave olarak, QSPR tahminleri, gözlenen ayrışma sabiti üzerinde belirgin bir etkiye sahip olabilen molekül içi hidrojen bağlama etkilerini hesaba katmayabilir. Bazı durumlarda, molekül içi hidrojen bağının oluşumu, fumarik ve maleik asit izomerleri için olduğu gibi, maddenin cis/trans izomerizmine bağlıdır. Cis/trans izomerizmi tipik olarak hesaba katılmadığından, bu tür moleküller için QSPR tahminleri kullanılırken dikkatli olunmalıdır.

İyonlaşma derecesi, pH, iyonik kuvvet ve/veya test ortamındaki ortak iyonların seviyesine (ortak iyon etkisi) göre değişebilir ve nispeten küçük değişiklikler, ayrılmış ve ayrılmamış türler arasındaki dengeyi önemli ölçüde değiştirebilir.

R.7.1.17.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

İyonlaşabilir bir maddenin pK_a bilgisi bu türdeki tüm maddeler için önemlidir. Yılda 100 tonun altındaki seviyelerde tedarik edilen maddeler için ayrışma sabiti için test gerekli değildir. Bununla birlikte, özellikle de ayrışma, diğer fizikokimyasal veya davranış ve (eko)toksikolojik testlerin sonuçlarının yorumlanması ve kimyasal güvenlik değerlendirmesi için ilgiliyse, ideal olan şekilde bu tür maddeler için literatür değeri, analog değer ve/veya QSPR tahmini elde edilebilir ve sağlanabilir. 100 t/y değerinden yüksek tonajlarda tedarik edilen iyonlaşabilir maddeler için, ayrışma sabiti standart bir bilgi gerekliliğidir.

Birden fazla iyonlaşabilir işlevsellik içeren maddeler için, ölçülen tüm makro pK_a değerleri raporlanmalı ve tercihen spesifik mikro reaksiyonlara atanmalıdır.

DeneySEL verilerin çalışma özetleri ile ilgili olarak, KKS dosyası, sonlanma noktasına ilişkin tüm ilgili bilgileri ve en azından aşağıda listelenen öğeleri içermelidir:

Malzemeler ve yöntemler

- yöntem türü;
- izlenen test rehberi.

Test Malzemeleri

- test malzemelerinin kimliği.

Sonuçlar ve tartışma

- maddenin konsantrasyonu;
- pK_a değeri cinsinden test sonuçları;
- test ortamının sıcaklığı (°C);
- eğer testten feragat edilirse, feragat sebepleri dosyada belgelenmelidir.

Kullanılan rehber yönteminden herhangi bir sapma (ve bunun nedenleri) veya başka bir özel husus raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Ayrışma sabiti ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıda belirtilen bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.21	9 7.16	Ayrışma sabiti	E.4.22	3.16

R.7.1.17.7 Ayrışma sabitine ilişkin referanslar

Balogh G.T., Gyarmati B., Nagy B., Molnar L. ve Keseru G.M. Comparative evaluation of in silico pK_a prediction tools on the Gold Standard dataset (Altın Standart veri setinde in silico pK_a tahmin araçlarının karşılaştırmalı değerlendirmesi). *QSAR Comb Sci* (2009) 28:1148-1155.

Dearden J.C., Cronin M.T.D., ve Lappin D.C. A comparison of commercially available software for the prediction of pK_a (pK_a tahmini için piyasada bulunan yazılımların bir karşılaştırması) *J. Pharm. Pharmacol.* (2007) 59, Ek 1, A-7.

Klamt A., Eckert F., Diedenhofen M. ve Beck M.E. (2003) First principles calculations of aqueous pK(a) values for organic and inorganic acids using COSMO-RS reveal an inconsistency in the slope of the pK(a) scale (COSMO-RS kullanılarak organik ve inorganik asitler için sulu pK(a) değerlerinin ilk prensip hesaplamalarıyla ortaya koyulan pK(a) ölçeğinin eğimindeki tutarsızlık). *J. Phys. Chem. A* 107, 9380-9386.

Klopman G. ve Fercu D. (1994) Application of the multiple computer automated structure evaluation methodology to a quantitative structure-activity relationship study of acidity (Çoklu bilgisayarlı otomatik yapı değerlendirme metodolojisinin asitliğin nicel yapı-aktivite ilişkisi çalışmasına uygulanması). *J. Comput. Chem.* (1994) 15, 1041-1050.

Liao C. ve Nicklaus M.C. Comparison of nine programs predicting pK_a values of pharmaceutical substances (Farmasötik maddelerin pK_a değerlerini tahmin eden dokuz programın karşılaştırılması). *J. Chem. Inf. Model.* (2009) 49, 2801-2812.

Manchester J, Walkup G, Rivin O. ve You Z.P. (Evaluation of pK_a estimation methods on 211 druglike compounds (pK_a tahmin yöntemlerinin 211 ilaç benzeri bileşik üzerinde değerlendirilmesi). *J Chem Inf Model* (2010) 50, 565-571.

Meloun M. ve Bordovská S. Benchmarking and validating algorithms that estimate pK_a values of drugs based on their molecular structure (Moleküler yapılarına dayalı olarak ilaçların pK_a değerlerini tahmin eden kıyaslama ve doğrulama algoritmaları). *Anal. Bioanal. Chem.* (2007) 389, 1267-1281.

OECD (1981) Suda ayrışma sabitleri (titrasyon yöntemi - spektrofotometrik yöntem - iletkenlik ölçüm yöntemi). Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber No. 112.

R.7.1.18 Viskozite

R.7.1.18.1 Özellik türü

Viskozite:

- madde karakterizasyonu için gerekli olan;
- sıvıların aspirasyon zararının sınıflandırılması için gerekli olan;
- maddenin toprağa nüfuz ettiğine dair bir gösterge sağlayan bir özelliktir.

R.7.1.18.2 Tanım

Viskozite: bir maddenin (gaz, sıvı) laminer akışın neden olduğu kaymaya (iç) direncidir.

Dinamik viskozite (= dinamik viskozite katsayısı) η :

'Viskozite' özelliğini, kesme gerilimi τ / kesme hızı $\dot{\gamma}$ ($\eta = \tau / \dot{\gamma}$) bölümünden hesaplar

Kinematik viskozite (= kinematik viskozite katsayısı) ν :

dinamik viskozitenin yoğunluğa bölünmesi ile verilir ($\nu = \eta / \rho$).

R.7.1.18.3 Test yöntemi/yöntemleri

Sıvı maddeler için beş farklı test yöntemi standardize edilmiştir:

- kapiler viskozimetre;
- akış kabı;
- döner viskozimetre;
- bilye düşürmeli viskozimetre;
- çekme-kesmeli viskozimetre;

Ürünlere, özellikle karışımlara göre bazen çok özel uygulama aralıklarına sahip çok sayıda standart belirleme yöntemi vardır. Maddeler için (KKDİK Yönetmeliği kapsamında) aşağıdaki standart tayin yöntemleri tavsiye edilir:

- Kapiler viskozimetre: EN ISO 3104, EN ISO 3105, DIN 51562, BS 188, NF 60-100, ASTM D445, ASTM D4486;
- Akış kabı: EN ISO 2431;
- Döner viskozimetre: EN ISO 3219, DIN 53019;
- Bilye düşürmeli viskozimetre; DIN 53015.

Newton tipi sıvılar için (viskozitenin kayma geriliminden ve kayma hızından bağımsız olduğu sıvılar) kapsam ve uygulanabilirlik özellikleri dahilinde herhangi bir belirleme yöntemi kullanılabilir. Newton tipi olmayan sıvılar için (viskozitenin kayma hızına bağlı olduğu sıvılar) yalnızca döner viskozimetrelerin kullanılması mümkündür.

Viskozite büyük ölçüde sıcaklığa bağlı olduğundan, her belirlemede ölçümün yapıldığı sıcaklık belirtilmelidir. İki test çalışmasının ortalamasının kullanılması tavsiye edilir. Ayrıca, viskozitenin en az iki farklı sıcaklıkta belirlenmesi tavsiye edilir. Aspirasyon zararı için sınıflandırma kriterleri, 40°C'deki kinematik viskoziteyi ifade eder.

Patlayıcı maddeler, piroforik maddeler veya kendiliğinden tepkimeye giren maddeler karakterize edilecekse, viskozitenin belirlenmesi mümkün olmayabilir. Piroforik ve kendiliğinden tepkimeye giren maddeler için, inert gaz altında test yapılması düşünülmelidir. Her durumda, belirleme yöntemi dikkatlice seçilmelidir.

Standardın en son güncellemesinin kullanılması tavsiye edilir; bunlara çok sayıda web sitesi aracılığıyla erişilebilir (bkz. [R.7.1.1.3](#)).

R.7.1.18.4 Standart test rejiminin uyarlanması

KKDİK Yönetmeliği gereklilikleri kapsamında, viskozite testi yalnızca sıvı maddeler için ilgi konusudur.

KKDİK Ek 9'un 2. sütununa göre uyarlama olanakları

KKDİK Yönetmeliği Ek 9 Sütun 2, sütun 1'den uyarlama için herhangi bir özel kural sağlamamaktadır.

KKDİK Ek 11'e göre uyarlanma olanakları

Mevcut verilerin kullanımı: İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmeyen deneylerden fiziksel-kimyasal özelliklere ilişkin veriler

KKDİK Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri karşılayan deneysel veriler mevcutsa (çalışma raporları veya literatür verileri), bunlar sonlanma noktası veri gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Ek 7 Sütun 2'ye göre bilgi kaynağı olarak bir tahmin yöntemi kullanılıyorsa, QSAR modeli KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'te belirtilen kriterleri karşılamalıdır.

Kanıt ağırlığı

Tek bir mevcut veri kaynağının (çalışma raporları, QSAR, literatür verileri) yeterince güvenilir kabul edilmediği ve bu nedenle KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.1.1'deki kriterleri tam olarak karşılamadığı veya farklı sonuçlara sahip benzer güvenilirlikte kaynakların mevcut olduğu durumlarda, bir kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılabilir. Bu durumda, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.2'deki kriterler karşılanmalıdır.

(Q) SAR

Viskozitenin belirlenmesi için, (Q)SAR ortalama mutlak hatasının %5'ten düşük olduğu durumlar dışında, sınıflandırma/risk değerlendirmesi amacıyla (Q)SAR yaklaşımları önerilmez.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Viskozitenin belirlenmesi için çapraz okuma mümkün değildir.

Test teknik olarak mümkün değildir

Feragat olasılıklarından hiçbirisi geçerli değilse, her zaman test düşünülmelidir. Aşağıdaki durumlarda test teknik olarak mümkün değildir:

- madde katı ise;

- sıvı patlayıcılar, piroforik veya kendiliğinden tepkimeye giren maddeler karakterize edilecekse, viskozitenin belirlenmesi pratik olmayabilir (bkz. yukarıda Test yöntemleri bölümü).

Diğer uyarlanma olanakları

- Kesin ve tutarlı literatür verileri mevcutsa, viskozitenin deneysel olarak belirlenmesi gerekmez;
- Taşıma sınıflandırması ile bağlantılı olarak oluşturulmuş, SEA Yönetmeliğinde belirtilenlerle aynı testler ve sınıflandırma ilkeleri ile üretilen viskozite verileri, durum bazında KKDİK gerekliliklerini karşılayabilir.

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 9'da belirtildiği gibi, belirli sonlanma noktaları için, bu Ek'in 2. sütununda veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de belirtilenler dışında başka nedenlerle bilgi verilmemesi önerildiğinde, bu gerçek ve nedenleri de açıkça belirtilmelidir. Sonrasında, bu tür bir yaklaşım kullanılabilir.

R.7.1.18.5 Safsızlıklar; belirsizlikler

Safsızlıkların etkisi, konsantrasyonları %1'in altındaysa ihmal edilebilir. Daha yüksek konsantrasyonların etkisi önemli olabilir. Viskozite üzerindeki etkinin genel bir eğilimi yoktur. Bu nedenle, seçilen verilerin ilgili firmalar tarafından kaydedilen maddeyi temsil ettiğine dair anahtar çalışma/çalışmaların veya kanıt ağırlığı yaklaşımlarının seçiminde azami özen gösterilmelidir.

R.7.1.18.6 Kayıt dosyasında/KKS'de sonlanma noktasına özel bilgiler

Malzemeler ve yöntemler

- yöntem türü;
- izlenen test rehberi.

Sonuçlar ve tartışma

- kullanılan test yöntemine göre viskozite değeri ve birim;
- tercih edilen birimler m Pa·s (dinamik viskozite için) ve mm²/s'dir (statik viskozite için), ancak diğer birimler de kabul edilir;
- her ölçülen değer sıcaklığı belirtilmelidir (°C cinsinden). Genellikle iki değere ihtiyaç vardır. Tercihen bir değer yaklaşık 20°C'de ve diğeri yaklaşık 20°C daha yüksek bir sıcaklıkta ölçülür. Her sıcaklık için iki viskozite tayini ölçülmelidir;
- Newtonian olmayan sıvılar için, elde edilen sonuçlar tercihen yorumlanması gereken akış eğrileri biçimindedir;
- her sıcaklıkta bireysel ve ortalama değerler sağlanmalıdır (OECD Rehberi 114 "Sıvıların Viskozitesi").

Kullanılan rehber yöntemden herhangi bir sapma veya diğer özel hususlar raporlanmalıdır. Birden fazla veri kaynağının olduğu durumlarda, sonuçlar ve tartışma bölümündeki sonlanma noktası özeti, anahtar çalışma bölümünün seçimi için bir gerekçe sağlamalıdır.

Diğer ÇŞB Rehber Dokümanlarına Referans

Viskozite ile ilgili daha ayrıntılı rehberlik aşağıda belirtilen bölümlerde bulunabilir:

KKS Bölümü	KKDİK Eki	Sonlanma noktası başlığı	KKS Son Kullanıcı Rehberi Bölümü	ECHA Uygulamalı Rehber 3
4.22	9 7.17	Viskozite	E.4.23	3.17

R.7.1.19 Şekil

[BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli: Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler, bölüm 2.2.3.3 Şekil için öneriler incelenmelidir.

R.7.1.20 Yüzey alanı

[BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli: Ek R7-1 Nanomalzemeler için öneriler, bölüm 2.2.3.4 Yüzey alanı için öneriler incelenmelidir.

R.7.1.21 KKDİK Madde 11 (1) (a) (4)'e göre sınıflandırma ve etiketleme için sunulacak diğer bilgiler

Aşağıdaki tabloda listelenen kriterler ([Tablo R.7.1-15](#)) KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1) (a) (4) ve Ek 6 Bölüm 4'e göre genel kayıt amaçları için sağlanmalıdır. Zararlılık sınıflarının [0](#) ile [R.7.1.21.3](#) 'teki ilgili alt bölümlere atanması, bu nedenle yalnızca bu belgeyi KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ile 11'e göre yapılandırmanın bir yolu olarak anlaşılmalıdır.

Tablo R.7.1-15 KKDİK Yönetmeliği Madde 11(1) (a) (4), SEA zararlılık sınıfları ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik ile SEA²⁴ uyarınca ilgili test yöntemlerine göre genel kayıt amaçları için sunulacak bilgiler

SEA Yönetmeliği (parantez içindeki no., SEA Yönetmeliği Ek 1'deki ilgili bölüm numarasıdır)	Test Yöntemi Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi	Revize R.7(a) rehberinde eki bölüm	KKDİK Yönetmeliği uyarınca bilgi gerekliliği	SEA Yönetmeliğine göre ilgili test yöntemi
Alevlenir aerosoller (2.3) ²⁵	geçerli değildir	R.7.1.21.1	Bkz. Madde 11 (1) (a) (4) KKDİK gereklilikleri	UN RTDG, Test ve Kriterler Rehberi
Basınç altındaki gazlar (2.5)	geçerli değildir	R.7.1.21.2	Bkz. Madde 11 (1) (a) (4) KKDİK gereklilikleri	geçerli değildir
Metaller için aşındırıcı (2.16)	geçerli değildir	R.7.1.21.3	Bkz. Madde 11 (1) (a) (4) KKDİK gereklilikleri	BM Test C.1 (UN-MTC Bölüm 37.4)

²⁴ KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1) (a) (4) uyarınca sınıflandırma ve etiketlemeye ilişkin KKDİK bilgi gerekliliklerinin bu tabloda listelenen öğelerle sınırlı olmadığı unutulmamalıdır. Bu tablo, KKDİK Yönetmeliği aşağıdaki zararlılık sınıflarıyla ilgili bilgi üretilmesini gerektirmezken (KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1) (a) (4), bkz. [Tablo R.7.1-1](#)), bu zararlılık sınıfları hakkında mevcut herhangi bir bilginin KKDİK Yönetmeliği Madde 11 (1) (a) (4) uyarınca maddeye ilişkin KKDİK kayıt dosyasına dahil edilmesi gerektiğini vurgular.

R.7.1.21.1 Alevlenir aerosoller

Daha fazla rehberlik için lütfen [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), bölüm 2.3'ü inceleyiniz²⁶.

R.7.1.21.2 Basınç altındaki gazlar

Daha fazla rehberlik için lütfen [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), bölüm 2.5'i inceleyiniz.

R.7.1.21.3 Metaller için aşındırıcılık

Daha fazla rehberlik için lütfen [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), bölüm 2.16'yı inceleyiniz.

²⁶ Sonuç olarak, [SEA kriterleri uygulama rehberi](#), Bölüm 2: Fiziksel zararlılıklar, maddeler ve karışımlar için geçerli olan 4. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyumu dikkate alacak şekilde yeniden yapılandırılmıştır. 4. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum uygulandığında, [SEA kriterleri uygulama rehberindeki](#) güncel olmayan alt bölüm 2.3.1 Alevlenir aerosollerini silmek için bir rehber düzeltmesi yapılacaktır.

Bölüm R.7.1, Ek R.7.1-1

Ek R.7.1–1 Henry kanunu sabiti ve buharlaşma hızı

Henry kanunu sabiti (HLC), kimyasalların çevresel davranışını belirlemede en önemli faktörlerden biridir. Henry kanunu, belirli bir çözücü hacmi tarafından çözünen gaz kütlesinin, dengede olduğu gazın basıncı ile orantılı olduğunu belirtir. Henry kanunu sabiti, kimyasalın gaz fazındaki (C_G) ve sıvı fazdaki (C_L) denge konsantrasyonunun oranıdır:

$$HLC = \frac{C_G}{C_L}$$

Bu nedenle Henry kanunu sabiti, atmosfere (gaz fazı) göre nehirler, göller ve denizler gibi sulu faz ile gaz fazı arasındaki maddelerin dağılımını ölçer. Aslında, bu sabit kimyasalların çoklu ortam dağılımını tahmin eden termodinamik basınç modelleri için temel bir girdidir (Mackay, 1991). Henry kanunu sabiti iki konsantrasyonun oranı olduğu için, her iki konsantrasyon da aynı birimde ifade edilirse birimsizdir. Bazıları gaz konsantrasyonunu paskal cinsinden ve sıvı konsantrasyonunu mol/m³ cinsinden ifade etmeyi tercih eder, böylece Henry kanunu sabiti için birim Pa·m³/mol olur.

Birçok kimyasal için, uçuculuk son derece önemli bir uzaklaştırma süreci olabilir ve yarı ömürleri birkaç saat kadar düşüktür. Henry kanunu sabiti uçuculuğun önemi hakkında nitel göstergeler sağlayabilir. Henry kanunu sabiti değeri 0.01 Pa·m³/mol'den az olan maddeler için, madde sudan daha az uçucudur ve su buharlaştıkça maddenin sulu fazdaki konsantrasyonu artacaktır; Henry kanunu sabiti değerleri 100 Pa·m³/mol civarında olan maddeler için buharlaşma hızlı olacaktır.

Bununla birlikte, sucul ortamdaki maddelerin buharlaşma derecesi, derinlik ve gaz değişim katsayısı (örneğin rüzgar hızı ve su akış hızından etkilenir) gibi, söz konusu özel su kütlelerinin çevresel parametrelerine büyük ölçüde bağlıdır. Henry kanunu sabiti, bu faktörler dikkate alınmadan bir maddenin su fazından uzaklaştırılmasının değerlendirilmesi için kullanılamaz. N-oktanol/su dağılım katsayısı (K_{ow}), hava soluyan organizmalarda biyobirikim potansiyelini tahmin etmek için kullanıldığından, bu özellik PBT bağlamında özellikle önemlidir.

Örneğin, bir maddenin hem düşük buhar basıncına hem de düşük suda çözünürlüğüne sahip olduğu durumlarda, Henry kanunu sabiti, buhar basıncı ve suda çözünürlük oranı kullanılarak hesaplanırsa nispeten büyük olabilir; bu da buharlaşmanın önemli bir davranış süreci olduğu anlamına gelebilir. Uygulamada, çözülmüş organik karbon yüzeyine tutunma muhtemelen çok daha alakalı olacaktır ve buharlaşma Henry kanunu sabiti değerinin önerdiğinden daha düşük olacaktır.

Henry kanunu sabitinin deneysel olarak belirlenmesi

Deneysel yaklaşımlar iki ana gruba ayrılabilir: dinamik denge yaklaşımı (genellikle *gaz temizleme* yaklaşımı olarak anılır) ve statik denge yaklaşımı. Aşağıdaki tablo ([Tablo R.7.1–16](#)), Staudinger ve Roberts (1996) tarafından yapılan inceleme çalışmasını kısaca özetlemektedir.

Tablo R.7.1–16 Henry kanunu sabitinin belirlenmesi için deneysel yaklaşımlar

Yaklaşım Sapmalar (RSD)/Notlar	Ortalama Bağlı Standart
Dinamik yaklaşım	
<p><i>Kesikli hava sıyırma (kabarcık kolonu)</i></p> <p>Henry kanunu sabiti değerleri, uygun bir kabarcık kolon aparatında bir gazla (tipik olarak hava) izotermal sıyırma yoluyla ilgili maddenin sudan kaybolma oranı ölçülerek belirlenir.</p>	<p>Farklı literatür kaynaklarından belirlenen ortalama bağlı standart sapmalar 2.8 ile 21 arasında değişmektedir.</p>
<p><i>Eşzamanlı akış (ıslak duvarlı kolon)</i></p> <p>Değerler, ıslak duvarlı (yüzeyden sıyırma) kolonun kullanımına dayalı olarak belirlenir. Islak duvarlı kolon, ince bir su filmi ve eşzamanlı bir gaz akışı arasında çözünen organik maddeyi dengeler. Madde yüklü su, eşzamanlı olarak akan maddesiz bir gaz akımı ile temas eden ıslak duvarlı kolona verilir. Henry kanunu sabiti: Ayrılmış faz akışlarında bulunan akış hızları ve bileşik kütleleri bilgisi, Henry kanunu sabitinin doğrudan hesaplanmasını sağlar.</p>	<p>Farklı literatür kaynaklarından belirlenen ortalama bağlı standart sapmalar 19 ile 52 arasında değişmektedir.</p> <p>Faz dengesine ulaşıldığından emin olmak için ön çalışma yapılmalıdır.</p>
Statik yaklaşım	
<p><i>Tekli denge</i></p> <p>Bir maddenin bilinen bir kütlesi, bilinen bir su ve hava hacmine sahip hava geçirmez bir kaba verilir. Denge sağlandığında, madde konsantrasyonu bir veya iki fazda belirlenir.</p>	<p>Farklı literatür kaynaklarından belirlenen ortalama bağlı standart sapmalar 2.8 ile 30 arasında değişmektedir.</p>
<p><i>Çoklu denge</i></p> <p>Bilinen miktarda çözünen madde içeren sıvı bir numunenin bilinen hacimde çözünen madde içermeyen hava ile dengelenmesine izin verilir. Hava dışarı atılır ve aynı miktarda çözünen madde içermeyen hava ile yeni bir dengeleme başlatılır. Bu süreç, denge sayısı sistemde kalan çözünen madde kütlesini tüketene kadar tekrar edilebilir.</p>	<p>Bağlı standart sapma 0.7 ila 3.5 arasında değişmektedir.</p> <p>Bu yöntem $0.1 \leq HLC \leq 2$ olan maddeler için geçerlidir.</p> <p>Deneysel hata, daha fazla sayıda dengeleme ile azaltılır.</p>
<p><i>EPICS Tekniği</i></p> <p>Henry kanunu sabiti, kapatılmış şişe çiftlerinden gazın üst boşluk konsantrasyon oranları ölçülerek belirlenir. Mutlak hava fazı konsantrasyonlarından ziyade bağlı konsantrasyonlar gereklidir.</p>	<p>Farklı literatür kaynaklarından belirlenen ortalama bağlı standart sapmalar 2.9 ile 19 arasında değişmektedir.</p>
<p><i>Değişken Üst Boşluk</i></p> <p>Yöntem, farklı üst boşluk-sıvı hacim oranlarına sahip birden fazla kapta aynı çözeltinin bölümlerinden bağlı denge hava fazı konsantrasyonunun (gaz kromatografisi pik alanları) ölçülmesine dayanır.</p>	<p>Farklı literatür kaynaklarından belirlenen ortalama bağlı standart sapmalar 0.5 ile 7.9 arasında değişmektedir.</p>

Henry kanunu sabiti için incelenmiş deneysel çalışmaların veri analizi Staudinger ve Roberts (1996) çalışmasında bulunabilir. Henry kanunu sabiti değerleri, aşağıdaki referanslardan birinde veya birden fazlasında da bulunabilir: Sander (1999), CRC Handbook of Chemistry and Physics (CRC Kimya ve Fizik El Kitabı) (2000), NIST Chemistry WebBook (NIST Kimya Web Kitabı)

(1998) ve 'The Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals' (Organik Kimyasallara İlişkin Çevresel Veriler El Kitabı) (Verschueren K, 2001).

Henry kanunu sabiti değerlerini etkileyen ana faktörler

Staudinger ve Roberts (1996), Henry kanunu sabiti değerlerini etkileyen tüm faktörleri kapsamlı bir şekilde açıklamış ve sıcaklık ve pH etkisini ölçen denklemleri bildirmiştir. Çalışmalarına göre, çoğu durumda sıcaklık, orta derecede kontaminasyona (1 mg/ml veya daha az) sahip doğal sular için Henry kanunu sabiti değerlerini etkileyen ana parametredir. Henry kanunu sabiti değerleri üzerinde etkisi olan diğer koşullar [Tablo R.7.1-17](#)'de listelenmiştir (Staudinger ve Roberts, 1996):

Tablo R.7.1-17 Henry Kanunu Sabiti değerleri üzerinde etkisi olan koşullar

pH	Suda önemli ölçüde ayrışan bileşik (madde) sınıfları için önemlidir, çünkü yalnızca ayrışmamış türler hava-su değişimine uğrar. Çoğu doğal su için ($6 < \text{pH} < 8$), görünen Henry kanunu sabiti, içsel Henry kanunu sabitinden önemli ölçüde daha düşük olacaktır.
Bileşen Hidrasyonu	Neredeyse tamamen su içinde hidratlanan ve Henry kanunu sabitinin içsel sabitten birkaç basamak daha düşük olmasıyla sonuçlanan aldehitler için önemlidir.
Bileşik konsantrasyonu/Kompleks karışım etkileri	Bir çözelti seyreltilmiş olarak kabul edilemiyorsa (örn. 10.0 mg/ml'ye yaklaşan konsantrasyon) Henry kanunu sabiti daha düşük konsantrasyonlarda belirlenen Henry kanunu sabiti değerlerinden daha düşük olacaktır.
Çözünmüş tuzlar	Bir çözeltinin iyonik kuvveti yüksekse (örneğin deniz suyu), görünen Henry kanunu sabiti saf suda belirlenen Henry kanunu sabitinden daha yüksek olacaktır.
Askıda katılar / Çözünmüş Organik Madde (DOM)	Bir bileşik kolayca yüzeye tutunuyorsa (örn. pestisitler), görünen Henry kanunu sabiti saf suda belirlenen Henry kanunu sabitinden daha yüksek olacaktır.
Yüzey aktif maddeler	Yüksek Kow değerine sahip bileşiklerin, Henry kanunu sabitinin değerini düşürecek bir etkiye sahip olması beklenmektedir. Kaydedilen etkiler, Kow ile doğru orantılı olarak artar.

Su matrisinin kompleks doğası nedeniyle, yukarıda listelenen parametrelerin olası bir kombinasyonunun net etkisinin, bireysel etkilerin basit toplamından daha fazla olabileceğine dikkat edilmesi önemlidir (Staudinger ve Roberts, 1996).

Henry kanunu sabitinin QSPR tahmini

Henry kanunu sabitinin tahmini, Schwarzenbach ve ark. (1993), Reinhard ve Drefahl (1999), Mackay ve ark. (2000) ve Dearden ve Schüürmann (2003) tarafından incelenmiştir. En önemli yaklaşımlar:

- Suda çözünürlüğün (C_w) buhar basıncına (V_p) oranı;
- Bağlantı endekslerini kullanarak tahmin;
- Grup ve bağ katkı yöntemlerini kullanarak tahmin.

Henry kanunu sabitini tahmin etmenin ilk yöntemi, suda çözünürlük (c_w) ve buhar basıncını (v_p) kullanması nedeniyle, tam olarak bir QSAR yöntemi değildir. Çok hassas bir yöntem değildir, ancak özellikle çok yüksek veya çok düşük Henry kanunu sabiti değerlerine sahip maddeler için Henry kanunu sabitinin ölçümü de çok hassas değildir.

vp/c_w 25°C'de geçerli olan aşağıdaki denklem ile Henry kanunu sabitinin birimsiz formuna (hava ve sudaki konsantrasyonların oranı, c_a/c_w) veya K_{aw} 'ye dönüştürülebilir:

$$c_a/c_w = 40.874 vp/c_w$$

Hem suda çözünürlük hem de buhar basıncı QSAR yöntemleriyle hesaplanabildiğinden, bu yaklaşım bazı durumlarda QSAR tabanlı bir yöntem olabilir. Yöntem, suda çözünürlüğü düşük olan maddelerle sınırlıdır (< 1.0 mol/L). QSAR ile hesaplanan değerler vp ve/veya c_w için kullanılırsa, ilgili belirsizlikler dikkate alınmalıdır. Karışabilir bileşikler veya suda çözünürlüğü > 1 mol/L olan bileşikler için vp/c_w yöntemi geçerli değildir.

İkinci yöntem, bağlantı endeksleri ve hesaplanan kutuplaşabilirliğin bir kombinasyonuna dayanmaktadır (Nirmalakhandan ve Speece, 1988). Modeli geliştirmek için nispeten dar bir kimyasal tür aralığı kullanılmıştır, bu nedenle yaygın olarak uygulanamaz. Ayrıca, Schüürmann ve Rothenbacher (1992) zayıf tahmin gücüne sahip olduğunu bulmuştur.

Henry kanunu sabiti için tahmin yöntemlerinin çoğu, bazıları fizikokimyasal özellikleri kullanmasına rağmen, bir grup veya bağ katkı yaklaşımı kullanır (Dearden ve ark., 2000). Grup ve bağ katkı yöntemleri, ilk olarak, 263 çeşitli basit organik kimyasaldan oluşan bir kümede grup katkısı yöntemi için 0,41 log birimlik bir standart sapma ve bağ katkısı yöntemi için 0,42 log birimlik bir standart sapma elde eden Hine ve Mookerjee (1974) tarafından kullanılmıştır. Cabani ve ark. (1981) grup katkı yönteminde Hine ve Mookerjee'ye göre bir gelişme olduğunu iddia ederken, Meylan ve Howard (1991) bağ katkı yöntemini genişletmiş ve 345 farklı kimyasaldan oluşan bir set için 0,34 log birimlik standart bir hata elde etmiştir.

Buharlaşma hızı

Buharlaşma hızları genellikle kaynama noktalarıyla ters orantılıdır, yani kaynama noktası ne kadar yüksekse, buharlaşma hızı o kadar düşük olur. Uçucu sıvıların dökülmeleri için buharlaşma hızı bilgisi birkaç açıdan yararlı olabilir. Yüksek buhar basıncı bir sıvının dökülmesinin kısa sürede tamamen buharlaşacağı biliniyorsa, alanı izole etmek ve herhangi bir müdahale veya temizlikten kaçınmak tercih edilebilir. Buharlaşma hızı aynı zamanda buharın atmosferik konsantrasyonunu ve dolayısıyla patlama veya yangın tehdidini de kontrol eder. Sıvının uçuculuk özellikleri, sıcaklığı, rüzgar hızı ve dökülme boyutları hakkındaki veriler, buharlaşma hızını ve dolayısıyla herhangi bir zamanda buharlaşan oranı hesaplamak için kullanılır.

Maddenin atmosfere dağılım eğilimi, esasen saf bir maddenin atmosferde uygulayabileceği maksimum buhar basıncı tarafından kontrol edilir. Bu, kimyasalın atmosferdeki bir tür çözünürlüğü olarak görülebilir. İdeal gaz kanunu ($PV=nRT$) kullanılarak, basınç birimi paskal (Pa) içindeki buhar basıncı P , gaz sabiti R 'nin 8.314 Pa.m³/mol.K ve T 'nin mutlak sıcaklık (K) olduğu bir çözünürlüğe (mol/m³) dönüştürülebilir.

Ortam sıcaklığında buhar basıncından havadaki konsantrasyona dönüştürme:

$$\% \text{ hacim} = \text{buhar basıncı (Pa)} / 101\,325 \times 100$$

$$\text{veya ppm} = \text{buhar basıncı (Pa)} / 101\,325 \times 1\,000\,000$$

Molar hacim tüm ideal gazlar için aynı olduğundan (aynı sıcaklık ve basınç altında tüm gazların eşit hacimleri aynı sayıda molekülü içerir) ppm \equiv hacim (ml/m³) şeklindedir. Birim hacim başına ağırlığı dönüştürmek için:

$$X \text{ ppm} = X \times MW / 24.041 \text{ mg/m}^3, 1 \text{ mg/m}^3 = 24.041 / MW \text{ ppm}$$

Boya ve benzeri ürünlerin formülasyonunda, çözücüler uygulama tekniğine ve küreleşme sıcaklığına uygun olarak buharlaşma özelliklerine göre seçilir.

Bir çözücünün buharlaşma hızı, büyük ölçüde, nerede ve nasıl kullanılabileceğini belirler. Çözücülerin buharlaşma hızının belirlenmesinde standart olarak n-bütil asetat kullanılır ve buharlaşma hızı değeri 1 olarak atanır. Diğer çözücülere, n-bütil asetata göre ne kadar hızlı buharlaştıklarını gösteren buharlaşma hızı değerleri atanır.

Örneğin, n-bütil asetatın üç kat daha hızlı buharlaşan bir çözücüye 3 değeri atanırken, n-bütil asetatın yarısı kadar hızlı buharlaşan bir çözücüye 0,5 değeri atanacaktır.

Buharlaşma hızı ASTM D3539-87 kullanılarak belirlenir. Bilinen bir sıvı hacmi, bir kabin içindeki hassas bir terazide asılı olan ve belirli bir alana sahip filtre kağıdına yayılır. 25 °C'deki kuru hava veya azot kabinden belirli bir hızla geçirilir. Ağırlık kaybı belirlenir ve zamana karşı grafiğe dökülür.

Ek R.7.1-1 için Referanslar

ASTM D 3539-87 (yeniden onay tarihi 2004) "Uçucu Sıvıların Kabuk İnce Film Buharlaşma Ölçeri ile Buharlaşma Hızları için Standart Test Yöntemleri".

Cabani S., Gianni P., Mollica V. ve Lepori L. Seyreltik sulu çözeltilerde iyonik olmayan organik çözünen maddelerin termodinamik özelliklerine grup katkıları. *J. Solut. Chem.* (1981) **10**, 563-595.

CRC (2000) CRC Kimya ve Fizik El Kitabı 81. Baskı. Baş Editör, D. Lide. CRC Press.

Dearden, J.C., Cronin, M.T.D., Ahmed, S.A. ve Sharra, J.A. Henry kanunu sabitinin QSPR tahmini: yeni parametrelerle geliştirilmiş benzerlik. Kaynak: Gundertofte, K. ve Jørgensen, F.S. (Ed.), *Molecular Modelling and Prediction of Bioactivity (Moleküler Modelleme ve Biyoaktivite Tahmini)*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2000, s. 273-274.

Dearden J.C. ve Schüürmann G. Quantitative structure-property relationships for predicting Henry's law constant from molecular structure (Henry kanunu sabitini moleküler yapıdan tahmin etmek için nicel yapı-özellik ilişkileri). *Environ. Toxicol. Chem.* (2003) **22**, 1755-1770.

Hine J. ve Mookerjee P.K. The intrinsic hydrophilic character of organic compounds. Correlations in terms of structural contributions (Organik bileşiklerin içsel hidrofilik karakteri. Yapısal katkılar açısından korelasyonlar). *J. Org. Chem.* (1974) **40**, 292-298.

Mackay D. (1991) Multimedia environmental models (Çok ortamlı çevre modelleri). Lewis Publishers. Chelsea, MI

Mackay D., Shiu W.Y. ve Ma K.C. Henry's law constant (Henry yasası sabiti). Kaynak: Boethling R.S. and Mackay D. (Ed.), *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals (Kimyasallar için Özellik Tahmin Yöntemleri El Kitabı)*. Lewis, Boca Raton, FL, 2000, s. 69-87.

Meylan W.M. ve Howard P.H. Bond contribution method for estimating Henry's law constants (Henry kanunu sabitlerini tahmin etmek için bağ katkı yöntemi). *Environ. Toxicol. Chem.* (1991) **10**, 1283-1293.

W.G. Mallard ve P.J. Linstrom, Ed., NIST Kimya Web Kitabı, NIST Standart Referans Veritabanı Numarası 69. Kasım 1998. Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü, Gaithersburg, MD, 20899.

Nirmalakhandan NN ve Speece (1988). QSAR model for predicting Henry's Law Constant (Henry kanunu sabiti tahmini için QSAR modeli). *Environ. Sci. Technol.* **22**, 1349-1357.

Reinhard M. ve Drefahl A. *Handbook for Estimating Physico-chemical Properties of Organic Compounds* (Organik Bileşiklerin Fiziko-kimyasal Özelliklerinin Tahmini için El Kitabı). Wiley, New York, 1999.

Russell C.J., Dixon S.L. ve Jurs P.C. Computer-assisted study of the relationship between molecular structure and Henry's law constant (Moleküler yapı ile Henry kanunu sabiti arasındaki ilişkinin bilgisayar destekli çalışması).

Anal. Chem. (1992) **64**, 1350-1355.

Sander, R. (1999) Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry (Çevre Kimyasında Potansiyel Öneme Sahip İnorganik ve Organik Türler için Henry Kanunu Sabitlerinin Derlemesi), Versiyon 3 (<http://www.henrys-law.org/henry-3.0.pdf>).

Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M. ve Imboden D.M. *Environmental Organic Chemistry (Çevresel Organik Kimya)*. Wiley, New York, 1993.

Schüürmann G. ve Rothenbacher C. Evaluation of estimation methods for the air-water partition coefficient (Hava-su dağılım katsayısı için tahmin yöntemlerinin değerlendirilmesi). *Fresenius Environ. Bull.* (1992) **1**, 10-15.

Staudinger, J. ve Roberts, P.V. (1996) A critical review of Henry's Law Constants for Environmental Applications (Henry Kanunu Sabitlerinin Çevresel Uygulamalar için eleştirel bir incelemesi). *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 26(3):205-297.

Verschueren K (2001) Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals (Organik Kimyasallara İlişkin Çevresel Veriler El Kitabı) 4. Baskı (2 ciltlik set). John Wiley & Sons Inc, New York, ABD.

R.7.2 Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi

R.7.2.1 Giriş

Bir maddenin sistemik yararlanımı olup olmadığına bakılmaksızın, bir maddeye maruz kalma ilk temas yerinde (cilt, göz, mukoza zarları/mide-bağırsak yolu veya mukoza zarları/solunum yolu değişikliklere neden olabilir. Bu değişiklikler lokal etkiler olarak kabul edilir. Tekli maruz kalmadan sonra gözlenenler ve tekrarlı maruz kalmadan sonra gözlenenler arasında lokal etkilerde bir ayırım yapılabilir. Bu rehberde, göz , cilt veya solunum yoluyla tekli maruz kalmadan sonra lokal etkilere odaklanılacaktır. Bununla birlikte, mümkün olan her yerde, göz , cilt veya solunum yoluyla tekli maruz kalmadan sonra etkilerin değerlendirilmesi ve sınıflandırılması amacıyla değerli bilgiler içerebilecekleri ölçüde mevcut tekrarlı doz verilerinden de yararlanılmalıdır.

Tekli maruz kalmadan sonra lokal etkilere neden olan maddeler, gözlemlenen etkilerin şiddetine, geri dönüşlü olmasına ve olmamasına bağlı olarak tahriş edici veya aşındırıcı maddeler olarak daha ileri şekilde ayırt edilebilir. Aşındırıcı maddeler, temas ettikleri canlı dokuları yok edebilen maddelerdir. Tahriş edici maddeler aşındırıcı olmayan maddelerdir ve söz konusu doku ile doğrudan temas halinde yangıya neden olabilir (tam tanımlar için bkz. Bölüm [R.7.2.1.1](#)). Bu dokular mevcut bağlamda cilt, göz (kornea, iris ve konjunktiva) ve solunum gibi mukoza epitelidir. Tahriş edici ve aşındırıcı maddelerin sınıflandırılması için kriterler Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik (SEA Yönetmeliği) Ek 1 içerisinde verilmiştir.

Organik çözücüler gibi belirli maddeler yalnızca tekrarlı maruz kalmadan sonra tahriş edici etkilere neden olabilir. Bu tür bir maddenin yağsızlaştırma özellikleri olabilir (Yağdan arındırıcı maddeler üzerine ad-hoc çalışma grubu, 1997). Benzer bir etki şekline sahip maddeler, EUH066 "*Tekrarlı maruz kalmalarda ciltte kuruluğa ve çatlaklara neden olabilir.*" ifadesi ile etiketleme için dikkate alınmalıdır.

Cilt, göz ve solunum yollarının aşınma ve tahrişinin altında yatan mekanizmalarla ilgili bilgiler [Ek R.7.2-1 Lokal toksisite mekanizmaları: cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi](#) içerisinde verilmektedir.

R.7.2.1.1 Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi tanımları

Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi tanımları SEA Yönetmeliğinde bulunabilir²⁷.

Cilt tahrişi: SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.2.1.1'e göre Cilt Tahrişi, "[...] bir test maddesinin 4 saate kadar uygulanmasını takiben ciltte geri dönüşü olabilir bir hasar oluşması anlamına gelir".

²⁷ CLP Tüzüğü'nün 8. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyumunun 1 Şubat 2018 tarihinden itibaren geçerli olduğu unutulmamalıdır. 8. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum tarafından yapılan değişiklik, 2012 yılında kabul edilen ve özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

Tekrarlı maruz kalmadan sonra kontakt dermatit: Tekrarlı maruz kalmada cilt kuruluşuna, pullanmaya veya çatlamaya neden olabilecek ancak cildi tahriş edici olarak değerlendirilemeyen bir madde için kullanılır (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 2 Bölüm 1.2.4).

Cilt aşınması: SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.2.1.1'de şöyle tanımlanmıştır: "[...] *Cilt aşınması, bir test maddesinin 4 saate kadar uygulanmasını takiben ciltte geri dönüşü olmayan bir hasar, bir başka ifadeyle epidermis boyunca ve dermis içinde gözle görülebilir nekroz oluşması anlamına gelir. Aşındırıcı tepkimeler tipik olarak ülser, kanama, kanlı/kabuklu yaralar ve 14 günlük bir gözlem süresinin sonunda cildin ağarması sonucunda renk kaybı, tamamında saç/tüy dökülmesi ve yara meydana gelen bölgeler şeklinde görülür. [...]*".

Göz tahrişi: SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.3.1.1'de "[...] *bir test maddesinin göz yüzeyinin ön tarafına uygulanmasının ardından uygulamadan sonraki 21 gün içerisinde, gözde tamamen geri dönüşü olan değişikliklerin meydana gelmesidir.*" olarak tanımlanmıştır.

Ciddi göz hasarı: SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.3.1.1'de şöyle tanımlanmıştır: "[...] *bir test maddesinin göz yüzeyinin ön tarafına uygulanmasının ardından uygulamadan sonraki 21 gün içerisinde, gözde tamamen geri dönüşü olmayan doku zedelenmesi veya ciddi fiziksel görme kaybının meydana gelmesidir. [...]*".

Solunum yolu tahrişi: Solunum yolu tahrişi için AB veya OECD Test Rehberi yoktur ve solunum yolu tahrişi testi, KKDİK kapsamında standart bir bilgi gerekliliği değildir. Solunum yolu tahrişi, SEA Yönetmeliği (Ek 1 Tablo 3.8.1) kapsamında geçici bir hedef organ etkisi, yani "[...] *maruz kalmadan kısa bir süre sonra insanlarda fonksiyonu olumsuz şekilde etkileyen ve insanlarda yapı veya fonksiyonda anlamlı değişiklik kalmadan akılcı bir süreçte kaybolan etkiler [...]*" olarak değerlendirilmiştir. Daha özel olarak, solunum yolu tahrişi genellikle iki farklı toksikolojik etki olan *duyusal tahriş* ve *lokal sitotoksik etkiden* birini veya ikisini tanımlamak için kullanılır. Bununla birlikte, solunum yolu tahrişi için BHOT Tek Mrz. Kategori 3 içerisinde sınıflandırma genellikle lokal sitotoksik etkilerle sınırlıdır. "[...] *Öksürük, ağrı, tıkanma ve nefes almada zorlanma gibi bulgularla fonksiyonu bozan solunum tahriş edici etkiler (lokal kızarıklık, ödem, prurit ve/veya ağrı ile karakterize) dahil edilmektedir [...]*" (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.8.2.2.1).

Solunum yolu aşınması: Solunum yolu aşınması için AB veya OECD Test Rehberi yoktur ve solunum yolu aşınması testi, KKDİK kapsamında standart bir bilgi gerekliliği değildir. Solunum yolu aşınması, SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.1.2.3.3'te "[...] *Nefes borusundaki aşınma, cilt aşınması ile benzeşen tek ve sınırlı bir süre boyunca maruz kalma sonrasında nefes borusu dokularının tahrip olması olarak tanımlanır.*

SEA Yönetmeliği uyarınca sınıflandırma ve etiketleme:

Cilt aşınması/tahrişine, ciddi göz hasarı/göz tahrişine ve/veya solunum yolu aşınması/tahrişine neden olan maddeler ve karışımlar, SEA Yönetmeliği kapsamındaki sınıflandırmalarıyla ayrıca karakterize edilebilir²⁸

Maddelerin ve karışımların sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin ayrıntılı bilgiler, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) içerisinde bulunabilir.

²⁸ CLP Tüzüğü'nün 8. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyumunun 1 Şubat 2018 tarihinden itibaren geçerli olduğu unutulmamalıdır. 8. Bilimsel ve Teknik Gelişmelere Uyum tarafından yapılan değişiklik, 2012 yılında kabul edilen ve özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

a) Cilt etkileri için

- **Cilt aşındırıcıları**, Zararlılık ifadesi H314 "*Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar*" Kategori 1 içerisinde sınıflandırılır. Draize cilt korozyonu *in vivo* teste dayalı olarak daha fazla alt kategori tanımlanmıştır:
 - Alt kategori 1A: Cilt dokusunun tahribatı, ≤ 3 dakikalık maruz kalma sürelerinden sonra meydana gelir ve maruz kalmadan sonra ≤ 1 saatlik süre içerisinde gözlenir,
 - Alt kategori 1B: Cilt dokusunun tahribatı, > 3 dakikalık ve ≤ 1 saatlik maruz kalma sürelerinden sonra meydana gelir ve maruz kalmadan sonra ≤ 14 günlük süre içerisinde gözlenir,
 - Alt kategori 1C: Cilt dokusunun tahribatı > 1 saatlik ve ≤ 4 saatlik maruz kalma sürelerinden sonra meydana gelir ve maruz kalmadan sonra ≤ 14 günlük süre içerisinde gözlenir,
- **Cilt tahriş ediciler**, Zararlılık ifadesi H315 "*Cilt tahrişine yol açar.*" ile Kategori 2 olarak sınıflandırılır.

b) Göz etkileri için

- **Ciddi göz hasarına neden olan maddeler veya karışımlar**, Zararlılık ifadesi H318 "*Ciddi göz hasarına yol açar*" ile Kategori 1 olarak sınıflandırılır.
- **Göz tahrişine neden olan maddeler veya karışımlar**, Zararlılık ifadesi H319 "*Ciddi göz tahrişine yol açar*" ile Kategori 2 olarak sınıflandırılır.

c) Solunum yolu ile ilgili Belirli Hedef Organ Toksisitesi için

- **Solunum yolu aşınmasına neden olan maddeler veya karışımlar**, Aşındırıcı etki, Akut toksisite kriterleri dahilinde hayvanların ölümüne neden olursa solunum yoluyla Akut Toksikite için sınıflandırılır veya toksik etkilere neden olmak için gerekli olan doz seviyesine dayalı olarak Belirli Hedef Organ Toksisitesi – Tek maruz kalma (BHOT Tek Mrz.) Kategori 1 (Zararlılık ifadesi H370 "*Solunması halinde organlarda hasara yol açar*") veya Kategori 2 (Zararlılık ifadesi H371 "*Solunması halinde organlarda hasara yol açabilir*") olarak sınıflandırılır ve EUH071 "*Solunum yolunda aşınmaya yol açar*" olarak etiketlenir.
- Yerel bir sitotoksik etki yoluyla **solunum yolu tahrişine neden olan maddeler veya karışımlar**, Zararlılık ifadesi H335 "Solunum yolu tahrişine yol açabilir" ile Belirli Hedef Organ Toksisitesi – Tek maruz kalma (BHOT Tek Mrz.) Kategori 3 içerisinde sınıflandırılır.

SEA Yönetmeliği Ek 2 Bölüm 1.2.6'ya göre, Zararlılık ifadesi EUH071 cilt aşınması için sınıflandırılan ve akut solunum toksisitesi için test edilmeyen solunan maddelere veya karışımlara da uygulanmalıdır.

Tekrarlı maruz kalmanın ardından cilt ve solunum yolu tahrişinin mevcut bağlamda tartışılmadığına dikkat edilmelidir, çünkü bu Rehber tek maruz kalmadan sonraki akut etkilere odaklanmaktadır.

Bununla birlikte, tekrarlı maruz kalma çalışmalarından elde edilen veriler belirli durumlarda faydalı olabilir

(örneğin, madde ilk uygulamadan sonra aşındırıcı veya güçlü tahriş edici olarak veya nicel bilgi türetilmesi için tanımlanmışsa). Bununla birlikte, eksik bir nokta kalmaması adına, tekrarlı maruz kalmadan sonra cilt tahrişinin tanımı ve ilgili Zararlılık ifadesi EUH066 ("Tekrarlı maruz kalmalarda ciltte kuruluğa ve çatlaklara neden olabilir") burada verilmiştir. Tekrarlı maruz kalmadan sonra lokal etkiler hakkında daha fazla rehberlik, tekrarlı doz toksisitesi hakkındaki Bölüm [R.7.5](#) içerisinde bulunabilir.

R.7.2.1.2 Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi hakkında rehberin amacı

Genel amaçlar:

- fiziksel/kimyasal verilerden, test dışı yöntemlerden (gruplandırma, QSAR ve uzman sistemler), *in vitro* çalışmalardan, hayvan çalışmalarından veya insan deneyimlerinden elde edilen bilgilerin, maddenin aşındırıcı olduğuna veya olmasının muhtemel olduğuna dair kanıt sağlayıp sağlamadığını belirlemek.
- fiziksel/kimyasal verilerden, test dışı yöntemlerden (gruplandırma, QSAR ve uzman sistemler), *in vitro* çalışmalardan, hayvan çalışmalarından veya insan deneyiminden gelen bilgilerin önemli cilt, göz veya solunum yolu tahrişinin kanıtı olup olmadığını belirlemek.
- mümkünse başlangıç zamanını ve cevapların kapsamını ve ciddiyetini ve tersinirlikle ilgili bilgileri belirlemek.
- Mümkünse, zararlılık tanımlama sürecinde, tam bir risk değerlendirmesi için gerekli olan DNEL değerlerinin türetilmesine izin verebilecek doz-cevap ilişkileri hakkında tüm nicel verileri toplamak.

Bir risk değerlendirmesi gerekliyse, tanımlanan zararın ciddiyeti (test verilerinden değerlendirilebildiği kadarıyla) ve insanlarda akut aşındırıcı veya tahriş edici bir cevabın oluşma olasılığı, maddeye herhangi bir maruz kalmanın olasılığına dayanılarak ve beklenen maruz kalmanın yolu, şekli ve kapsamı ile ilgili olarak değerlendirilmelidir.

Akut solunum yolu tahrişi için şu anda standart testlerin ve OECD Test Rehberlerinin mevcut olmadığı ve KKDİK Yönetmeliği uyarınca solunum yolu tahrişi için test gerekliliği olmadığı unutulmamalıdır. Sonuç olarak solunum yolu aşınması/tahrişi için hiçbir test ve değerlendirme stratejisi bu rehbere dahil edilmemiştir. Bununla birlikte, bir maddenin solunum yolu aşınması/tahrişi potansiyeli hakkında kanıt sağlayan var olan ve mevcut veriler dikkate alınmalıdır. Örneğin, solunum yolunun histopatolojik değerlendirmesini ve/veya nazal veya bronşioalveolar lavaj incelemelerini içeren akut solunum çalışmaları ve tekrarlı solunum çalışmaları, sınıflandırma ve etiketleme için önemli bilgiler sağlayabilir (daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm [R.7.2.12](#)).

CİLT AŞINMASI/TAHİRİŞİ

R.7.2.2 Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgi gereklilikleri

Kayıt ve değerlendirme amacıyla sunulması gereken cilt aşınması/tahrişi ile ilgili bilgiler, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 ila 11'de belirtilmiştir. Ek 6'ya göre, kayıt ettiren, ileri testleri düşünmeden önce mevcut tüm bilgileri toplamalı ve değerlendirmelidir. Buna fiziko-kimyasal özellikler, (Q)SAR ((Nicel) Yapı-Aktivite İlişkisi), gruplandırma, in vitro veriler, hayvan çalışmaları ve insan verileri dahildir. Sınıflandırılmış maddeler için, maddenin güvenli kullanımını sağlamak üzere maruz kalma, kullanım ve risk yönetimi önlemlerine ilişkin bilgiler de toplanmalı ve değerlendirilmelidir.

Bu veriler zararlılık ve risk değerlendirmesi için yetersizse, KKDİK Yönetmeliği Ek 7 (≥ 1 ton/yıl) ve 8 (≥ 10 YT) gerekliliklerine uygun olarak ileri testler yapılmalıdır.

R.7.2.2.1 ≥ 1 ton/yıl miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 7)

Yeni test verileri gerekliyse, bunlar yalnızca *in vitro* yöntemlerden elde edilmelidir. Ek 7, cilt aşınması/tahrişi için *in vivo* test yapılmasını öngörmemektedir.

Cilt aşınması/tahrişi için bu tonaj bandında standart bilgi gereklilikleri, Ek 7 Sütun 1'de Bölüm 8.1'de aşağıdaki şekilde belirtilmiştir:

8.1.1. Cilt aşındırıcılığı, *in vitro*

8.1.2. Cilt tahriş ediciliği, *in vitro*

Ek 7 Sütun 2'de Bölüm 8.1, adım 8.1.1 ve 8.1.2'nin yürütülmesine gerek olmayan uyarılma için belirli kuralları listeler.

Bu kurallar şu durumlarda geçerlidir:

- madde kuvvetli asit ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baz ($\text{pH} \geq 11.5$) ise ve ulaşılabilir bilgiler maddenin sınıflandırılmasını cilt için aşındırıcı (Kategori 1) olarak işaret ediyor ise, veya
- madde oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temasında kendiliğinden alevlenir ise, veya
- madde cilt yoluyla maruz kalmada akut toksik (Kategori 1) olarak sınıflandırılıyorsa, veya
- cilt yoluyla akut toksisite üzerine yapılan çalışma doz sınırı seviyesine (2000 mg/kg vücut ağırlığı) kadar cilt tahrişine işaret etmiyorsa. (Daha fazla bilgi için lütfen bkz. [Şekil R.7.2-2](#) içerisinde dipnot d).

Madde 8.1.1 veya 8.1.2 kapsamındaki iki çalışmadan birinin sonuçları maddenin sınıflandırılması veya cilt tahrişi potansiyelinin yokluğu hakkında kesin bir karara zaten izin veriyorsa, ikinci çalışmanın gerçekleştirilmesine gerek yoktur.

KKDİK Ek 7'nin standart bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için kullanılabilir *in vitro* yöntemler, bu Rehberin [R.7.2.3.1](#) ve [R.7.2.4.1](#) Bölümlerinde "*In vitro veriler*" altında ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Mevcut bir kaliteli *in vivo* cilt tahrişi çalışmasının mevcut olması durumunda, sonuçları standart bilgi gerekliliğini yerine getirmek için kullanılabilir, ancak *in vitro* çalışma/çalışmaların sağlanmaması hakkında bir uyarılma savunmasının sunulması gerekecektir.

Bu kuralların uygulanmasına ilişkin rehberlik, bu Rehberin [R.7.2.6](#) ve [R.7.2.11](#) Bölümlerinde açıklanan test ve değerlendirme stratejilerinde verilmektedir.

R.7.2.2.2 ≥10 ton/yıl miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8)

KKDİK Yönetmeliği Ek 8 Sütun 2 Bölüm 8.1'de belirtildiği gibi, ≥10 ton/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için *in vivo* testler, yalnızca Ek 7 Bölüm 8.1.1 ve 8.1.2 kapsamındaki *in vitro* çalışmalar madde için geçerli değilse veya bu çalışmaların sonuçları sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli değilse düşünülmelidir.

Ek 8 Bölüm 8.1, cilt tahrişi/aşınması için bir *in vivo* çalışmanın hala gerekli olduğu koşulları belirtir. ≥10 ton/yılmiktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için *in vivo* testler, yalnızca Ek 7 Bölüm 8.1.1 ve 8.1.2 kapsamındaki *in vitro* çalışmalar madde için geçerli değilse veya bu çalışmaların sonuçları sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli değilse düşünülmelidir.

8.1.2

Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- madde kuvvetli asit ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baz ($\text{pH} \geq 11.5$) ise, veya
- madde oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temasında kendiliğinden alevlenir ise, veya
- madde cilt yoluyla maruz kalmada akut toksik (Kategori 1) olarak sınıflandırılıyorsa, veya
- cilt yoluyla akut toksisite üzerine yapılan çalışma doz sınırı seviyesine (2000 mg/kg vücut ağırlığı) kadar cilt tahrişine işaret etmiyorsa. (Daha fazla bilgi için lütfen bkz. [Şekil R.7.2-2](#) içerisinde dipnot d).

Bu kuralların uygulanmasına ilişkin rehberlik, bu Rehberin [R.7.2.6](#) ve [R.7.2.11](#) Bölümlerinde açıklanan test ve değerlendirme stratejilerinde verilmektedir.

Ek 11'de belirtilen uyarılama kurallarından herhangi birinin uygulanmasının ÇŞB tarafından kabul edilme koşullarının katı olduğu ve bir uyarılama gerekçelendirmesi kullanıldığında (örn. (Q)SAR, çapraz okuma veya doğrulanmamış *in vitro* test yöntemleri kullanımı), bilimsel gerekçeler, kapsamlı belgeler ve risk değerlendirmesi için hazır olma ve Sınıflandırma ve Etiketlemenin kayıt ettirenler tarafından sağlanması gerektiği göz önüne alınmalıdır. Bu kurallarla ilgili ayrıntılı bilgi için, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 incelenmelidir.

R.7.2.3 Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgi kaynakları

R.7.2.3.1 Tahriş/aşınma üzerine insan dışı veriler

Tahriş/aşınma üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal özellikler

İlgili bilgiler, bir maddenin temel fiziko-kimyasal özelliklerinden (örn. aşırı pH) çıkarılabilir. Aşırı pH değerleri, bir maddenin cilt aşınmasına neden olma potansiyelini gösterebilir:

$\text{pH} \leq 2$ veya $\text{pH} \geq 11,5$ ise, sınıflandırma kararının tek dayanağı olarak pH kullanıldığında maddenin cilt için aşındırıcı olduğu (Kategori 1) düşünülür (ayrıca bkz. bu Rehberde Bölüm

[R.7.2.4.1](#)).

Gruplandırma, (Q)SAR ve uzman sistemler²⁹

KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de, bağımsız (mümkün olduğunda) ya da diğer bilgilerle birlikte (bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesi bağlamında), standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için kullanılabilen iki tür test dışı yöntemden bahsedilmektedir:

- bir yanda nitel ve nicel Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR/QSAR, bölüm 1.2, uzman sistemler dahil, genellikle birden fazla (Q)SAR, uzman kuralları ve verileri içerir) ve
- diğer yanda maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı³⁰.

Standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması, ilgilenilen madde için ilgili ve güvenilir veriler sağlanması halinde, cilt aşınması/tahrişinin değerlendirilmesi için uygulanabilir. KKDİK yönetmeliğinin Ek 11'inde belirtildiği üzere, test dışı yöntemlerin kullanımının gerekçelendirilmesi ve yeterince belgelendirilmesi gerekir. QSAR ve uzman sistemler söz konusu olduğunda, kayıt ettirenlerin bir QSAR Tahmin Raporlama Formatını (QPRF) tamamlayarak özellik tahminlerini hazırlamaları gerekir. QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF), (Q)SAR modelleri tarafından oluşturulan maddeye özgü tahminlerin özetlenmesi ve raporlanması için uyumlaştırılmış bir şablondur. KKDİK kapsamında veri boşluğunu doldurmak için, QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) belgesi izlenerek kullanılan tahmin modeli hakkında bilgi sağlamak da gereklidir. QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF), herhangi bir doğrulama çalışmasının sonuçları da dahil olmak üzere (Q)SAR modeli geçerliliği ile ilgili anahtar bilgileri özetlemek ve raporlamak için uyumlaştırılmış bir şablondur. Bilgiler, OECD (Q)SAR doğrulama ilkelerine göre yapılandırılır (daha fazla bilgi için bkz. <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/validationofqsarmodels.htm>). JRC QSAR Model Veritabanı, çevrimiçi olarak ücretsiz erişilebilen mevcut QSAR Model Raporlama Formatları hakkında bir bilgi envanteridir (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/databases/jrc-qsar-model-database>). QSAR modelleri, kullanımları ve QMRF dahil olmak üzere raporlama formatları hakkında daha ayrıntılı rehberlik *BG ve KGD Rehberi* Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de verilmektedir.

Genel olarak, Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım (IATA) (OECD, 2014b) bağlamında test dışı yöntemlerin kullanılabilmesi birkaç farklı yol vardır, örneğin:

- aşındırma/tahriş potansiyelinin varlığı veya yokluğunun doğrudan tahmini için,
- *Kanıt Ağırlığı* düzenlemesinin bir parçası olarak (test dışı yöntemlerden elde edilen bilgilerin tek başına bir karar için yeterli olmadığı durumlarda) veya
- daha ileri (*in vitro*) testlerle (yani yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya yaklaşımla) en iyi nasıl ilerleneceğine karar vermek için. Daha fazla bilgi için Bölüm [R.7.2.6.2](#) incelenmelidir.

Cilt aşınması ve tahrişi durumunda, modellerin çoğu, modelin ilgi düzeyi hakkında ek bilgi sağlayan mekanik bir temele sahiptir.

²⁹ Daha fazla bilgi, *BG ve KGD Rehberi* Bölüm R.6 Kimyasallar için QSAR ve gruplandırma, Kimyasalların Gruplandırılmasına dair OECD Rehberi, İkinci Baskı (OECD, 2014a), cilt aşınması ve tahrişine yönelik Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım hakkında yeni OECD Rehberi (IATA) (OECD, 2014b) ve JRC'nin düzenleyici toksikoloji için Alternatif yöntemler raporu (Worth, 2014) içerisinde bulunabilir.

³⁰ İlgili terminoloji her zaman tutarlı bir şekilde kullanılmaz. QSAR ve gruplandırmaya ilişkin ÇŞB Rehberine atıfla, terim kategorisi yaklaşımı ve analog yaklaşım maddelerin gruplandırılmasına yönelik teknikleri tanımlamak için kullanılırken, çapraz okuma terimi veri boşluklarını doldurma tekniği için, yani kaynak olarak adlandırılan bir veya daha fazla maddeden, hedef madde olarak adlandırılan veri boşlukları olan başka bir maddeye bilgi aktarımı için kullanılır.

- Cilt tahrişi ve aşınma hakkında SAR ve çapraz okuma:

SAR ve çapraz okuma, bu bölümde birlikte ele alınmaktadır çünkü bir SAR (yapısal uyarı veya parça seti) bulunması, çapraz okumayı gerekçelendirmenin bir yolunu sağlar. Aslında, yapısal uyarılar, toksikolojik etkinin altında yatan bir tür kimyasal veya biyokimyasal reaktiviteyi yansıttığı düşünülen maddenin alt yapılarıdır. Aşındırıcı (veya tahriş) potansiyeli sergileyen yapısal analogların ilgilenilen madde için aşındırıcı veya tahriş edici bir etkiyi tahmin etmek veya cilt aşınması/tahrişi için OECD IATA içerisinde belirtildiği gibi (OECD, 2014b) daha fazla test ve değerlendirme düzenlemek üzere kullanılabilen fikrine dayalı olarak, bir madde için yapısal bir uyarının ortaya çıkması, bir etkinin varlığını gösterir.

Cilt tahrişi/aşınması için yapısal uyarılar hakkındaki bilgiler her zaman gelişmektedir (özellikle piyasaya yeni madde sınıflarının sunulduğu yerlerde). Bu nedenle, bu alt yapı mevcut literatür veya yazılım modellerinde şimdiye kadar herhangi bir yapısal alarm olarak kodlanmamış olsa bile, benzerliklerinin cilt dokusuyla reaksiyona girebilen reaktif alt yapıları yansıttığı gösterilebilirse, kimyasal olarak benzer maddeler için de çapraz okumaya dayalı tahminler mümkün olabilir.

Yapısal analoglardan gelen negatif veriler de belirli durumlarda tahminlerde bulunmak için kullanılabilir. Tahriş ve aşınma için yapısal uyarılar bilgisi eksik olabileceğinden, tek başına tahriş ve aşınma için bilinen yapısal uyarılardan birinin olmaması, etkinin olmadığını kanıtlamaz. Örneğin, diğer alt yapılar (henüz yapısal uyarılar olarak tanımlanmamış) veya maddenin diğer özellikleri aşındırıcı veya tahriş edici etkiden sorumlu olabilir. Örnek olarak, tahriş edici kontakt dermatit, yağsızlaştırma özelliklerine sahip organik çözücülere maruz kalma durumunda olduğu gibi dolaylı olarak ortaya çıkabilir. Benzer bir etki mekanizmasına sahip maddeler, "*Tekrarlı maruz kalmalarda ciltte kuruluğa ve çatlaklara neden olabilir*" ilave etiketlenmesi için dikkate alınmalıdır (EUH066) (Yağdan arındırıcı maddeler üzerine ad-hoc çalışma grubu, 1997).

Basit bir SAR örneği, hidroperoksit grubunun (R-O-O-H), mekanik olarak hidroperoksitlerin hem asidik hem de oksitleyici olduğu gerçeğine dayanan , aşınma için bir uyarı olarak kullanılmasıdır. Diğer bir SAR, peroksitlerin kolayca ayrıştığı ve dolayısıyla düşük bir termal kararlılığa sahip olduğu gerçeğine dayanan peroksit grubudur (R₁-O-O-R₂). O-O bağının kopmasıyla oluşan radikaller reaktiftir ve tahrişe veya aşınmaya neden olabilir.

Tahriş veya aşınmanın varlığını tahmin etmek için çeşitli yapı aktivite ilişkileri (hidroperoksitler dahil) Hulzebos ve ark. tarafından tanımlanmıştır. (2001, 2003, 2005) ve bunlardan bazıları BfR (Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü) kural tabanına ve SICRET aracına (Walker ve ark., 2005, bkz. [Ek R.7.2-2](#).) dahil edilmiştir. Aşınma ve tahriş için BfR uyarıları ("dahil etme kuralları") daha yakın zamanda Toxtree yazılımına (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/qsar-tools/toxtree>) ve OECD QSAR Araç Kutusuna (<http://www.qsartoolbox.org/>) dahil edilmiştir.

- Cilt aşınması ve tahrişi için QSAR ve uzman sistemler:

Cilt aşınması ve tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bir bakış [Tablo R.7.2-1](#)'de verilmiştir. Cilt aşınması ve tahrişi için QSAR ve uzman sistemler çeşitli incelemelerde açıklanmıştır (Hulzebos ve ark., 2001, 2003, 2005; Patlewicz ve ark., 2003; Gallegos Saliner ve ark., 2006, 2008). Üç popüler ticari aracın tahmin kapasitelerinin bir karşılaştırması da mevcuttur (Mombelli 2008). Literatüre dayalı QSAR modelleri ve uzman sistemler dahil olmak üzere birkaç örnek [Ek R.7.2-2](#)'de sunulmuştur.

Literatürde bildirilen nicel yapı aktivite ilişkilerinin çoğu, belirli madde gruplarının küçük veri setlerinden geliştirilmiştir, ancak bazı durumlarda daha çeşitli ve daha büyük veri setleri de incelenmiştir. Genel olarak, asitlik, bazlık, hidrofobiklik ve moleküler boyut gibi temel fiziko-kimyasal parametrelerin ve ayrıca elektrofilik reaktivitenin, homolog maddelerin toksik potansiyelini tahmin etmek için yararlı olduğu ileri sürülmüştür.

Buna karşılık, heterojen madde gruplarının toksik potansiyelini tahmin etmeyi amaçlayan modeller, yapısal özelliklerin ortaklığını vurgular.

Bir dizi model, mevcut bilgilere dayalı şekilde belirli kimyasal yapıların toksisite sonlanma noktalarını tahmin ederek zararlılık değerlendirmesine rehberlik eden bilgisayar programları olan uzman sistemlere kodlanmıştır. Uzman sistemler, otomatik bir kural indüksiyon sistemine (örn. TOPKAT, HazardExpert ve MultiCASE) veya bilgi tabanlı bir sisteme (örn. DEREK Nexus veya BfR-eski Karar Destek Sistemi³¹) dayalı olabilir. Mevcut uzman sistemler hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.2-2](#)'de bildirilmektedir.

Modellerin tümü AB mevzuatı amaçları göz önünde bulundurularak geliştirilmemiştir, bu nedenle her durumda tahmin edilen sonlanma noktasının veya etkinin düzenleyici ilgi alanına karşılık gelip gelmediğini değerlendirmek önemlidir. Eski Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü Karar Destek Sisteminin (BfR DSS) kalbindeki kural temeli, AB düzenleyici sonlanma noktalarını tahmin etmek için geliştirilmiştir, ancak tahminler CLP Tüzüğü yürürlüğe girmeden önce AB'de kullanılan eski Tehlikeli Maddeler Direktifi (DSD) sınıflandırma/etiketleme sistemine atıfta bulunmaktadır ve sınır durumlarda, tahminin sonuçları doğru CLP sınıflandırmasını tam olarak yansıtmayabilir. Bu model hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.2-2](#)'de bildirilmektedir.

Ayrıca, *in vivo* testte kızarıklık/kabuk veya ödem için ortalama puana dayalı olarak cilt tahriş edici Kategori 2 olarak sınıflandırmanın kriterlerinin SAE altında ≥ 2 'den SEA altında ≥ 2.3 'e değiştiğine dikkat edilmelidir. Sonuç olarak, DSD kriterlerine göre geliştirilen modellerden cildi tahriş edici Kat 2 olarak tahminler, aşırı tahmine yol açabileceğinden ve SEA altında doğrudan sınıflandırma için kullanılmaması gerektiğinden dikkatle yorumlanmalıdır. Bununla birlikte, bu modellerin "koruyucu" olduğu ve bu nedenle SEA altında sınıflandırılmamış durumların öngörülmesi için kabul edilebilir olduğu ileri sürülebilir.

BfR kural tabanına dayalı olarak, ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı, belirli fizikokimyasal özellikler nedeniyle "dahil etme kurallarını" (aşınma/tahriş potansiyelini tahmin eden yapısal uyarılar) ve "dışlama kurallarını" (aşınma/tahriş potansiyelinin bulunmadığını tahmin eden "EGER ... BU DURUMDA..." kuralları) kodlayan aşınma/tahriş ile ilgili iki profil oluşturucu içerir. Diğer profil oluşturucularla (örn. cilt metabolizması için) ve analogların verileriyle birlikte kullanılması, çapraz okuma veya kategori yaklaşımları aracılığıyla yeni kimyasallar için cilt aşınmasının/tahrişinin tahmin edilmesine izin verir. Cilt aşınması ve tahrişi için Araç Kutusu özel içeriği hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.2-2](#) içerisinde yer almaktadır.

Öngörülen sınıflandırmanın Cilt Aşındırıcı Kategori 1A, 1B veya 1C olması gerekip gerekmediğinin destekleyici belgelerde belirtilmediği cilt aşınması için sınıflandırma modelleri söz konusu olduğunda, daha fazla alt kategoriye ayırmadan Kategori 1 tahmini kullanılmalıdır. Çok az sayıda model mevcuttur (inceleme için bkz. Gallegos Saliner *ve ark.*, 2006, 2008). Mevcut modeller, tanımlanmış kimyasal sınıflara (örn. asitler, bazlar, fenoller) odaklanma eğilimindedir ve bu tür sınıflar için *in vitro* testlere bir alternatif olarak yararlı olabilir. Sınıflandırma ve etiketleme için BfR kural tabanı, Tehlikeli Maddeler Direktifi (DSD) kapsamında cilt tahrişi (R38) ve aşınma (R34, R35) için eski AB Risk İbarelerini tahmin etmek üzere tasarlandığından, düzenleme hedefine en yakın olan bilgileri sağlar. Ancak, sınırdaki durumlarda ve yukarıda vurgulandığı gibi, tahmin SEA kapsamında doğru sınıflandırmayı tam olarak yansıtmayabilir.

³¹ Bu rehberin önceki versiyonlarında bahsedilen BfR uzman sistemi "Lokal Lezyonlar için Karar Destek Sisteminin" (DSS) dağıtımı durdurulmuştur. Bununla birlikte, bu sisteme dahil edilen cilt ve göz tahrişi/aşınma için kural temeli, OECD QSAR Araç Kutusu veya Toxtree (aşağıya bakınız) gibi yazılım araçlarına dahil edilmiştir.

Tablo R.7.2–1 Cilt aşınması/tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bakış. Bu modeller hakkında daha fazla bilgi için [Ek R.7.2–2](#) incelenmelidir.

Model veya kaynak kategorisi	Modelin referansı veya adı	Uygulanabilirlik alanı
Literatür modelleri	Barratt (ve ark.) (1995a, 1996 a,b,c); Whittle ve ark. (1996)	Asitler, bazlar, fenoller, nötr organik ve elektrofiller için çeşitli yerel modeller
	Hayashi ve ark. (1999)	Fenoller
	Kodithala ve ark. (1999)	Fenoller, esterler ve alkoller
	Nangia ve ark. (1996)	Bazlar
	Smith ve ark. (2000 a,b)	Esterler
	Gerner ve ark. (2004); Hulzebos ve ark. (2005); Walker ve ark. (2004)	Yeni Kimyasallar Veritabanı, önemli hidroliz potansiyeli olmayan ve >% 95 saflığa sahip organik kimyasallar
	Golla ve ark. (2009)	Çeşitli sınıflardan organik kimyasallar
Veri havuzları	Danimarka QSAR veritabanı (http://qsar.food.dtu.dk/ , OECD QSAR Araç Kutusuna da dahildir)	Endüstriyel kimyasallar, böcek ilaçları vb.
Bilgisayarlı modeller	PaDEL-DDPredictor (http://padel.nus.edu.sg/software/padelddpredictor/) (Liew ve Yap, 2013)	Tanımlayıcı aralığına dayalı olarak model tarafından hesaplanır
	BfR kural tabanı, ücretsiz (OECD QSAR Araç Kutusu ve Toxmatch, Toxtree, ToxPredict ve Ambit'e dahildir)	AB Yeni kimyasallar (NONS) veritabanı, önemli hidroliz potansiyeli olmayan ve >% 95 saflığa sahip organik kimyasallar
	ACD/Percepta	Organik kimyasallar
	Derek Nexus, ticari	Organik kimyasallar ve bazı metaller
	HazardExpert, ticari	Organik kimyasallar
	MolCode, ticari	Organik kimyasallar
	MultiCASE, ticari	Organik kimyasallar
	TOPKAT, ticari	Organik kimyasallar

İnceleme yayınları	Hulzebos ve ark. (2001, 2003, 2005)	Uygulanamaz.
	Patlewicz ve ark. (2003)	Uygulanamaz.
	Gallegos Saliner ve ark. (2006, 2008)	Uygulanamaz.
	Mombelli (2008)	Uygulanamaz.

Kısaltma: N.A. = uygulanamaz.

Cilt aşınması/tahrişi üzerine test verileri

AB Test Yöntemleri Yönetmeliğinin (Konsey Tüzüğü (EC) No 440/2008) Ekinde ve OECD Test Rehberlerinde (erişim adresi: http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm#Test_Guidelines) tanımlanan şekilde cilt aşınması/tahrişi için uluslararası kabul görmüş test yöntemleri şunlardır: AB yöntem B.4 (OECD Test Rehberi 404), AB B.40 (OECD Test Rehberi 430), AB B.40bis (OECD Test Rehberi 431), OECD Test Rehberi 435 ve AB B.46 (OECD Test Rehberi 439).

AB veya OECD tarafından yayınlanıp yayınlanmadığından bağımsız olarak, yeni veri oluştururken benimsenen bir test rehberinin her zaman en son sürümünün kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

Cilt aşınması/tahrişi için geliştirilen test stratejisi (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.2.6](#)) herhangi bir *in vivo* test yapmadan önce mevcut tüm bilgilerin (fiziko-kimyasal özellikler dahil) değerlendirilmesi ihtiyacını vurgulamaktadır. Bu strateji, aşındırıcı ve ciddi şekilde tahriş edici maddelerin *in vivo* testlerinden mümkün olduğunca kaçınmak için tasarlanmış tarama öğeleri kullanır. Özellikle, *in vitro* testler genellikle ilk olarak gerçekleştirilmeli ve *in vivo* testlerden tamamen kaçınılıp kaçınılamayacağı değerlendirilmelidir.

In vitro veriler

Cilt aşınması/tahrişini (yani SEA Yönetmeliğine göre Kategori 1 ve 2) ve/veya etkilerin bulunmamasını (yani SEA Yönetmeliği kapsamında sınıflandırılmamış) tespit etmek için kabul edilen *in vitro* test yöntemleri [Tablo R.7.2-2](#)'de listelenmiştir. Bu testlerin özel kapsamı ve sınırlamaları hakkında daha fazla bilgi, bu Rehberin Bölüm [R.7.2.4.1](#) içerisinde, "Cilt aşınması/tahrişi üzerine test verileri" başlığı altında verilmektedir.

[Tablo R.7.2-2](#)'de, "SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma" sütunundaki sınıflandırma sonucu "Kat. 1B/1C" veya "Kat. 1/Kat. 2" olduğunda, bu, test yönteminin tek başına bu (alt) kategoriler arasında ayırım yapamayacağı ve kesin sınıflandırmaya karar vermek için daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulduğu anlamına gelir. Örneğin, B.46/OECD Test Rehberi 439'a göre *in vitro* cilt tahrişi çalışmasının sonucu pozitifse, maddenin cildi aşındırıcı (Kat. 1) veya tahriş edici (Kat. 2) olup olmadığı sonucuna varılamaz ve bu nedenle cilt aşındırıcılığı potansiyeli hakkında ek bilgi gereklidir (örn. bir *in vitro* cilt aşınması çalışması yapılarak).

Tablo R.7.2–2 Cilt aşınması/tahrişi için kabul edilen *in vitro* test yöntemleri

Test yöntemi	Doğrulama durumu, düzenleyici kabul	Test Yöntemleri /OECD test rehberi	SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma	EURL ECVAM DB-ALM protokol no.
Cilt aşındırıcılığı				
TER	Doğrulanmış ve yasakabul	B.40/Test Rehberi 430	Kat. 1 veya aşındırıcı değil	115
EpiDerm™ SCT	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.40 bis/Test Rehberi 431	Kat. 1, 1A, 1B/1C veya aşındırıcı değil	119
EpiSkin™	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.40 bis/Test Rehberi 431	Kat. 1, 1A, 1B/1C veya aşındırıcı değil ³²	118
SkinEthic™ RHE	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.40 bis/Test Rehberi 431	Kat. 1, 1A, 1B/1C veya aşındırıcı değil	-
epiCS®	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.40 bis/Test Rehberi 431	Kat. 1, 1A, 1B/1C veya aşındırıcı değil	-
Corrositex (<i>in vitro</i> membran bariyer test yöntemi)	Doğrulanmış ve yasal kabul	Uygulanamaz/ Test Rehberi 435	Kat. 1, 1A, 1B ve 1C veya aşındırıcı değil	116
Cilt tahrişi				
EpiDerm™ SIT	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.46/Test Rehberi 439	Kat. 1/Kat. 2 veya Sınıflandırılmamış	138
EpiSkin™	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.46/Test Rehberi 439	Kat. 1/Kat. 2 veya Sınıflandırılmamış	131
SkinEthic™ RHE	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.46/Test Rehberi 439	Kat. 1/Kat. 2 veya Sınıflandırılmamış	135
LabCyte EPI-MODEL24 SIT	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.46/Test Rehberi 439	Kat. 1/Kat. 2 veya Sınıflandırılmamış	-

Kısaltmalar: N.A. = uygulanamaz; NC = sınıflandırılmamış; RHE = Yeniden Yapılandırılmış İnsan Epidermisi; SCT = Cilt Aşındırıcı Testi; SIT = Cilt Tahrişi Testi; TER = Deri içinden elektrik direnci.

³² EpiSkin Standart Çalışma Prosedürü, 3 alt kategori arasında ayırım yapılmasına izin verir ve OECD Rehberi 203, *in vivo* test düşünülmeden önce 1B'yi 1C'den ayırmak için bu yöntemin kullanılmasını önerir. Bununla birlikte, OECD Test Rehberi 431 şu anda sadece EpiSkin'in 1A'yı 1B/1C'den ayırmak için kullanılmasına izin vermektedir.

Test yöntemlerinde daha fazla gelişmeler olabilir ve kayıt ettirenlerin potansiyel yeni test rehberleri ve test rehberi güncellemeleri için en son güncellemeleri örn. EURL ECVAM web sitesi (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>) ve ECHA'nın test yöntemleri web sayfası (<http://echa.europa.eu/support/testing-methods-and-alternatives>) yoluyla takip etmeleri önerilir.

Hayvan verileri

SEA Yönetmeliği Ek 1, cilt aşınması/tahrişini lokal toksik etkiler olarak tanımlar ve bu nedenle, cilt aşınması/tahrişinin değerlendirilmesi normalde bir toksisite programının akut test aşamasının bir parçasıdır ve tüm düzenleyici programların erken bir şartıdır. Cilt aşınması/tahrişi için yapılan testler, geçmişte, örneğin testi yapan laboratuvara, alana ve amaçlanan uygulamaya bağlı olarak hayvan modellerini ve çeşitli test metodolojilerini kullanmıştır. Hayvan testlerini en aza indirmeyi amaçlayan ve bunun yerine büyük ölçüde uluslararası onaylı *in vitro* testlere dayanan bir IATA, OECD tarafından 2014 yılında Rehber Doküman 203 olarak kabul edilmiştir (OECD, 2014b). Bu nedenle, bu sonlanma noktası için test yapılırken çoğu durumda hayvan modelleri gereksiz hale gelmiştir. Bu KKDİK Yönetmeliğinin amaçlarından biri ile uyumludur, Madde 14(1) ve 26(1) 'de açıklandığı gibi, söz konusu hayvan testi yalnızca son çare olarak, yani bir madde mevcut *in vitro* yöntemlerin uygulanabilirlik alanı dışında olduğunda veya sonuçlar kesin değilse yapılmalıdır.

In vivo testin gerekli olabileceği durumlarda, *in vivo* cilt aşınması/tahriş testi için mevcut yaklaşımlar, Akut Cilt Tahrişi/Aşınması test yöntemi (AB B.4/OECD Test Rehberi 404) kapsamındadır. Bu rehber, önce mevcut ve ilgili verilerin değerlendirildiği kademeli bir yaklaşım gerektirir. Rehber ayrıca, hayvanlarda testlerin yalnızca mevcut alternatif yöntemler değerlendirildikten sonra gerekli olduğu belirlenirse yapılmasını önermektedir. *In vivo* test, bir hayvan kullanır (tavşan tercih edilen türdür); ciddi etkilerin yokluğunda, bunu iki hayvana kadar (toplam maksimum üç hayvana kadar sıralı bir şekilde) ilave bir test takip eder. İki hayvan kullanıldığında, her ikisi de aynı cevabı gösteriyorsa, başka testlere gerek yoktur.

Hem AB hem de OECD yöntemleri, Draize (1944) tarafından geliştirilen puanlama sistemini kullanır. Sınıflandırma için AB kriterleri, maruz kalmadan sonraki ilk 24-72 saatlik süre boyunca elde edilen ortalama doku puanlarına ve gözlemlenen etkilerin tersinir olup olmamasına dayanmaktadır. Cilt tahriş ediciler (Kategori 2) ciltte önemli yangıya (kızarıklık ve/veya ödem) neden olur, ancak bu etki geçicidir, yani etkilenen bölgeler testin gözlem süresi içinde iyileşir.

Aşındırıcı bir madde, cilt dokusunun tam kalınlığında tahribata neden olur ve Cilt aşındırıcı (Kategori 1) olarak sınıflandırılır ve maruz kalma süresine (sırasıyla 3 dakika, 1 saat ve 4 saat) ve gözlem süresine (sırasıyla 1 saat, 14 gün ve 14 gün) bağlı olarak alt kategori 1A, 1B veya 1C olarak sınıflandırılır.

Mevcut hayvan verileri için, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin Ekinde belirtilenler dışındaki yöntemlerin veya karşılık gelen OECD yöntemlerinin kullanımı, duruma göre kabul edilebilir.

Yukarıda bahsedilen AB B.4/OECD Test Rehberi 404'e ek olarak, aşağıda belirtilen kaynaklardan başka hayvan verileri de mevcut olabilir:

- o Akut cilt toksisitesi testi (AB B.3/OECD Test Rehberi 402)
- o Cilt hassasiyeti testleri (AB B.6/OECD Test Rehberi 406, AB B.42/OECD Test Rehberi 429 ve OECD Test Rehberi 442A ve 442B)

Bu Rehberde Bölüm R.7.2.6, bu testlerden elde edilen bilgilerin cilt aşınması/tahrişi için bir test ve değerlendirme stratejisinde nasıl kullanılacağına ilişkin yorumlar sağlar.

İlave *in vivo* testler de ilgili bilgileri sağlayabilir (bkz. OECD Rehber 203, paragraf 37 (OECD, 2014b)), ancak bu testlerdeki tahrişin raporlanması ve puanlanması her durumda nihai bir sonuca izin vermek için yeterli olmayabilir.

R.7.2.3.2 Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan verileri

Mevcut insan verileri, maddelerin içsel zararlılığı değerlendirirken dikkate alınması gereken geçmiş verileri içerir. Zararlılık tanımlama amacıyla insanlarda *yeni* testler, etik nedenlerden dolayı kabul edilemez.

Mevcut veriler vaka raporlarından, zehir bilgi merkezlerinden, tıbbi kliniklerden, mesleki deneyimlerden, epidemiyolojik çalışmalardan ve gönüllü çalışmalardan elde edilebilir. Zararlılık değerlendirmesi için kaliteleri ve uygunluğu eleştirel olarak gözden geçirilmelidir. Bununla birlikte, genel olarak, insan verileri bir maddenin aşındırıcı veya tahriş edici potansiyelini belirlemek için kullanılabilir. Kaliteli ve uygun insan verileri, diğer verilere göre önceliğe sahiptir. Bununla birlikte, insanlarda görülme sıklığının olmaması, *in vitro* verileri veya pozitif olan iyi kalitede mevcut hayvan verilerini geçersiz kılmaz.

R.7.2.4 Cilt aşınması/tahrişi üzerine bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.2.4.1 Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan dışı veriler

Cilt aşınması/tahrişi üzerine test verileri

2014 yılında OECD, cilt aşınması/tahrişine ilişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımı (IATA) onaylamıştır. IATA, aşağıda sunulan bilgi türleri dahil olmak üzere bu zararlılıkların değerlendirilmesinde kullanılabilecek çeşitli veri türlerinin açıklamasını içerir. IATA modüler bir yaklaşıma sahiptir, burada her veri türünün *alanı*, *Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımdaki rolü*, *güçlü yanları*, *zayıf yönleri* ve *sınırlamaları* tablo halinde verilmiştir. Ayrıca, verilerin daha sonra nasıl birleştirilebileceği akış diyagramları ile açıklanmaktadır. *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı ve verilerin kalitesi, yeterliliği, kapsamı ve tutarlılığının bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı içinde nasıl değerlendirildiği hakkında ayrıntılı rehberlik verilmektedir (OECD, 2014b).

Fiziko-kimyasal özellikler

Mevcut AB ve OECD rehberlerine göre, fiziko-kimyasal özelliklerinden cildi aşındırıcı (Kategori 1) olduğu tahmin edilebiliyorsa, maddeler cilt aşınması/tahrişi için hayvanlar üzerinde test edilmemelidir. Özellikle, çözeltide güçlü asitlik ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baziklik ($\text{pH} \geq 11.5$) sergileyen maddelerin cilt için aşındırıcı olduğu tahmin edilmektedir ve hayvanlar üzerinde test edilmemelidir. Yine de, *in vitro* yöntemlerle testler, özellikle cilt aşınması alt kategorileri gerekliyse gerçekleştirilebilir. Aşırı pH değerlerine dayalı cilt aşındırıcılığı tahmini çok yüksek bir özgüllük (>% 90) ve bu nedenle düşük sayıda yanlış pozitif değer (Worth ve ark., 1998) gösterse de, sınıflandırma yalnızca pH verilerine dayanıyorsa, bazı maddelerin sınıflandırmasının olduğundan fazla tahmin edilebileceği de unutulmamalıdır. Bununla birlikte, diğer pH değerlerine sahip maddeler, cilt aşınması/tahrişi potansiyelleri için daha fazla dikkate alınmalıdır. Bu model, cilt aşındırıcılığı ve tahrişi için OECD IATA içerisine dahil edilmiştir (OECD, 2014b). Birden fazla çalışma pH'ın aşındırıcılığın bir göstergesi olarak (Worth ve Cronin, 2001) ve kademeli test stratejilerinin bir unsuru olarak (Worth, 2004) yararlılığını araştırmış ve onaylamıştır.

Aşırı pH düzeyinin bir maddenin aşındırıcı olarak sınıflandırılmasının tek dayanağı olduğu durumlarda, asit/alkali rezervini, yani bu maddenin tamponlama kapasitesinin ölçüsünü dikkate almak da önemli olabilir (Young ve ark., 1988; Botham ve ark., 1998; Young ve How, 1994). Bununla birlikte, saf maddeler için, cilt aşındırıcılığını tanımlamak üzere pH duyarlılığının, asit/alkali rezerv bilgisi ile birleştirildiğinde gerçekten önemli ölçüde azalabileceği unutulmamalıdır (Worth ve ark., 1998).

Tamponlama kapasitesi, maddeyi aşındırıcı olarak sınıflandırılmaktan muaf tutmak için tek başına kullanılmamalıdır. Aslında, asit/alkali rezervi maddenin aşındırıcı olmadığını gösterdiğinde, daha fazla *in vitro* test düşünülmelidir (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.2.2.2).

Gruplandırma, (Q)SAR ve uzman sistemler

Yasal kullanım için nicel yapı aktivite ilişkilerinin nasıl uygulanacağına dair Avrupa Kimyasallar Bürosu (ECB) (Worth ve ark., 2005) tarafından rehber geliştirilmiştir. (Q)SAR modellerinin geçerliliğinin ve uygunluğunun ve bunların tahminlerinin yeterliliğinin nasıl değerlendirileceğine dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6, Bölüm R.6.1'de ve (Q)SAR modellerinin geçerliliğine ilişkin OECD Rehber Dokümanında verilmektedir. (OECD, 2007). Temelde, bir (Q)SAR sonucunun bir test sonucunun yerini almak için kullanılıp kullanılmayacağına belirlenmesi üç ana adıma ayrılabilir:

1. modelin bilimsel geçerliliğinin (uygunluk ve güvenilirlik) değerlendirilmesi,
2. modelin ilgili kimyasala uygulanabilirliğinin ve bireysel model tahmini güvenilirliğinin bir değerlendirmesi,
3. eksiksizlik değerlendirmesi de dahil olmak üzere, yasal kararını vermek için bilgilerin yeterliliğinin bir değerlendirmesi, yani bilginin yasal kararını vermek için yeterli olup olmadığı ve değilse, hangi ilave (deneysel) bilgiye ihtiyaç olduğu.

Model geçerliliğinin değerlendirilmesinin, (Q)SAR doğrulama (OECD, 2007) için OECD ilkeleri doğrultusunda gerçekleştirilmesi gerekir (örn. tanımlanmış bir sonlanma noktası, kesin bir algoritma, tanımlanmış bir uygulanabilirlik alanı, istatistiksel özellikler ("uyumun iyiliği") ve mekanik yorumlama açısından).

Bireysel bir tahminin güvenilirliği değerlendirilirken, diğerlerinin yanı sıra aşağıdaki sorular ele alınmalıdır:

- i. Modelin tanımlanan uygulanabilirlik alanına göre, ilgilenilen kimyasal model kapsamında mı?
- ii. Tanımlanan uygulanabilirlik alanı düzenleyici amaca uygun mu?
- iii. Model, ilgilenilen kimyasala benzer kimyasalları ne kadar iyi tahmin ediyor?
- iv. Model tahmini diğer bilgiler de dikkate alındığında mantıklı mı?

Cilt aşındırıcılığı ve tahrişi mekanizması, toksikodinamik ve toksikokinetik parametreleri içerir. Bazı modeller, yalnızca toksikodinamik özelliklere (örn. asitlik veya bazlık, elektrofiliklik, diğer reaktivite, yüzey aktif madde aktivitesi, membran çözücü) dayalı olarak cilt aşındırıcılığı ve tahrişini tahmin eder. Bu tür modellerin ayrıca cildin ilgili dış zarlarını (korun (stratum corneum)) geçme ve alttaki canlı dokuda aktif olma potansiyeli ile ilgili toksikokinetik parametreleri de hesaba katıp katmadıklarını kontrol etmek için ilave olarak değerlendirilmesi gerekir; alternatif olarak bu modeller, bu tür toksikokinetik parametreleri kapsayan verilerle kombinasyon halinde kullanılmalıdır. Tersine, bazı modeller aşınma ve tahrişi (veya olmamasını) yalnızca örn. bir maddenin toksikokinetik davranışını gösterdiği düşünülen fiziko-kimyasal özelliklerden tahmin eder. Bu tür modeller, maddenin aktivitesini (toksikodinamik), özellikle (aşındırıcı etkinin kendisinin membran tahribatına ve ardından doku hasarına yol açabileceği) potansiyel aşındırıcılığı da hesaba katıp katmadıklarını kontrol etmek için değerlendirilmelidir.

Örneğin, Toxtree ve OECD QSAR Araç Kutusunda uygulanan BfR kural tabanı, hem fiziko-kimyasal dışlama kurallarını hem de yapıya dayalı dahil etme kurallarını (yapısal uyarılar) içerir. Cilt aşınmasının/tahrişinin tahmini/hariç tutulması için bu kuralların değerlendirilmesi

(Rorije ve Hulzebos, 2005, fiziko-kimyasal dışlama kuralları; Gallegos Saliner ve ark., 2007, yapısal uyarılar hakkında), (Q)SAR doğrulaması için OECD ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir (bkz. [Ek R.7.2-2](#)). Ancak dahil etme ve hariç tutma kuralları ayrı ayrı değerlendirilmiş ve bu çalışmalarda bir arada kullanılmamıştır.

Bu iki kural dizisi uygulandığında bazen çelişkili bilgiler sağlayabilir, yani yapısal bir uyarı aşındırıcılık/tahriş potansiyelini gösterebilirken aynı zamanda fiziko-kimyasal özelliklere dayalı olarak etkinin olmayacağı tahmin edilebilir. Bu gibi durumlarda, ilave bilgilerin dikkate alınması önerilir (örneğin, cilt geçirgenliği veya kimyasal olarak benzer maddelerin davranışı hakkında). Diğer durumlarda, fiziko-kimyasal hariç tutma kurallarından birinin (veya daha fazlasının) uygulanabilirliği, hedef maddenin aşındırıcılık/tahriş potansiyelinin olmadığını gösterebilirken, aşındırıcılık/tahriş için yapısal bir uyarı tetiklenmez. Bilinen herhangi bir yapısal uyarının bulunmamasının potansiyel bir etkinin olmamasına eşdeğer olmadığı göz önüne alındığında, böyle bir durumda madde potansiyel olarak reaktif alt yapılar açısından incelenmelidir (ve kimyasal analogların davranışını incelemek yine faydalı olacaktır).

Bu hususlar, doğrudan sınıflandırma/sınıflandırmama için BfR kural tabanının kullanımı için geçerli olsa da, örneğin daha ileri *in vitro* testlere ilişkin bir karar için daha az kesinlik gerekli olabilir: hariç tutma kuralları bir etkinin olmadığını gösterdiğinde aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenebilir, yani bir tahriş testi başlatılabilir ve aşındırıcılık için bir test başlatılmayabilir (bkz. Bölüm [R.7.2.6.2](#)).

Etkilerin bulunmamasını yeterince açıklayan başka bir model yoktur. Nötr organik maddelerin³³ tahriş edici olmaması beklenir; ancak yağsızlaştırma potansiyelleri tartışılmalıdır. Öngörülen reaktivite yokluğu, yeterli ayrıntıyla açıklanmalı veya diğer bilgilerle doğrulanmalıdır.

Cilt aşınması/tahrişi üzerine test verileri

In vitro veriler

Maddelerin cilt aşındırıcı, cilt tahriş edici olarak sınıflandırılabilmesi veya sınıflandırılmayacağı AB ve OECD tarafından benimsenmiş test rehberleri vardır (bkz. Bölüm [R.7.2.3.1](#)).

KKDİK Yönetmeliği Ek 7, cilt aşınması/tahrişi için aşağıda belirtilen *in vitro* testlerden bilgi gerektirir ve hayvan testlerinden bilgi gerektirmez. Ek 7 gerekliliklerini yerine getirmek için *in vitro* verilerin nasıl kullanılabilmesine dair rehberlik bu belgede Bölüm [R.7.2.6](#) içerisinde verilmektedir.

Aşağıdaki test türlerinden elde edilen veriler Ek 7 gereklilikleri için kullanılabilir:

- **Cilt tahrişi için:**
 - **Yeniden yapılandırılmış insan epidermisi (RHE) testleri** (AB B.46/OECD Test Rehberi 439): Bu testler, Ek 7 ve ayrıca Ek 11'de belirtilen kurallara göre Ek 8 amaçlarıyla tahriş edici (Kategori 2) ve tahriş edici olmayan (kategori yok) maddelerin tahmini için bilimsel olarak geçerli kabul edilir (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.2.6](#)).

³³ Tanım olarak nötr bir organik madde, cilt metabolizmasından sonra bile potansiyel reaksiyon merkezleri olmayan bir kimyasaldır.

Bu testlerin özel kapsamı ve sınırlamaları aşağıda belirtilmiştir:

- Cilt tahriş edici maddeleri (Kategori 2), SEA Yönetmeliğine cilt tahrişi için sınıflandırılmayan (Kategori yok) maddelerden ayırırlar. Ancak, cilt tahriş edici (Kategori 2) maddeler ile cilt aşındırıcı (Kategori 1) maddeleri ayırt edemezler. İkinci ayırımı bir *in vitro* cilt aşındırıcılığı testi ile ele alınması gerekir;
- Bu modellerde hücre canlılığı, MTT (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür, Tiyazolil mavisi) analizi ile ölçülür. Bir test maddesi doğrudan MTT üzerinde etki gösterirse (örneğin, doğrudan bir MTT indirgeyici ise), doğal olarak renkliyse veya doku uygulaması sırasında renklenirse, canlılık ölçüm tekniğiyle test maddesinin girişimini tespit etmek ve düzeltmek için ek kontroller kullanılmalıdır. Doğrudan MTT indirgeme ve renklendirici maddelerin girişimi için nasıl düzeltme yapılacağına ilişkin ayrıntılı açıklama, doğrulanmış dört test yöntemi için Standart Çalışma Prosedürlerinde (SOP) mevcuttur ve OECD ve AB Test Rehberlerinde referans gösterilmiştir³⁴;
- Bu test yöntemi, tüm kimyasal sınıfı grupları için geçerli olmayabilir. Örneğin, metaller veya inorganik metal bileşikleri doğrulama çalışmasına dahil edilmemiştir ve bazı metallerin (örn. kobalt) yanlış pozitif sonuç verebileceği konusunda deneyim vardır;
- Gazların ve aerosollerin test edilmesine olanak tanımazlar.

- **Cilt aşınması için:**

- **Deri içinden elektrik direnci (TER) test yöntemi** (AB B.40/OECD Test Rehberi 430)
- **Yeniden Yapılandırılmış İnsan Epidermisi (RHE) test yöntemi** (birden fazla protokol içerir) (AB B.40 bis/OECD Test Rehberi 431)
- ***İn vitro* membran bariyer test yöntemi** (OECD Test Rehberi 435)

Yukarıda belirtilen tüm testler, cilt aşındırıcılarının (Kategori 1) aşındırıcı olmayan maddelerden ayrılmasına izin verir.

Bu testlerin özel kapsamı ve sınırlamaları aşağıda belirtilmiştir:

- Gazların ve aerosollerin test edilmesine olanak tanımazlar;
- Cilt aşındırıcı alt kategorileri 1A, 1B ve 1C ile aşındırıcı olmayanlar arasında ayırım yapmak için yalnızca ***in vitro* Membran Bariyer** test yöntemi kabul edilir;
- ***İn vitro* Membran Bariyer** test yönteminin sınırlı bir uygulanabilirlik alanı vardır (yalnızca asitler, bazlar ve asit türevleri). İlave olarak, tespit sisteminde belirlenebilir değişikliklere neden olmayan test malzemeleri (örn. tipik olarak 4.5 < pH < 8.5) test edilemez;

³⁴ OECD Test Rehberi 439'un MTT formazan ölçümünün alternatif bir yolu olarak HPLC/UPLC-spektrofotometri kullanımını içeren bir revizyonu, Nisan 2015'te benimsenme olasılığı yüksek olarak OECD içerisinde tartışılmaktadır. Bu revizyon kabul edilirse, bu test yöntemlerinin güçlü renkli maddelere yönelik sınırlamasını azaltacaktır.

- **RHE** test yöntemi, 1A alt kategorisini 1B ve 1C alt kategorilerinden ayırt etmek için kullanılabilir. RHE test rehberinde yer alan dört doğrulanmış yöntemden biri olan **EpiSkin** protokolü, 1B alt kategorisinin 1C alt kategorisinden ayırt edilmesine izin verir ve OECD IATA (OECD, 2014b) uyarınca bu bilgiler, bir **Kanıt Ağırlığı** değerlendirmesinde kullanılabilir;
- TER, cilt aşındırıcı maddeleri alt kategorilere atamak için kullanılamaz;
- **RHE** test yönteminin kullanımı, tüm kimyasal sınıfı grupları için geçerli olmayabilir. Örneğin, RHE testlerinin aşındırıcılığı tahmin etmediği bazı yağlı amin türevleri grupları için bu modelin yeterliliği konusunda makul şüphe vardır, oysa bu maddeler *in vivo* tavşan çalışmalarında aşındırıcıdır (Houthoff ve ark., 2014). Ayrıca, metaller veya inorganik metal bileşikleri doğrulama çalışmasına dahil edilmemiştir ve bazı metallerin (örn. kobalt) yanlış pozitif sonuç verebileceği konusunda deneyim vardır.

RHE modellerinde MTT testi ile hücre canlılığı ölçümü ile ilgili olarak, yukarıda *in vitro* cilt tahrişi testi için belirtilenlerle aynı sınırlamalar (AB yöntemi B.46/OECD Test Rehberi 439) geçerlidir.

- **Mevcut *in vitro* verilerin kalite hususları:**

Gelecekteki olası **Kanıt Ağırlığı** hususlarına temel oluşturacak mevcut *in vitro* verilerin kalite değerlendirmesi için, **BG ve KGD Rehberi**, Kısım R.4, Bölüm R.4.4 ve bu tür bir **Kanıt Ağırlığı**nda göz önünde bulundurulması gereken hususlar için **BG ve KGD Rehberi**, Kısım R.5, Kısım R.5.2.1.2 incelenmelidir.

Hayvan verileri

İyi belgelendirilmiş çalışmalar, özellikle İLU ilkelerine uygun olarak yürütülürse, cilt aşınmasına veya cilt tahrişine neden olduğu veya neden olmayacağı düşünülen maddeleri belirlemek için kullanılabilir. Mevcut bir madde için halihazırda mevcut olan ve hiçbirisi bir OECD Test Rehberi veya Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin Ekindeki gibi bir test yöntemine tam olarak eşdeğer olmayan birkaç cilt aşınması/tahrişi çalışması olabilir. Böyle bir grup araştırmanın sonuçları tutarlıysa, bunlar birlikte maddenin cilt aşınması/tahrişi potansiyeli hakkında yeterli bilgi sağlayabilir.

Aşağıda verilen kriterlere dayalı olarak verilerin değerlendirilmesi için çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlar net değilse, kayıt ettirenin hangi çalışmaların en güvenilir, söz konusu sonlanma noktası ile ilgili ve sınıflandırma amaçları için yeterli olduğuna karar vermesi gerekecektir.

Sınıflandırmaya yol açmayanlar da dahil olmak üzere tahriş etkilerinin kalıcılığına özel dikkat gösterilmelidir. Test süresi içinde tersinir olmayan kızarıklık, ödem, yarılma, pullanma, soyulma, hiperplazi ve opaklık gibi etkiler, bir maddenin insan cildinde kalıcı hasara neden olacağına işaret edebilir.

Cilt aşınması/tahrişi dışındaki çalışmalardan elde edilen veriler (örn. cildin lokal tepkilerinin bildirildiği maddeye ilişkin diğer toksikolojik çalışmalar) yararlı bilgiler sağlayabilir, ancak bunlar, örneğin, cilt tahrişi hakkında bilgiler için temel gereklilikler ile ilgili olarak iyi bir şekilde raporlanmamış olabilir. Bununla birlikte, cilt reaksiyonlarının ve belirtilerinin sistematik olarak puanlandırılmadığı göz önüne alınmalıdır (örn. akut ve sub-akut cilt toksisitesi çalışmaları, çünkü bu çalışmalar özellikle cilt aşınması/tahrişini ele almak için tasarlanmamıştır).

- **Mevcut *in vivo* verilerin kalite hususları:**

Hayvanlarda **mevcut** tahriş çalışmalarından elde edilen veriler, ilave testler düşünülmeden önce dikkate alınmalıdır.

Bu tür çalışmaların kalite değerlendirmesi, örneğin Klimisch ve ark. tarafından geliştirilen sistem kullanılarak yapılmalıdır (1997) ([BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.4, Bölüm R.4.2'de açıklandığı gibi) ve daha fazla testin gerekip gerekmediğine dair bir yargıya varılması gerekecektir. Dikkat edilmesi gereken bazı örnekler şunlardır:

- i. Kullanılan hayvan türü tavşanı mıdır yoksa sıçan veya fare gibi başka bir tür müdür? Sıçan ve fare, tahriş testi için tavşan kadar hassas değildir.
- ii. Kaç hayvan kullanılmıştır? Mevcut metodoloji, ardışık olarak test edilen en fazla 3 hayvan gerektirir (test edilen ilk hayvanda cilt aşınması etkileri gözlemlenirse 1 hayvan yeterlidir veya test edilen birinci ve ikinci hayvanlarda tutarlı etkiler gözlemlenirse 2 hayvan yeterlidir), ancak geçmişte 6 tane hayvan sıklıkla kullanılmıştır (3'ten fazla hayvanla gerçekleştirilen testlerin sonuçlarının değerlendirilmesi için bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.2.2.3.2.2).
- iii. Kaç doz seviyesi kullanılmıştır? Seyreltmeler dahil edilmişse, hangi çözücü kullanılmıştır (çünkü bu emilimi etkilemiş olabilir)? Hangi doz hacmi kullanılmıştır?
- iv. Hangi maruz kalma süresi kullanılmıştır? Tek veya tekrarlı maruz kalma?
- v. Maddeyi cilde uygulamak için kullanılan yöntem (yani kapayıcı veya yarı kapayıcı olup olmadığı) ve uygulama bölgesinin uygulamadan sonra yıkanıp yıkanmadığı not edilmelidir.
- vi. Maruz kalma sonrasında kullanılan gözlem süresi kontrol edilmelidir. Mevcut rehberdekinden daha kısa süreler, tahriş edici olmayan maddeler için yeterli olabilir ancak gözlem süresi tam iyileşmeyi ölçmek için çok kısa olduğunda tahriş edici maddeler için daha ciddi bir sınıflandırma gerektirebilir.

Eski raporlardan, ABD'de veya yayınlarda düzenleyici sunum için oluşturulan raporlardan alınan tahriş puanları, Birincil Tahriş Puanı olarak ifade edilebilir. Orijinal veriler olmadan, bu puanları AB içerisinde kullanılan puanlama sistemine doğru bir şekilde dönüştürmek her zaman mümkün değildir. Aşırı durumlar için, yani tahrişin olmadığı veya şiddetli tahriş olan durumlarda daha ileri bakmak gerekli olmayabilir, ancak ortalama tahriş puanları bir sorun teşkil edebilir ve tekrarlı testten kaçınmak için uzman kararı gerekebilir.

Yukarıdakiler gibi gözlemlerin tümü, mevcut hayvan test raporunun bir maddenin tahriş potansiyelini güvenilir bir şekilde tahmin etmek için kullanılıp kullanılmayacağını değerlendirmek ve böylece daha fazla test yapılmasını önlemek için kullanılabilir.

R.7.2.4.2 Cilt aşınması/tahrişi üzerine insan verileri

Farklı kaynaklardan iyi belgelenmiş *mevcut* insan verileri, bazen çeşitli maruz kalma seviyeleri için cilt aşınması/tahrişi hakkında çok yararlı bilgiler sağlayabilir. Genellikle tahriş konusunda mevcut olan tek yararlı bilgi insan deneyimlerinden elde edilir (örn. mesleki ortamlar). Tahrişe ilişkin tüm insan verilerinin yararlılığı, etkinin ve büyüklüğünün ilgili maddeye güvenilir bir şekilde atfedilebileceği dereceye bağlı olacaktır.

Zararlılık değerlendirmesi için mevcut insan verilerinin kalitesi ve uygunluğu eleştirel olarak gözden geçirilmelidir. Örneğin, karışık maruz kalmayla ilgili mesleki çalışmalarda, cilt aşınmasına veya cilt tahrişine neden olan maddenin doğru bir şekilde tanımlanmış olması önemlidir. Zayıf raporlama ve maruz kalmayla ilgili özel bilgi eksikliği nedeniyle insan verilerinde önemli düzeyde belirsizlik olabilir.

Mevcut insan verilerinin tahriş için zararlılık sınıflandırmasında nasıl kullanılabileceğine dair örnekler, bir ECETOC monografında verilmiştir (ECETOC, 2002).

Lokal cilt etkilerine ilişkin insan verileri, tek veya tekrarlı maruz kalma ile ilgili mevcut verilerden elde edilebilir. Maruz kalma kaza sonucu olabilir veya örneğin mesleki ortamlarda uzun süreli olabilir. Maruz kalmanın miktarını belirlemek genellikle zordur. Etkilere bakıldığında, aşındırıcılık cilt dokusunun tahrip olması, yani epidermisten ve dermise giden görünür nekroz ile karakterizedir. Aşındırıcı reaksiyonlar ülserler, kanamalar ve kanlı kabuklarla karakterize edilir. İyileştikten sonra, cildin beyazlaşması nedeniyle cilt rengi değişecek ve saç/tüy dökülmesi ve yara izleri için tam alanlar gözlenecektir.

Lokal cilt etkileri hakkında insan verilerine (klinik ve mesleki çalışmalardan, zehir bilgi merkezlerinden, vaka raporlarından ve geriye dönük epidemiyolojik çalışmalardan kaynaklanan) ek olarak, cilt tahrişi insan yama testinden (HPT) elde edilen mevcut insan verileri de mevcut olabilir. HPT, insan gönüllülerde küçük cilt bölümlerinin cilt aşınması ve diğer kabul edilemez toksikolojik zararlılıkların hariç tutulabileceği maddelere maruz kalmasını içeren kontrollü bir çalışmadır. HPT verileri, örnek olmak üzere Jírová *ve ark.* (2010), Basketter *ve ark.* (2012) ve Ishii *ve ark.* (2013) tarafından derlenmiştir. Yasal amaçlarla cilt aşınması/tahrişi hakkında birincil zararlılık verileri elde etmek için gönüllü insanlarla test yapılması önerilmez. Bununla birlikte, mevcut kaliteli ve uygun veriler Sınıflandırma ve Etiketleme kararı için kullanılmalıdır. Bununla birlikte, SEA Yönetmeliğinin insan verilerine dayalı olarak cilt tahrişi sınıflandırması için net kriterler içermediği unutulmamalıdır.

R.7.2.4.3 Cilt aşınması/tahrişi üzerine maruz kalma hususları

Maruz kalmaya dayalı testten feragat etme, cilt aşınmasının/tahrişinin sonlanma noktaları için geçerli değildir. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 (3) 'de belirtildiği gibi maruz kalmaya dayalı olarak testten feragat edilmesi, KKDİK Yönetmeliği ine göre sadece Ek 8 in Bölüm 8.6, Bölüm 8.7, Ek 9 ve Ek 10 da listelenen testler için geçerlidir.

R.7.2.4.4 Cilt aşınması/tahrişi için kalan belirsizlikler

Genellikle bir maddenin aşındırıcı olduğunu kesin olarak belirlemek (veya kabul etmek), hangi çalışma türü bilgi sağlarsa sağlasın mümkündür.

Tahriş edici etkilere ilişkin insan verilerinde önemli düzeyde belirsizlik olabilir (örn. zayıf raporlama, az sayıda gönüllü nedeniyle maruz kalmayla ilgili özel bilgi eksikliği, etkilerin öznel veya anekdotsal olarak raporlanması,).

Hayvanlarda yapılan çalışmalardan ve uluslararası kabul görmüş test yöntemlerine göre gerçekleştirilen *in vitro* testlerden elde edilen veriler genellikle bir maddenin cilt aşınması/tahriş potansiyeli hakkında ilgili bilgileri verecektir. Genel olarak, hayvanlarda veya *in vitro* ortamda AB veya OECD Test Rehberi uyumlu çalışmalarda cilt aşınmasına/tahrişine neden olan maddelerin insanlarda cilt aşınmasına/tahrişine neden olacağı ve AB veya OECD Test Rehberi uyumlu çalışmalarda tahriş edici olmayan maddelerin insanlarda tahriş edici olmayacağı varsayılmaktadır. (Genel olarak test hayvanlarının cilt aşınması/tahriş etkilerine insanlardan daha hassas olduğunun düşünüldüğü unutulmamalıdır (örn. OECD, 2014b)). *In vivo* aşınma/tahriş çalışmalarının sınırlamalarından birinin lezyonların öznel derecelendirilmesi olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca, bir dizi benzer çalışmadan elde edilen tutarsız sonuçlar, hayvan veya *in vitro* çalışmalardan veri üretmedeki belirsizliği artırmaktadır.

Aşınma/tahriş için *in vitro* testlerin kapsamı, Bölüm [R.7.2.4.1](#) içerisinde "Aşınma/tahrişle ilgili test verileri" altında açıklandığı gibi bazı sınırlamalara da sahiptir. İlave olarak, iki veya daha fazla *in vitro* testten elde edilen tutarsız sonuçlar, verilerin yorumlanmasındaki genel belirsizliği artırabilir.

R.7.2.5 Cilt aşınması/tahrişi üzerine varılan sonuçlar

R.7.2.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç

SEA Yönetmeliğine göre Sınıflandırma ve Etiketleme konusunda sonuca varmak için, tüm mevcut bilgilerin dikkate alınması ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ve bu rehber doküman boyunca yapılmış çeşitli açıklamaların (Sınıflandırma ve Etiketleme ile ilgili) dikkate alınması gerekir³⁵.

R.7.2.5.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç

Cilt aşınması/tahrişi için bir doz-cevap değerlendirmesi yapmak zordur, çünkü şimdiye kadar çoğu veri seyreltilmemiş maddeler için, test rehberlerine ve (bugün de devam etmekte olan) geleneksel uygulamalara uygun olarak üretilmiştir. Risk karakterizasyonu açısından, bu nedenle, sınıflandırma prosedürünün sonucunun kullanılması tavsiye edilir, yani sınıflandırılan bir maddenin yeterince karakterize edildiği varsayılır. Bununla birlikte, eksiksiz bir risk değerlendirmesi hem zararlılık hem de doz-cevap verisi gerektirir ve lokal etkiler için konsantrasyonlar genellikle belirleyici doz ölçüsüdür. Sonuç olarak, doz-cevap verileri mevcutsa, bunlar dikkate alınmalıdır ([Sekil R.7.2-1](#)). Örneğin, doz-cevap bilgisi sub-akut veya sub-kronik cilt toksisitesi çalışmalarından (bu tür çalışmalar doz seçiminde tahriş edici olmayan bir dozun belirlenmesini gerektirdiğinden) veya insan deneyiminden elde edilebilir ve bazı durumlarda *in vitro* çalışmalar kullanılarak belirlenebilir. Bununla birlikte, mevcut cilt toksisitesi çalışmalarından (örn. tekrarlı doz) elde edilen bilgiler kullanıldığında, test koşullarının *in vivo* cilt aşınması/tahrişi çalışmasında kullanılan test koşullarını yansıtmadığı unutulmamalıdır: örneğin test malzemesi saf yerine seyreltilerek uygulanır, taşıyıcı/çözücüler sıklıkla kullanılır, maruz kalma süresi farklıdır ve test malzemesi uygulama alanları farklılık gösterir (bkz. OECD IATA Modül 5 (OECD, 2014b)).

Cilt aşınması/tahrişi için DNEL türetme olasılıklarına dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8, Ek R.8-9'da verilmiştir.

R.7.2.5.3 Bilgilerin yeterli olmaması

KKDİK kapsamındaki tonaja bağlı bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için, aşağıda Bölüm [R.7.2.6](#) içerisinde açıklanan test ve değerlendirme stratejisi önerilir.

R.7.2.6 Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisi

OECD, bu zararlılıkların değerlendirilmesinde kullanılabilecek çeşitli veri türlerinin bir tanımını içeren, cilt aşınması/tahrişine yönelik bir IATA (OECD, 2014b) onaylamıştır. IATA modüler bir yaklaşıma sahiptir, burada her veri türünün *alanı*, *Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım*daki rolü, *güçlü yanları*, *zayıf yönleri* ve *sınırlamaları* tablo halinde verilmiştir. Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımın bazı bölümleri, mevcut belgeden daha ayrıntılı bilimsel temel sağlar.

³⁵ SEA Yönetmeliği, 2012 yılında kabul edilen ve özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

Ayrıca, IATA, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı hakkında ayrıntılı rehberlik sağlar. *Kanıt Ağırlığı* adımı, maddenin daha fazla *in vitro* testinin (veya *in vitro* test mümkün değilse veya kesin sonuç vermiyorsa son seçenek olarak *in vivo* testin) gerekli olup olmadığına karar vermek için tüm mevcut bilgiler birleştirilir ve değerlendirilir. OECD IATA, aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisinden biraz daha ayrıntılı rehberlik sağlarken, ikisi arasında kavramsal bir fark yoktur.

R.7.2.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Maddelerin cilt aşındırıcı ve cilt tahriş edici özelliklerinin değerlendirilmesi/değerlemesi ve sınıflandırılması için yeterli ve bilimsel olarak kapsamlı verilerin geliştirilmesi amacıyla aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi önerilir. Yetersiz veriye sahip mevcut maddeler için, bu strateji, halihazırda mevcut olanların yanı sıra hangi ek verilere ihtiyaç duyulduğuna karar vermek için de kullanılabilir. Test ve değerlendirme stratejisi, mevcut bilgilere dayalı olarak, uygun yerlerde farklı unsurlar kullanımıyla cilt aşınmasının/tahrişinin tanımlanmasını amaçlamaktadır. Stratejinin temel ilkesi, bir çalışmanın veya bir bilgi kaynağının sonuçlarının başka bir çalışma başlatılmadan önce değerlendirilmesidir. Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanmasını sağlamayı amaçlamaktadır.

[Şekil R.7.2-1](#)'de sağlanan farklı unsurlar, bir maddenin cilde yönelik zararlılık potansiyeli hakkında sonuca varmak için kullanılacak bilgi kaynaklarını tanımlar. [Şekil R.7.2-2](#)'de açıklanan öğeler, özellikle Bölüm 1'de bulunanlar, uygun şekilde yeniden düzenlenebilir. Bu, özellikle hepsini dikkate almak zorunda kalmadan, belirli unsurlardan bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir. İlgili olduğuna karar verilirse, Bölüm 1'deki öğeler çıkarılabilir ve *in vitro* testler hemen gerçekleştirilebilir.

[Şekil R.7.2-2](#) üç bölüme ayrılmıştır, Bölüm 1 ise, madde hakkında bulunabilecek mevcut bilgileri değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bölüm 1'de açıklanan tekli öğelere dayanılarak bir sonuca varmak mümkün değilse, Bölüm 2'de, bir *Kanıt Ağırlığı* analizinde maddenin zararlılık özellikleri hakkında sonuca varmak için yeterli bilginin olup olmadığını değerlendirmek üzere mevcut bilgiler ve ilgili veriler değerlendirilmelidir. Bölüm 1 ve 2'den bir sonuca varılamaması durumunda, Bölüm 3'te önce ilgili *in vitro* testler gerçekleştirilerek yeni veriler oluşturulmalıdır. Yalnızca, *in vitro* testlere dayalı olarak bir sonuca varılamaması durumunda *in vivo* test yapılmalıdır (sadece yılda 10 ton veya üzerindeki maddeler için).

KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10'un 2. sütununda açıklanan şekilde, standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için belirli kurallar ve Ek 11'deki standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için bazı genel kurallar ile testler için bir miktar rehberlik sağlanmıştır.

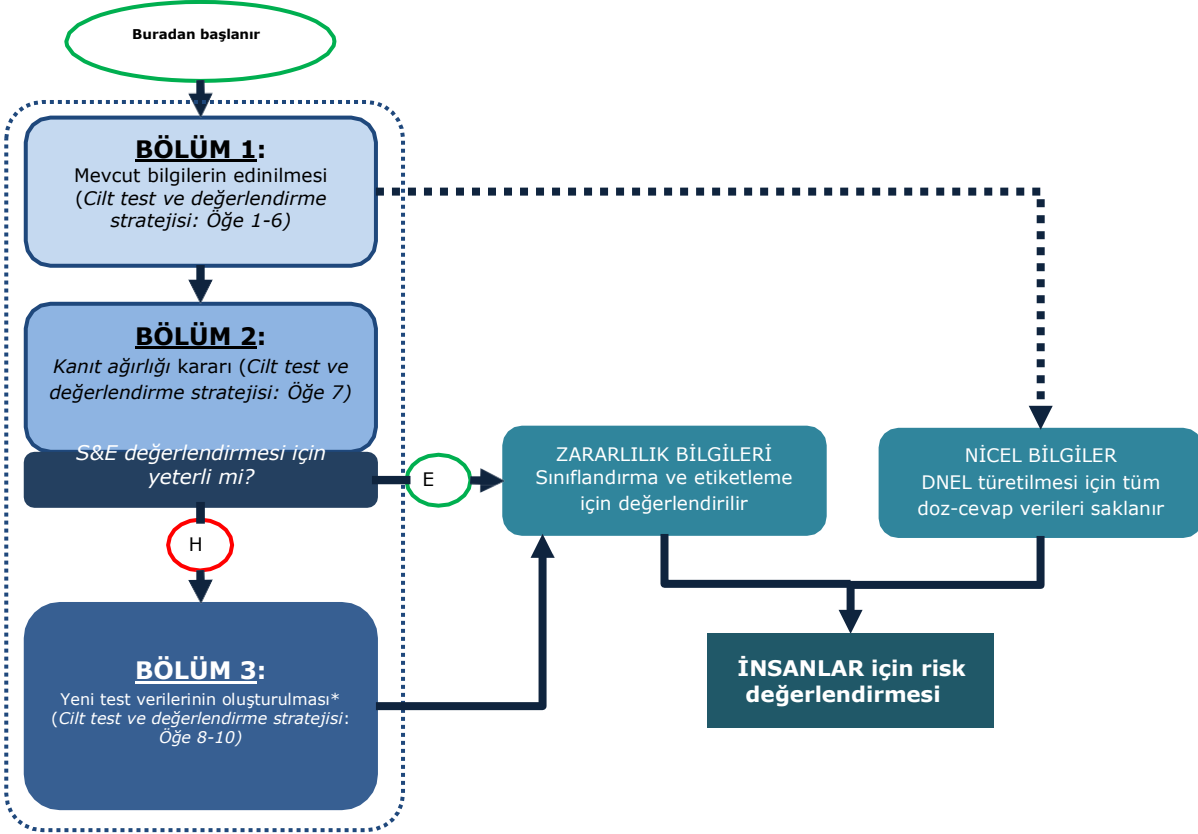
Bir maddenin cilt aşınması/tahriş potansiyelinin risk değerlendirmesi, normalde maddenin cildi aşındırıcı veya tahriş edici olarak sınıflandırılması koşuluyla nitel bir şekilde yapılır. Mevcut test rehberleri doz-cevap değerlendirmesini içermez, bu nedenle nicel bir analiz genellikle mümkün olmayacaktır. Bu nedenle, zararlılık tanımlama ve uygun sınıflandırma, aşağıdaki bilgi toplama stratejisinde temel belirleyicidir. Sonuç olarak, verilerin belirsizliğini hesaba katmak için *Değerlendirme Faktörlerinin* kullanımı sınırlı kullanıma sahiptir. Bununla birlikte, kayıt ettirenin mevcut test stratejisi bağlamında zararlılık bilgisi edinme sürecinde karşılaşılabilecek tüm nicel verileri saklaması ve kullanması ve nitel zararlılığın yanı sıra nicel bilgilerin değerlendirilmesini içeren eksiksiz bir risk değerlendirmesi yapması teşvik edilir.

Test ve değerlendirme stratejisinin tüm durumlarda 6. öğeye kadar izlenmesi ([Şekil R.7.2-1](#) ve [Şekil R.7.2-2](#)) ve sonrasında *Kanıt Ağırlığı* analizi yapılması önerilir. Açık şekilde, tüm bilgi kaynakları/unsurları uygun şekilde yeniden düzenlenebilir, yani tüm unsurlara veri eşlik etmeyebilir, ancak tüm potansiyel veri kaynaklarının *Kanıt Ağırlığı* analizine başlamadan önce araştırılması önemlidir.

Bu yaklaşımın izlenmesi tavsiye edilirken, diğer yaklaşımlar duruma göre daha uygun ve verimli kabul edilebilir. Örneğin, mevcut veri olmayan ve "ön test verilerinin" oluşturulmasının sonuca ulaştırmayacağına öngörüldüğü bir durumda, doğrudan bilgi üretme kısmına geçmek uygun olabilir. Ayrıca, herhangi bir yeni *in vivo* test gerçekleştirilmeden önce, *in vitro* yöntemlerin kullanımından tam olarak yararlanılmalıdır (bkz. KKDİK Yönetmeliği Madde 13 (1) ve 25 (1)).

Madde cilt aşınması/tahrişi için sınıflandırılmamışsa, maruz kalmaya bakılmaksızın bu sonlanma noktası için risk değerlendirmesi yapılmaz. KKDİK Yönetmeliğinde bu sonlanma noktaları için maruz kalmaya dayalı feragat seçeneği bulunmadığı unutulmamalıdır.

Aşağıdaki akış şeması (Şekil R.7.2-1), cilt aşınması ve tahrişi için bir test ve değerlendirme stratejisi tanımlamak üzere olası bir yaklaşıma genel bir bakış sunmaktadır.



*KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ila 8'e göre yeni test verilerinin oluşturulması ve Ek 11'de belirtilen standart test rejiminin uyarlanması için kuralların gerekli şekilde gözlenmesi ile.³⁶

Şekil R.7.2-1 Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisine genel bakış

³⁶ KKDİK Yönetmeliği Ek VII ve VIII'de cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi ile ilgili bilgi gerekliliklerinin şu anda revizyon altında olduğuna dikkat edilmelidir. Bu revizyonun *in vitro* yöntemlerin rolünü güçlendirmesi ve Ek VIII düzeyinde bir *in vivo* çalışma için standart bilgi gerekliliğini ortadan kaldırması beklenmektedir. Sonuç olarak bir *in vivo* çalışma yalnızca maddenin mevcut *in vitro* yöntemlerin uygulanabilirlik alanının dışında kaldığı veya bu tür yöntemlerden elde edilen sonuçların sınıflandırılmama ve risk değerlendirmesi hakkında nihai bir karara izin vermediği durumlarda gerekli olacaktır.

R.7.2.6.2 Cilt aşınması/tahrişi için test ve değerlendirme stratejisi

Önerilen yaklaşım

Burada sunulan test ve değerlendirme stratejisi üç bölümden oluşur (bkz. [Sekil R.7.2- 2](#)): Bölüm 1 (öğ 1 ila 6) mevcut bilgilerin edinilmesiyle ilgilidir, Bölüm 2 (öğ 7) bir *Kanıt Ağırlığı* analizi ve uzman görüşünü temsil eder ve Bölüm 3 (öğ 8 ila 10) test yoluyla yeni bilgilerin üretilmesiyle ilgilidir.

Bölüm 1'de, literatürden ve veri tabanlarından mevcut ve bulunan bilgiler toplanır ve strateji yaklaşımında değerlendirilir. Farklı öğelerin sırası (öğ 1 ila 6), sadece gösterge niteliğindedir ve uygun şekilde düzenlenebilirler. Bu, özellikle hepsini dikkate almak zorunda kalmadan, belirli öğelerden bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir. Örneğin, madde aşırı pH değerine (≤ 2.0 veya ≥ 11.5) sahipse, cilt aşınması dolaylı olarak kabul edilir (öğ 1c) ve bu nedenle madde SEA Yönetmeliğine göre cilt aşındırıcı (Kategori 1) olarak sınıflandırılmalıdır ve daha fazla test gerekli değildir. Bölüm 1'in sonunda ve mevcut bilgi parçalarının birinden veya birkaçından doğrudan nihai bir sonuç çıkarılamazsa, toplanan tüm bilgiler bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı (öğ 7) kullanılarak analiz edilmelidir.

Bilgi üretme bölümünde (öğ 8 ila 10), maddelerin aşınma/tahriş potansiyeline ilişkin yeni bilgiler, *in vitro* (öğ 8 ve 9) veya son çare olarak (bkz. KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (1) ve 26(1)) *in vivo* testler (öğ 10) yoluyla üretilir. Bu nedenle, 7. öğede *Kanıt Ağırlığı* analizini sonuçlandırmadan ve *in vitro* testlerden (öğ 8 ve 9) önce, yeni *in vivo* testler yapılmamalıdır. Test stratejisi dahilinde cilt aşınması/tahrişi için *in vitro* yöntemlerin nasıl kullanılacağına dair daha fazla bilgi aşağıdaki paragraflarda bulunabilir.

Bu yaklaşımın izlenmesi tavsiye edilirken, diğer yaklaşımlar duruma göre daha uygun ve verimli kabul edilebilir. Örneğin, mevcut veri olmayan ve 1-7. öğelerde veri derlenmesinin sonuca ulaştırmayacağına öngörüldüğü bir durumda, doğrudan bilgi üretme kısmına geçmek uygun olabilir.

Şekil R.7.2–2 Maddelerin cilt aşınması/tahrişi potansiyelini değerlendirmek için test ve değerlendirme stratejisi (dipnot a-h şeklin altında detaylandırılmıştır)

Öge	Bilgi	Varılan sonuç ³⁷
Fizikokimyasal özelliklere ilişkin mevcut veriler		
1a	Madde, oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temas halinde kendiliğinden alevlenir mi? →	EVET: Test gerekmez (Ek 7 ve 8 Bölüm 8.1 Sütun 2 uyarlaması)
1b	Madde organik bir hidroperoksit mi ya da bir organik peroksit mi? →	EVET: Aşağıdaki şekillerde sınıflandırma düşünülür: ■ madde bir hidroperoksit ise aşındırıcı (Cilt Aşındırıcı Kat. 1B) veya ■ madde bir peroksit ise tahriş edici (Cilt Tahriş Edici Kat. 2). VEYA Farklı sınıflandırmayı veya sınıflandırmamayı destekleyen kanıtlar sağlanır ³⁸ .
1c	Maddenin pH'ı ≤ 2.0 veya ≥ 11.5 mi? a →	EVET: Sınıflandırma kararı için tek dayanak olarak pH kullanılıyorsa, aşındırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Ek 7 ve 8 Bölüm 8.1 sütun 2). Sınıflandırmanın yalnızca pH dikkate alınarak yapıldığı durumlarda, alt kategorilere ayırma mümkün değildir ve bu nedenle Cilt Aşındırıcı Kat.1 uygulanmalıdır.
1d	Maddenin aşındırıcı/tahriş edici olduğunu gösteren başka fiziksel veya kimyasal özellikler var mı? →	EVET: Bu bilgi <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır (Öge 7).
Mevcut insan verileri		
2	Maddenin aşındırıcı veya tahriş edici olduğuna dair kanıt sağlayan yeterli mevcut insan verisi var mı?→	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür.

³⁷ SEA Yönetmeliği, 2012 yılında kabul edilen ve özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

³⁸ Doğru sınıflandırma konusunda şüphe varsa, örn. *in vitro* testler hakkında bilgiler daha uygun bir sınıflandırma konusunda kanıt sağlayabilir.

Aşınma/tahriş çalışmalarından elde edilen mevcut hayvan verileri		
3	Maddenin aşındırıcı, tahriş edici olduğuna veya tahriş edici olmadığına dair sağlam ve kesin kanıtlar sağlayan, laboratuvar hayvanları üzerinde <i>aşınma</i> ve <i>tahriş</i> hakkında mevcut çalışmalardan veriler var mı? →	EVET: Uygun şekilde sınıflandırma düşünülür (Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B, 1C veya Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.
Cilt yoluyla genel toksisite çalışmalarından ve hassaslaştırma çalışmalarından elde edilen mevcut veriler		
4a	Madde cilt yoluyla akut toksik olarak sınıflandırılmış mı (Kategori 1)? c →	EVET: Madde akut cilt toksisitesi için sınıflandırılacaktır (Ek 7 ve 8 Bölüm 8.1 Sütun 2 uyarlaması) Bu durumda cilt tahrişi/aşınma için yeni testlere gerek yoktur.
4b	Uygun bir akut cilt toksisitesi testinde maddenin aşındırıcı, tahriş edici olduğu veya tahriş edici olmadığı kanıtlanmış mı? d →	EVET: Test koşulları OECD Test Rehberi 404 ile tutarlıysa, uygun şekilde sınıflandırma düşünülür (Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B, 1C veya Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.
4c	Hassasiyet çalışmalarında veya tekrarlı maruz kalmadan sonra maddenin aşındırıcı veya tahriş edici olduğu kanıtlanmış mı? e →	EVET: Bu bilgi, somut bir sınıflandırma sonucunu değerlendirmek için kullanılamaz, ancak yalnızca bütünlük <i>Kanıt Ağırlığı</i> değerlendirmesi dahilinde kullanılmalıdır.
Mevcut/yeni (Q)SAR verileri ve çapraz okuma		
5a	Cilt aşındırıcı olarak sınıflandırılmış (Cilt Aşındırıcı Kat. 1) yapısal olarak ilgili maddeler (uygun "çapraz okuma" veya gruplandırma) var mı veya uygun (Q)SAR yöntemleri maddenin aşındırıcı potansiyelini gösteriyor mu? f →	EVET: Cilt Aşındırıcı Kat. 1 olarak sınıflandırma düşünülür.
5b	Cilt tahriş edici olarak sınıflandırılmış (Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya maddenin tahriş edici olmadığını gösteren yapısal olarak ilgili maddeler (uygun "çapraz okuma" veya gruplandırma) var mı veya uygun (Q)SAR yöntemleri maddenin tahriş edici veya tahriş edici olmayan potansiyelini gösteriyor mu? f →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür.
Mevcut in vitro veriler		
6a	Madde AB/OECD tarafından kabul edilen bir <i>in vitro</i> testte aşındırıcı özellikler göstermiş mi? Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir. →	EVET: Aşındırıcı olarak sınıflandırma düşünülür. Cilt Aşındırıcı Kat. 1A, 1B ve 1C arasında ayırım mümkün değilse, Kat. 1 seçilmelidir. Negatif bir sonuç elde edilirse ve <i>in vitro</i> cilt tahriş çalışması/çalışmalarından elde edilen veri yoksa, tahriş potansiyeli belirlenmelidir (örn. <i>in vitro</i> cilt tahriş testi ile).

6b	<p>Madde, AB/OECD tarafından kabul edilen <i>in vitro</i> testte tahriş edici veya tahriş edici olmayan özellikler göstermiş mi?</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir. →</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırma düşünülür (Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.</p> <p>Pozitif bir sonuç elde edilirse ve <i>in vitro</i> cilt aşındırıcılığı çalışması/çalışmalarından elde edilen veri yoksa, aşındırıcılık potansiyeli belirlenmelidir (örn. <i>in vitro</i> cilt aşındırıcılığı testiyle (Öge 8)).</p>
6c	<p>Maddenin aşındırıcı/tahriş edici olduğuna dair sağlam ve kesin kanıtlar sağlayan doğrulanmamış uygun <i>in vitro</i> test/testlerden veri var mı? g →</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırma düşünülür (Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B, 1C veya Cilt Tahriş Edici Kat. 2).</p>

Kanıt ağırlığı analizi

7	<p>Yukarıda açıklanan "öğeler" uygun şekilde düzenlenebilir. Yukarıda belirtilen tüm mevcut ve ilgili verileri (Öge 1-6) dikkate alarak, sınıflandırma/etiketlemenin gerekli olup olmadığına ve - eğer öyleyse - nasıl sınıflandırılacağına ve etiketleneceğine karar vermek için yeterli bilgi var mı? →</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırılır (Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B, 1C veya Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.</p> <p>Cilt Aşındırıcı Kat 1A, 1B ve 1C arasında ayırım yapmak mümkün değilse, Kat. 1 seçilmelidir.</p>
---	---	---

Aşındırıcılık için yeni *in vitro* testler g

8	<p>Madde AB / OECD tarafından kabul edilmiş cilt aşındırıcılığına yönelik <i>in vitro</i> test/testlerde aşındırıcı özellikler gösteriyor mu? →</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir.</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırılır (Cilt Aşındırıcı Kat. 1A, 1B veya 1C). Kat 1A, 1B ve 1C arasında ayırım yapmak mümkün değilse, Kat. 1 seçilmelidir.</p> <p>Negatif bir sonuç elde edilirse, örn. maddenin Cilt Tahriş Edici Kat. 2 olarak sınıflandırılması veya sınıflandırılmaması gerekip gerekmediğini belirlemek için bir <i>in vitro</i> cilt tahriş testi (Öge 9) ile, maddenin tahriş potansiyeli belirlenmelidir.</p>
---	---	---

Tahriş için yeni *in vitro* testler g

9	<p>Madde, AB/OECD tarafından kabul edilen cilt tahrişine ilişkin <i>in vitro</i> test/testlerde tahriş edici veya tahriş edici olmayan özellikler gösteriyor mu?</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir. →</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırılır (Cilt Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.</p> <p>Pozitif bir sonuç elde edilirse ve <i>in vitro</i> cilt aşındırıcılığı çalışması/çalışmalarından elde edilen veri yoksa, aşındırıcılık potansiyeli belirlenmelidir (örn. <i>in vitro</i> cilt aşındırıcılığı testiyle (Öge 8)).</p>
---	--	--

		<i>In vitro</i> test kullanılarak cilt aşınması/tahrişi hakkında bir sonuç çıkarılmazsa, <i>in vivo</i> test yapılmalıdır (yalnızca Ek 8 düzeyinde).
Son çare olarak aşınma/tahriş için yeni <i>in vivo</i> test (KKDİK Yönetmeliği Ek 8)h		
10	Madde AB/OECD tarafından kabul edilen bir <i>in vivo</i> testte aşındırıcı veya tahriş edici özellikler gösteriyor mu? →	EVET: Buna göre sınıflandırılır (Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B, 1C veya Cilt Tahriş Edici Kat. 2). HAYIR: Sınıflandırmaya gerek yoktur.

Cilt aşınması/tahrişi hakkında bilgi şeması notları:

a) Tamponlama kapasitesi maddenin aşındırıcı olmayabileceğini gösteriyorsa, bunu doğrulamak için, tercihen uygun bir *in vitro* test yöntemi kullanılarak daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

b) Vaka raporları, mesleki deneyim, zehir bilgi merkezleri, insan yama testleri veya klinik çalışmalardan elde edilen veriler.

c) Madde cilt ile temas halinde öldürücü olarak sınıflandırılırsa ($LD_{50} \leq 50$ mg/kg va), cilt aşınması/tahrişi için yapılacak ilave testler, hayvanın ciddi şekilde acı çekmesine veya ölümüne neden olacaktır. Bu nedenle, başka testler gerekli değildir ve Zararlılık ifadesi H310 "Cilt ile temas halinde öldürücüdür." ve "Tehlike" uyarı kelimesini içeren GHS zararlılık işareti GHS06 tarafından yeterli etiketleme (uyarı) sağlanır. Bir maddenin ciltle temas halinde öldürücü olarak sınıflandırılması sıkı risk yönetimi önlemleri gerektirir ve bu nedenle ciltle her türlü temastan kaçınılması gerektiğinden, cilt aşınması/tahriş potansiyelinin daha fazla araştırılmasına gerek yoktur. Cilt aşınması / tahrişi ile ilgili bilgilerin mevcut olması durumunda, kayıt dosyasına dahil edilmeli ve cilt aşınması/tahrişi için sınıflandırma ve etiketleme için kullanılmalıdır.

d) Seyreltilmemiş test maddesiyle (sıvılar) veya uygun bir süspansiyonla (katılar) **tavşanlar** üzerinde yapılan akut cilt toksisitesi testinde maddenin tahriş edici veya aşındırıcı olduğu kanıtlanmış mı? Cilt aşındırıcılığı belirtilerinin olması durumunda, Cilt Aşındırıcı olarak sınıflandırılır (mümkünse 1A, 1B veya 1C olarak alt kategorilere ayrılır). Diğer tüm durumlarda: cm^2 başına test maddesi miktarı hesaplanır veya tahmin edilir ve bu tavşanlar üzerinde cilt aşındırıcılığı/tahrişi testi için AB B.4/OECD Test Rehberi 404'te kullanılan 80 μ l veya 80 mg/ cm^2 test maddesi konsantrasyonu ile karşılaştırılır. Aynı aralıktaysa ve yeterli cilt etkileri puanlaması sağlanmışsa, Cilt Tahriş Edici Kategori 2 olarak sınıflandırılır veya sınıflandırılmaz. Tavşanlarda kesin olumsuz veri elde edilmesi durumunda, durulur. Aynı aralıkta değilse ve cilt etkileri için yetersiz puanlama varsa, **Kanıt Ağırlığı** analizi için kullanılır ve devam edilir.

Testin daha az hassas olabilecek başka türlerde (örn. **siçan**) yapılması durumunda, değerlendirme dikkatle yapılmalıdır. Genellikle, siçan AB içindeki toksisite çalışmaları için tercih edilen türdür. Bir katının 2000 mg/kg va düzeyindeki sınır doz seviyesi normalde yaklaşık 5x5 cm'lik bir cilt yüzey alanı üzerine 4 ml/kg va doz hacminde %50 süspansiyon halinde uygulanır.

Ortalama vücut ağırlığının 250 g olduğu varsayıldığında, 1 ml dozda süspansiyon 25 cm^2 'lik bir alana, yani cm^2 başına 20 mg test maddesi halinde uygulanacaktır. Seyreltilmemiş bir sıvı olması durumunda, 0,5 ml 25 cm^2 'ye uygulanır, yani 20 μ l/ cm^2 uygulanır. Siçan derisinin tavşan derisine göre daha az hassas olduğu, çok daha düşük maruz kalma kullanıldığı ve genel olarak cilt üzerindeki etkilerin puanlamasının daha az doğru şekilde yapıldığı göz önüne alındığında, siçanlarda cilt toksisitesi testi sonuçları cilt tahrişine göre sınıflandırma için yeterli olmayacaktır.

Sadece sıçan cilt toksisitesi testinde cilt aşınması kanıtı olması durumunda, test maddesi Cilt Aşındırıcı Kategori 1 olarak sınıflandırılabilir. Diğer tüm veriler *Kanıt Ağırlığı* için kullanılmalıdır.

e) Cilt hassasiyeti çalışmalarından elde edilen verilerle ilgili olarak, gine domuzlarının cildi, sıçanlara göre daha az hassas ve sıçanlarınkı ise tavşanlarınkı göredaha az hassastır. Yalnızca saf malzemeye veya katıların suda, serum fizyolojik veya bitkisel yağda seyreltilmesiyle gerçekleştirilen hassaslaştırma testinde (Maksimizasyon veya Buhler) cilt aşındırıcılığı kanıtı olması durumunda, test maddesi Cilt Aşındırıcı Kategori 1 olarak sınıflandırılmalıdır. Bununla birlikte, gine domuzu çalışmalarından, özellikle maksimizasyon protokollerinden elde edilen bulgular yorumlanırken, adjuvan ile intradermal (deri içi) enjeksiyon kolaylıkla nekroza neden olduğu için dikkatli olunmalıdır. Diğer tüm veriler yalnızca *Kanıt Ağırlığı* için kullanılmalıdır. Cilt hassaslaştırıcılığı testlerinden elde edilen tahriş edici özelliklere ilişkin bilgiler, akut cilt tahrişine ilişkin belirli bir sınıflandırma yapmak için kullanılamaz, ancak *Kanıt Ağırlığı* analizinde kullanılabilir. Genel olarak, Lokal Lenf Düşümü Testinden gelen tahriş verileri kullanılamaz. Test maddesi, açık topikal uygulama ile kulak sırtına uygulanır ve deriye nüfuzunu arttırmak için özel taşıyıcılar kullanılır.

f) *In silico* modelinin sınıflandırılmış etkinin bulunmadığını yeterince öngördüğü gösterilmişse ve KKDİK Yönetmeliği Ek 11 gerekliliklerini de yerine getiriyorsa, sınıflandırmama sonucuna varılabilir. Sınıflandırılmış etkinin bulunmamasının tahmini, BfR sisteminde bir hariç tutma kuralı tetiklenerek (durum bazında kontrol edilecektir) veya hem pozitif hem negatif maddelerde de çalışılmış bir QSAR sınıflandırmasındaki olumsuz bir tahmine dayalı olarak yapılabilir. Modelin uygunluğu (güvenilirlik, uygunluk), tahminin amaca uygun olduğundan emin olmak için çok dikkatli bir şekilde kontrol edilmeli ve modelin maddeye uygulanabilirliği de gerekçelendirilmelidir (örn. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'teki koşulların yerine getirildiği kontrol edilmelidir). Çapraz okuma için, yeni *in vivo* verilerin oluşturulmasından kaçınılmalıdır.

g) Yeni *in vitro* testler yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenerek yapılmalıdır. Aşağıdaki "Strateji dahilinde cilt aşınması/tahrişi için *in vitro* yöntemler nasıl kullanılır" paragrafı incelenmelidir. Halihazırda mevcutsa, doğrulanmamış *in vitro* testlerden elde edilen bilgilerin kullanılması uygun olsa da, bilimsel geçerliliği resmi doğrulama ile belirlenmiş ve ideal olarak Avrupa Komisyonu ve/veya OECD tarafından resmi olarak kabul görmüş olan test protokollerine bağlı kalınması şiddetle tavsiye edilir. Uygun, doğrulanmamış *in vitro* testlerden elde edilen veriler, yalnızca KKDİK Yönetmeliğinin Ek 11, bölüm 1.4'ünde belirtilen kriterlere göre kullanılabilir, yani yalnızca pozitif sonuçlar kabul edilebilir.

h) Maddenin yapılan belirli *in vitro* testlerin kapsamına girmesi durumunda *in vivo* test yapılmamalıdır ve bu testlerin kullanımına ilişkin maddeye özgü sınırlamalar yoktur. *In vivo* testler, yalnızca *in vitro* çalışmaların uygulanamadığı veya bu çalışmaların sonuçlarının sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli olmadığı durumlarda düşünülmelidir.

Test ve değerlendirme stratejisi dahilinde cilt aşınması/tahrişi için *in vitro* yöntemler nasıl kullanılır?

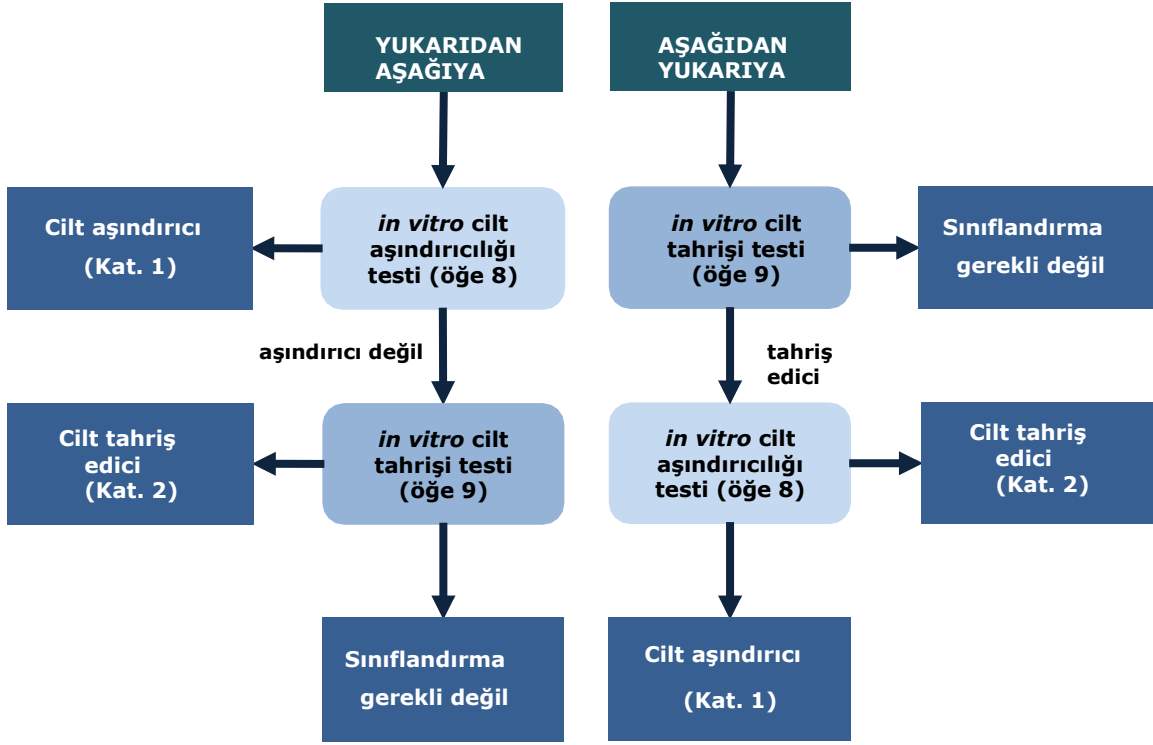
Cilt aşınması ve tahrişi için, tek bir *in vitro* test yöntemi, tüm cilt cevapları için *in vivo* testin (AB TM B.4/OECD Test Rehberi 404) tamamen yerini alamaz. Bununla birlikte, Bölüm [R.7.2.3.1](#) ve [R.7.2.4.1](#)'de belirtilen *in vitro* yöntemler, çalışmanın sonucuna bağlı olarak veya kademeli bir test stratejisi dahilinde birleştirildiğinde *in vivo* testin yerini alabilir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin giriş paragrafında açıklandığı gibi herhangi bir test (*in vitro* veya *in vivo*) yapılmadan önce belirli adımların atılması, yani mevcut tüm verilerin değerlendirilmesi (örn. *in vitro*, *in vivo* ve insan verileri) gerekir (bkz. [Şekil R.7.2-2](#)).

Mevcut bilgilere dayanarak sınıflandırma hakkında bir sonuca varılamazsa, aşağıdaki test/testlerin yapılması gerekir:

- 1) Cilt aşındırıcılığı, *in vitro*
- 2) Cilt tahriş ediciliği, *in vitro*

Yeni *in vitro* testler, varsayılan özelliklere dayalı olarak yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenerek gerçekleştirilmelidir (Şekil R.7.2-3). Mevcut bilgiler, maddenin cildi tahriş edici veya aşındırıcı olabileceğini gösterdiğinde yukarıdan aşağıya yaklaşım kullanılmalıdır. Öte yandan, aşağıdan yukarıya yaklaşım, yalnızca mevcut bilgiler maddenin cildi tahriş etmeyebileceğini gösterdiğinde izlenmelidir.



Şekil R.7.2-3 Cilt aşındırıcılığı/tahrişi için Yukarıdan Aşağıya ve Aşağıdan Yukarıya yaklaşımların şematik sunumu

Bu adımlardan sonra, aşağıdakiler söz konusu olmadıkça (herhangi bir tonaj seviyesi için) yeni bir *in vivo* test gerekli değildir:

- a) madde, gerçekleştirilen belirli *in vitro* testlerin kapsamı ve uygulanabilirlik alanına girmez ve bu testleri kullanmak için maddeye özgü sınırlamalar yoktur ve
- b) Kayıt Ettiren, sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için gerçekleştirilen *in vitro* test/testlerin sonuçlarını kullanamaz.

In vitro çalışmalardan yeterli bilgi elde etmek üzere seçilen test yönteminin madde için uygun olduğundan emin olmanın kayıt ettirenin sorumluluğunda olduğuna dikkat etmek önemlidir. Çoğu madde için, cilt aşındırıcılığı/tahrişi amacıyla benimsenen TYY veya AB veya OECD Test Rehberlerinin kullanılması, KKDİK kapsamında yasal olarak kabul edilecek sonuçlar sağlayacaktır.

CİDDİ GÖZ HASARI/GÖZ TAHRİŞİ

R.7.2.7 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bilgi gereklilikleri

Kayıt ve değerlendirme amacıyla sunulması gereken ciddi göz hasarı/göz tahrişi hakkındaki bilgiler, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 ila 11'de belirtilmiştir. Ek 6'ya göre, kayıt ettiren, ileri testleri düşünmeden önce mevcut tüm bilgileri toplamalı ve değerlendirmelidir. Bunlara fiziko-kimyasal özellikler, (Q)SAR ((Nicel) Yapı-Aktivite İlişkisi), gruplandırma, *in vitro* veriler, hayvan çalışmaları ve insan verileri dahildir. Sınıflandırılmış maddeler için, maddenin güvenli kullanımını sağlamak üzere maruz kalma, kullanım ve risk yönetimi önlemlerine ilişkin bilgiler de toplanmalı ve değerlendirilmelidir.

Bu veriler zararlılık ve risk değerlendirmesi için yetersizse, KKDİK Yönetmeliği Ek 7 (≥ 1 ton/yıl) ve 8 (≥ 10 ton/yıl) gerekliliklerine uygun olarak ileri testler yapılmalıdır.

R.7.2.7.1 ≥ 1 ton/yıl miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 7)

Yeni test verileri gerekliyse, bunlar yalnızca *in vitro* yöntemlerden elde edilmelidir. Ek 7, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vivo* test yapılmasını öngörmemektedir.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bu tonaj seviyesinde standart bilgi gereklilikleri Ek 7 Bölüm 8.2 Sütun 1'de aşağıdaki şekilde belirtilmiştir:

8.2.1. Ciddi göz hasarı/göz tahrişi, *in vitro*

Ek 7 Sütun 2'de Bölüm 8.2, adım 8.2.1 gerekli olmayan uyarılma için belirli kuralları listelemektedir.

Bu kurallar şu durumlarda geçerlidir:

- madde cilt için aşındırıcı olarak sınıflandırıldığında ve "ciddi göz hasarı (Kategori 1)" olarak sınıflandırmaya yol açtığında veya
- madde cilt tahriş edici olarak sınıflandırıldığında ve mevcut bilgiler, göz tahriş edici (Kategori 2) olarak sınıflandırılması gerektiğini gösterdiğinde veya
- madde kuvvetli asit ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baz ($\text{pH} \geq 11.5$) olduğunda ve mevcut bilgiler maddenin "ciddi göz hasarı (Kategori 1)" olarak sınıflandırılması gerektiğini işaret ettiğinde, veya
- madde oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temas durumunda alevlenir olduğunda.

İlave olarak, Sütun 2 Bölüm 8.2.1 içerisinde KKDİK Yönetmeliği bu ifadeyi belirtmektedir: "Eğer ilk *in vitro* çalışmada maddenin sınıflandırılması ile ilgili kesin bir karara ulaşamıyorsa veya maddenin göze tahriş potansiyeli yoksa, bu son nokta için başka *in vitro* çalışma/çalışmalar dikkate alınmalıdır. "

KKDİK Ek 7'nin standart bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için kullanılacak *in vitro* yöntemler, bu Rehberin [R.7.2.8.1](#) ve [R.7.2.9.1](#) Bölümlerinde "In vitro veriler" altında ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Mevcut iyi kalitede *in vivo* göz tahrişi çalışmasının mevcut olması durumunda sonuçları standart bilgi gerekliliğini yerine getirmek için kullanılabilir, ancak *in vitro* çalışmayı sunmamak için bir uyarlama savunmasının sunulması gerekir.

Bu kuralların uygulanmasına ilişkin rehberlik, bu Rehberin [R.7.2.6](#) ve [R.7.2.11](#) Bölümlerinde açıklanan test ve değerlendirme stratejilerinde verilmektedir.

R.7.2.7.2 ≥ 10 ton/yıl miktarlar için bilgi gereklilikleri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8)

KKDİK Yönetmeliği Ek 8 Sütun 2 Bölüm 8.2'de belirtildiği üzere, ≥ 10 ton/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için, yalnızca Ek 7 Bölüm 8.2.1 kapsamındaki *in vitro* çalışma/çalışmalar madde için geçerli olmadığında veya bu çalışmanın/çalışmaların sonuçları sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli değilse *in vivo* testler dikkate alınmalıdır.

Ek 8 Bölüm 8.2, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bir *in vivo* çalışmanın hala gerekli olduğu koşulları belirtir. ≥ 10 ton/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için *in vivo* testler, yalnızca Ek 7 Bölüm 8.2.1 kapsamındaki *in vitro* çalışmalar madde için geçerli değilse veya bu çalışmaların sonuçları sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli değilse düşünülmelidir.

Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez:

- madde cilt için aşındırıcı olarak sınıflandırılmış ise veya
- madde kuvvetli asit ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baz ($\text{pH} \geq 11.5$) ise, veya
- madde oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temasında kendiliğinden alevlenir ise.

Bu kuralların uygulanmasına ilişkin rehberlik, bu Rehberin [R.7.2.11](#) Bölümünde açıklanan ciddi göz hasarı/göz tahrişi için test ve değerlendirme stratejisinde verilmektedir.

Ek 11'de belirtilen uyarlama kurallarından herhangi birinin uygulanmasının ÇŞB tarafından kabul edilme koşullarının katı olduğu ve bir uyarlama savunması kullanıldığında (örn. (Q)SAR, SAR, çapraz okuma veya doğrulanmamış *in vitro* test yöntemleri kullanımı), bilimsel gerekçeler, kapsamlı belgeler ve risk değerlendirmesi için hazır olma ve Sınıflandırma ve Etiketlemenin kayıt ettirenler tarafından sağlanması gerektiği göz önüne alınmalıdır. Bu kurallarla ilgili ayrıntılı bilgi için, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 incelenmelidir.

R.7.2.8 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine bilgi kaynakları

R.7.2.8.1 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan dışı veriler

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal özellikler

İlgili bilgiler, bir maddenin temel fiziko-kimyasal özelliklerinden (örn. aşırı pH) çıkarılabilir. Aşırı pH değerleri, bir maddenin cilt aşınmasına veya ciddi göz hasarına neden olma potansiyelini gösterebilir:

pH ≤ 2 veya pH $\geq 11,5$ ise, sınıflandırma kararının tek dayanağı olarak pH kullanıldığında maddenin cilt için aşındırıcı olduğu (Kategori 1) ve ciddi göz hasarına neden olduğu (Kategori 1) düşünülür (ayrıca bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.2.4.1](#) ve [R.7.2.9.1](#))

Gruplandırma, (Q)SAR ve uzman sistemler³⁹

KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de, bağımsız (mümkün olduğunda) ya da diğer bilgilerle birlikte (bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesi bağlamında), standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için kullanılabilen iki tür test dışı yöntemden bahsedilmektedir:

- bir yanda nitel ve nicel Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR/QSAR, bölüm 1.2, uzman sistemler dahil, genellikle birden fazla (Q)SAR, uzman kuralları ve verileri içerir) ve
- maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımları ⁴⁰.

Standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması, ilgilenilen madde için ilgili ve güvenilir veriler sağlanması halinde, ciddi göz hasarı/göz tahrişinin değerlendirilmesi için uygulanabilir. KKDİK yönetmeliğinin Ek 11'inde belirtildiği üzere, test dışı yöntemlerin kullanımının gerekçelendirilmesi ve yeterince belgelendirilmesi gerekir. QSAR ve uzman sistemler söz konusu olduğunda, kayıt ettirenlerin bir QSAR Tahmin Raporlama Formatını (QPRF) tamamlayarak özellik tahminlerini hazırlamaları gerekir. QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF), (Q)SAR modelleri tarafından oluşturulan maddeye özgü tahminlerin özetlenmesi ve raporlanması için uyumlaştırılmış bir şablondur. KKDİK kapsamında veri boşluğunu doldurmak için, QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) belgesi izlenerek kullanılan tahmin modeli hakkında bilgi sağlamak da gereklidir. QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF), herhangi bir doğrulama çalışmasının sonuçları da dahil olmak üzere (Q)SAR modeli geçerliliği ile ilgili anahtar bilgileri özetlemek ve raporlamak için uyumlaştırılmış bir şablondur. Bilgiler, OECD (Q)SAR doğrulama ilkelerine göre yapılandırılır (daha fazla bilgi için bkz. <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/validationofqsarmodels.htm>). JRC QSAR Model Veritabanı, çevrimiçi olarak ücretsiz erişilebilen mevcut QSAR Model Raporlama Formatları hakkında bir bilgi envanteridir (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/databases/jrc-qsar-model-database>). QSAR modelleri, kullanımları ve QMRF dahil olmak üzere raporlama formatları hakkında daha ayrıntılı rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de verilmektedir.

Genel olarak, test dışı yöntemlerin bir IATA bağlamında kullanılabilmesi, aşağıda belirtilenler örnek olmak üzere birkaç farklı yol vardır (ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için bir IATA şu anda OECD tarafından geliştirilmektedir):

- ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelinin varlığı veya yokluğunun doğrudan tahmini için,
- *Kanıt Ağırlığı* düzenlemesinin bir parçası olarak (test dışı yöntemlerden elde edilen bilgilerin tek başına bir karar için yeterli olmadığı durumlarda) veya

³⁹ Daha fazla bilgi, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6 *Kimyasallar için QSAR ve gruplandırma*, Kimyasalların Gruplandırılmasına dair OECD Rehberi, İkinci Baskı (OECD, 2014a), cilt aşınması ve tahrişine yönelik Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım hakkında yeni OECD Rehberi (IATA) (OECD, 2014b) ve JRC'nin düzenleyici toksikoloji için Alternatif yöntemler raporu (Worth, 2014) içerisinde bulunabilir.

⁴⁰ İlgili terminoloji her zaman tutarlı bir şekilde kullanılmaz. QSAR ve gruplandırmaya ilişkin ÇŞB Rehberine atıfla, terim kategorisi yaklaşımı ve analog yaklaşım maddelerin gruplandırılmasına yönelik teknikleri tanımlamak için kullanılırken, çapraz okuma terimi veri boşluklarını doldurma tekniği için, yani kaynak olarak adlandırılan bir veya daha fazla bir maddeden, hedef madde olarak adlandırılan veri boşlukları olan başka bir maddeye bilgi aktarımı için kullanılır.

- daha ileri (*in vitro*) testlerle (yani yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya yaklaşımla) en iyi nasıl ilerleneceğine karar vermek için. Daha fazla bilgi için Bölüm [R.7.2.11.2](#) incelenmelidir.
- Ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için SAR ve çapraz okuma:

Prensip olarak, cilt aşınması/tahrişi için SAR ve çapraz okuma kullanımı için olanlarla aynı hususlar geçerlidir (bkz. Bölüm [R.7.2.3.1](#)). Literatürde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için yapısal uyarılar açıklanmıştır (örn. Gerner ve ark. (2005)).

Ciddi göz hasarı (veya göz tahrişi) potansiyeli sergileyen yapısal analoglar, ilgilenilen maddedeki etkiyi tahmin etmek ve ilgili bilgi gerekliliklerini uyarlamak için de kullanılabilir. Bazı durumlarda tahminlerde bulunmak için yapısal analoglardan negatif veriler de kullanılabilir, ancak tahriş ve aşınma için bilinen yapısal uyarılardan birinin tek başına bulunmaması, tahriş ve aşınma için yapısal uyarılar bilgisi eksik olabileceğinden etkinin olmadığını kanıtlamaz. Örneğin, diğer alt yapılar (henüz yapısal uyarılar olarak tanımlanmamış) veya maddenin diğer özellikleri aşındırıcı veya tahriş edici etkiden sorumlu olabilir.

- Ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için (Q)SAR ve uzman sistemler:

Ciddi göz hasarı / tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bir bakış [Tablo R.7.2-3](#)'te verilmiştir. Avrupa Kimyasallar Bürosu (ECB) tarafından en son teknolojinin kapsamlı bir incelemesi yayınlanmıştır (Gallegos Saliner ve ark. 2006, 2008). [Ek R.7.2-3](#) içerisinde, halihazırda mevcut olan modelleri ve bunları geliştirmek için kullanılan teknikleri göstermek için bazı örnekler verilmiştir. Klasik regresyon ve sınıflandırma tekniklerine dayalı model örnekleri, daha yenilikçi yaklaşımlarla birlikte [Ek R.7.2-3](#)'te toplanmıştır.

Göz tahrişini değerlendirmek için en yaygın olarak kullanılan uzman sistemler, cilt aşınması ve tahrişini değerlendirmek için kullanılanlarla aynıdır. Otomatik kural indüksiyon sistemleri (örn. TOPKAT ve MultiCASE) ve bilgi tabanlı sistemler (örn. DEREK Nexus ve BfR kural tabanı) ile ilgili ayrıntılar [Ek R.7.2-3](#)'te bildirilmiştir.

Ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı, belirli fiziko-kimyasal özelliklere bağlı olarak ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelinin dışlanmasının mümkün olabileceği önerisiyle, "dahil etme kurallarını" (ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelini öngören yapısal uyarılar) kodlayan BfR kural tabanına dayalı olarak ciddi göz hasarı/göz tahrişi ile ilgili iki profil oluşturucu içerir. Profil oluşturucular ve analoglar için verilerle birlikte kullanılması, çapraz okuma veya kategori yaklaşımı yoluyla yeni maddeler için ciddi göz hasarı/göz tahrişi tahminine izin verebilir. Cilt tahrişi ve aşınma için OECD QSAR Araç Kutusu özel içeriği hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.2-3](#) içerisinde bildirilmektedir.

Modellerin tümü AB ve dolayısıyla Türkiye'deki düzenleme amaçları göz önünde bulundurularak geliştirilmemiştir, bu nedenle her durumda tahmin edilen sonlanma noktasının veya etkinin düzenleyici ilgi alanına karşılık gelip gelmediğini değerlendirmek önemlidir. Ciddi göz hasarı/göz tahrişi tahmini için BfR modeli, AB düzenleyici sonlanma noktalarını tahmin etmek için geliştirilmiştir, ancak tahminler CLP Tüzüğü yürürlüğe girmeden önce AB'de kullanılan eski DSD sınıflandırma/etiketleme sistemine atıfta bulunur ve sınır durumlarında tahminin sonuçları doğru CLP sınıflandırmasını tam olarak yansıtmayabilir. Bu model hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.2-3](#)'de bildirilmektedir.

In vivo testlerde kornea opaklığı ve konjunktival kızarıklık için ortalama puana dayalı olarak bir maddenin göz tahriş edici Kategori 2 olarak sınıflandırılması için kriterlerin sırasıyla SAE Yönetmeliği altında ≥ 2 ve ≥ 2.5 'ten, SEA Yönetmeliği altında sırasıyla ≥ 1 ve ≥ 2.0 'e değiştiğine dikkat edilmelidir. Sonuç olarak, SAE kriterlerine göre geliştirilen modellerden göz tahriş edici Kat. 2 olarak tahminler, olduğundan az tahmine yol açabileceğinden ve SEA altında doğrudan sınıflandırma için kullanılmaması gerektiğinden dikkatle yorumlanmalıdır.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırma modelleri söz konusu olduğunda, modelin uygunluğunu değerlendirmek için, model geliştirmede kullanılan sınıflandırma kriterleri AB sınıflandırma kriterleri ile karşılaştırılmalıdır. Destekleyici literatürde tahmin edilen sınıflandırmanın Kategori 1 (Ciddi göz hasarı) veya Kategori 2 (Göz tahrişi) olması gerekip gerekmediğinin belirtilmediği durumlarda, seçilen kategori uzman değerlendirmesi ile desteklenmelidir.

Tablo R.7.2-3 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerine genel bakış. Bu modeller hakkında daha fazla bilgi için bkz. [Ek R.7.2-3](#).

Model veya kaynak kategorisi	Modelin referansı veya adı	Uygulanabilirlik alanı
Literatür modelleri	Solimeo ve ark. (2012)	Uygulanamaz
	Abraham ve ark. (2003)	Saf yığın sıvılar
	Gerner ve ark. (2005)	Fiziko-kimyasal değerlere dayanılarak
	Barratt (1995b, 1997)	Nötr organik kimyasallar
Bilgisayarlı modeller	PaDEL-DDPredictor (http://padel.nus.edu.sg/software/padelddpredictor/) (Liew ve Yap, 2013)	Tanımlayıcı aralığına dayalı olarak model tarafından hesaplanır
	BfR kural tabanı, ücretsiz (OECD QSAR Araç Kutusu ve Toxmatch, Toxtree, ToxPredict ve Ambient'e dahildir)	AB Yeni kimyasallar (NONS) veritabanı, önemli hidroliz potansiyeli olmayan ve >% 95 saflığa sahip organik kimyasallar
	ACD/Percepta, ticari	Organik kimyasallar
	Derek Nexus, ticari	Organik kimyasallar ve bazı metaller
	HazardExpert, ticari	Organik kimyasallar
	MolCode, ticari	Organik kimyasallar
	MultiCASE, ticari	Organik kimyasallar
	TOPKAT, ticari	Organik kimyasallar
İnceleme yayınları	Patlewicz ve ark., 2003	Uygulanamaz.
	Gallegos Saliner ve ark. (2006, 2008)	Uygulanamaz.

Kısaltma: N.A. = uygulanamaz.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test verileri

AB Test Yöntemleri Yönetmeliğinin (Konsey Tüzüğü (EC) No 440/2008) Ekinde, TYY ekinde ve OECD Test Rehberlerinde (erişim adresi: http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm#Test_Guide_lines) tanımlanan şekilde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için uluslararası kabul görmüş test yöntemleri şunlardır: AB/TYY B.5 (OECD Test Rehberi 405), AB/TYY B.47 (OECD Test Rehberi 437), AB/TYY B.48 (OECD Test Rehberi 438), OECD Test Rehberi 460, OECD Test Rehberi 491 ve OECD Test Rehberi 492.

OECD içerisinde şu anda göz zararlılığı ile ilgili tartışılan üç ek taslak Test Rehberi vardır, bunlar EpiOcular™ Göz Tahrişi Eşik Değeri, Kısa süreli maruz kalma test yöntemi ve Cytosensor® (sitosensör) mikrofizyometre (CM) test yöntemidir. Göze zararlılığı ele almak için ek test yöntemleri çıkabilir, bu nedenle okuyucunun bu test yöntemlerinin mevcut durumunu kontrol etmek için OECD web sitesini ve ECHA'nın test yöntemleri web sayfasını (<http://echa.europa.eu/support/testing-methods-and-alternatives>) incelemesi önerilir.

AB veya OECD tarafından yayınlanıp yayınlanmadığından bağımsız olarak, yeni veri oluştururken kabul görmüş bir test rehberinin her zaman en son sürümünün kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilen test ve değerlendirme stratejisi (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.2.11](#)) herhangi bir *in vivo* test yapmadan önce mevcut tüm bilgilerin (fiziko-kimyasal özellikler dahil) değerlendirilmesi ihtiyacını vurgulamaktadır. Bu strateji, aşındırıcı ve ciddi şekilde tahriş edici maddelerin *in vivo* testlerinden mümkün olduğunca kaçınmak için tasarlanmış tarama öğeleri kullanır. Özellikle, *in vitro* testler genellikle ilk olarak gerçekleştirilmeli ve *in vivo* testlerden tamamen kaçınılıp kaçınılamayacağı değerlendirilmelidir.

In vitro veriler

Ciddi göz hasarını (SEA Yönetmeliği altında Kategori 1) ve/veya ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırma gerektiren etkilerin bulunmamasını (yani SEA kapsamında sınıflandırılmamış) belirlemek için kabul edilen *in vitro* test yöntemleri [Tablo R.7.2-4](#)'te listelenmiştir. Bu testlerin özel kapsamı ve sınırlamaları hakkında daha fazla bilgi, Bölüm [R.7.2.9.1](#) içerisinde "Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test verileri" başlığı altında verilmektedir.

Tablo R.7.2-4 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için kabul edilen *in vitro* test yöntemleri

Test yöntemi	Doğrulama durumu, düzenleyici kabul	Test Yöntemi /OECD test rehberi	SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırma	EURL ECVAM DB-ALM protokol no.
Ciddi göz hasarı / göz tahrişi				
BCOP	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.47 / OECD Test Rehberi 437	Kat. 1 veya Sınıflandırılmamış	98, 124
ICE	Doğrulanmış ve yasal kabul	B.48 / OECD Test Rehberi 438	Kat. 1 veya Sınıflandırılmamış	80
FL	Doğrulanmış ve yasal kabul	Uygulanamaz / OECD Test Rehberi 460	Kat. 1	71

	STE	Doğrulanmış ve yasal kabul	Uygulanamaz / OECD Test Rehberi 491	Kat. 1 veya Sınıflandırılmamış	Uygulanamaz.
	RhCE	Doğrulanmış ve yasal kabul	Uygulanamaz / OECD Test Rehberi 492	SY	Uygulanamaz.
	CM ⁴¹	Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerliliği kabul edilmiş	Uygulanamaz / OECD taslak Test Rehberi mevcut ve kabul için değerlendiriliyor	Kat. 1 veya Sınıflandırılmamış	130
	Göz Irritaction® Analizi ⁴²	Doğrulanmış	Uygulanamaz / Uygulanamaz	Kat. 1	157
KKDİK kapsamında mevcut durumda sınırlı uygulamaya sahip test yöntemleri					
	IRE ⁴³	doğrulanmış	Uygulanamaz / Uygulanamaz	Kat. 1	85
	HET-CAM ⁴³	Doğrulanmış	Uygulanamaz / Uygulanamaz	Kat. 1	47, 96

NOT: Doğrulama alıştırması sırasında EURL ECVAM, SkinEthic™ İnsan Kornea Epitelinin (HCE) ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırılmamış maddeleri tanımlamak üzere yeterince hassas olmadığı sonucuna varmıştır,

⁴¹ CM test yöntemi EURL ECVAM tarafından doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilmiştir (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/validation-regulatory-acceptance/topical-toxicity/eye-irritation>; bölüm 1.2) ve ayrıca ICCVAM tarafından da incelenmiştir (<http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=807EF83B-92CC-9A6C-3FFE8725DF1F9F5D>); Taslak OECD Test Rehberine şu adresten erişilebilir: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/section4healtheffects.htm>.

⁴² Göz Irritaction® Analizi, In Vitro International (yöntem geliştiricisi) ve INT.E.G.RA (Eskes ve ark., 2014) sponsorluğunda ileriye ve geriye yönelik harici bir doğrulama çalışmasından geçmiştir ve ciddi göz hasarına (SEA Kategori 1) neden olan ve göze zararlılık için sınıflandırma gerektirmeyen maddelerin tanımlanması için uygun bir test yöntemi gibi görünmektedir. Geliştirici tarafından, test yönteminin, bir doğrulama çalışmasının sonucuna dayalı olarak ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırılmamış maddelerin tanımlanması amacıyla uygun olduğu da önerilmiştir. Ancak, doğrulama çalışmasının bağımsız uzman incelemesi hala beklenmektedir ve bu nedenle test yönteminin nihai uygulanabilirliğinin hala doğrulanması gerekmektedir. Bu nedenle, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırma gerektirmeyen maddeyi doğru bir şekilde tanımlamak için test yönteminin bilimsel geçerliliği onaylanmadan önce, negatif sonuçlardan sınıflandırma sonuçları çıkarılamaz.

⁴³ IRE ve HET-CAM test yöntemleri ile ilgili olarak, 2007 ve 2010'da yapılan ICCVAM doğrulama değerlendirmelerinde, bu test yöntemlerinin düzenleyici kullanım için yeterince doğru olmadığını veya özellikle Kategori 2 kimyasallar için geçerliliklerine ve önerilen ilave çalışmalara ilişkin nihai bir sonuca varmak üzere yeterli veri bulunmadığını belirtilmiştir (<http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/evalatm/test-method-evaluations/ocular/in-vitro/index.html> & <http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/evalatm/test-method-evaluations/ocular/in-vitro-test-methods/index.html>). Yetkili Mercilerin Kararları El Kitabı (EC, 2009), test yöntemlerinin gözlerde ciddi hasara neden olan maddeleri tespit edebildiği sonucuna varmak için yeterli kanıt olduğu sonucuna varmıştır. Bu nedenle, pozitif sonuçlar sınıflandırma amacıyla kullanılabilir, yani SEA Yönetmeliğine göre ciddi göz hasarı için Kategori 1 sınıflandırmasına ve H318 "Ciddi göz hasarına yol açar." etiketlemesine yol açar.

(test yöntemi, doğrulama çalışmasında kabul edilemez sayıda yanlış negatif sonuç üretmiştir) ve test yönteminin geliştirici tarafından optimizasyonu ve daha ileri şekilde doğrulanması önerilmiştir (EURL ECVAM, 2015).

Kısaltmalar: BCOP = Siğir Korneası Opaklığı ve Geçirgenliği; CM = Sitosensör Mikrofizyometre; FL = Floresan Sızıntısı; HET-CAM = Korrioallantoik Zarda Tavuk (Hen) Yumurtası Testi ; ICE = İzole edilmiş Tavuk Gözü; IRE = İzole edilmiş Tavşan Gözü; N.A. = uygulanamaz; NC = sınıflandırılmamış; RhCE = Yeniden Yapılandırılmış İnsan Korneası Benzeri Epitel Test Yöntemi; STE = Kısa Süreli Maruz Kalma.

Yukarıda [Tablo R.7.2-4](#) 'te belirtilen test yöntemleri organotipik testler (BCOP, ICE, IRE ve HET-CAM), sitotoksosite ve hücre fonksiyonuna dayalı testler (CM, FL ve STE), yeniden yapılandırılmış insan korneası benzeri epitel testleridir (RhCE) veya in chemico analizlerdir (Göz Irritaction®). Bu test yöntemleri esas olarak maddelerin kornea üzerindeki anlık etkilerinin modellenmesiyle ilgilidir. Yukarıda belirtilen optimize edilmiş protokoller tarafından kapsanmayan *in vivo* göz tahrişi sonlanma noktaları şunlardır:

- i. etkilerin kalıcılığı/tersinirliği
- ii. korneada renk bozukluğu⁴⁴

Etkilerin kalıcılığı ve tersinirliği ile ilgili olarak, BCOP (OECD Test Rehberi 437) ve ICE (OECD Test Rehberi 438) için OECD Test Rehberleri ve OECD Rehberi 160 (OECD, 2011), kornea hasarının daha eksiksiz bir karakterizasyonu gerekli olduğunda korneaların histopatolojik incelemesinin potansiyel olarak yararlı olabileceğini belirtmektedir. Histopatolojinin, ICE test yöntemiyle birlikte kullanıldığında aşırı pH değerine sahip olmayan deterjan ve temizlik ürünlerinin oluşturduğu tersinir olmayan etkilerin tanımlanmasını destekleyebileceğini gösteren bazı kanıtlar yayınlanmıştır (Cazelle ve ark., 2014). Bununla birlikte, tersinir olmayan etkilerin tanımlanmasına ilişkin histopatolojik değerlendirmenin yararlılığını değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Şu anda SEA kapsamında Göz tahriş edici Kategori 2'nin doğrudan tanımlanması için kullanılabilir, doğrulanmış *in vitro* göz tahrişi test yöntemi bulunmamaktadır.

Farklı göz tahrişi potansiyeli aralıklarını değerlendirmek için halihazırda geliştirilmekte olan ek test yöntemlerine, örnek olarak Ex-Vivo Göz Tahrişi Testi (EVEIT) ve Domuz Kornea Tersinirlik Testi verilebilir (PorCORA). EVEIT ve PorCORA test yöntemleri, sırasıyla izole edilmiş tavşan veya domuz kornealarını kullanan organotipik testlerdir ve tersinir olan ve olmayan (kalıcı) etkileri, kimyasala maruz kalmanın ardından birkaç gün boyunca kültürde tutulan kesilip çıkarılmış kornealardaki iyileşme sürecini doğrudan izleyerek ayırt edebilecekleri önerilmiştir. (Frentz ve ark., 2008; Spöler ve ark., 2010; Piehl ve ark., 2010, 2011).

Uygulanabilirlik alanlarına ve farklı ciddi göz hasarı/göz tahrişi aralıklarında sınıflandırma kapasitelerine göre farklı test yöntemlerini birleştiren Test ve Değerlendirme stratejilerinin (Tablo R.7.2-4'te listelenenlerden ve önceki paragraflarda belirtilenlerden), halihazırda sadece Kategori 1 ve/veya sınıflandırılmamış maddeleri doğrudan tanımlamak için kullanılabilen yöntemler temelinde Kategori 2 maddelerin tanımlanmasını kolaylaştırmak için hala geliştirilmesi gereklidir.

Test yöntemlerinde daha fazla gelişmeler olabilir ve kayıt ettirenlerin potansiyel yeni test rehberleri ve test rehberi güncellemeleri için en son güncellemeleri örn. EURL ECVAM web sitesi (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>) ve ECHA'nın test yöntemleri web sayfası (<http://echa.europa.eu/support/testing-methods-and-alternatives>) yoluyla takip etmeleri önerilir.

⁴⁴ Mevcut *in vitro* Test Rehberleri (yukarıda Tablo R.7.2-4'te listelenmiştir) korneada renk bozukluğunu kapsamaz, ancak bazı test yöntemleri bu etki hakkında göstergeler verebilir.

Hayvan verileri

SEA Yönetmeliği Ek 1, ciddi göz hasarı/göz tahrişini lokal toksik etkiler olarak tanımlar ve bu nedenle ciddi göz hasarı/göz tahrişi değerlendirmesi normalde bir toksisite programının akut test aşamasının bir parçasıdır ve tüm düzenleyici programların erken bir gerekliliğidir. Cilt aşınması/tahrişi için yapılan testler, geçmişte, örneğin testi yapan laboratuvara, alana ve amaçlanan uygulamaya bağlı olarak hayvan modellerini ve çeşitli test metodolojilerini kullanmıştır. Bununla birlikte, KKDİK Yönetmeliğinin amaçlarından birine uygun olarak, Madde 14(1) ve 26(1) ve Ek 6'da açıklandığı üzere, hayvan testleri yalnızca i) mevcut tüm test verileri dikkate alındıktan ve ii) *in vitro* yöntemler, QSAR modelleri, gruplama veya çapraz okuma gibi hayvan testlerine alternatif yöntemlerle mümkün olduğunca bilgi oluşturulduktan sonra son çare olarak yapılmalıdır.

In vivo testlerin gerekli olduğu durumlarda, *in vivo* ciddi göz hasarı/göz tahrişi testi için mevcut yaklaşımlar, Akut Göz Tahrişi/Aşınma test yöntemi (AB/TYY B.5/OECD Test Rehberi 405) kapsamındadır. Bu rehber, önce mevcut ve ilgili verilerin değerlendirildiği kademeli bir yaklaşım tavsiye eder. Rehber ayrıca, hayvanlarda testlerin yalnızca mevcut alternatif yöntemler değerlendirildikten sonra gerekli olduğu belirlenirse yapılmasını önermektedir. *In vivo* test, bir hayvan kullanır (tavşan tercih edilen türdür); şiddetli etkilerin yokluğunda, bunu iki hayvana kadar (toplam maksimum üç hayvan) ilave bir test takip eder.

AB ve OECD yöntemleri, Draize (1944) tarafından geliştirilen puanlama sistemini kullanır. Sınıflandırma için AB kriterleri, maruz kalmadan sonraki ilk 24-72 saatlik süre boyunca elde edilen ortalama doku puanlarına ve gözlemlenen etkilerin tersinir olup olmamasına dayanmaktadır. Mevcut durumda, *tahriş ediciler* (Kategori 2 Göz tahriş ediciler) gözde önemli yangıya (konjunktiva kızarıklığı/ödemi, kornea ve/veya iris) neden olur, ancak bu etki geçicidir, yani etkilenen bölgeler testin gözlem süresi içinde onarılır. Kornea ve/veya iriste önemli hasara neden olan bir madde, Ciddi Göz Hasarı için Kategori 1 içerisinde sınıflandırılır. Ciddi Göz Hasarı için Kategori 1'deki sınıflandırma kriterleri, etkilerin kalıcılığını (normalde 21 günlük bir gözlem süresi içinde tersinir olması beklenmeyen veya tamamen tersinir olmamış, yani > 0 puana sahip, kornea, iris veya konjunktiva üzerindeki etkiler), gözün tersinir olmayan şekilde boyanması ve/veya ciddiyet derecesi için kriterleri içerir.

Mevcut veriler için, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin Ekinde belirtilenler dışındaki yöntemlerin veya tavşan Düşük Hacimli Göz Testi (LVET) (Griffith ve ark., 1980) gibi karşılık gelen OECD yöntemlerinin kullanımı, duruma göre kabul edilebilir (ayrıca bkz. ESAC, 2009).

R.7.2.8.2 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan verileri

Mevcut insan verileri, maddelerin içsel zararlılığı değerlendirirken dikkate alınması gereken geçmiş verileri içerir. Zararlılık tanımlama amacıyla insanlarda *yeni* testler, etik nedenlerden dolayı kabul edilemez.

Mevcut veriler vaka raporlarından, zehir bilgi merkezlerinden, tıbbi kliniklerden, mesleki deneyimlerden, epidemiyolojik çalışmalardan ve gönüllü çalışmalardan elde edilebilir. Zararlılık değerlendirmesi için kaliteleri ve uygunlukları eleştirel olarak gözden geçirilmelidir. Bununla birlikte, genel olarak, insan verileri bir maddenin aşındırıcı veya tahriş edici potansiyelini belirlemek için kullanılabilir. Kaliteli ve ilgili insan verileri, diğer verilere göre önceliğe sahiptir. Bununla birlikte, insanlarda görülme sıklığının olmaması, *in vitro* verileri veya pozitif olan iyi kalitede mevcut hayvan verilerini geçersiz kılmaz.

R.7.2.9 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.2.9.1 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan dışı veriler

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal özellikler

Mevcut AB, Türkiye ve OECD rehberlerine göre, maddelerin fiziko-kimyasal özelliklerinden cilt için aşındırıcı (SEA Kategori 1) oldukları veya ciddi göz hasarına (SEA Kategori 1) neden oldukları tahmin ediliyorsa, hayvanlar üzerinde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için test gerçekleştirilmemelidir. Özellikle, çözeltide güçlü asitlik ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baziklik ($\text{pH} \geq 11.5$) sergileyen maddelerin cilt için aşındırıcı olduğu veya ciddi göz hasarına neden olduğu tahmin edilmektedir ve hayvanlar üzerinde test yapılmamalıdır. Yine de, *in vitro* yöntemlerle testler, sınıflandırma kararlarını doğrulamak için yapılabilir (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.3.2.3).

Cildi aşındırdığı bilinen veya tahmin edilen bir maddenin Ciddi Göz Hasarına (Kategori 1) neden olduğu değerlendirilebilir. Bununla birlikte, pH ara bir değerde olduğunda ($2.0 < \text{pH} < 11.5$ olduğunda) ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyeli ile ilgili bir sonuca varılamaz. Aşırı pH düzeyinin bir maddenin "ciddi göz hasarı" için sınıflandırılmasının tek dayanağı olduğu durumlarda, asit/alkali rezervini, yani bu maddenin tamponlama kapasitesinin ölçüsünü dikkate almak da önemli olabilir (Young ve ark., 1988; Young ve How, 1994). Ancak, tamponlama kapasitesi, maddeyi aşındırıcı olarak sınıflandırılmaktan muaf tutmak için tek başına kullanılmamalıdır. Aslında, asit/alkali rezervi maddenin ciddi göz hasarına yol açmayabileceğini gösterdiğinde, daha fazla *in vitro* test düşünülmelidir (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.3.2.3).

Gruplandırma, (Q)SAR ve uzman sistemler

Düzenleyici kullanım için nicel yapı aktivite ilişkilerinin nasıl uygulanacağına dair Avrupa Kimyasallar Bürosu (ECB) (Worth ve ark., 2005) tarafından rehber geliştirilmiştir. (Q)SAR modellerinin geçerliliğinin ve uygunluğunun ve bunların tahminlerinin yeterliliğinin nasıl değerlendirileceğine dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6, Bölüm R.6.1'de verilmektedir. Temelde, bir (Q)SAR sonucunun bir test sonucunun yerini almak için kullanılıp kullanılmayacağına belirlenmesi üç ana adıma ayrılabilir:

1. modelin bilimsel geçerliliğinin (uygunluk ve güvenilirlik) değerlendirilmesi,
2. modelin ilgili kimyasala uygulanabilirliğinin ve model tahmininin güvenilirliğinin bir değerlendirilmesi,
3. eksiksizlik değerlendirmesi de dahil olmak üzere, düzenleme kararını vermek için bilgilerin yeterliliğinin bir değerlendirmesi, yani bilginin düzenleme kararını vermek için yeterli olup olmadığı ve değilse, hangi ek (deneysel) bilgiye ihtiyaç olduğu.

Model geçerliliğinin değerlendirilmesinin, (Q)SAR doğrulama (OECD, 2007) için OECD ilkeleri doğrultusunda gerçekleştirilmesi gerekir (örn. tanımlanmış bir sonlanma noktası, kesin bir algoritma, tanımlanmış bir uygulanabilirlik alanı, istatistiksel özellikler ("uyumun iyiliği") ve mekanik yorumlama açısından).

Bireysel bir tahminin güvenilirliği değerlendirilirken, diğerlerinin yanı sıra aşağıdaki sorular ele alınmalıdır:

- i. Modelin tanımlanan uygulanabilirlik alanına göre, ilgilenilen kimyasal model kapsamında mı?

- ii. Tanımlanan uygulanabilirlik alanı düzenleyici amaca uygun mu?
- iii. Model, ilgilenilen kimyasala benzer kimyasalları ne kadar iyi tahmin ediyor?
- iv. Model tahmini diğer bilgiler de dikkate alındığında mantıklı mı?

Ciddi göz hasarı/göz tahrişinin mekanizması, toksikodinamik ve toksikokinetik parametreleri içerir. Bazı modeller, yalnızca toksikodinamik özelliklere (örn. asitlik veya bazlık, elektrofiliklik, diğer reaktivite, yüzey aktif madde aktivitesi, membran çözücü) dayalı olarak ciddi göz hasarı ve göz tahrişini öngörür. Bu tür modellerin ayrıca gözün ilgili dış zarlarını (kornea) geçme ve alttaki canlı dokuda aktif olma potansiyeli ile ilgili toksikokinetik parametreleri de hesaba katıp katmadıklarını kontrol etmek için ek olarak değerlendirilmesi gerekir; alternatif olarak, bu modeller, bu tür toksikokinetik parametreleri kapsayan verilerle kombinasyon halinde kullanılmalıdır. Tersine, bazı modeller ciddi göz hasarı/göz tahrişini (veya olmamasını) yalnızca örn. bir maddenin toksikokinetik davranışını gösterdiği düşünülen fiziko-kimyasal özelliklerden tahmin eder. Bu tür modeller, maddenin aktivitesini (toksikodinamik), özellikle (aşındırıcı etkinin kendisinin membran tahribatınave ardından doku hasarına yol açabileceği) ciddi göz hasarına neden olma potansiyelini de hesaba katıp katmadıklarını kontrol etmek için değerlendirilmelidir.

Örneğin, Toxtree ve OECD QSAR Araç Kutusunda uygulanan BfR kural tabanı, hem fiziko-kimyasal dışlama kurallarını hem de yapıya dayalı dahil etme kurallarını (yapısal uyarılar) içerir. Göz tahrişinin tahmini/hariç tutulması için bu kuralların değerlendirmeleri (Tsakovska ve ark., 2005, yapısal uyarılar hakkında; Tsakovska ve ark., 2007, fiziko-kimyasal dışlama kuralları hakkında) (Q)SAR doğrulama için OECD ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir (bkz. [Ek R.7.2-3](#)). Ancak dahil etme ve hariç tutma kuralları ayrı ayrı değerlendirilmiş ve bu çalışmalarda bir arada kullanılmamıştır.

Bu iki kural dizisi uygulandığında bazen çelişkili bilgiler sağlayabilir, yani yapısal bir uyarı ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelini gösterebilirken aynı zamanda fiziko-kimyasal özelliklere dayalı olarak etkinin olmayacağı tahmin edilebilir. Bu gibi durumlarda, ek bilgilerin dikkate alınması önerilir (örneğin kimyasal olarak benzer maddelerin davranışı hakkında). Diğer durumlarda, fiziko-kimyasal hariç tutma kurallarından birinin (veya daha fazlasının) uygulanabilirliği, hedef maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelinin olmadığını gösterebilirken, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için yapısal bir uyarı tetiklenmez. Bilinen herhangi bir yapısal uyarının bulunmamasının potansiyel bir etkinin olmamasına eşdeğer olmadığı göz önüne alındığında, böyle bir durumda madde potansiyel olarak reaktif alt yapılar açısından incelenmelidir (ve kimyasal analogların davranışını incelemek yine faydalı olacaktır).

Bu hususlar, doğrudan sınıflandırma/sınıflandırmama için BfR kural tabanının kullanımı için geçerli olsa da, örneğin daha ileri *in vitro* testlere ilişkin bir karar için daha az kesinlik gerekli olabilir: hariç tutma kuralları bir etkinin olmadığını gösterdiğinde aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenebilir, yani bir göz tahrişi testi başlatılabilir ve ciddi göz hasarı için bir test başlatılmayabilir (bkz. [Bölüm R.7.2.11.2](#)).

Etkilerin bulunmamasını yeterince açıklayan başka bir model yoktur. Nötr organik maddelerin⁴⁵ tahriş edici olmaması beklenmektedir. Öngörülen reaktivite yokluğu, yeterli ayrıntıyla açıklanmalı veya diğer bilgilerle doğrulanmalıdır.

⁴⁵ Tanım olarak nötr bir organik madde, cilt metabolizmasından sonra bile potansiyel reaksiyon merkezleri olmayan bir kimyasaldır.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test verileri

In vitro veriler

Maddelerin ciddi göz hasarına neden olan maddelerin sınıflandırılabilirliği veya sınıflandırılmayacağı AB ve OECD tarafından benimsenmiş test rehberleri vardır (bkz. Bölüm [R.7.2.8.1](#)).

KKDİK Yönetmeliği Ek 7, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için aşağıda belirtilen *in vitro* testlerden bilgi gerektirir ve hayvan testlerinden bilgi gerektirmez. Ek 8 gerekliliklerini yerine getirmek için *in vitro* verilerin nasıl kullanılabilirliğine dair rehberlik bu belgede Bölüm [R.7.2.11](#) içerisinde verilmektedir.

Aşağıdaki test türlerinden elde edilen veriler kullanılabilir:

- **Sığır Korneası Opaklığı ve Geçirgenliği (SKOG) test yöntemi** (AB/TYY B.47/OECD Test Rehberi 437): Özel kapsam ve sınırlamalar şunlardır:
 - Bu test, ciddi göz hasarına neden olan maddeleri, yani SEA Yönetmeliği kapsamında Göz Hasarı Kategori 1 içerisinde sınıflandırılacak maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için ve ayrıca göz tahrişi veya ciddi göz hasarı için sınıflandırma gerektirmeyen, yani SEA kapsamında sınıflandırılmamaya yol açan maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için önerilir;
 - Test sonucunda, madde SEA kapsamında "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırılmamışsa veya sınıflandırma gerektirmiyorsa, daha fazla test/değerlendirme gereklidir;
 - Bu test, alkoller ve ketonlar için yanlış pozitif Kategori 1 tahminler (ciddi göz hasarı) ve yalnızca etkilerin kalıcılığına dayalı olarak *in vivo* "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırılacak maddeler (yani, ilk 3 gözlem gününden elde edilen ortalama puanlara dayalı olarak Kategori 1 sınıflandırma kriterlerini karşılamayan ancak 21. gözlem gününde kalıcı etkiler gösteren) için yanlış negatif tahminlerle (olduğundan düşük tahmin edilen Kategori 1 maddeler) sonuçlanabilir. (Adriaens ve ark., 2014; OCED, 2013). "Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* test yöntemleri" için Bölüm [R.7.2.8.1](#) de incelenmelidir;
 - Bu test, gazların ve aerosollerin test edilmesine izin vermez.
- **İzole edilmiş Tavuk Gözü (ICE) Test Yöntemi** (AB/TYY B.48/OECD Test Rehberi 438): Özel kapsam ve sınırlamalar şunlardır:
 - Bu test, ciddi göz hasarına neden olan maddeleri, yani SEA Yönetmeliği kapsamında Göz Hasarı Kategori 1 içerisinde sınıflandırılacak maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için ve ayrıca göz tahrişi veya ciddi göz hasarı için sınıflandırma gerektirmeyen, yani SEA kapsamında sınıflandırılmamaya yol açan maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için önerilir;
 - Test sonucunda, madde SEA kapsamında "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırılmamışsa veya sınıflandırma gerektirmiyorsa, daha fazla test/değerlendirme gereklidir;
 - Yukarıda SKOG testi için belirtildiği gibi, yanlış pozitif ve yanlış negatif tahminlere ilişkin benzer sınırlamalar bu test yöntemi için de geçerlidir;
 - Bu test, gazların ve aerosollerin test edilmesine izin vermez.

- **Floresan Sızıntısı (FL) test yöntemi** (OECD Test Rehberi 460): Özel kapsam ve sınırlamalar şunlardır:
 - Bu test, ciddi göz hasarına neden olan maddeleri, yani SEA kapsamında Göz Hasarı Kategori 1'de sınıflandırılacak maddeleri daha fazla test yapılmadan belirlemek için önerilir;
 - Bu test, "Göz tahriş edici maddeler Kategori 2" olarak sınıflandırılması gereken maddelerin veya ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için sınıflandırılmaması gereken maddelerin tanımlanması için önerilmez;
 - Bu test yalnızca suda çözünür maddelerde ve/veya toksik etkinin seyreltmeden etkilenmediği durumlarda geçerlidir;
 - Uygulanabilirlik alanı, güçlü asitleri ve bazları, hücre sabitleyicileri ve çok uçucu maddeleri içermez;
 - Test sonucunda madde SEA kapsamında "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırılmamışsa, daha fazla test/değerlendirme gereklidir.
- **Kısa Süreli Maruz Kalma (STE) test yöntemi** (OECD Test Rehberi 491): Özel kapsam ve sınırlamalar şunlardır:
 - Bu test, ciddi göz hasarına neden olan maddeleri, yani SEA Yönetmeliği kapsamında Göz Hasarı Kategori 1 içerisinde sınıflandırılacak maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için ve ayrıca göz tahrişi veya ciddi göz hasarı için sınıflandırma gerektirmeyen, yani SEA kapsamında sınıflandırılmamaya yol açan maddeleri, daha fazla test yapılmadan tanımlamak için önerilir;
 - Test sonucunda, madde SEA kapsamında "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırılmamışsa veya sınıflandırma gerektirmiyorsa, daha fazla test/değerlendirme gereklidir;
 - Uygulanabilirlik alanı, yüzey aktif maddeler ve sadece yüzey aktif maddelerden oluşan karışımlar dışında, buhar basıncı 6 kPa'nın üzerinde olan son derece uçucu maddeler ve katı maddeleri (maddeler veya karışımlar) içermez.
- **Yeniden Yapılandırılmış İnsan Korneası Benzeri Epitel (RhCE) Test Yöntemi** (OECD Test Rehberi 492): Özel kapsam ve sınırlamalar şunlardır:
 - Bu test, göz tahrişi veya ciddi göz hasarı için sınıflandırma gerektirmeyen maddeleri belirlemek için önerilir.
 - Bu test, göz tahriş edicilerin (Kategori 2) veya ciddi göz hasarına neden olan maddelerin (Kategori 1) tanımlanması için önerilmez.
 - MTT formazan ile aynı aralıktaki ışığı emen maddeler ve yaşamsal boya MTT'yi (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolyum bromür, Tiyazolil mavisi) MTT formazana doğrudan indirgeyebilen maddeler doku canlılığı ölçümleri ile etkileşim gösterebilir. Canlılık ölçüm tekniği ile test maddesi etkileşimini saptamak ve düzeltmek için ek kontroller kullanılmalıdır (daha fazla ayrıntı için bkz. OECD Test Rehberi).
 - Bu test, gazların ve aerosollerin test edilmesine izin vermez.

Yukarıda belirtilen test yöntemlerinden elde edilen sonuçların yanı sıra, bir maddeyi SEA Yönetmeliğine göre "Göz Hasarı Kategori 1" olarak sınıflandırmak için beş *in vitro* testten (IRE, HET-CAM, CM, STE, Göz Irritaction™ analizi) birinden pozitif sonuç (Ciddi Göz Hasarı Kategori 1) da kabul edilmektedir. Maddenin test yönteminin uygulanabilirlik alanına girmesi durumunda, CM test yöntemi ile elde edilen test verilerine dayalı olarak negatif bir sonuç, yani SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırılmamaya yol açan bir sonuç da bilgi gerekliliğinin karşılanması için kabul edilebilir.

Şu anda Kategori 2 Göz tahriş edicilerin doğrudan tanımlanması için doğrulanmış *in vitro* yöntemler bulunmamaktadır.

- **Mevcut *in vitro* verilerin kalite hususları:**

Gelecekteki olası *Kanıt Ağırlığı* hususlarına temel oluşturacak mevcut *in vitro* verilerin kalite değerlendirmesi için, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.4, Bölüm R.4.4 ve bu tür bir *Kanıt Ağırlığı*nda göz önünde bulundurulması gereken hususlar için [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.5, Kısım R.5.2.1.2 incelenmelidir.

Hayvan verileri

İyi belgelendirilmiş çalışmalar, özellikle İyi Laboratuvar Uygulamaları ilkelerine uygun olarak yürütülürse, ciddi göz hasarına veya göz tahrişine neden olduğu veya neden olmayacağı düşünülen maddeleri belirlemek için kullanılabilir. Halihazırda mevcut olan ve hiçbirisi bir OECD Test Rehberi veya Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin Ekindeki gibi bir test yöntemine tam olarak eşdeğer olmayan birkaç ciddi göz hasarı/göz tahrişi çalışması olabilir. Böyle bir grup araştırmanın sonuçları tutarlıysa, bunlar birlikte maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyeli hakkında yeterli bilgi sağlayabilir.

Aşağıda verilen kriterlere dayalı olarak verilerin değerlendirilmesi için çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlar net değilse, kayıt ettirenin hangi çalışmaların en güvenilir, söz konusu sonlanma noktası ile ilgili ve sınıflandırma amaçları için yeterli olduğuna karar vermesi gerekecektir.

Sınıflandırmaya yol açmayanlar da dahil olmak üzere tahriş etkilerinin kalıcılığına özel dikkat gösterilmelidir. Kalıcı kornea opaklığı, bir boya maddesiyle korneada renk bozukluğu, yapışma, pannus gibi etkiler ve iris işlevine müdahale veya görme bozukluğuna neden olan, test süresi içinde tersinir olmayan diğer etkiler, bir maddenin insan gözüne kalıcı zarar vereceğine işaret edebilir.

Cilt aşınması/tahrişi dışındaki çalışmalardan elde edilen veriler (örn. cildin lokal tepkilerinin bildirildiği maddeye ilişkin diğer toksikolojik çalışmalar) yararlı bilgiler sağlayabilir, ancak bunlar, örneğin, cilt tahrişi hakkında bilgiler için temel gereklilikler ile ilgili olarak iyi bir şekilde raporlanmamış olabilir.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi dışındaki çalışmalardan elde edilen veriler (örn. gözün lokal tepkilerinin bildirildiği maddeye ilişkin diğer toksikolojik çalışmalar) yararlı bilgiler sağlayabilir, ancak bunlar, örneğin, göz tahrişi hakkında bilgiler için temel gereklilikler ile ilgili olarak iyi bir şekilde raporlanmamış olabilir. Daha da önemlisi, ciddi göz hasarını/göz tahrişini ele almak için özel olarak tasarlanmamış çalışmalarda göz reaksiyonları ve belirtileri sistematik olarak puanlanmamıştır.

- **Mevcut *in vivo* verilerin kalite hususları:**

Hayvanlarda **mevcut** tahriş çalışmalarından elde edilen veriler, ilave testler düşünülmeden önce dikkate alınmalıdır. Bu tür raporların kalite değerlendirmesi, örneğin Klimisch ve ark. tarafından geliştirilen sistem kullanılarak yapılmalıdır (1997) ([BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.4, Bölüm R.4.2'de açıklandığı gibi) ve daha fazla testin gerekip gerekmediğine dair bir yargıya varılması gerekecektir. Dikkat edilmesi gereken bazı örnekler şunlardır:

- i. Kullanılan hayvan türü tavşanı mıdır yoksa sıçan veya fare gibi başka bir tür müdür? Normalde, göz tahrişi testi için tavşan kullanılır.
- ii. Kaç hayvan kullanılmıştır? Mevcut metodoloji, ardışık olarak test edilen en fazla 3 hayvan gerektirir (test edilen birinci veya ikinci hayvanda sırasıyla ciddi göz hasarı/tersinir olmayan etkiler gözlemlenirse 1 veya 2 hayvan yeterlidir), ancak geçmişte sıklıkla 6 hayvan kullanılmıştır (3'ten fazla hayvanla gerçekleştirilen testlerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.3.2.3.2.2).
- iii. Kaç doz seviyesi kullanılmıştır? Seyreltmeler dahil edilmişse, hangi çözücü kullanılmıştır (çünkü bu emilimi etkilemiş olabilir)? Hangi doz hacmi kullanılmıştır?
- iv. Maruz kalma sonrasında kullanılan gözlem süresi kontrol edilmelidir. Mevcut rehberdekinden daha kısa süreler, tahriş edici olmayan maddeler için yeterli olabilir ancak gözlem süresi tam iyileşmeyi ölçmek için çok kısa olduğunda tahriş edici maddeler için daha ciddi bir sınıflandırma gerektirebilir.
- v. İlk ağrı test maddesinin göze damlatılmasından sonra mı fark edilmiş? Madde gözden yıkanmış mı? Floresan boya kullanılmış mı?
- vi. Test malzemesi göze nasıl uygulanmış?

Eski raporlardan, ABD'de veya yayınlarda yasal sunum için oluşturulan raporlardan alınan tahriş puanları, Maksimum Ortalama Değer (MAS) olarak ifade edilebilir. Orijinal veriler olmadan, bu puanları AB içerisinde kullanılan puanlama sistemine doğru bir şekilde dönüştürmek her zaman mümkün değildir. Aşırı durumlar için, yani tahrişin olmadığı veya şiddetli tahriş olan durumlarda daha ileri bakmak gerekli olmayabilir, ancak ortalama tahriş puanları bir sorun teşkil edebilir ve tekrarlı testten kaçınmak için uzman kararı gerekebilir.

Yukarıdakiler gibi gözlemlerin tümü, mevcut hayvan test raporunun bir maddenin tahriş potansiyelini güvenilir bir şekilde tahmin etmek için kullanılıp kullanılmayacağını değerlendirmek ve böylece daha fazla test yapılmasını önlemek için kullanılabilir.

- **Özel hususlar:**

Klasik Draize testinin geliştirilmiş bir hali, tavşan düşük hacimli göz testidir (LVET). Test protokolü, LVET içerisinde 10 µl'nin doğrudan korneaya uygulanmasıyla OECD Test Rehberi 405'ten farklılık göstermektedir. LVET içerisindeki derecelendirme ölçeği ve veri yorumlaması, OECD Test Rehberi 405'te kullanılanlarla tamamen aynıdır. Tavşan düşük hacimli göz testinin geçerliliği, 2006 ve 2009 yılları arasında EURL ECVAM tarafından, deterjan ve temizlik ürünleri uygulanabilirlik alanı için geriye dönük doğrulama yoluyla gözden geçirilmiştir (daha fazla ayrıntı için bkz. <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/validation-regulatory-acceptance/topical-toxicity/eye-irritation>). Tavşan ve insan gözleri için anatomik ve fizyolojik hususlar, 10 µl'lik bir doz hacminin uygun olduğunu göstermektedir (AISE 2006): hem tavşanda hem de insanda gözyaşı hacmi yaklaşık olarak aynıdır (~ 7-8 µl) ve göz kırptıktan sonra insan gözündeki hacim kapasitesi ~ 10 µl'dir. Ayrıca, doğrudan korneanın maruz kalmasının kullanılması, makul bir şekilde beklenebilecek (örneğin, ev kullanımı sırasında kazayla göz maruz kalması) ve ev tipi deterjanların ve temizlik ürünlerinin ve ayrıca bu ürünlerde kullanılan ana bileşenlerin (yüzey aktif maddeler) özel kullanım alanına yönelik insan maruz kalma senaryolarını taklit eder. Bu hususlar, tavşan düşük hacimli göz testinin, maddelerin potansiyel göze zararlılıklarının insanlar üzerindeki toksikolojik etkilerini göstermek üzere potansiyel olarak uygun bir test olduğunu göstermektedir. LVET, endüstride tekli maddelerin (Griffith ve ark., 1980) ve deterjan ve temizlik ürünlerinin (Freeberg ve ark., 1984; Freeberg ve ark. 1986a, b; Cormier ve ark., 1995; Roggeband ve ark., 2000) güvenlik değerlendirmesi için kullanılmıştır ve insanlar üzerindeki etkilerin çok iyi bir öngörücüsü olduğu gösterilmiştir.

Hâlâ olduğundan fazla tahmin vermektedir, ancak OECD Test Rehberi 405'in klasik Draize testinden daha düşüktür.

Uzman incelemesinden sonra, LVET ileriye dönük kullanım için, yani yeni veriler oluşturmak için tavsiye edilmemiştir, ancak yukarıda bahsedilen sınırlı kullanım alanına ait mevcut LVET verilerinin sınıflandırma ve etiketleme kararları için kullanılabilmesi kabul edilmiştir. Ayrıca, bu sınırlı kullanım alanına ait mevcut LVET verilerinin gelecekteki doğrulama çalışmaları için tamamlayıcı veriler olarak kullanılabilmesi kabul edilmiştir. Bununla birlikte, LVET testini daha fazla geliştirmek veya doğrulamak için hiçbir ek test yapılmamalıdır. Tavşan düşük hacimli göz testinin OECD Test Rehberi 405 ile karşılaştırıldığında daha düşük zararlılık kategorilerinde sınıflandırma eğiliminde olduğu da belirtilmiştir. Bununla birlikte, bu verilerin, ev tipi deterjanlar, temizlik ürünleri ve bu tür ürünlerde kullanılan yüzey aktif maddeler için test verileri açısından durum bazında hala faydalı olabileceği kabul edilmiştir (ESAC, 2009).

Özet olarak, maddeler hakkında tavşan düşük hacimli göz testinden elde edilen mevcut veriler göz önüne alınmalı ve dikkatlice değerlendirilmelidir. Maddelerin sınıflandırılması için, testin sınırlı bir uygulanabilirlik alanına (deterjan ve temizlik ürünleri) sahip olduğu dikkate alınmalıdır. Sonuç olarak, ev tipi deterjanların, temizlik ürünlerinin ve bunların ana bileşenlerinin uygulanabilirlik alanı dahilinde, pozitif LVET verileri (Kategori 2 veya Kategori 1), ciddi göz hasarı veya göz tahrişi için uygun sınıflandırma amacıyla kullanılabilir, ancak LVET negatif verileri *bağımsız bir yöntem* olarak (başka herhangi bir bilginin yokluğunda) *sınıflandırmama* için kesin değildir.

R.7.2.9.2 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine insan verileri

Farklı kaynaklardan iyi belgelenmiş *mevcut* insan verileri, bazen çeşitli maruz kalma seviyeleri için ciddi göz hasarı/göz tahrişi hakkında çok yararlı bilgiler sağlayabilir. Genellikle tahriş konusunda mevcut olan tek yararlı bilgi insan deneyimlerinden elde edilir (örn. mesleki ortamlar). Tahrişe ilişkin tüm insan verilerinin yararlılığı, etkinin ve büyüklüğünün ilgili maddeye güvenilir bir şekilde atfedilebileceği dereceye bağlı olacaktır. Deneyimler, madde kaynaklı göz tahrişi hakkında yararlı veriler elde etmenin zor olduğunu göstermiştir, ancak belirli karışım türlerine karşı insanların göz tepkileri hakkında veriler mevcut olabilir (örn., Freeberg ve ark., 1986a).

Zararlılık değerlendirmesi için mevcut insan verilerinin kalitesi ve uygunluğu eleştirel olarak gözden geçirilmelidir. Örneğin, karışık maruz kalmayla ilgili mesleki çalışmalarda, ciddi göz hasarına veya göz tahrişine neden olan maddenin doğru bir şekilde tanımlanmış olması önemlidir. Zayıf raporlama ve maruz kalmayla ilgili özel bilgi eksikliği nedeniyle insan verilerinde önemli düzeyde belirsizlik olabilir.

Mevcut insan verilerinin tahriş için zararlılık sınıflandırmasında nasıl kullanılabilmesine dair örnekler, bir ECETOC monografında verilmiştir (ECETOC, 2002).

Ciddi göz hasarı Kategori 1'e neden olan maddeler, Göz tahriş edici Kategori 2 maddelerden daha şiddetli kornea opaklığı ve irite yol açar. Kategori 1 maddeler, ciddi fiziksel görme bozukluğuna yol açabilecek önemli doku hasarına neden olur. Bu tür şiddetli lezyonların genellikle 21 gün içinde (hayvanlarla ilgili) tersinir olmadığı kabul edilmektedir (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.3). Bunun tersine, Kategori 2 maddelerin etkileri 21 gün içinde geri döndürülebilir. İnsanlarda, bir doktor tarafından yapılan bir göz muayenesi, görme bozukluğunu ortaya çıkaracaktır. Geçici değilse ve kalıcı ise, Kategori 1 içerisinde sınıflandırmayı ifade eder. Kategori 1 ve Kategori 2 arasındaki ayrım açık değilse, Kategori 1 seçilebilir, ancak sonucu desteklemek için başka bilgi türleri (örn. *in vitro* test gerçekleştirerek) de oluşturulabilir (daha fazla bilgi için, bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.3.).

R.7.2.9.3 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için maruz kalma hususları

Maruz kalmaya dayalı testten feragat etme, ciddi göz hasarı/göz tahrişi sonlanma noktaları için geçerli değildir. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 (3) 'de belirtildiği gibi maruz kalmaya dayalı olarak testten feragat edilmesi, KKDİK Yönetmeliğine göre sadece Ek 8, Ek 9 ve Ek 10 Bölüm 8.6 ve 8.7'de listelenen testler için geçerlidir.

R.7.2.9.4 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için kalan belirsizlik

Genellikle bir maddenin ciddi göz hasarına neden olduğunu kesin olarak belirlemek (veya kabul etmek), hangi çalışma türü bilgi sağlarsa sağlasın mümkündür.

Tahriş edici etkilere ilişkin insan verilerinde önemli düzeyde belirsizlik olabilir (örn. zayıf raporlama, az sayıda gönüllü nedeniyle maruz kalmayla ilgili özel bilgi eksikliği, etkilerin öznel veya anekdotsal olarak raporlanması,).

Hayvanlarda yapılan çalışmalardan ve uluslararası kabul görmüş test yöntemlerine göre gerçekleştirilen *in vitro* testlerden elde edilen veriler genellikle bir maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyeli hakkında ilgili bilgileri verecektir. Genel olarak, AB/TYY veya OECD Test Yöntemi uyumlu çalışmalarda hayvanlarda veya *in vitro* olarak ciddi göz hasarına / tahrişine neden olan maddelerin insanlarda ciddi göz hasarı/göz tahrişine neden olacağı varsayılır ve AB veya Test Yöntemi uyumlu çalışmalarda tahriş edici olmayan maddelerin insanlarda tahriş edici olmayacağı varsayılır (genel olarak test hayvanlarının ciddi göz hasarı/göz tahrişine karşı insanlardan daha hassas oldukları kabul edildiği unutulmamalıdır (örn. Adriaens ve ark., 2014)). *In vivo* ciddi göz hasarı/göz tahrişi çalışmasının bazı kısıtlamalarının, yüksek değişkenlik, değişken maruz kalmanın test maddesinin fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olması ve lezyonların öznel derecelendirmesini içerdiği akılda tutulmalıdır (Adriaens ve ark., 2014; Cormier ve ark., 1996; Prinsen, 2006; Marzulli ve Ruggles, 1973; Weil ve Scala, 1971). Ayrıca, bir dizi benzer çalışmadan elde edilen tutarsız sonuçlar, hayvan veya *in vitro* çalışmalardan veri üretmedeki belirsizliği artırmaktadır.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* testlerin kapsamı, Bölüm [R.7.2.9.1](#) içerisinde "Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test verileri" altında açıklandığı gibi bazı sınırlamalara da sahiptir. İlave olarak, iki veya daha fazla *in vitro* testten elde edilen tutarsız sonuçlar, verilerin yorumlanmasındaki genel belirsizliği artırabilir.

R.7.2.10 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine varılan sonuçlar

R.7.2.10.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

SEA Yönetmeliğine göre Sınıflandırma ve Etiketleme konusunda sonuca varmak için, tüm mevcut bilgilerin dikkate alınması ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ve bu rehber doküman boyunca yapılmış çeşitli açıklamaların (Sınıflandırma ve Etiketleme ile ilgili) dikkate alınması gerekir⁴⁶.

⁴⁶ SEA Yönetmeliği özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

R.7.2.10.2 Kimyasal güvenlik değerlendirme uygunluğuna ilişkin sonuç

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bir doz-cevap değerlendirme yapmak zordur, çünkü şimdiye kadar çoğu veri seyreltilmemiş maddeler için, test rehberlerine ve (bugün de devam etmekte olan) geleneksel uygulamalara uygun olarak üretilmiştir. Risk karakterizasyonu açısından, bu nedenle, sınıflandırma prosedürünün sonucunun kullanılması tavsiye edilir, yani sınıflandırılan bir maddenin yeterince karakterize edildiği varsayılır.

Bununla birlikte, eksiksiz bir risk değerlendirme hem zararlılık hem de doz-cevap verisi gerektirir ve lokal etkiler için konsantrasyon genellikle belirleyici doz ölçüsüdür. Sonuç olarak, doz-cevap verileri mevcutsa, bunlar dikkate alınmalıdır (bkz. [Şekil R.7.2-4](#)).

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için DNEL türetme olasılıklarına dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8, Ek R.8-9'da verilmiştir.

R.7.2.10.3 Bilgilerin yeterli olmaması

KKDİK kapsamındaki tonajla tetiklenen bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için, aşağıda Bölüm [R.7.2.11](#) içerisinde açıklanan test ve değerlendirme stratejisi önerilir.

R.7.2.11 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test ve değerlendirme stratejisi

R.7.2.11.1 Amaç / Genel ilkeler

Maddelerin ciddi göz hasarı ve göz tahrişi özelliklerinin değerlendirilmesi/değerlemesi ve sınıflandırılması için yeterli ve bilimsel olarak kapsamlı verilerin geliştirilmesi amacıyla aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi önerilir. Yetersiz veriye sahip maddeler için, bu strateji, halihazırda mevcut olanların yanı sıra hangi ilave verilere ihtiyaç duyulduğuna karar vermek için de kullanılabilir. Test ve değerlendirme stratejisi, mevcut bilgilere dayalı olarak, uygun yerlerde farklı unsurlar kullanımıyla ciddi göz hasarı/göz tahrişinin tanımlanmasını amaçlamaktadır. Stratejinin temel ilkesi, bir çalışmanın veya bir bilgi kaynağının sonuçlarının başka bir çalışma başlatılmadan önce değerlendirilmesidir. Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanmasını sağlamayı amaçlamaktadır.

[Şekil R.7.2-4](#)'de sağlanan farklı unsurlar, bir maddenin göze yönelik zararlılık potansiyeli hakkında sonuca varmak için kullanılacak bilgi kaynaklarını tanımlar. [Şekil R.7.2-5](#)'te açıklanan öğeler, özellikle Bölüm 1'de bulunanlar, uygun şekilde yeniden düzenlenebilir. Bu, özellikle hepsini dikkate almak zorunda kalmadan, belirli unsurlardan bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir. İlgili olduğuna karar verilirse, Bölüm 1'deki öğeler çıkarılabilir ve *in vitro* testler hemen gerçekleştirilebilir.

[Şekil R.7.2-5](#) üç bölüme ayrılmıştır, Bölüm 1 ise, madde hakkında bulunabilecek mevcut bilgileri değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bölüm 1'de açıklanan tekli öğelere dayanılarak bir sonuca varmak mümkün değilse, Bölüm 2'de, bir *Kanıt Ağırlığı* analizinde maddenin zararlılık özellikleri hakkında sonuca varmak için yeterli bilginin olup olmadığını değerlendirmek üzere mevcut bilgiler ve ilgili veriler değerlendirilmelidir. Bölüm 1 ve 2'den bir sonuca varılamaması durumunda, Bölüm 3'te önce ilgili *in vitro* testler gerçekleştirilerek yeni veriler oluşturulmalıdır. *In vivo* testler, yalnızca *in vitro* testlere dayalı olarak herhangi bir sonuca varılamadığında (ve yalnızca yılda 10 ton veya üzerindeki maddeler için) yapılmalıdır.

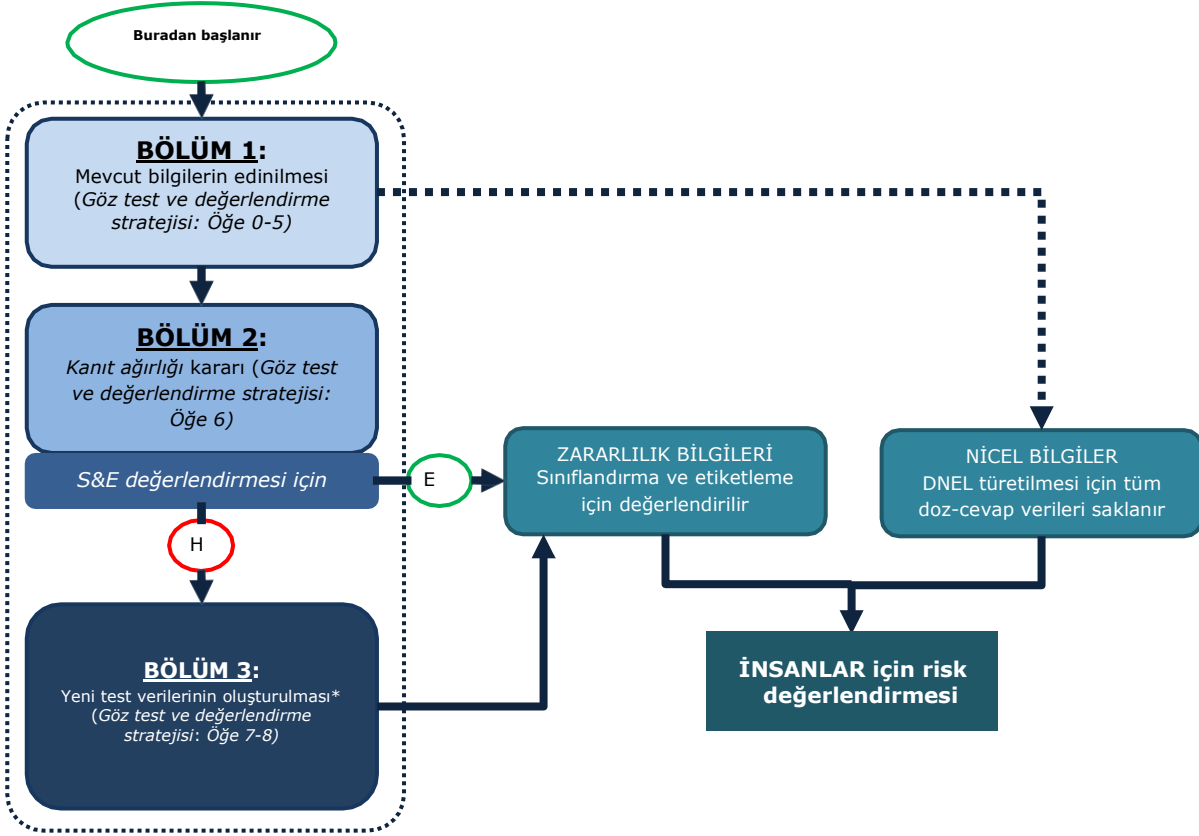
KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10'un 2. sütununda açıklanan şekilde, standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için belirli kurallar ve Ek 11'deki standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için bazı genel kurallar ile testler için bir miktar rehberlik sağlanmıştır.

Bir maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelinin risk değerlendirmesi, normalde maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişine neden olacak şekilde sınıflandırılması koşuluyla nitel bir şekilde yapılır. Mevcut test rehberleri doz-cevap değerlendirmesini içermez, bu nedenle nicel bir analiz genellikle mümkün olmayacaktır. Bu nedenle, zararlılık tanımlama ve uygun sınıflandırma, aşağıdaki bilgi toplama stratejisinde temel belirleyicidir. Sonuç olarak, verilerin belirsizliğini hesaba katmak için *Değerlendirme Faktörlerinin* kullanımı sınırlı kullanıma sahiptir. Bununla birlikte, kayıt ettirenin mevcut test stratejisi bağlamında zararlılık bilgisi edinme sürecinde karşılaşılabilecek tüm nicel verileri saklaması ve kullanması ve nitel zararlılığın yanı sıra nicel bilgilerin değerlendirilmesini içeren eksiksiz bir risk değerlendirmesi yapması teşvik edilir.

Test ve değerlendirme stratejisinin tüm durumlarda 5. öğeye kadar izlenmesi ([Şekil R.7.2-4](#) ve [Şekil R.7.2-5](#)) ve sonrasında *Kanıt Ağırlığı* analizi yapılması önerilir. Açık şekilde, tüm bilgi kaynakları/unsurları uygun şekilde yeniden düzenlenebilir, yani tüm unsurlara veri eşlik etmeyebilir, ancak tüm potansiyel veri kaynaklarının *Kanıt Ağırlığı* analizine başlamadan önce araştırılması önemlidir. Bu yaklaşımın izlenmesi tavsiye edilirken, diğer yaklaşımlar duruma göre daha uygun ve verimli kabul edilebilir. Örneğin, mevcut veri olmayan ve "ön test verilerinin" oluşturulmasının sonuca ulaştırmayacağına öngörüldüğü bir durumda, doğrudan bilgi üretme kısmına geçmek uygun olabilir. Ayrıca, herhangi bir yeni *in vivo* test gerçekleştirmeden önce, *in vitro* yöntemlerin kullanımından tam olarak yararlanılmalıdır (bkz. KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (1) ve 23 (1)).

Madde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırılmamışsa, maruz kalmaya bakılmaksızın bu sonlanma noktası için risk değerlendirmesi yapılmaz. KKDİK Yönetmeliğinde bu sonlanma noktaları için maruz kalmaya dayalı feragat seçeneği bulunmadığı unutulmamalıdır.

Aşağıdaki akış şeması ([Şekil R.7.2-4](#)), ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bir test ve değerlendirme stratejisi tanımlamak üzere olası bir yaklaşıma genel bir bakış sunmaktadır.



*KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ile 8'e göre yeni test verilerinin oluşturulması ve Ek 11'de belirtilen standart test rejiminin uyarlanması için kuralların gerekli şekilde gözlenmesi ile.

Şekil R.7.2-4 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test ve değerlendirme stratejisine genel bakış

R.7.2.11.2 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine test ve değerlendirme stratejisi

Önerilen yaklaşım

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için test ve değerlendirme stratejisi (bkz. [Şekil R.7.2- 5](#)), yapı olarak cilt aşınması/tahrişi ile tamamen benzerdir. Test ve değerlendirme stratejisi üç bölümden oluşur: Bölüm 1 (öğe 0 ile 5) mevcut bilgilerin edinilmesiyle ilgilidir, Bölüm 2 (öğe 6) bir *Kanıt Ağırlığı* analizi ve uzman görüşünü temsil eder (öğe 6) ve Bölüm 3 (öğe 7 ile 8) test yoluyla yeni bilgilerin üretilmesiyle ilgilidir.

Bölüm 1'de, literatürden ve veri tabanlarından mevcut ve bulunan bilgiler toplanır ve strateji yaklaşımında değerlendirilir. Farklı öğelerin sırası (öğe 0 ile 5), sadece gösterge niteliğindedir ve uygun şekilde düzenlenebilirler. Bu, özellikle hepsini dikkate almak zorunda kalmadan, belirli öğelerden bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir. Örneğin, madde cilt için aşındırıcı olarak sınıflandırılırsa veya aşırı pH değerine (≤ 2.0 veya ≥ 11.5) sahipse, ciddi göz hasarı dolaylı olarak kabul edilir (öğe 1c) ve bu nedenle madde, SEA Yönetmeliğine göre ciddi göz hasarına neden olacak şekilde (Kategori 1) sınıflandırılmalıdır ve daha fazla test gerekli değildir.

Bölüm 1'in sonunda ve mevcut bilgi parçalarının birinden veya birkaçından doğrudan nihai bir sonuç çıkarılamazsa, toplanan tüm bilgiler bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı (öge 6) kullanılarak analiz edilmelidir.

Bilgi oluşturma bölümünde (öge 7 ila 8), maddelerin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyeli hakkında yeni bilgiler, *in vitro* (öge 7) veya son çare olarak (bkz. KKDİK Yönetmeliği Madde 14(1) ve 23(1)) *in vivo* testler (öge 9) yoluyla oluşturulur. Bu nedenle, 6. ögede *Kanıt Ağırlığı* analizini sonuçlandırmadan ve *in vitro* testlerden (öge 7a ve 7b) önce, yeni *in vivo* testler yapılmamalıdır. Test stratejisi dahilinde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* yöntemlerin nasıl kullanılacağına dair daha fazla bilgi aşağıdaki paragraflarda bulunabilir.

Bu yaklaşımın izlenmesi tavsiye edilirken, diğer yaklaşımlar duruma göre daha uygun ve verimli kabul edilebilir. Örneğin, mevcut veri olmayan ve öge 0-6 içerisinde veri derlenmesinin sonuca ulaştırmayacağına öngörüldüğü bir durumda, doğrudan bilgi üretme kısmına geçmek uygun olabilir.

Şekil R.7.2–5 Maddelerin ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelini değerlendirmek için test ve değerlendirme stratejisi (dipnot a - f şeklin altında detaylandırılmıştır).

Öge	Bilgi	Varılan sonuç ⁴⁷
Cilt aşınması/tahrişi hakkında bilgi stratejisinin sonucu		
0	Madde cildi aşındırıcı olarak sınıflandırılmış mı? →	EVET: Cilt Aşındırıcı Kat. 1, 1A, 1B veya 1C atandığında, gözlerde ciddi hasar riski dolaylı olarak kabul edilir (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1) (Ek 7 ve 8 Sütun 2 uyarlaması).
Fizikokimyasal özelliklere ilişkin mevcut veriler		
1a	Madde, oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temas halinde kendiliğinden alevlenir mi? →	EVET: Test gerekmez (Ek 7 ve 8 Sütun 2 uyarlaması)
1b	Madde organik bir hidroperoksit mi ya da bir organik peroksit mi? →	EVET: Aşağıdaki şekillerde sınıflandırma düşünülür: ■ Bir hidroperoksit için Cilt Aşındırıcı Kat. 1B sınıflandırması atanırken, ciddi göz hasarı riski dolaylı olarak kabul edilir. Ciddi göz hasarı Kat. 1 olarak sınıflandırma düşünülür, veya ■ Bir peroksit için Cilt Tahriş Edici Kat. 2 sınıflandırması atanırken, göz tahrişi riski dolaylı olarak kabul edilir. Göz Tahriş Edici Kat. 2 olarak sınıflandırma düşünülür. VEYA Farklı sınıflandırmayı veya sınıflandırmamayı destekleyen kanıtlar sağlanır ⁴⁸ .
1c	Maddenin pH'ı ≤ 2.0 veya ≥ 11.5 mi? a →	EVET: Sınıflandırma kararı için tek dayanak olarak pH kullanılıyorsa, Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 olarak sınıflandırma düşünülür (Ek 7 ve 8 Bölüm 8.2 sütun 2 uyarlaması).
1d	Maddenin ciddi göz hasarı veya göz tahrişine neden olduğunu gösteren başka fiziksel veya kimyasal özellikler var mı? →	EVET: Bu bilgi <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır (Öge 6).

⁴⁷ SEA Yönetmeliği özellikle cilt aşınması/tahrişi ve ciddi göz hasarı/göz tahrişi için geliştirilmiş kriterler içeren Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesi için Küresel Uyumlaştırılmış Sistemin (GHS) 5. Revizyonunu dikkate alacaktır

⁴⁸ Doğru sınıflandırma konusunda şüphe varsa, örn. *in vitro* testler hakkında bilgiler daha uygun bir sınıflandırma konusunda kanıt sağlayabilir.

Mevcut insan verileri		
2	Maddenin ciddi göz hasarı veya göz tahrişine neden olduğuna dair kanıt sağlayan yeterli mevcut insan verisi var mı? →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2).
Ciddi göz hasarı/göz tahrişi çalışmalarından elde edilen mevcut hayvan verileri		
3	Maddenin göze ciddi şekilde hasar verdiğine, gözü tahriş edici olduğuna veya tahriş edici olmadığına dair sağlam kesin kanıtlar sağlayan, laboratuvar hayvanlarında ciddi göz hasarı/göz tahrişi ile ilgili mevcut çalışmalardan elde edilen veriler var mı? →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.
Mevcut/yeni (Q)SAR verileri ve çapraz okuma		
4	Ciddi göz hasarı/göz tahrişine neden olacak şekilde sınıflandırılmış veya maddenin tahriş edici olmadığını gösteren yapısal olarak ilgili maddeler (uygun "çapraz okuma" veya gruplandırma) var mı veya geçerli (Q)SAR yöntemleri maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi oluşturan veya tahriş edici olmayan potansiyelini gösteriyor mu? c →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür.
Mevcut in vitro veriler		
5a	Madde AB/OECD tarafından kabul edilen bir <i>in vitro</i> testte ciddi göz hasarı, göz tahrişi ve tahriş edici olmayan özellikler göstermiş mi? Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir. →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür. Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 ve Göz Tahriş Edici Kat. 2 arasında ayırım yapmak mümkün değilse, Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 seçilmelidir.
5b	Maddenin ciddi göz hasarına/göz tahrişine neden olduğuna dair sağlam kanıtlar sağlayan doğrulanmamış uygun <i>in vitro</i> testlerden kabul edilebilir veriler var mı? d →	EVET: Buna göre sınıflandırma düşünülür (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2). Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 ve Göz Tahriş Edici Kat. 2 arasında ayırım yapmak mümkün değilse, Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 seçilmelidir.
Kanıt ağırlığı analizi		
6	Yukarıda açıklanan "öğeler" uygun şekilde düzenlenebilir. Yukarıda belirtilen tüm mevcut ve ilgili verileri (Öge 0 - 5) dikkate alarak, sınıflandırma/etiketlemenin gerekli olup olmadığına ve - eğer öyleyse - nasıl sınıflandırılacağına ve etiketleneceğine karar vermek için yeterli bilgi var mı? →	EVET: Buna göre sınıflandırma yapılır (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için yeni in vitro testler (KKDİK Yönetmeliği Ek 7) e

7a	<p>Madde, göz zararlılığı karakterizasyonu için AB / OECD tarafından kabul edilen <i>in vitro</i> test/testlerde ciddi göz hasarı, göz tahrişi veya tahriş edici olmayan özellikler gösteriyor mu?e→</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, Ek 11'de hükümleri karşılanırsa kullanılabilir.</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırma yapılır (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2) veya sınıflandırmama düşünülür.</p> <p>Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 ve Göz Tahriş Edici Kat. 2 arasında ayırım yapmak mümkün değilse, Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 seçilmelidir.</p> <p><i>İn vitro</i> test kullanılarak göz zararlılığı hakkında bir sonuç çıkarılamazsa, <i>in vivo</i> test düşünülmelidir (yalnızca Ek 8 düzeyinde).</p>
7b	<p>Madde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için doğrulanmamış uygun <i>in vitro</i> test/testlerde ciddi göz hasarı veya göz tahriş edici özellikler gösteriyor mu? d →</p>	<p>EVET:</p> <p>Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2 olarak sınıflandırılır.</p> <p><i>İn vitro</i> test kullanılarak göz zararlılığı hakkında bir sonuç çıkarılamazsa, <i>in vivo</i> test düşünülmelidir (yalnızca Ek 8 düzeyinde).</p>

Son çare olarak ciddi göz hasarı/göz tahrişi için yeni in vivo testler (KKDİK Yönetmeliği Ek 8) f

8	<p>Madde OECD tarafından kabul edilen bir <i>in vivo</i> testte ciddi göz hasarı veya göz tahrişi gösteriyor mu? →</p>	<p>EVET:</p> <p>Buna göre sınıflandırma yapılır (Ciddi Göz Hasarı Kat. 1 veya Göz Tahriş Edici Kat. 2).</p> <p>HAYIR:</p> <p>Sınıflandırmaya gerek yoktur.</p>
---	--	--

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi üzerine bilgi şeması notları:

a) Tamponlama kapasitesi maddenin ciddi göz hasarına neden olmayabileceğini gösteriyorsa, bunu doğrulamak için, tercihen uygun bir *in vitro* test yöntemi kullanılarak daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

b) Vaka raporları, mesleki deneyim, zehir bilgi merkezleri veya klinik çalışmalardan elde edilen veriler.

c) Modelin sınıflandırılmış etkinin bulunmadığını yeterince öngördüğü gösterilmişse ve KKDİK Yönetmeliği Ek 11 gerekliliklerini de yerine getiriyorsa, sınıflandırmama sonucuna varılabilir. Sınıflandırılmış etkinin bulunmamasının tahmini, BfR sisteminde bir hariç tutma kuralı tetiklenerek (durum bazında kontrol edilecektir) veya hem pozitif hem negatif maddelerde de çalışılmış bir QSAR sınıflandırmasındaki olumsuz bir tahmine dayalı olarak yapılabilir. Modelin uygunluğu (güvenilirlik, uygunluk), tahminin amaca uygun olduğundan emin olmak için çok dikkatli bir şekilde kontrol edilmeli ve modelin maddeye uygulanabilirliği de gerekçelendirilmelidir (örn. KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.3'teki koşulların yerine getirildiği kontrol edilmelidir). Çapraz okuma için, yeni *in vivo* verilerin oluşturulmasından kaçınılmalıdır.

d) Uygun, doğrulanmamış *in vitro* testlerden elde edilen veriler, yalnızca KKDİK Yönetmeliğinin Ek 11, bölüm 1.4'ünde belirtilen kriterlere göre kullanılabilir, yani yalnızca pozitif sonuçlar kabul edilebilir. Bununla birlikte, halihazırda AB / OECD tarafından kabul edilmiş, öncelikli olarak kullanılması gereken birkaç test yöntemi vardır (bkz. [Tablo R.7.2-4](#)).

e) Yeni *in vitro* testler yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenerek yapılmalıdır. Aşağıdaki "Strateji dahilinde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* yöntemler nasıl kullanılır" paragrafı incelenmelidir. Bilimsel geçerliliği doğrulama ile belirlenmiş ve ideal olarak Türkiye, Avrupa Komisyonu ve/veya OECD tarafından resmi olarak kabul görmüş olan test protokollerine bağlı kalınması şiddetle tavsiye edilir.

f) Maddenin yapılan belirli *in vitro* test/testlerin kapsamına girmesi durumunda *in vivo* test yapılmamalıdır ve bu testlerin kullanımına ilişkin maddeye özgü sınırlamalar yoktur. *In vivo* testler, yalnızca *in vitro* çalışmaların uygulanmadığı veya bu çalışmaların sonuçlarının sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli olmadığı durumlarda düşünülmelidir.

Test ve değerlendirme stratejisi dahilinde ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* yöntemler nasıl kullanılır?

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için, şu anda tek bir *in vitro* test yöntemi, farklı kimyasal sınıfları için farklı göz cevaplarının tüm aralığında Draize göz testi (AB/TYY B.5/OECD Test Rehberi 405) olarak bilinen düzenleyici *in vivo* testin yerini tam olarak alamaz. Bununla birlikte, Bölüm [R.7.2.8.1](#) ve [R.7.2.9.1](#)'de belirtilen *in vitro* test yöntemleri, kademeli bir test stratejisi dahilinde kısmi değişim için veya çalışmanın sonucuna bağlı olarak bağımsız test yöntemleri olarak kullanılabilir. Ayrıca, birkaç alternatif test yönteminin kombinasyonları, Draize göz testinin yerini tamamen alabilir. Yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya yaklaşımlar gibi test stratejileri, mevcut bilgileri, QSAR tahminlerini, çapraz okuma ve gruplandırma ve *in vitro* test sonuçlarını birleştirmenin bir yolunu sağlar.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin giriş paragrafında açıklandığı gibi, herhangi bir test (*in vitro* veya *in vivo*) yapılmadan önce belirli adımların atılması, yani cilt aşınması çalışmalarından elde edilen bilgiler gibi tüm mevcut bilgilerin değerlendirilmesi gerekir ([Şekil R.7.2-5](#)).

Mevcut bilgilere dayanarak sınıflandırma hakkında bir sonuca varılamazsa, sonraki adımlar aşağıda belirtilmiştir:

- 1) Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için bir veya daha fazla *in vitro* çalışma yapılmalıdır ve sonuç şu şekilde olabilir:
 - a. BCOP, ICE, FL, STE, CM veya Ocular Irritation® testlerinden pozitif ve kesin sonuç alınması durumunda, madde "ciddi göz hasarına" (SEA Kat. 1) neden olduğu şeklinde sınıflandırılabilir ve başka bir *in vivo* test yapılması gerekmez.
 - b. İlave olarak, BCOP, ICE, STE, RhCE veya CM testleri, maddenin ciddi göz hasarı/göz tahrişi için herhangi bir sınıflandırma gerektirip gerektirmediğine dair bilgi sağlayabilir. Testler sınıflandırmaya gerek olmadığını gösteriyorsa, başka *in vivo* testlere gerek yoktur.
 - c. Ek 7 bilgi gerekliliği için, herhangi bir *in vivo* test öngörülmediğinden, maddenin göz zararlılığı potansiyeli hakkında sonuca varmak için bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı gerekebilir. Değerlendirme, tüm ilgili bilgileri dikkate almalıdır. Bu, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut *in vitro* testin/testlerin, göz zararlılığı sınıflandırması hakkında kesin bir sonuç sağlamadığı durumlarda, elde edilen bilgilerin (örn. cilt tahrişi testlerinden) göz önüne alınması gerektiği anlamına gelir.

Bu nedenle, ciddi göz hasarı/göz tahrişi için tutarsız *in vitro* sonuçların elde edilmesi durumunda, cilt tahrişine ilişkin bilgileri içeren *Kanıt Ağırlığı* (Kategori 2), ihtiyati bir ilke olarak göz tahrişi sınıflandırmasını (Kategori 2) destekleyebilir. Ayrıca, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) incelenmelidir;

d. Ek 8 düzeyinde, bu sonuçlardan hiçbirine varılamazsa, bu sonlanma noktası için diğer *in vitro* çalışma/çalışmalar dikkate alınmalıdır. *In vitro* çalışmalar madde için uygun değilse veya sonuçlar sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için yeterli değilse, göz tahrişi potansiyelini değerlendirmek için *in vivo* yapılan başka bir test düşünülmelidir, yani yukarıda açıklanan *in vitro* yöntemlerden hiçbiri göz tahriş edici maddelerin doğrudan tanımlanması için kullanılamaz (SEA Kat. 2).

Yeni *in vitro* testler, varsayılan özelliklere dayalı olarak yukarıdan aşağıya veya aşağıdan yukarıya bir yaklaşım izlenerek gerçekleştirilmelidir (Scott ve ark. 2010). Yukarıdan aşağıya yaklaşım (göze ciddi şekilde hasar veren, yani "Ciddi göz hasarı Kat. 1" olarak sınıflandırılan maddeleri tanımlayabilen bir *in vitro* testle başlanır), mevcut tüm toplanan bilgiler ve *Kanıt ağırlığı* değerlendirmesi, maddenin göze ciddi şekilde hasar vermesi olasılığının yüksek bir olasılık olmasıyla sonuçlanıyorsa kullanılmalıdır. Diğer yandan, aşağıdan yukarıya yaklaşım (ciddi göz hasarı/göz tahrişi için sınıflandırma gerektirmeyen, yani sınıflandırılmamış maddeleri tanımlayabilen bir *in vitro* test ile başlanır), mevcut tüm toplanan bilgiler ve *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesi, maddenin gözler için tahriş edici olmaması olasılığının yüksek bir olasılık olmasıyla sonuçlanıyorsa kullanılmalıdır.

Not: Kayıt ettirenler, maddenin gerçekleştirilen belirli *in vitro* testlerin kapsamı ve uygulanabilirlik alanına girdiğinden ve bu testlerin kullanımına ilişkin maddeye özgü sınırlamalar olmadığından emin olmalıdır (ciddi göz hasarı/göz tahrişi için *in vitro* testler ve bölüm [R.7.2.8.1](#) ve [R.7.2.9.1](#) incelenmelidir). Çoğu madde için, göz zararlılığı karakterizasyonu için Türkiye, AB veya OECD tarafından kabul edilen test yöntemlerinin kullanılması, KKDİK kapsamında düzenleyici kabul görecektir sonuçlar sağlayacaktır.

SOLUNUM YOLU AŞINMASI/TAHRİŞİ

R.7.2.12 Solunum yolu aşınması/tahrişi üzerine bilgi kaynakları

Solunum yolu aşınması/tahrişi potansiyelinin değerlendirilmesi, insan ve hayvan deneyimi, mevcut (*in vitro*) veriler, pH değerleri gibi madde özellikleri, uçuculuk (Doymuş Buhar Konsantrasyonu (SVC)) veya tozluluk gibi kanıtların, benzer maddelerden bilgi veya diğer ilgili verilerin kullanıldığı uzman görüşüne dayanabilir.

R.7.2.12.1 Hayvan verileri

Mevcut durumda, özellikle solunum yolu aşınması veya tahrişiyle ilgilenen AB veya OECD tarafından kabul edilmiş test rehberleri bulunmamaktadır. İlgili maddenin solunum yolu aşınması/tahrişi potansiyeli hakkında bilgi verebilecek çalışmalar, tek veya tekrarlı soluma maruz kalma çalışmalarıdır ((histo-)patolojik değişiklikler hakkında bilgi).

In vivo tek soluma maruz kalması çalışmaları, rinit gibi nazal tahriş hakkında bilgi sağlayabilirken, soluma yoluyla tekrarlı maruz kalan hayvanların solunum yolu dokularının histopatolojik incelemesi (28 günlük ve 90 günlük soluma çalışmaları), hiperemi, ödem, yangi veya mukozal kalınlaşma gibi yangısal/sitotoksik etkiler hakkında bilgi sağlayabilir. Bronkoalveolar lavajdan elde edilen veriler, inflamatuvar cevap hakkında ek bilgi verebilir.

Akut Soluma Toksisitesi için histopatoloji OECD Test Rehberi 436'nın standart bir unsuru olmasa da, Test Rehberi 436'nın şunu belirtmesi dikkate değerdir: "*Solunum yolunun mikroskopla incelenmesiyle tahriş kanıtı sağlama gibi tasarım gereği önceden dahil edilen ek incelemeler, çalışmanın yorumlama değerini genişletmek için düşünülebilir. İncelenen organlar, 24 saat veya daha fazla hayatta kalan hayvanlarda genel patoloji kanıtı gösterenleri ve etkilendiği bilinen veya beklenen organları içerebilir. Tüm solunum yolunun mikroskopik incelemesi, asitler ve higroskopik test maddeleri gibi suyla tepkime veren test ürünleri için yararlı bilgiler sağlayabilir*".

Ayrıca, lokal cilt veya göz aşınması/tahrişi hakkındaki veriler, solunum sonlanma noktasıyla ilgili bilgiler içerebilir ve buna göre dikkate alınmalıdır. Örneğin, aşındırıcı (ve ciddi ölçüde tahriş edici) maddelerin buharlaştığında veya bir aerosol formundayken solunum yolu tahrişine ve hatta aşınmaya neden olacağını varsaymak makul bir önlemdir. Ayrıca, mesleki maruz kalma ile ilişkili semptomların tanımlandığı vakalardan elde edilen bilgiler, bir maddenin solunum yolu aşınması/tahriş potansiyelini karakterize etmek için vaka bazında kullanılabilir. Akut ve tekrarlı doz soluma toksisite çalışmalarından elde edilen mevcut bilgiler, maddenin belirli bir konsantrasyon seviyesinde veya aralığında solunum yolu aşınması/tahrişine neden olduğunu göstermek için yeterli kabul edilebilir. Verilerin, maruz kalma koşullarına göre dikkatli şekilde değerlendirilmesi gerekir (yeterli belgelendirme gereklidir). Olası karıştırıcı faktörler dikkate alınmalıdır.

R.7.2.12.2 İnsan verileri

Mevcut insan verileri, maddelerin içsel zararlılığı değerlendirirken dikkate alınması gereken geçmiş verileri içerir. Zararlılık tanımlama amacıyla insanlarda *yeni* testler, etik nedenlerden dolayı kabul edilemez.

Mevcut insan verileri vaka raporlarından, zehir bilgi merkezlerinden, tıbbi kliniklerden ve mesleki deneyimlerden veya epidemiyolojik çalışmalardan veya gönüllü çalışmalardan elde edilebilir. Zararlılık değerlendirmesi için kaliteleri ve uygunlukları eleştirel olarak gözden geçirilmelidir.

Bununla birlikte, genel olarak, insan verileri bir maddenin aşındırıcı veya tahriş edici potansiyelini belirlemek için kullanılabilir. Kaliteli ve uygun insan verileri, diğer verilere göre önceliğe sahiptir. Bununla birlikte, insanlarda görülme sıklığının olmaması, pozitif olan mevcut kaliteli hayvan verilerini geçersiz kılmaz.

Özellikle solunum yolu tahrişi ile ilgili olarak, duyuşal tahrişin biyolojik işlevinin kısa bir sürede solunan hava yollarına zarar verebilecek maddelere karşı hızlı bir uyarı olarak hizmet etmek olduğu ve solunum hacimlerini sınırlayan ve hava yollarını koruyan fizyolojik refleksleri tetiklediği göz önüne alındığında, duyuşal tahrişin belirgin, dokuya hasar veren tahrişten daha hassas bir etki olabileceğine dair mesleki sağlık literatüründe bir görüş bulunmaktadır. Bununla birlikte, bunun tüm solunan tahriş ediciler için zorunlu olarak geçerli olacak genel bir durum olduğunu gösteren belgelenmiş kanıtlar bulunmamaktadır.

R.7.2.13 Solunum yolu aşınması/tahrişine ilişkin bilgilerin değerlendirilmesi

Mevcut tüm veriler, maddenin solunum yolu aşınması veya tahrişine neden olma potansiyelini tahmin etmek için değerlendirilmelidir.

R.7.2.13.1 Hayvan verileri

Değerlendirme, soluma çalışmalarından elde edilen verilere dayanmaktadır (akut, tekrarlı maruz kalma):

- Klinik dispne semptomları veya solunum güçlüğü,
- Solunum yollarında histomorfoloji,
- Lavaj incelemesi (nazal, bronkoalveolar).

Sınıflandırma ve etiketleme ile DNEL türevi için tek ve tekrarlı soluma toksisite çalışmalarından faydalı bilgiler elde edilebilir.

Bir DNEL (akut - soluma, lokal etkiler) elde etmek için, akut ve/veya tekrarlı soluma maruz kalması bulunan hayvan çalışmalarından bilgiler kullanılabilir. Bu genellikle çalışmada, DNEL türetilmesi için başlangıç noktaları olarak Olumsuz etki gözlemlenmeyen konsantrasyonun (NOAEC) ve/veya Olumsuz Etkinin Gözlemlendiği En düşük Konsantrasyon (LOAEC) veya bir kıyaslama konsantrasyonunun (BMC) türetilmesine izin veren birkaç maruz kalma konsantrasyonunun kullanılmış olmasını gerektirir. ([BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8, Bölüm R.8.2.1 ve Ek R.8-8). Bu tür bilgilerin yalnızca tekrarlı doz soluma çalışmalarından elde edilmesi durumunda, uzun süreli bir DNEL türetilmesi (uzun süreli - soluma, lokal etkiler) daha uygun olabilir.

Sınıflandırma ve etiketleme amaçları için, etkilerin şiddeti (tersinir veya tersinir olmayan) ve solunum yolundaki hedef (üst karşısında alt solunum yolu) dikkate alınmalıdır.

Hayvan çalışmalarının tersinir etkiler göstermesi durumunda (genellikle üst solunum yolunda), çalışmalar BHOT Tek Mrz. Kategori 3 sınıflandırması için *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinin bir parçası olarak kullanılabilir. Tersinir solunum yolu etkileri, dispne veya rinit gibi klinik toksisite belirtileri ve yukarıda tanımlanan karakteristik klinik semptomları yansıtabilen hiperemi, ödem, minimal yangı veya kalınlaşmış mukoza tabakası gibi histopatolojik etkiler olabilir.

Çalışmaların, özellikle alt solunum yollarında (bronşiyolar ve alveolar bölge) geçici olmaktan ziyade, önemli değişiklikler göstermesi durumunda, etkilerin meydana geldiği konsantrasyona bağlı olarak BHOT Tek Mrz. Kategori 1 veya 2 için sınıflandırma düşünülebilir.

Solunum yolundaki önemli değişiklikler, nekrozu veya potansiyel olarak tersinir olan ancak belirgin organ işlev bozukluğunun açık kanıtını sağlayan diğer morfolojik değişiklikleri içerebilir. Bununla birlikte, bu tür etkiler yalnızca tekrarlı maruz kalma ile solunum çalışmalarında gözlenmişse ve etki şekli, solunum yolundaki önemli hasarın tekrarlı maruz kalmadan kaynaklandığını gösteriyorsa, "Tekrarlı Maruz Kalmadan Sonra Belirli Hedef Organ Toksikitesi (BHOT Tekrar. Mrz.), Kategori 1 veya 2 daha uygun olabilir (bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.9).

Akut toksik olabilen aşındırıcı maddeler için EUH071 "Solunum yolunda aşınmaya yol açar." ile ilave etiketleme dikkate alınmalıdır (bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.1). Aşındırıcı maddelerin solunması halinde toksisiteye neden olacağı varsayılmaktadır. Toksikite mekanizmasının aşındırıcılık olduğunu gösteren veriler mevcutsa, akut solunum toksisitesi sınıflandırmasına ek olarak solunabilecek maddeler için zararlılık ifadesi EUH071 atanmalıdır. Akut solunum testinin yapılmadığı ve maddenin solunabileceği durumlarda, bu zararlılık ifadesi de verilmelidir. Bununla birlikte, karışımlarda aşındırıcı maddeler aşındırıcılık altındaki konsantrasyonlarda kullanılıyorsa, potansiyel solunum yolu tahrişi için uygun bir sınıflandırmanın uygulanması sağlanmalıdır. Sıvılar için uçuculuk/SVC ve (varsa) katıların tozluluğu dikkate alınmalıdır.

R.7.2.13.2 İnsan verileri

Değerlendirme aşağıda belirtilenlere dayanır:

- Mesleki maruz kalma deneyimi;
- Gönüllüler üzerine yayınlanmış veriler (nesnel ölçümler, psikofiziksel yöntemler ve öznel raporlama);
- Diğer veriler (örn. nazal lavajdan).

Doğru bir şekilde toplanıp belgelenen (Arts ve ark., 2006), gerçek hayattaki insan gözlemsel deneyimine önem verilmelidir (örn. iyi tasarlanmış işyeri anketlerinden veya işçi sağlığı izleme programlarından elde edilen veriler). Bir dizi endüstriyel kullanıma sahip ve bol miktarda insan kanıtı bulunan maddeler için, solunum yolu tahrişinin semptomları bazen işyeri havasındaki tahriş edici maddelerin belirli konsantrasyonları ile ilişkilendirilebilir ve böylelikle DNEL değerlerinin türetilmesine izin verebilir. Bununla birlikte, maruz kalma ayrıntılarının iyi bir şekilde belgelenmesi ve olası karıştırıcı faktörlere gereken önem verilmesi gereklidir.

Solunum yollarının duyuşal tahrişine ilişkin veriler, gönüllü çalışmalardan elde edilebilir. Bunlar, elektrofizyolojik tepkiler gibi solunum yolu tahrişinin nesnel ölçümlerini, lateralizasyon eşiği testinden gelen verileri, nazal veya bronkoalveolar lavaj sıvılarında yangı biyobelirteçlerini içerir. Koku alamayan (anozmik) kişilerin gönüllü olarak dahil edilmesi, önyargı olarak kokuyu dışlayabilir. Kaliteli ve ilgili insan verileri, diğer verilere göre önceliğe sahiptir. Bununla birlikte, insanlarda pozitif bulguların bulunmaması, pozitif olan kaliteli hayvan verilerini hükümsüz kılmaz.

Solunum yolu tahrişini gösteren insan verileri, SEA Yönetmeliğine göre başlıca olarak Tek Maruz Kalmadan Sonra Belirli Hedef Organ Toksikitesi (BHOT Tek Mrz.), Kategori 3 (H335: "Solunum yolu tahrişine yol açabilir") sınıflandırması için kullanılır (bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.8).

Bu tür etkiler, lokal kızarıklık, ödem, kaşıntı ve/veya ağrı ile karakterizedir ve öksürük, ağrı, tıkanma ve nefes alma güçlüğü gibi semptomlarla işlev bozukluğuna yol açarlar. Öznel insan gözlemleri, belirgin solunum yolu tahrişinin nesnel ölçümleriyle (elektrofizyolojik tepkiler, nazal veya bronkoalveolar lavaj sıvılarında yangı biyobelirteçleri gibi) desteklenebilir.

Ayrıca, insanlarda gözlemlenen semptomlar, izole edilmiş bir özel (idiyosinkratik) reaksiyon veya yalnızca solunum yolları aşırı duyarlı olan kişilerde tetiklenen bir cevap olmaktan ziyade maruz kalan popülasyonda üretilecek olanlara özgü olmalıdır. Bu terim genellikle solunum yolu tahrişi sınıflandırmasının kapsamı dışında kalan koku, hoş olmayan tat, gıdıklama hissi ve kuruluk gibi çok çeşitli duyuları tanımlamak için kullanıldığından, basit şekilde 'tahriş' ile ilgili belirsiz raporlar hariç tutulmalıdır.

R.7.2.14 Solunum yolu aşınması/tahrişine ilişkin varılan sonuçlar

R.7.2.14.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğa ilişkin sonuç

SEA Yönetmeliğine göre Sınıflandırma ve Etiketleme konusunda sonuca varmak için, tüm mevcut bilgilerin göz önüne dikkate alınması ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ve bu rehber boyunca yapılmış çeşitli açıklamaların (Sınıflandırma ve Etiketleme ile ilgili) dikkate alınması gerekir.

R.7.2.14.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

Bir doz-cevap değerlendirmesi mümkün olabilir. DNEL türetme için başlangıç noktaları olarak bir NOAEC ve/veya bir LOAEC değeri türetilmesine izin veren, özellikle tekrarlı soluma maruz kalması ve çeşitli maruz kalma konsantrasyonları bulunan hayvan çalışmaları mevcut olabilir.

Tahriş edici etkilerin eşiği hakkında güvenilir nicel bilgi sağlayan, solunum yolu tahrişini gösteren insan verileri, DNEL (akut - soluma, lokal etkiler) türetilmesi için kullanılabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8, Bölüm R.8.2.1 ve Ek R.8-8).

R.7.2.15 Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi ile ilgili referanslar

Abraham MH, Hassanisadi M, Jalali-Heravi M, Ghafourian T, Cain WS ve Cometto-Muniz JE (2003) Draize rabbit eye test compatibility with eye irritation thresholds in humans: a quantitative structure-activity relationship analysis (İnsanlarda göz tahrişi eşikleri ile Draize tavşan göz testi uyumluluğu: bir nicel yapı-aktivite ilişkisi analizi). *Toxicol Sci* 76:384-91.

Yağdan arındırıcı maddeler üzerine ad-hoc çalışma grubu (1997). ECBI/22/96-Add. 10.

Adriaens E, Barroso J, Eskes C, Hoffmann S, McNamee P, Alépée N, Bessou-Touya S, De Smedt A, De Wever B, Pfannenbecker U, Tailhardat M ve Zuang V (2014) Retrospective analysis of the Draize test for serious eye damage/eye irritation: importance of understanding the in vivo endpoints under UN GHS/EU CLP for the development and evaluation of *in vitro* test methods (Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için Draize testinin geriye dönük analizi: *in vitro* test yöntemlerinin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi için BM GHS/AB CLP kapsamında *in vivo* sonlanma noktalarının anlaşılmasının önemi). *Arch Toxicol* 88:701-23.

A.I.S.E. (2006) Düşük Hacimli Göz Testi (LVET) - A.I.S.E. ECVAM için a sunum - Ocak 2006.

Arts JHE, de Heer C ve Woutersen R (2006) Local effects in the respiratory tract: relevance of subjectively measured irritation for setting occupational exposure limits (Solunum sistemindeki lokal etkiler: mesleki maruz kalma sınırlarının belirlenmesi için öznel olarak ölçülen tahrişin önemi). *Int Arch Occup Environ Health* 79:283-98.

Barratt MD (1995a) Quantitative structure activity relationships for skin corrosivity of organic acids, bases and phenols (Organik asitlerin, bazların ve fenollerin cilt aşındırıcılığı için nicel yapı aktivite ilişkileri). *Toxicol Lett* 75:169-176.

Barratt MD (1995b) The role of structure-activity relationships and expert systems in alternative strategies for the determination of skin sensitisation, skin corrosivity and eye irritation (Cilt hassasiyeti, cilt aşınması ve göz tahrişinin belirlenmesi için alternatif stratejilerde yapı-aktivite ilişkilerinin ve uzman sistemlerin rolü). *Altern Lab Anim* 23:111-22.

Barratt MD (1996a) Quantitative Structure-Activity Relationships for Skin Corrosivity of Organic Acids, Bases and Phenols: Principal Components and Neural Network Analysis of Extended Sets (Organik Asitlerin, Bazların ve Fenollerin Cilt Aşınması için Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri: Genişletilmiş Kümelerin Temel Bileşenleri ve Sinir Ağı Analizi). *Toxicol in Vitro* 10:85-94.

Barratt MD (1996b) Quantitative Structure-Activity Relationships for Skin Irritation and Corrosivity of Neutral and Electrophilic Organic Chemicals (Nötr ve Elektrofilik Organik Kimyasalların Cilt Tahrişi ve Aşınması için Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri). *Toxicol in Vitro* 10:247-56.

Barratt MD, Dixit MB ve Jones PA (1996c) The use of *in vitro* cytotoxicity measurements in (Q)SAR methods for the prediction of the skin corrosivity potential of acids (Asitlerin cilt aşındırma potansiyelinin tahmini için (Q)SAR yöntemlerinde *in vitro* sitotoksisite ölçümlerinin kullanımı). *Toxicol in Vitro* 10:283-90.

Barratt MD (1997) QSARs for the Eye Irritation Potential of Neutral Organic Chemicals (Nötr Organik Kimyasalların Göz Tahrişi Potansiyeli için QSAR). *Toxicol in Vitro* 11:1-8.

Basketter D, Jírová D ve Kandárová H (2012) Review of skin irritation/corrosion Hazards on the basis of human data: a regulatory perspective (Cilt tahrişi/aşınması zararlarının insan verileri temelinde gözden geçirilmesi: düzenleyici bir bakış açısı). *Interdiscip Toxicol* 5:98-104.

Botham PA, Earl LK, Fentem JH, Roguet R ve van de Sandt JJM (1998) Alternative methods for skin irritation testing: the current status (Cilt tahrişi testi için alternatif yöntemler: mevcut durum). ECVAM Cilt Tahrişi Çalışma Kolu Rapor 1. *Altern Lab Anim* 26:195-211.

Cazelle E, Eskes C, Hermann M, Jones P, McNamee P, Prinsen M, Taylor H ve Wijnands M. (2014). Suitability of histopathology as an additional endpoint to the Isolated Chicken Eye Test for classification of non-extreme pH detergent and cleaning products (Aşırı pH değerine sahip olmayan deterjan ve temizlik ürünlerinin sınıflandırılması için İzole Edilmiş Tavuk Gözü Testine ek bir sonlanma noktası olarak histopatolojinin uygunluğu). *Toxicology in Vitro* 28, 657-666.

Cormier EM, Hunter JE, Billhimer W, May J ve Farage MA (1995) Use of clinical and consumer eye irritation data to evaluate the low-volume eye test (Düşük hacimli göz testini değerlendirmek için klinik ve tüketici göz tahrişi verilerinin kullanımı). *J Toxicol Cut Ocul Toxicol* 14:197-205.

Cormier EM, Parker RD, Henson C, Cruze LW, Merritt AK, Bruce RD ve Osborne R (1996) Determination of the intra- and inter-laboratory reproducibility of the Low Volume Eye Test and its statistical relationship to the Draize test (Düşük Hacimli Göz Testinin laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi ve Draize testiyle istatistiksel ilişkisi). *Regul Toxicol Pharmacol* 23: 156-61.

Draize JH, Woodard G ve Calvery HO (1944) Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes (Cilde ve mukoza zarlarına topikal olarak uygulanan maddelerin tahriş ve toksisitesinin incelenmesi için yöntemler). *J Pharmacol Exp Ther* 82:377-390.

ECETOC (2002) ECETOC Monograf No. 32, Tahriş ve Hassasiyet için Zararlılık Sınıflandırmasında İnsan Verilerinin Kullanımı. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

Enslein K, Borgstedt HH, Blake BW ve Hart JB (1987) Prediction of rabbit skin irritation severity by structure activity relationships (Yapı aktivite ilişkileri ile tavşan cildi tahriş şiddetinin tahmini). *In Vitro Toxicol* 1:129-47.

Enslein K, Blake BW, Tuzzeo TM, Borgstedt HH, Hart JB ve Salem H (1988) Estimation of rabbit eye irritation scores by structure activity equations (Yapı aktivite denklemleri ile tavşan gözü tahriş puanlarının tahmini). *In vitro Toxicol* 2:1-14.

ESAC (2009) Temizlik ürünlerinin ve ana bileşenlerinin sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin kanıt ağırlığı kararları için mevcut Düşük Hacimli Göz Testi (LVET) verilerinin kullanımına ilişkin açıklama. Erişim adresi: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/validation-regulatory-acceptance/docs-eye-irritation/esac-statement-lvet>

Eskes C, Hoffmann S, Facchini D, Ulmer R, Wang A, Flego M, Vassallo M, Bufo M, van Vliet E, d'Abrosca F ve Wilt N (2014) Validation study on the Ocular Irritation assay for eye irritation testing (Göz tahrişi testleri için Göz Irritation testi üzerinde doğrulama çalışması). *Toxicol In Vitro* 28:1046-65.

EURL ECVAM (2015) Ciddi göz hasarı/tahrişi için BM GHS uyarınca sınıflandırma ve etiketleme gerektirmeyen kimyasalların belirlenmesi için EpiOcular™ Göz Tahrişi Testinin (EIT) kullanımına ilişkin tavsiye. Erişim adresi: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eurl-ecvam-recommendations> (yayın).

Freeberg FE, Griffith JF, Bruce RD ve Bay PHS (1984) Correlation of animal test methods with human experience for household products (Hayvan test yöntemlerinin ev ürünleri için insan deneyimleri ile ilişkisi). *J Toxicol Cut Ocul Toxicol* 1:53-64.

Freeberg FE, Hooker DT ve Griffith JF (1986a) Correlation of animal eye test data with human experience for household products: an update (Hayvan gözü testi verilerinin ev ürünleri için insan deneyimleri ile ilişkisi: bir güncelleme). *J Toxicol Cut Ocul Toxicol* 5:115-23.

Freeberg FE, Nixon GA, Reer PJ, Weaver JE, Bruce RD, Griffith JF ve Sanders III LW (1986b) Kimyasal hasarına karşı insan ve tavşan gözü cevapları. *Fund Appl Toxicol* 7:626-34.

Frentz M, Goss M, Reim M ve Schrage NF (2008). Repeated exposure to Benzalkonium chloride in the Ex Vivo Eye Irritation Test (EVEIT): observation of isolated corneal damage and healing (Ex Vivo Göz Tahriş Testinde (EVEIT) Benzalkonyum klorüre tekrarlı maruz kalma: izole kornea hasarının ve iyileşmenin gözlemlenmesi). *ATLA* 36: 25-32.

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2006). Review of literature-based models for skin and eye irritation and corrosion (Cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli modellerin incelemesi). JRC raporu EUR 22320 EN. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspira, İtalya.. Erişim adresi: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories->

Gallegos Saliner A, Tsakovska I, Pavan M, Patlewicz G ve Worth AP (2007) Evaluation of SARs for the prediction of skin irritation/corrosion potential - structural inclusion rules in the BfR decision support system (Cilt tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirilmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları). SAR QSAR Environ Res 18:331-42.

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2008) A Review of (Q)SAR Models for Skin and Eye Irritation and Corrosion (Cilt ve Göz Tahrişi ve Aşınma için (Q)SAR Modellerinin İncelenmesi). QSAR Comb Sci 27:49-59.

Gerner I, Schlegel K, Walker JD ve Hulzebos E (2004) Use of physico-chemical property limits to develop rules for identifying chemical substances with no skin irritation or corrosion potential (Cilt tahrişi veya aşınma potansiyeli olmayan kimyasal maddelerin tanımlanmasına yönelik kurallar geliştirmek için fiziko-kimyasal özellik sınırlarının kullanımı). QSAR Comb Sci 23:726-33.

Gerner I, Liebsch M ve Spielmann H (2005) Assessment of the Eye Irritating Properties of Chemicals by Applying Alternatives to the Draize Rabbit Eye Test: The Use of QSARs and *In Vitro* Tests for the Classification of Eye Irritation (Draize Tavşan Gözü Testine Alternatifler Uygulanarak Kimyasalların Göz Tahriş Edici Özelliklerinin Değerlendirilmesi: Göz Tahrişinin Sınıflandırılması için QSAR ve *In Vitro* Testlerin Kullanımı). Altern Lab Anim 33:215-37.

Golla S, Madhally S, Robinson RL Jr ve Gasem KA (2009) Quantitative structure-property relationships modeling of skin irritation (Cilt tahrişinin nicel yapı-özellik ilişkileri modellenmesi). Toxicol *in Vitro* 23:176-84.

Griffith JF, Nixon GA, Bruce RD, Reer PJ ve Bannan EA (1980) Dose-response studies with chemical irritants in the albino rabbit eye as a basis for selecting optimum testing conditions for predicting hazard to the human eye (İnsan gözüne zararlılığı tahmin etmek için optimum test koşullarını seçmek üzere bir temel olarak albino tavşan gözünde kimyasal tahriş edicilerle doz-cevap çalışmaları). Toxicol Appl Pharmacol 55:501-13.

Hayashi M, Nakamura Y, Higashi K, Kato H, Kishida F ve Kaneko H (1999) A Quantitative Structure-Activity Relationship Study of the Skin Irritation Potential of Phenols (Fenollerin Cilt Tahrişi Potansiyelinin Nicel Yapı-Aktivite İlişkisi Çalışması). Toxicol *in Vitro* 13:915-22.

Houthoff E, Rugen P, Hart D (2014) Predictability of *in vitro* dermal assays when evaluating fatty amine derivatives (Yağlı amin türevlerini değerlendirirken *in vitro* cilt testlerinin tahmin edilebilirliği). Toxicol *in Vitro* (yayında).

Hulzebos EM, Janssen PAH, Maślankiewicz L, Meijerink MCM, Muller JJA, Pelgrom SMG, Verdam L ve Vermeire TG (2001) The application of structure-activity relationships in human hazard assessment: a first approach (İnsan zararlılık değerlendirmesinde yapı-aktivite ilişkilerinin uygulanması: ilk yaklaşım). RIVM raporu 601515 008, Bilthoven, Hollanda. Erişim adresi: <http://rivm.openrepository.com/rivm/bitstream/10029/9562/1/601516008.pdf>

Hulzebos EM, Maslankiewicz L ve Walker JD (2003) Verification of literature derived SARs for skin irritation and corrosion (Cilt tahrişi ve aşınma literatürden türetilen yapı aktivite ilişkilerinin doğrulanması). QSAR Comb Sci 22: 351-63. Hulzebos E, Walker JD, Gerner I ve Schlegel K (2005) Use of structural alerts to develop rules for identifying chemical substances with skin irritation or skin corrosion potential (Cilt tahrişi veya cilt aşınması potansiyeli olan kimyasal maddelerin tanımlanmasına yönelik kurallar geliştirmek için yapısal uyarıların kullanılması). QSAR Comb Sci 24:332-42.

Ishii S, Ishii K, Nakadate M ve Yamasaki K (2013) Correlation study in skin and eye irritation between rabbits and humans based on published literatures (Yayınlanmış literatüre dayalı olarak tavşanlar ve insanlar arasında cilt ve göz tahrişinde korelasyon çalışması). Food Chem Toxicol 55:596-601.

Jírová D, Basketter D, Liebsch M, Bendová H, Kejlová K, Marriott M ve Kandárová H (2010) Comparison of human skin irritation patch test data with *in vitro* skin irritation assays and animal data (İnsan cildi tahriş yama testi verilerinin *in vitro* cilt tahrişi testleri ve hayvan verileriyle karşılaştırılması). Contact Dermatitis 62:109-16.

Klimisch HJ, Andreae M ve Tillmann U (1997) Systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. (DeneySEL toksikolojik ve ekotoksikolojik verilerin kalitesini değerlendirmek için sistematik bir yaklaşım). Regul Toxicol

Pharm 25:1-5.

Kodithala K, Hopfinger AJ, Thompson ED ve Robinson MK (2002) Prediction of skin irritation from organic chemicals using membrane-interaction QSAR Analysis (Membran etkileşimli QSAR Analizi kullanılarak organik kimyasallardan cilt tahrişinin tahmini). Toxicol Sci 66:336-46.

Liew CY ve Yap CW (2013) QSAR and predictors of eye and skin effects (Göz ve cilt etkileri için QSAR ve göstergeleri). Mol Inform 32:281- 90.

Marzulli FN ve Ruggles DI (1973) Rabbit eye irritation test: collaborative study (Tavşan göz tahrişi testi: ortak çalışma). J Assoc Off Analyt Chem 56:905-14.

Mombelli E (2008) An evaluation of the predictive ability of the QSAR software packages, DEREK, HAZARDEXPERT and TOPKAT, to describe chemically-induced skin irritation (QSAR yazılım paketlerinin, DEREK, HAZARDEXPERT ve TOPKAT'ın kimyasal olarak tetiklenen cilt tahrişini tanımlamada tahmin kapasitesinin bir değerlendirmesi). Altern Lab Anim 36:15-24.

Nangia A, Anderson PH, Berner B, Maibach HI (1996) High dissociation constants (pKa) of basic permeants are associated with in vivo skin irritation in man (Bazik geçirgenlerin yüksek ayrışma sabitlerinin (pKa) insanda in vivo cilt tahrişiyle ilişkisi). Contact Dermatitis 34:237-42.

OECD (2007) (Nicel) Yapı-Aktivite İlişkisi [(Q)SAR] Modellerinin Doğrulanmasına İlişkin Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 69 (ENV/JM/MONO(2007)2). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2007\)2 &doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2007)2&doclanguage=en)

OECD (2011) "Siğir Korneası Opaklığı ve Geçirgenliği (SKOG) ve İzole Edilmiş Tavuk Gözü (ICE) Test Yöntemleri Hakkında Rehber Doküman: Ciddi Olmayan Tahriş Ediciler Üzerine Veri Toplama ve Histolojik Değerlendirme İçin Dokuların Toplanması. OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 160 (ENV/JM/MONO(2011)45). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2011\)45&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2011)45&doclanguage=en)

OECD (2013) Göz Tahrişi/Aşınma için Siğir Korneası Opaklığı ve Geçirgenliği Hakkında OECD Rehberi 437'nin Desteklendiği Geliştirilmiş Özet Belge. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 189 (ENV/JM/MONO(2013)13).. Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2013\)13&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2013)13&doclanguage=en)

OECD (2014a) Kimyasalların Gruplandırılmasına ilişkin Rehber, İkinci Baskı. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 194 (ENV/JM/MONO(2014)4).

Erişim adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4 &doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en)

OECD (2014b) Cilt Aşınması ve Tahrişi İçin Test ve Değerlendirme İçin Bütünleşik Yaklaşım (IATA) Hakkında Yeni Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 203 (ENV/JM/MONO(2014)19). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)19&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)19&doclanguage=en)

Patlewicz G, Rodford R ve Walker JD (2003) Quantitative structure-activity relationships for predicting skin and eye irritation (Cilt ve göz tahrişini tahmin etmek için nicel yapı-aktivite ilişkileri). Environ Toxicol Chem 22:1862-9.

Piehl M, Gilotti A, Donovan A, DeGeorge G ve Cerven D (2010). Tersinirlik sonlanma noktası ile yeni kültürlenmiş domuz korneası tahriş testi. Toxicology in Vitro 24: 231-239.

Piehl M, Carathers M, Soda R, Cerven D ve DeGeorge G (2011). Porcine Corneal Ocular Reversibility Assay (PorCORA) predicts ocular damage and recovery for global regulatory agency hazard categories (Domuz Korneası Oküler Tersinirlik Testiyle (PorCORA), küresel düzenleyici kurum zararlılık kategorileri için göz hasarı ve iyileşmenin öngörülmesi). Toxicology in Vitro 25: 1912-1918.

Roggeband R, York M, Pericoi M ve Braun W (2000) Eye irritation responses in rabbit and man after single applications of equal volumes of undiluted model liquid detergent products (Eşit hacimlerde seyreltilmemiş model sıvı deterjan ürünlerinin tek uygulamasından sonra tavşan ve insanda göz tahrişi cevapları). *Food Chem Toxicol* 38:727-34.

Rorije E ve Hulzebos E (2005) Evaluation of (Q)SARs for the prediction of Skin Irritation/Corrosion Potential. Physico-chemical exclusion rules (Cilt Tahrişi/Aşınma Potansiyelinin tahmini için (Q)SAR değerlendirilmesi. Fiziko-kimyasal dışlama kuralları). ECB sözleşmesi için nihai rapor IHCP.B430206. Avrupa Kimyasallar Bürosu, Ortak Araştırma Merkezi, İspra, İtalya. Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/information-sources/qsar-document-area/Evaluation_of_Skin_Irritation_QSARs.pdf/view

Scott L, Eskes C, Hoffmann S, Adriaens E, Alepée N, Bufo M, Clothier R, Facchini D, Faller C, Guest R, Harbell J, Hartung T, Kamp H, Varlet BL, Meloni M, McNamee P, Osborne R, Pape W, Pfannenbecker U, Prinsen M, Seaman C, Spielmann H, Stokes W, Trouba K, Berghe CV, Goethem FV, Vassallo M, Vinardell P ve Zuang V (2010) A proposed eye irritation testing strategy to reduce and replace *in vivo* studies using Bottom-Up and Top-Down approaches (Aşağıdan Yukarıya ve Yukarıdan Aşağıya yaklaşımlar kullanılarak *in vivo* çalışmaları azaltmak ve yerini almak için önerilen bir göz tahrişi test stratejisi). *Toxicol In Vitro* 24:1-9.

Smith JS, Macina OT, Sussman NB, Luster MI ve Karol MH (2000a) A robust structure-activity relationship (SAR) model for esters that cause skin irritation in humans (İnsanlarda cilt tahrişine neden olan esterler için kapsamlı bir yapı-aktivite ilişkisi (SAR) modeli). *Toxicol Sci* 55:215-22.

Smith JS, Macina OT, Sussman NB, Karol MH ve Maibach HI (2000b) Experimental validation of a structure-activity relationship model of skin irritation by esters (Esterler ile cilt tahrişinin yapı-aktivite ilişkisi modelinin deneysel doğrulaması). *Quant Struct-Act Rel* 19:467-74.

Solimeo R, Zhang J, Kim M, Sedykh A ve Zhu H (2012) Predicting Chemical Ocular Toxicity Using a Combinatorial QSAR Approach (Birleşimsel QSAR Yaklaşımı Kullanarak Kimyasal Göz Toksisitesinin Tahmini). *Chem Res Toxicol* 25: 2763-69.

Spöler F, Frentz M ve Schrage NF (2010). Towards a new *in vitro* model of dry eye: the Ex Vivo Eye Irritation Test (Yeni bir *in vitro* kuru göz modeline doğru: Ex Vivo Göz Tahrişi Testi). *Dev Ophthalmol.* 45: 93-107.

Tsakovska I, Netzeva T ve Worth AP (2005) Evaluation of (Q)SARs for the prediction of Eye Irritation/Corrosion Potential - physico-chemical exclusion rules (Göz Tahrişi/Aşınma Potansiyeli tahmini için (Q)SAR değerlendirmesi - fiziko-kimyasal hariç tutma kuralları). JRC Raporu EUR 21897 EN, s. 42. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspra, İtalya.. Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/doc/Evaluation_of_Eye_Irritation_QSARs.pdf

Tsakovska I, Gallegos Saliner A, Netzeva T, Pavan M, Worth AP (2007) Evaluation of SARs for the prediction of eye irritation/corrosion potential - structural inclusion rules in the BfR decision support system (Göz tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları). *SAR QSAR Environ Res* 18:221-35.

Walker JD, Gerner I, Hulzebos E, Schlegel K (2005) The Skin Irritation Corrosion Rules Estimation Tool (SICRET) (Cilt Tahrişi/Aşınma Kuralları Tahmin Aracı (SICRET)). *QSAR Comb Sci* 24:378-84.

Weil CS ve Scala A (1971) Study of intra- and inter- laboratory variability in the results of rabbit eye and skin irritation tests (Tavşan göz ve cilt tahriş testlerinin sonuçlarında laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası değişkenlik çalışması). *Toxicol Appl Pharmacol* 19:276-360.

Whittle E, Barratt MD, Carter JA, Basketter DA ve Chamberlain M (1996) Skin corrosivity potential of fatty acids: *In vitro* rat and human testing and (Q)SAR studies (Yağ asitlerinin cilt aşındırma potansiyeli: *In vitro* sıçan ve insan testleri ve (Q)SAR çalışmaları). *Toxicol In vitro* 10:95-100.

Worth AP ve Cronin MTD (2001) The use of pH measurements to predict the potential of chemicals to cause acute dermal and ocular toxicity (Kimyasalların akut cilt ve göz toksisitesine neden olma potansiyelini tahmin etmek için pH ölçümlerinin kullanılması). *Toxicol* 169:119-31.

Worth AP (2004) The tiered approach to toxicity assessment based on the integrated use of alternative (non-animal) tests (Alternatif (hayvansal olmayan) testlerin bütünleşik kullanımına dayalı olarak toksisite değerlendirmesine kademeli yaklaşım). *Kaynak*: Predicting Chemical Toxicity and Fate (Kimyasal Toksikite ve Davranışın Öngörülmesi) (Cronin MTD ve Livingstone DJ Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s.389-410.

Worth AP, Bassan A, Gallegos A, Netzeva TI, Patlewicz G, Pavan M, Tsakovska I, Vracko . (2005) The Characterisation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships: Preliminary Guidance ((Nicel) Yapı-Aktivite İlişkilerinin Karakterizasyonu: İlk Rehber). JRC raporu EUR 21866 EN. Avrupa Kimyasallar Bürosu, Ortak Araştırma Merkezi, Avrupa Komisyonu, İspra, İtalya. Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/information-sources/qsar-area/QSAR_characterisation_EUR_21866_EN.pdf/view

Worth A, Barroso J, Bremer S, Burton J, Casati S, Coecke S, Corvi R, Desprez B, Dumont C, Gouliarmou V, Goumenou M, Gräpel R, Griesinger C, Halder M, Janusch Roi A, Kienzler A, Madia F, Munn S, Nepelska M, Paini A, Price A, Prieto P, Rolaki A, Schäffer M, J. Triebe, Whelan M, Wittwehr C ve Zuang V (2014) Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme. JRC Bilim ve İlke Raporları, Rapor EUR 26797 EN. Hayvan Testlerine Alternatifler için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL ECVAM), Sistem Toksikolojisi Birimi, Sağlık ve Tüketici Koruma Enstitüsü, Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi, İspra, İtalya. Erişim adresi: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/echa_jrc_sla_report_public_05-09-14_withcover_ipo.pdf

Young JR, How MJ, Walker AP ve Worth WMH (1988) Classification as corrosive or irritant to skin of preparations containing acidic or alkaline substances, without testing on animals (Asidik veya alkali maddeler içeren müstahzarların hayvanlar üzerinde test yapılmadan cilt aşındırıcı veya tahriş edici olarak sınıflandırılması). *Toxicol In Vitro* 2:19-26.

Young JR ve How MJ (1994) Product Classification as Corrosive or Irritant by measuring pH and Acid/Alkali Reserve (pH ve Asit/Alkali Rezervi ölçülerek Aşındırıcı veya Tahriş Edici Ürün Sınıflandırması). *Kaynak*: Alternative Methods in Toxicology, Vol 10 - *In Vitro* Skin Toxicology: Irritation, Phototoxicity, Sensitization (Toksikolojide Alternatif Yöntemler, Cilt 10 - *In Vitro* Cilt Toksikolojisi: Tahriş, Fototoksikite, Hassasiyet) (Rougier A, Goldberg AM ve Maibach HI Ed.) Mary Ann Liebert, Inc., New York, ABD, s.23-27.

Bölüm R.7.2 için Ek R.7.2-1 ila 3

Ek R.7.2–1 Lokal toksisite mekanizmaları: cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi

Ek R.7.2-1 içeriği:

- Cilt aşınması ve tahrişi mekanizmaları
- Ciddi göz hasarı/göz tahrişi mekanizmaları
- Solunum yolu aşınması ve tahrişi mekanizmaları

CİLT AŞINMASI VE TAHRİŞİ MEKANİZMALARI

Klinik olarak, farklı tiplerde tahriş edici kontakt dermatit (ICD) mevcuttur ve bunlar, morfoloji ve başlangıç şeklindeki farklılıklara dayanılarak şu şekilde sınıflandırılmıştır: akut tahriş edici dermatit (birincil tahriş); tahriş edici reaksiyon; gecikmiş, akut tahriş edici kontakt dermatit; kümülatif tahriş edici dermatit; travmatik tahriş edici dermatit, püstüler ve akneiform tahriş edici dermatit; eritematöz olmayan tahriş edici dermatit; ve öznel tahriş (Lammintausta ve Maibach, 1990).

Tahriş edici kontakt dermatitte iki farklı patogenetik yol yer alabilir. Akut tahriş edici kontakt dermatit, inflamatuvar araçların ve sitokinlerin salınmasıyla oluşan, alerjik kontakt dermatiti taklit eden yangısal bir reaksiyonla karakterizedir. Öte yandan kronik tahriş edici kontakt dermatit, klinik likenifikasyona yol açan epidermal döngü artışı ile ilişkili bariyer işlevi bozukluğu ile karakterizedir (Berardesca ve Distant, 1994).

Cilt tahrişinin klinik olarak ilgili unsurları cilt soyulması sürecinin bir bozukluğudur, bu da pullaşma veya hiperkeratoz (kronik etkiler), yani epidermal olaylara ve ayrıca papüller, veziküller ve/veya büller ve ödem (akut etkiler), yani temelde dermiste meydana gelen olaylar şeklinde gözlenebilen su ekstravazasyonu ile birlikte vazodilatasyon ve kızarıklık içeren yangısal bir yanıtı açar (Serup, 1995). Tahrişin başlangıcı korun tabakası seviyesinde ve daha sonra dermiste meydana gelirken, hassaslaşmada erken olaylar dermiste meydana gelir. Cilt reaksiyonlarındaki farklılıklar, tetiklenen hasarın derecesi ile tahriş edici bir maddenin farklı hücre popülasyonları üzerindeki etkilerine bağlıdır. Örneğin, pigment değişiklikleri melanositler üzerindeki etkilerden kaynaklanırken, ülserasyonlar yaygın keratinosit nekrozundan (cilt aşınması) kaynaklanır. Sitokinlerin ve araçların salımı, canlı keratinositler ve korun tabakası hücreleri de dahil olmak üzere bir dizi hücre tarafından başlatılabilir, bu hücreler böylelikle yangı ve onarımı modüle eder (Sondergard ve ark., 1974; Hawk ve ark., 1983; Barker ve ark., 1991; Baadsgaard ve Wang, 1991; Hunziker ve ark., 1992; Berardesca ve Distant, 1994).

Tahriş edicinin fiziko-kimyasal özellikleri, konsantrasyonu, hacmi ve temas süresi cilt cevabında değişikliklere neden olur. Ayrıca, yaş, cinsiyet, ırk, cilt rengi ve önceki herhangi bir cilt hastalığı geçmişine bağlı olarak bireyler arası farklılıklar mevcuttur. Aynı kişide, reaktivite, cilt kalınlığındaki farklılıklara ve farklı vücut bölgelerinin tahrişine karşı cildin hassasiyetine göre farklılık gösterir. Son olarak, cildin azalan hidrasyon durumu nedeniyle kış aylarında bazı tahriş edici maddelere (DMSO, propilen glikol, SLS ve sabun) daha büyük bir hassasiyet bildirilmiştir (Frosch ve Pilz, 1995). Klinik olarak farklı tipte tahriş edici reaksiyonlar gözlemlenebilmesine rağmen, bunların tümü tahriş edici cevabı tetikleyen hücresel ve biyokimyasal mekanizmalara dayanmaktadır. Gözlemlenen klinik farklılıkların aslında biyokimyasal mekanizmalardaki farklılıklardan kaynaklanıp kaynaklanmadığı sonucuna varmak henüz mümkün değildir ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Barratt'a (1995a) göre ve Walker ve ark. (2004) tarafından daha da açıklanan şekilde, organik maddeler için cilt tahrişine yol açan mekanizmalar, normalde bir maddenin önce korun tabakasına nüfuz etmesi ve ardından daha derin epidermal veya dermal katmanlarda biyolojik bir tepkiyi tetiklemesi gereken iki aşamalı bir süreçle tanımlanır.

Güçlü inorganik asitler ve bazlar için, korun tabakasını aşındırmaları nedeniyle korun tabakasına nüfuz etmelerine gerek yoktur. Maddelerin risk değerlendirmesine ilişkin Teknik Rehber (TGD) göre (EC, 2003), akrilatların, kuaterner amonyum iyonlarının, heterosiklik amonyum iyonlarının ve sülfonyum tuzlarının perkütan emilimi, bu maddelerin ciltteki makromoleküllere bağlanması nedeniyle yavaştır. Bağlanmanın sonucu olarak, korun tabakası yıprandığında aşınma meydana gelebilir. Reaktivite, elektrofiller ve/veya pro-elektrofillerden kaynaklanabilir. Elektrofiller, N, O gibi atomlar veya bir C-atomuna bağlı halojenler içerir, bu da bu C-atomunu pozitif olarak yüklü ve dolayısıyla peptitlerin ve proteinlerin elektron açısından zengin bölgeleri ile reaktif hale getirir. Bu, cilde kovalent bağlanma yoluyla tahrişe neden olur.

Mevcut durumda, korun tabakasının yapısını ve işlevini etkileyerek cilt tahrişini veya cilt aşınmasını tetiklemek için aşağıdaki mekanizmalar önerilmiştir:

1. Cilt hassasiyeti mekanizmaları:

- Yüzey aktif maddelerin cilt proteinleri ile reaksiyonu ve korun tabakasındaki lipidlerle etkileşimi (proteinlerin denatürasyonu, plazma membran lipidlerinde bozukluk),
- Plazma membran lipidlerinin çözülmesi ve böylece düşük moleküler ağırlıklı organik maddelerle cildin yağdan arındırılması ve parçalanması.

2. Cilt aşınması mekanizmaları:

- Korun tabakasının çoğu inorganik asit ve bazlar ve pH ≤ 2.0 olan güçlü organik asitler ve pH ≥ 11.5 olan bazlar tarafından aşındırılması ve
- Katyonik yüzey aktif maddeler ve akrilatların, kuaterner amonyum iyonlarının, heterosiklik amonyum iyonlarının ve sülfonyum tuzlarının perkütan emilimi ile korun tabakasındaki cilt bileşenlerine bağlanma.

3. Hem cilt tahrişine hem de aşınmasına yol açabilecek mekanizmalar:

- Yeterli hidrofobik ve hidrofilik özelliklere sahip anyonik veya yüzey aktif olmayan organik maddeler tarafından korun tabakasına penetrasyon ve
- Epidermis veya dermiste yangısal ve/veya sitotoksik cevabın oluşturulması.

Bu cevapların ciddiyeti, tahriş veya aşınmanın olup olmadığını belirleyebilir.

CİDDİ GÖZ HASARI VE GÖZ TAHRİŞİ MEKANİZMALARI

Göz hasarı birçok nedenle oluşabilir. Bunlar, keskin nesnelere delinme gibi fiziksel olabilir. Kan dolaşımı yoluyla göze girebilen sistemik ilaçlar gibi maddeler göz hasarına neden olabilir (örn. siklosporin, aşılarda, intravenöz immünoglobulinler, intravenöz streptokinaz). Asitler, alkaliler, çözücüler veya yüzey aktif maddeler gibi maddelerle veya karışımlarla doğrudan (topikal) temas da çeşitli derecelerde göz hasarına neden olabilir.

Bu malzemeler kasıtlı olarak, örn. göz damlalarının, ilaçların, göz çevresinde kullanılması amaçlanan ürünlerin kullanımı yoluyla gözle temas edebilir, ancak aynı zamanda kasıtlı olmadan örn. tüketici ürünlerinin kazara dökülme ve sıçraması veya işyerinde kazara maruz kalmalar yoluyla olabilir.

Genel olarak, gözle doğrudan temas eden maddeler veya karışımlar, gözün ön dokuları ve alt yapıları (örn. kornea, konjonktiva, iris, gözyaşı sistemi ve göz kapakları) üzerinde lokal etkilere neden olabilir. Topikal maddelerin ve karışımların göz hasarına neden olduğu birkaç etki şekli (örn. hücre zarında lizis, sabunlaşma ve pıhtılaşma) vardır (bkz. [Tablo R.7.2-5](#)).

Tablo R.7.2-5 Tahriş edici maddelerin kategorileri ve göz tahrişinde tipik etki şekilleri

Madde / karışımlar	Etki Şekli
İnert maddeler	Büyük boyutlu olması nedeniyle etkiye neden olabilir. Çıktılar, gözde doğrudan delinmeye neden olabilir.
Asitler	Hücrel bileşenlerle (örn. göz proteinleri) doğrudan tepkimeye girebilir ve pıhtılaşmaya, lizis veya çökelmeye neden olarak nispeten lokal hasara yol açar.
Bazlar (Alkaliler)	Alkali etki, yani sabunlaşma yoluyla hücre zarı lipidlerini aktif olarak bozabilir. Göz dokusunun daha derin katmanlarına nüfuz edebilir. Doğrudan hücrel bileşenlerle tepkimeye girebilir ve dokuda pıhtılaşması veya lizise neden olabilir.
Çözücüler	Epitel ve alttaki hücrelerin plazma membranlarında lipidleri çözücü olarak membran lizisine neden olabilir ve etkilenen hücrelerin kaybına ve sonuç olarak onarım mekanizmalarına (hücre çoğalması, doku yenilenmesi) bağlı şekilde geçici olabilecek doku bozunmasına yol açabilir. Ayrıca pıhtılaşmaya da neden olabilir.
Göz yaşartıcılar	Kornea epitelindeki duyu siniri uçlarını uyararak yırtılmanın artmasına neden olabilir.

Göz hasarının derecesi genellikle madde veya karışımın özelliklerine (kimyasal kategori/sınıf) ve konsantrasyonuna bağlıdır. Asitler ve alkaliler genellikle gözlerde hemen tahrişe neden olur. Diğer maddeler, hafif başlayıp daha sonraki bir dönemde daha şiddetli hale gelen göz hasarlarına neden olabilir (örn. alkilasyon veya makromoleküllere oksidatif saldırı yoluyla hücrel bileşenler ile tepkimeye giren maddeler). Bu tür maddelere bir örnek, peroksitler, hardallar ve ağartıcılardır (Scott *ve ark.*, 2010).

Göz yüzeyinin gözü tahriş eden maddelere maruz kalması üzerine, konjunktivada yangı indüklenebilir. Bu, kızarıklığa neden olan şekilde kan damarlarının genişlemesini, şişmeye (ödem/kemoz) neden olan şekilde su akışının (efüzyonunun) artmasını ve akıntıda artışa yol açan mukus salgılanması artışını içerir. Görüş keskinliği bozulabilir. Kornea üzerindeki etkiler daha şiddetli olabilir (örn. korneanın tahrip olması veya kalıcı kornea opaklığı veya korneanın boyar madde ile renk değiştirmesi) veya etkilerin epitel ile sınırlı olduğu durumlarda tersinir olabilir. Tahriş edici maddeler ayrıca gözyaşı üretiminde artışa ve ıslaklık artışı gibi gözyaşı tabakasının bütünlüğünde değişikliklere neden olabilir. İrit, doğrudan tahrişten kaynaklanabilir veya kornea hasarına ikincil bir reaksiyon haline gelebilir. İriste yangı olduğunda, göz bebeğinin boyutunu ayarlama kapasitesini etkileyen ve ışığa reaksiyonu azaltarak görüş keskinliğinde azalmaya yol açan şekilde sıvıların infiltrasyonu bunu izleyebilir. İris içindeki sinirlerin zenginliğinden dolayı, tahriş kaşıntı, yanma ve batma gibi öznel belirtilere de neden olur.

Hasarın derecesine ve onarım derecesine bağlı olarak göz hasarı tersinir olabilir veya olmayabilir. Tek başına, kornea epitelindeki hasar, genellikle kalıcı göz hasarı olmaksızın hızla onarılabilir. Hasar bazal membranın ötesinde stromanın yüzeysel kısmına geçerse, kornea yine de oldukça iyi bir şekilde onarılabilir, ancak onarım süreci günler, hatta haftalar alabilir. Hasar stromaya önemli ölçüde genişlediğinde, sonrasında gerçekleşen bir dizi yangısal süreç nedeniyle kornea ülserasyonu meydana gelebilir. Hasar endotelyumun ötesine uzanırsa, tersinir olmayan ve kalıcı görme kaybına neden olabilen kornea perforasyonu meydana gelebilir. Göz hasarı, farklı derecelerde fonksiyon kaybına neden olabilir (örn. gözyaşı üretiminin artması, korneanın opaklaşması, ödem ve dolayısıyla görme keskinliğinde azalma).

Vücut kendi savunma mekanizmalarına (örn. ağrıyı, batmayı ve yanmayı hissetmek) sahiptir ve maddeye tam olarak maruz kalmamak için göz kapakları açılıp kapanacaktır. Artan gözyaşı üretimi ve göz kırpması yoluyla boşaltma, etken maddenin seyrelmesine veya temizlenmesine yardımcı olur. Bu tür savunma mekanizmaları, gözün tahriş edici bir yabancı maddeye maruz kalmasından kaynaklanan hızlı göz kırpması ve bol gözyaşı üretimi ile insanlarda oldukça gelişmiştir. Literatürde, yabancı maddelerin ne kadar etkili bir şekilde gözden giderildiğini etkileyebilecek şekilde göz kırpması hızı ve gözyaşı üretim mekanizmasında türsel farklılıkların olduğu iyi ölçüde bildirilmiştir.

SOLUNUM YOLU AŞINMASI VE TAHRİŞİ MEKANİZMALARI

Solunum yolu aşınması, mukozanın tahrip olmasını ve ardından epitel hücrelerinin çoğalmasını içerir. Onarım mekanizmaları aynı hızda olmazsa, kronik hasar ile dokunun yeniden şekillenmesi meydana gelebilir. Bazal membran hasarı olmaksızın hafif epitel veya endotel hasarı, şiddetli yangı veya neden olan maddenin kalıcılığı, basit hücresel yenilenmeyle çözülebilir. Daha şiddetli hasar ile, doku yıkımı veya fibrozisin izleyebileceği önemli bir yangı bileşeni ortaya çıkarılabilir. Bazı durumlarda, tetikleyici maddenin doku içinde kalıcılığı, kristalin silika veya karbon nanotüplere soluma yoluyla maruz kalma ile gözlemlendiği gibi, granülomatöz bir hastalığın gelişmesine yol açabilir (Harkema ve ark., 2013).

Solunum sistemindeki aşındırıcı etkiler özel olmayabilir, örneğin sülfürik asit gibi oldukça asidik veya bazik maddeler tarafından tetiklenebilir. Bununla birlikte, akut nekroz ve koku alma epiteli kaybı, 3-metilfuran gibi P450 sistemi tarafından metabolik aktivasyon gerektiren toksik maddelere soluma veya kan yoluyla maruz kalma sonrasında da gözlenebilir. Bazal membran maruz kaldığında, sitokinler salınır ve yangı meydana gelir (Harkema ve ark., 2013).

"Solunum yolu tahrişi" terimi genellikle iki farklı toksikolojik etkiden birini veya her ikisini belirtmek için kullanılır. Bunlar i) etkilenen dokudaki sitotoksik etkiler ve ii) duyuşal tahriştir.

Solunum sistemindeki sitotoksik etkiler, cilt ve göz tahrişiyle karşılaştırılabilir. Bu etkiler yangı (artmış kan akışı (hiperemi), beyaz kan hücreleri ile lokal infiltrasyon, şişme, ödem) ile karakterize edilir ve ayrıca kanama ve sonuçta nekroz ve diğer patolojik değişiklikler olabilir. Etkiler prensipte geri döndürülebilir. Yakın tarihli bir yayın, bu tür etkiler için "doku tahrişi" terimini önermiştir (Brüning ve ark., 2014).

Kronik tahriş, etkilenen dokularda tekrarlı hücre çoğalması ataklarına yol açabilir ve bu da, tümör gelişimi riskini artırabilir. Etkilerin niteliği, maddeye ve öncelikli olarak hedeflenen bölgeye bağlıdır; etkilerin şiddeti maruz kalmanın konsantrasyonuna ve süresine bağlıdır. Genel olarak, hayvanlarda tekrarlı maruz kalma çalışmaları, doku hasarı için (histo)patolojik kanıtların gözlemlenmesine odaklanır. Açık doku hasarının (mukozal erozyon ve ülserasyon) meydana gelmesi durumunda, solunum yolu boyunca temas bölgesinde özel olmayan bir sitotoksik etki varsayılabilir.

Maruz kalma konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak, ön bölgelerden arka bölgelere lezyonların şiddet gradyanı gözlenebilir (test maddesinin metabolik aktivasyonuna bağlı olarak belirli mukoza tiplerindeki etkilerin aksine) ve lezyonların şiddetine ve kapsamına bağlı olarak, bitişik submukozal dokular da etkilenebilir (örn. kıkırdak yıkımı). Bu tür lezyonlar, yara oluşumu veya orijinal mukozanın değişmesi nedeniyle tamamen geri döndürülemez veya belirgin kanama veya kalıcı hava yolu tıkanıklığı gibi diğer ciddi sağlık etkilerine neden olabilir.

"Duyusal tahriş", bir maddenin, gözlerin ve üst solunum yolunun mukozal dokularına geniş çapta dağılmış otonomik sinir reseptörleri ile lokal ve merkezi refleks etkileşimini ifade eder. Duyusal tahriş için, farklı cevaplar üreten, madde veya madde grubuna özgü üç hedef bölge tanımlanabilir: a) nazal (ve göz) tahrişi, yani trigeminal sinir ile etkileşim, b) faringeal tahriş, yani glossofaringeal sinir ile etkileşim ve c) gırtlak ve alt solunum yolu, yani vagus siniri ile etkileşim.

Duyusal tahriş, ağrı, yanma, keskin duyular ve karıncalanma gibi hoş olmayan hislere yol açar. Şiddet, maruz kalma süresinden çok tahriş edicinin havadaki konsantrasyonuna bağlıdır. Duyusal tahriş, reseptör aracılı bir etkidir ve genellikle solunan tahriş edici maddeye maruz kalındığında hemen ortaya çıkar. Hapşırma, gözyaşı üretimi, rinore, öksürme, geniz yollarındaki kan damarlarının vazodilatasyonu gibi istemsiz refleks tepkilere, solunum hızı ve derinliğinde değişikliklere neden olur. İnsanlarda burnu ve ağız örtme gibi koruyucu davranışsal tepkiler de ortaya çıkabilir. Duyusal tahriş, farklı sinir yollarının (koku alma) aracılık ettiği koku duyusundan farklıdır. Bununla birlikte, koku algısının ve diğer bilişsel etkilerin insanlarda duyusal tahriş algısını etkileyebileceğine dair kanıtlar vardır.

Kemirgenlerde, duyusal tahriş, solunum hızında refleks azalmasına (nefes tutma) neden olur. Solunum üzerindeki bu refleks etkisi deneysel olarak ölçülebilir (Alarie testinde RD₅₀ değerinin belirlenmesi (Alarie, 1973)), ancak sonuçlar kemirgenlerin türüne ve suşuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir (süre değişiklik oluşturmak için yeterince uzun olmalıdır) ve ayrıca sonuçlar laboratuvarlar arası değişkenlik gösterir. Alarie testinin sonuçları ile insan verileri arasındaki ilişkinin araştırılması zordur çünkü insanlarda ve farelerde incelenen parametreler farklıdır ve RD₅₀ değerinin insan eşdeğerini belirlemek üzere yeterli insan verileri şu anda mevcut değildir. Cometto-Muniz ve ark. tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçları (1994), hayvanlardaki RD₅₀ değerlerinin, insanlardaki "burun keskinliği eşikleri" ile kolayca karşılaştırılmayacağını göstermektedir.

Belirtildiği gibi, insan verileri çoğunlukla öznel deneyimlere dayanmaktadır ve koku algısı ile karışıklığı önlemek için dikkatlice kontrol edilmeleri gerekir (Dalton, 2003; Doty ve ark., 2004). İnsan gönüllülerde duyusal tahriş cevaplarının araştırılması için doğrulanmış anketler geliştirilmiştir. Nesnel bir ölçüm yelpazesi geliştirmeye önem verilmiştir (bkz. Arts ve ark., 2006). İşyerindeki maddeler için toksikolojik profillerin derlenmesi, duyusal tahrişin genellikle insan riski değerlendirmesinde çok hassas ve ilgili bir sonlanma noktası gibi görüldüğünü göstermektedir. Buna göre, mesleki maruz kalma sınır değerlerinin (OEL) %40'ı duyusal tahrişten kaçınmaya dayanmaktadır (Dick ve Ahlers 1998; Edling ve Lundberg 2000; van Thriel ve ark., 2006). Bu sonlanma noktası, uçucu maddelerin solunum yolunun ve gözlerin mukoza zarlarında bulunan nöronal sensörler ile etkileşimi ile ilgilidir. Çoğu durumda, kontrollü insan çalışmalarından elde edilen veriler mevcut değildir ya da yetersizdir, bu nedenle OEL değerleri ağırlıklı olarak solunum yolundaki lokal etkileri araştırılan hayvan verilerinden elde edilir. Bu etkiler genellikle doku tahrişi olarak ölçülür. Duyusal tahriş üzerine insan verilerinin hayvanlarda subakut ve subkronik soluma çalışmalarından elde edilen verilerle karşılaştırılması, insanlar için lokal tahriş edici etkilere ilişkin hayvan verilerinin ekstrapolasyonu için varsayılan değerlendirme faktörü olarak 3 değerinin önerilmesine yol açmıştır (Brüning ve ark., 2014).

REFERANSLAR

- Alarie Y (1973) Sensory irritation of the upper airways by airborne chemicals (Havadaki kimyasallar tarafından üst solunum yollarının duyuşal tahriş). *Toxicol Appl Pharmacol* 24:279-97.
- Baadsgaard O ve Wang T (1991) Immune regulation in allergic and irritant skin reactions (Alerjik ve tahriş edici cilt reaksiyonlarında bağışıklık düzenleme). *Int J Dermatol* 30:161-72.
- Barker JN, Mitra RS, Griffiths CEM, Dixi, VM and Nickoloff BJ (1991) Keratinocytes as initiators of inflammation (Yangı başlatıcı olarak keratinositler). *Lancet* 337:211-4.
- Berardesca E ve Distant F (1994) The modulation of skin irritation (Cilt tahrişinin modülasyonu). *Contact Dermatitis* 31:281-7.
- Cometto-Otto ve Cain WS (1994) Sensory reactions of nasal pungency and odor to volatile organic compounds: the alkylbenzenes (Burun keskinliğı ve kokunun uçucu organik bileşiklere duyuşal reaksiyonları: alkilbenzenler). *Am Ind Hyg Assoc J* 55:811-7.
- Dalton P (2003) Upper airway irritation, odor perception and health risk due to airborne chemicals (Havadaki kimyasallar nedeniyle üst hava yolu tahriş, koku algısı ve sağılık riski). *Toxicol Lett* 140-141:239-48.
- Doty RL, Cometto-Muñiz JE, Jalowayski AA, Dalton P, Kendal-Reed M ve Hodgson M (2004) Assessment of upper respiratory tract and ocular irritative effects of volatile chemicals in humans (İnsanlarda uçucu kimyasalların üst solunum yolu ve gözde tahriş edici etkilerinin değıerlendirilmesi). *Crit Rev Toxicol* 34:85-142.
- EC (2003) Yeni bildirilen maddeler için Risk Değıerlendirmesine ilişkin 93/67/EEC sayılı Komisyon Direktifi, mevcut maddeler için Risk Değıerlendirmesine ilişkin 1488/94 sayılı Komisyon Yönetmeliğı (EC) ve biyosidal ürünlerin piyasaya arzına ilişkin Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin 98/8/EC sayılı Direktifini destekleyen Teknik Rehber Doküman. Erişim adresi: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart1_2ed_en.pdf
- Frosch PJ ve Pilz B (1995) Irritant patch test techniques (Tahriş edici yama testi teknikleri). *Kaynak: Handbook of Non-invasive Methods and the Skin (Girişimsel Olmayan Yöntemler ve Cilt El Kitabı) (Serup J ve Jemec GBE Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s.587- 91.*
- Harkema JR, Nikula KJ ve Haschek WM (2013) Bölüm 51: Solunum sistemi. *Kaynak: Haschek ve Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek ve Rousseaux'nun Toksikolojik Patoloji El Kitabı), 3. baskı, cilt III, (Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA Ed.) Elsevier/Academic Press, Amsterdam, Hollanda, s.1935-2003.*
- Hawk JLM, Black AK, Jaenicke KF, Barr RM, Soter NA, Mallett AI, Gilchrest BA, Hensby CN, Parrish JA ve Greaves MW (1983) Increased concentrations of arachidonic acid, prostaglandins E2, D2, and 6-oxo-F1 alpha, and histamine in human skin following UVA irradiation (UVA ışınlamasının ardından insan cildinde araşidonik asit, prostaglandin E2, D2 ve 6-okso-F1 alfa ve histamin konsantrasyonlarında artış). *J Invest Dermatol* 80:496-9.
- Hunziker T, Brand CU, Kapp A, Waelti ER ve Braathen LR (1992) Increased levels of inflammatory cytokines in human skin lymph derived from sodium lauryl sulphate-induced contact dermatitis (Sodyum lauril sülfat kaynaklı kontakt dermatitten türetilen insan cildi lenflerinde inflamatuvar sitokin seviyelerinde artış). *Br J Dermatol* 127:254-7.
- Lammintausta KH ve Maibach HI (1990) Contact dermatitis due to irritation (Tahriş bağılı kontakt dermatit). *Kaynak: Occupational Skin Disease (Mesleki Cilt Hastalıkları) (Adams RM Ed.) 2. baskı, Saunders WB, Philadelphia, PA, ABD, s. 1-15.*
- Serup J (1995) The spectrum of irritancy and application of bioengineering techniques (Tahriş spektrumu ve biyomühendislik tekniklerinin uygulanması). *Kaynak: Irritant Dermatitis. New Clinical and Experimental Aspects (Tahriş Edici Dermatit. Yeni Klinik ve Deneysel Yönler). Current Problems in Dermatology, cilt 23 (Elsner P ve Maibach HI Ed.) Karger, Basel, İsviçre, s.131-43.*
- Sondergard J, Graevers MW ve Jorgenson HP (1974) Recovery of prostaglandins in human primary irritant dermatitis (İnsanlarda birincil tahriş edici dermatitte prostaglandinlerin geri kazanımı). *Arch Dermatol* 110:556-7.

Walker JD, Gerner I, Hulzebos E ve Schlegel K (2004) (Q)SARs for Predicting Skin Irritation and Corrosion: Mechanisms, Transparency and Applicability of Predictions (Cilt Tahrişi ve Aşınmasını Tahmin Etmeye Yönelik (Q)SAR: Mekanizmalar, Şeffaflık ve Tahminlerin Uygulanabilirliği). QSAR Comb Sci 23:721-5.

Ek R.7.2-2 Cilt aşınması ve tahrişi için (Q)SAR ve uzman sistemler**Ek R.7.2-2 içeriği:**

- Literatür temelli QSAR modelleri
- Ticari modeller
- BfR kural tabanı
- OECD QSAR Araç Kutusu

Prensip olarak, KKDİK Yönetmeliği Ek 11, tahriş edici olmama tahmini dahil olmak üzere, (Q)SAR kullanımıyla standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanmasına izin verir. Bununla birlikte, cilt aşınması/tahrişi sonlanma noktası için, halihazırda mevcut olan modellerin yalnızca çok azı, tek başına yöntem olarak kullanıldığında bu amaç için uygundur. Yine de, bu modeller, destekleyici bilgi olarak veya *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımlarında ve cilt aşınması/tahrişinin pozitif tahmini için kullanıldıklarında hala yararlı olabilirler.

LİTERATÜR TEMELLİ QSAR MODELLERİ

Açık bilimsel literatürde, nicel yapı aktivite ilişkileri cilt tahrişinin sürekli (örn. Birincil Tahriş İndeksleri) veya kategorik (örn. AB sınıflandırmaları) ölçümlerine dayanmaktadır.

Tanımlanmış madde sınıfları için, aşındırıcı ve aşındırıcı olmayan maddeler (Barratt, 1996a, 1996b) ve cildi tahriş edici maddeler ile tahriş edici olmayanlar arasında ayırım yapmak için kategorik nicel yapı aktivite ilişkileri raporlanmıştır (Smith ve ark., 2000a, 2000b). Bu çalışmalar aslında kimyasalları sınıflandırmak için şeffaf bir algoritma sağlamamıştır, bu nedenle düzenleyici kullanım için sınırlı değere sahiptir. Ancak, bu tür modellerin geliştirilmesinin uygulanabilirliğini gösterirler.

İnsan gönüllülerde tahriş edici ve tahriş edici olmayan sıvı esterler arasında ayırım yapmak için doğrusal bir ayırt edici model Smith ve ark. (2000a) tarafından bildirilmiştir. Yukarıda belirtildiği gibi, kesin algoritma net değildir. İlave olarak, insan tahrişi için birincil tahriş indeksinin, bu puanlar sınıflandırma için dikkate alındığında çevrilmesi gerekebilir. Bununla birlikte, sonuçlar, tahriş edici esterlerin sınırlı sayıda fiziko-kimyasal parametreye dayanarak tahriş edici olmayanlardan ayırt edilebileceğini gösterdiğinden, esterler için gelecekte model geliştirme amacıyla bilgilendirici olabilir.

Tanımlanmış madde sınıfları için, Birincil Tahriş İndeksini (PII) tahmin etmek üzere sürekli nicel yapı aktivite ilişkileri de yayınlanmıştır (Barratt, 1996b; Hayashi ve ark., 1999; Kodithala ve ark., 2002). Örneğin, 52 nötr ve elektrofilik organik maddeden oluşan bir sete aşamalı regresyon analizinin uygulanması aşağıdaki modeli oluşturmuştur:

$$PII = 1.047 \log P - 0.244 MV + 0.888 DM + 0.353$$

$$N=52, r^2 = 0.422, r_{cv}^2 = 0.201, s=1.376, F=11.70$$

Bu denklem, Birincil Tahriş İndeksinin oktanol-su dağılım katsayısının logaritması (log P) ve dipol momente (DM) pozitif bağımlılığı ve moleküler hacme (MV) negatif bağımlılığı olduğunu gösterir. Bu model düşük uyum iyiliğine (r^2) ve zayıf öngörüye (r_{cv}^2 ile yansıtılan şekilde) sahiptir, bu nedenle düzenleyici kullanım için tavsiye edilmez. Birincil Tahriş İndeksini tahmin etmek için modellerin geliştirilmesine yönelik daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır ve oluşturulan bilgilerin DNEL değerleri düzeninde kullanılıp kullanılmayacağı dikkate alınmalıdır.

Bazı sınırlı kanıtlar, asitlerin ve bazların reaktif etkilerinin, SPARC programı gibi piyasada mevcut olan yazılım ürünleri kullanılarak öngörülebilir asit/baz ayrışma sabiti (pKa) kullanılarak tahmin edilebileceğini göstermektedir. Asitler için cilt tahrişinin bir göstergesi olarak pKa'nın yararlılığına dair kanıt, Berner ve ark. tarafından sağlanmıştır. (1988, 1989, 1990), bazlar için cilt tahrişinin öngörücüsü olarak pKa'nın yararlılığına dair kanıt ise Nangia ve ark. tarafından sağlanmıştır (1996). Barratt ayrıca asitlerin ve bazların etkilerini tahmin etmek için pKa kullanmıştır (Barratt, 1995a). Bu çalışmalar, ilgilenilen maddede birden fazla fonksiyonel grubun ve dolayısıyla çoklu iyonizasyon sabitlerinin olduğu durumlarda pKa'nın nasıl kullanılacağı sorusunu ele almamıştır. Mevcut bilgilere dayanarak, pKa bilgilerinin nasıl kullanılacağına dair net öneriler yapılamamaktadır.

Cilt aşınması/tahrişi için mevcut literatüre dayalı modellere genel bir bakış [Tablo R.7.2-6](#)'da verilmiştir.

Tablo R.7.2-6 Cilt aşınması/tahrişi için mevcut literatüre dayalı modeller

Referans	İçerik
QSAR modelleri	
Barratt (1996a) Organik asitlerin, bazların ve fenollerin cilt aşındırıcılığı için nicel yapı aktivite ilişkileri: Genişletilmiş veri setlerinin temel bileşenleri ve sinir ağı analizi.	Bu makale, organik asitlerin, bazların ve fenollerin cilt aşındırıcılığı verilerini log (oktanol/su dağılım katsayısı), moleküler hacim, erime noktası ve pK(a) ile ilişkilendiren QSAR modellerini açıklamaktadır.
Barratt (1996b) Nötr ve Elektrofilik organik kimyasalların cilt tahrişi ve aşınması için nicel yapı-aktivite ilişkileri.	Bu makale, nötr ve elektrofilik organik kimyasalların cilt tahrişi ve aşınma verilerini log (oktanol/su dağılım katsayısı) (logP), moleküler hacim, dipol moment ve 1/moleküler ağırlık ile ilişkilendirerek elde edilen QSAR modellerini açıklamaktadır.
Barratt (1996c) Asitlerin cilt aşındırma potansiyelinin tahmini için (Q)SAR yöntemlerinde in vitro sitotoksitesite ölçümlerinin kullanımı.	Bu makale, asitlerin cilt aşındırıcılığı şiddetini cilt geçirgenliğini ve sitotoksitesitesini modelleyen parametrelerle ilişkilendiren nicel yapı-aktivite ilişkilerini (QSAR) açıklamaktadır. Cilt geçirgenliği log (oktanol/su dağılım katsayısı), moleküler hacim ve erime noktası ile modellenirken, asitlerin sitotoksitesitesi, pKa değerleri ve sodyum tuzlarının İsviçre fare embriyosu 3T3 hücrelerine karşı in vitro sitotoksitesitesi ile açıklanmıştır.
Gerner ve ark. (2004) Cilt tahrişinin nicel yapı-özellik ilişkileri modellemesi.	Bu makale, cilt tahrişi veya aşınma potansiyeli olmayan kimyasal maddeleri tanımlamak üzere uygun olan belirli fiziko-kimyasal özellikler için sınır değerleri açıklamaktadır. Bu fizikokimyasal özellikler arasında erime noktası, moleküler ağırlık, oktanol/su dağılım katsayısı, yüzey gerilimi, buhar basıncı, suda çözünürlük ve lipid çözünürlüğü bulunur.
Golla ve ark. (2009) Cilt tahrişinin nicel yapı-özellik ilişkileri modellemesi.	Bu makale, çeşitli moleküler sınıflardan kimyasalları içeren 186 bileşik için tavşan Draize test verilerine dayanan bir cilt tahrişi QSPR modelini açıklamaktadır. Geleneksel, işlevsel grup ve yapısal tanımlayıcıların bir kombinasyonunu kullanmanın etkinliği incelenmiştir. Moleküler boyut, reaktivite ve cilt penetrasyonunun cilt tahrişi üzerindeki etkileri de analiz edilmiştir.

<p>Hayashi ve ark. (1999) Fenollerin cilt tahrişi potansiyelinin nicel yapı-aktivite ilişkisi çalışması.</p>	<p>Bu makale, aşağıdaki tanımlayıcıları kullanarak yirmi dört fenol kullanımıyla türetilen cilt tahrişi potansiyeli için nicel yapı aktivite ilişkilerini açıklamaktadır: reaktivite için HOMO ve LUMO enerji seviyelerinden hesaplanan mutlak sertlik ve geçirgenlik için log P. Tanımlayıcıların seçimi, cilt tahrişinin, cildin epidermal ve dermal seviyelerinde bulunan makromoleküllerle fenollerin reaksiyonu sonucu oluştuğu hipotezine dayanmıştır.</p>
<p>Hulzebos ve ark. (2005) Cilt tahrişi veya cilt aşınması potansiyeli olan kimyasal maddelerin tanımlanmasına yönelik kurallar geliştirmek için yapısal uyarıların kullanılması.</p>	<p>Bu makale, akut cilt lezyonları için yapısal uyarıların tahriş veya aşınma veya aşınma/tahriş uyarılarının bir kombinasyonu olarak tanımlanmasını ve sınıflandırılmasını açıklamaktadır.</p>
<p>Kodithala ve ark. (2002) Membran etkileşimli QSAR analizi kullanılarak organik kimyasallardan cilt tahrişinin tahmini.</p>	<p>Bu makale, Draize cilt tahriş puanlarının (PII) belirlenmiş olduğu 22 hidroksi organik bileşikten oluşan bir eğitim seti için gerçekleştirilen membran etkileşim QSAR analizini açıklamaktadır. Cilt tahrişi potansiyelinin, (1) hücrel bir zarın fosfolipid bakımından zengin bölgelerine alım için mevcut bileşiğin etkin konsantrasyonunda artış, (2) bileşiğin hücrel bir zarın fosfolipid bakımından zengin bölgelerine bağlanmasında artış ve (3) molekülün en yüksek dolu moleküler orbitali (HOMO) ve/veya en düşük boş moleküler orbitali (LUMO) tarafından yansıtılan bileşiğin kimyasal reaktivitesi ile artması öngörülmektedir.</p>
<p>Walker ve ark. (2004) Cilt Tahrişi ve Aşınmasını Tahmin Etmeye Yönelik (Q)SAR: Mekanizmalar, Şeffaflık ve Tahminlerin Uygulanabilirliği.</p>	<p>Bu makale, cilt tahrişi ve aşınmasını tahmin etmek için önceden geliştirilmiş nicel yapı aktivite ilişkilerini açıklar, cilt tahrişi ve aşınma mekanizmaları önerir ve tahminlerin şeffaflığı ve uygulanabilirliğini tartışır.</p>
<p>Walker ve ark. (2005) Cilt Tahrişi/Aşınma Kuralları Tahmin Aracı (SICRET).</p>	<p>Bu makale, kimyasalların cilt tahrişine veya cilt aşınmasına neden olup olmayacağını tahmin etmeye olanak sağlamak için geliştirilmiş Cilt Tahrişi-Aşınma Kuralları Tahmin Aracını (SICRET) açıklamaktadır. SICRET, cilt aşınması veya cilt tahrişi potansiyeli olmayan kimyasalları tanımlamak için fizikokimyasal özellik sınırlarını kullanır.</p>
<p>Whittle (1996) Yağ asitlerinin cilt aşındırma potansiyeli: <i>In vitro</i> sıçan ve insan testleri ve (Q)SAR çalışmaları.</p>	<p>Bu makale, hem sıçan derisi hem de insan derisi kullanılarak yapılan bir <i>in vitro</i> cilt aşındırıcılığı testine (IVSCT) göre bir yağ asidi - propanoik asit (C3), bütanoik asit (C4), hekzanoik asit (C6), oktanoik asit (C8), dekanolik asit (C10) ve dodekanoik asit (C12) dizisinin aşındırıcı potansiyelini araştırmaktadır. Sonuçlar, bu durumda asitlik (pK(a)) olarak ifade edilen aşındırıcılığın kimyasalın sitotoksitesiyle birlikte cilde nüfuz etme kabiliyetinin bir fonksiyonu olduğu varsayılan mekanizma ile, organik asitlerin aşındırıcılığı için QSAR bağlamında tartışılır.</p>
<p>Worth ve Cronin (2001) Kimyasalların akut cilt ve göz toksisitesine neden olma potansiyelini tahmin etmek için pH ölçümlerinin kullanılması.</p>	<p>Bu makale, kimyasalların cilt aşınmasına, cilt tahrişine ve göz tahrişine neden olma potansiyelini tahmin etmek için pH verilerine dayalı sınıflandırma modellerinin geliştirilmesini sunmaktadır. Bu modellerin kademeli test stratejileri bağlamında olası uygulamaları tartışılmaktadır.</p>

Mevcut modellerin gözden geçirilmesi ve değerlendirilmesi	
Gallegos Saliner ve ark. (2006) Cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli modellerin incelemesi.	Bu rapor, cilt ve göz tahrişi ve aşınmasının değerlendirilmesi için en son teknoloji <i>in silico</i> ve <i>in vitro</i> yöntemleri incelemektedir. Bu derlemede, cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli QSAR modellerinin yanı sıra bilgisayar temelli uzman sistemlere vurgu yapılmaktadır.
Gallegos Saliner ve ark. (2008) Cilt ve Göz Tahrişi ve Aşınması için (Q)SAR Modellerinin İncelenmesi.	Bu makale, cilt ve göz tahrişi ve aşınmasını değerlendirmek için son teknoloji <i>in silico</i> yöntemleri incelemektedir. Avrupa Komisyonu Avrupa Kimyasallar Bürosu Ortak Araştırma Merkezi tarafından gerçekleştirilen kapsamlı bir incelemeye dayanmaktadır. En yaygın olarak kullanılan <i>in silico</i> yaklaşımlar, (1) cilt tahrişini, (2) cilt aşınmasını ve (3) göz tahrişini değerlendirmeye yönelik yöntemler olarak sınıflandırılır. Bu derlemede, literatüre dayanan (Q)SAR modellerine vurgu yapılmıştır.
Gallegos Saliner ve ark. (2007) Cilt tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirilmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları.	Bu çalışma, cilt tahrişi ve/veya aşınma olmadığını tahmin etmek amacıyla Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü'nde (BfR) geliştirilen cilt tahrişi ve aşınması için Karar Destek Sisteminde uygulanan yapısal dahil etme kurallarını değerlendirmektedir. Aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır: (a) yapısal kuralların orijinal eğitim setinden (1358 madde) yeniden türetilerek onaylanması ve (b) kuralların türetilmesinde kullanılmayan 200 kimyasaldan oluşan bir test seti kullanılarak harici bir doğrulama.
Mombelli (2008) QSAR yazılım paketlerinin, DEREK, HAZARDEXPERT ve TOPKAT'ın kimyasal olarak tetiklenen cilt tahrişini tanımlamada tahmin kapasitesinin bir değerlendirmesi.	Bu makale, piyasada bulunan üç yazılım paketinin (DEREK, HAZARDEXPERT ve TOPKAT) cilt tahriş modülünün performansını bildirmektedir. Performansları, 116 kimyasal için literatürde yayınlanan verilere dayanılarak test edilmiştir.
Rorije ve Hulzebos (2005) Cilt Tahrişi/Aşınma Potansiyelinin tahmini için (Q)SAR değerlendirilmesi. Fizikokimyasal dışlama kuralları.	Bu çalışma, cilt tahrişi ve/veya aşınması olmadığını tahmin etmek için Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü'nde (BfR) geliştirilen cilt tahrişi ve aşınmasına yönelik Karar Destek Sistemine dahil edilen fiziksel-kimyasal kural tabanını değerlendirmektedir. Bu değerlendirme, 1) nicel yapı aktivite ilişkilerine ilişkin OECD ilkelerine kural tabanının uygunluğunu, 2) (Q)SAR kurallarının türetilmesini, 3) bu kuralların dış doğrulamasını, doğrulama için kullanılan veri kümesinin uygunluğunun değerlendirilmesi dahil olacak şekilde içermektedir.

Bu modellerle ilgili daha fazla ayrıntı JRC raporunun "Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme" başlıklı 3. Bölümünde bulunabilir (Worth ve ark., 2014).

TİCARİ MODELLER

Cilt aşınması/tahrişi için nicel yapı aktivite ilişkilerine erişim sağlayan bir dizi yazılım aracı bulunmaktadır.

Accelrys tarafından piyasaya sürülen **TOPKAT** (<http://accelrys.com/solutions/scientific-need/predictive-toxicology.html>)), şiddetli tahriş edici maddeleri şiddetli olmayan tahriş edici maddelerden ayırmak ve hafif/orta tahriş edicileri tahriş edici olmayan maddelerden ayırmak için modeller içerir. Bu modeller Enslein ve ark. (1987) tarafından yapılan çalışmaya dayanmaktadır. TOPKAT algoritması çok şeffaf değildir. Model, zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş olasılığını öngörür.

<0.3 ve > 0.7 olasılıkların, tahmin için yeterli kesinlik verdiğini belirtir. Model, döngüsel olmayan gibi belirli sınıfların, çoğunlukla %90 civarında veya üzerinde olan hassasiyet ve özgüllük değerlerini vermektedir. Aynı zamanda deneysel sonucu da içeren şekilde TOPKAT açısından benzer yapıları gösterir. TOPKAT'ın zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş tahminlerinin, sınıflandırma için dikkate alınmak üzere çevrilmesi gerekir. Modeller, tahminin modelin uygulanabilirlik alanında olup olmadığını gösterir.

LHASA Ltd (<http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm>) tarafından geliştirilen ve düzenli olarak güncellenen **Derek Nexus** (Sanderson ve Earnshaw, 1991; Combes ve Rodford, 2004) içerisinde tahriş için bir kural tabanı vardır. Toksikiteyi tahmin etmek için, program, sorgu yapısı içindeki herhangi bir uyarının bilgi tabanında önceden karakterize edilmiş toksikoforlarla (potansiyel toksik etkiye sahip alt yapı) eşleşip eşleşmediğini kontrol eder. Muhakeme motoru daha sonra bir yapının toksik olma olasılığını değerlendirir ve ilgili literatür referanslarıyla birlikte toksikolojik zararlılığın doğasını gösteren bir mesaj sağlar. Dokuz güven seviyesi vardır: kesin, olası, makul, belirsiz, şüpheli, muhtemel değil, imkansız, açık, çelişkili. Derek Nexus kural tabanında cilt aşınması/tahrişi tahmini için 25 yapısal uyarı vardır. Solunum yolu tahrişi ve sindirim sisteminin tahrişi için bazı birleşik uyarılar vardır, ancak bunlar cilt aşınması veya tahrişine özgü değildir. Derek Nexus bir aşınma veya tahriş tahmini yapmazsa, hiçbir etki olmadığı sonucuna varılamaz - bu, bilinen uyarıların hiçbirinin ilgili maddede bulunmadığı veya bu uyarının uygulanabilirlik alanının dışında olduğu anlamına gelebilir. Derek Nexus modelinin algoritması şeffaftır, model çalıştırıldığında yapısal uyarıyı ve kısıtlamalarını gösterir. Uyarı, literatür referanslarıyla ve bazen örnek maddelerle desteklenir. Örnek maddelerin mekanik mantığı destekleyeceği varsayılır. Derek Nexus modeli, cilt tahrişinin pozitif şekilde belirlenmesi için kullanılabilir. Sınıflandırma amacıyla güven seviyeleri dikkate alınmalıdır. Derek Nexus modeli, model yalnızca aşınma/tahriş varlığını tespit eden uyarılar içerdiğinden, aşınma/tahriş olmadığını tahmin etmek için kullanılamaz.

HazardExpert, insanlarda ve hayvanlarda organik maddelerin toksisitesini tahmin etmek için CompuDrug Chemistry Ltd. (<http://www.compudrug.com/hazardexpertpro>) tarafından geliştirilen ve piyasaya sürülen kural tabanlı bir yazılım aracıdır (Smithing ve Darvas, 1992). HazardExpert, toksikokinetik etkileri ve membran tahrişi dahil insan sağlığı üzerindeki çeşitli etkileri tahmin etmek için parça temelli bir yaklaşım kullanır. Bu sonlanma noktası HazardExpert içerisinde açıkça tanımlanmadığından, cilt veya göz tahrişinin değerlendirilmesi için doğrudan kullanılmaması önerilir. Ancak, olumlu tahmin için *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında tamamlayıcı bilgi olarak kullanılabilir.

MultiCASE Inc. (http://www.multicase.com/case-ultra-models#skin_eye_tox_bundle) tarafından geliştirilen Çoklu Bilgisayarlı Otomatik Yapı Değerlendirme (**MultiCASE**) programı, moleküllerin aktivitesi ile ilgili olması olası moleküler parçaları otomatik olarak tanımlayan otomatik bir kural çıkarma aracıdır (Klopman, 1992; Klopman ve ark., 1993). Aynı zamanda, bu parçaların, onları içeren moleküllerin etki gücü ile ilişkili olarak önemine dair bir gösterge sağlar. MultiCASE, göz tahrişi dahil olmak üzere çeşitli insan sağlığı sonlanma noktalarını tahmin etmek için kullanılabilir (Klopman ve ark., 1993; Rosenkranz ve ark., 1998). Bununla birlikte, MultiCASE puanlama sisteminin Draize puanları veya düzenleyici sınıflandırmalarla nasıl ilişkilendirileceği açık değildir. Prensipite, MultiCASE modeli cilt tahrişinin pozitif ve negatif belirtileri için kullanılabilir. Yapısal uyarı ile dahili doğrulamasına ilişkin bilgiler sağlanır. MultiCASE modeli ayrıca modelin uygulanabilirlik alanında olup olmadığını gösterir. MultiCASE zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş tahminlerinin, sınıflandırma için dikkate alınmak amacıyla çevrilmesi gerekir.

ACD/Labs tarafından geliştirilen **ACD/Labs Percepta** Göstergeleri (<http://www.acdlabs.com/products/percepta/predictors.php>), cilt ve göz tahrişi için bir modül içerir. Standart bir tavşan Draize testinde bir bileşiğin göz veya cilt tahrişine neden olma potansiyelini tahmin eder.

Tahminler nitel tahriş kategorileri olarak raporlanır (tahriş edici değil, hafif tahriş edici, tahriş edici, oldukça tahriş edici ve aşındırıcı). Olasılıksal modeller, bileşiklerin tahriş edici özellikleriyle ilgili Yapısal Uyarıları tanımlayan bir uzman sistemiyle desteklenir.

Genel olarak, tavşan gözü tahrişi için 21 yapısal uyarı ve tavşan cildi tahrişi durumu için 17 uyarı formüle edilmiştir. KKDİK amaçlarına yönelik uygulama amaçlanıyorsa, etkinin kategorilere ayrılması SEA eşik noktaları ile karşılaştırılmalıdır.

PaDEL-DDPredictor, cilt ve göz tahrişi ve aşınması için çeşitli modeller içerir (<http://padel.nus.edu.sg/software/padelddpredictor/>). Modeller, bir ve iki boyutlu göstergeler kullanılarak 1707 bileşikten oluşan bir eğitim seti üzerinde oluşturulmuştur. Nihai tahminler, temel model tahminlerinden çoğunluk oylamasına dayanan fikir birliği modellerini temel alır. Uygulanabilirlik alanı, eğitim setindeki bileşikler için tanımlayıcıların aralığı ile tanımlanır.

QSAR TAHMİN DEPOSU

Danimarka Çevre Koruma Ajansı (EPA) (<http://qsar.food.dtu.dk/>), Kimyasal Maddelerin Toksik Etki Kaydından (RTECS), Tehlikeli Maddeler Veri Bankasından (HSDB) ve AB tarafından sınıflandırılan maddelerin eski resmi listesinden (67/548/EEC Direktifinde Ek I, artık yerini CLP Tüzüğü Ek VI almıştır) alınan 800 test sonucuna dayanarak şiddetli ve hafif cilt tahrişini tahmin etmek için kurum içi bir MultiCASE modeli geliştirmiştir. Tahriş için RTECS ve HSDB sınıflandırma kriterlerinin AB kriterleri ile nasıl ilişkili olduğu açık değildir. Tahminin güvenilirliğini değerlendirmek için bilgilerdeki sınırlamalar nedeniyle, bu tahminlerin yasal bağlamda kullanılması zordur.

BFR KARAR DESTEK SİSTEMİ

Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR) tarafından geliştirilen bir karar destek sistemi (DSS), bu potansiyelin varlığını tahmin etmek amaçlı yapısal dahil etme kuralları (SAR) ile birlikte cilt aşınması/tahrişi potansiyelinin olmadığını tahmin etmek için fiziko-kimyasal hariç tutma kurallarını kullanır. (Gerner ve ark., 2004; Hulzebos ve ark., 2005; Walker ve ark., 2004).

Hariç tutma kuralları, moleküler ağırlık, suda çözünürlük ve log K_{ow} gibi fiziko-kimyasal özelliklere dayanırken, dahil etme kuralları altyapısal moleküler özelliklere dayalıdır. Fiziko-kimyasal kuralların dolaylı olarak biyoyararlanımı (cilt penetrasyonu) hesaba kattığı varsayılırken, yapısal kurallar reaktiviteyi hesaba katar. Fiziko-kimyasal ve yapısal kural tabanları, cilt tahrişi ve cilt aşınmasını tahmin etmek üzere tasarlanmıştır.

Hariç tutma kuralları aşağıdaki genel biçime sahiptir:

EĞER (fiziko-kimyasal özellik) A İSE toksik etki B'nin olmadığını tahmin eder

Örnek: EĞER Log K_{ow} < -3.1 İSE, maddenin sınıflandırma için dikkate alınmasına gerek yoktur

Hariç tutma kurallarından bazıları, alan içindeki tüm yapılara uygulanabilirken diğerleri yalnızca belirli öğeleri içeren bir alt kümeye atıfta bulunur.

Yapısal dahil etme kuralları aşağıdaki genel biçimi alır:

EĞER (fiziko-kimyasal özellik) A İSE toksik etki B'nin bulunduğunu tahmin eder

Örnek: EĞER *Klorosilan uyarısı mevcut* İSE, maddenin "aşındırıcı" sınıflandırma için dikkate alınması gerekir.

Cilt etkilerinin bulunmadığını tahmin etmek için BfR fiziko-kimyasal kural tabanının performansı RIVM (Rorijs ve Hulzebos, 2005) tarafından değerlendirilirken, cilt etkilerinin oluşumunu tahmin etmek için yapısal kural tabanı ECB tarafından değerlendirilmiştir (Gallegos Saliner ve ark., 2007). Sonlanma noktası, eski AB (DSD) sınıflandırmasıdır ve algoritmalar ve uygulanabilirlik alanı şeffaftır. Ancak, eğitim setinin tam kimyasal yapıları, sistemin geliştirilmesi sırasında gizli bildirim prosedürü kaynaklı veriler nedeniyle model kullanıcılarına açıklanmamaktadır. Kurallar deneysel olarak türetilmiş olsa da, bir etki mekanizması çıkarılabilir. Bu nedenle, prensipte, ortaya çıkan tahminler, SEA kriterleri ile karşılaştırılarak sınıflandırma için temel olarak kullanılabilir. Belirli bir maddeye ilişkin tahminlerin sınıflandırma için yeterli bir dayanak sağlayıp sağlamadığı veya bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında ek bilgiye ihtiyaç olup olmadığı, durum bazında belirlenmelidir.

OECD QSAR ARAÇ KUTUSU

Ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı (<http://www.qsartoolbox.org/>), bir deneysel veritabanı ve iki profil oluşturucu ile cilt aşınması/tahrişi sonlanma noktasını kapsar.

Daha ayrıntılı olarak, deneysel verilerin veritabanı (yazılımda "Cilt tahrişi" olarak adlandırılır), birincil tahriş indeksi sonlanma noktasına atıfta bulunur ve aşağıda belirtilenlerde mevcut verileri toplar

1. Aşağıdaki kaynaklardan cilt tahrişi testlerinden Birincil Cilt Tahriş İndekslerini içeren RIVM Cilt Tahrişi veritabanı: Aşındırıcılık üzerine ECVAM Çalıştay 6 (Barratt (1995b)); Botham ve ark. (1995)) ve ECETOC Teknik Raporu No. 66 Cilt Tahrişi ve Aşınma Üzerine Referans Kimyasallar Veri Bankası (ECETOC, 1995).

2. LJMU kaynaklı Birincil Cilt Tahriş Endeksleri için deneysel sonuçlar. 1992 ile 2009 yılları arasında yayınlanan OECD SIDS dosyalarından toplanan ek deneysel sonuçlar 2010 yılında eklenmiştir.

OECD QSAR Araç Kutusu, mekanik ve sonlanma noktasına özgü profil oluşturuculara dayalı analogların tanımlanmasına ve profil oluşturucular (BfR kuralı tabanı), çapraz okuma, eğilim analizi ve QSAR modelleri kullanılarak cilt tahrişi/aşınmasının tahmin edilmesine olanak tanır. Dahil etme ve hariç tutma kuralları hakkında bilgiler, hariç tutma kurallarının performansı ile ilgili ayrıntılar ve Cilt tahrişi/aşınma profil oluşturucusunun sonuçları için geçerli kimyasal sınıfa özgü kurallar, OECD QSAR Araç Kutusu yazılımındaki içerik menüsünde arama yapılarak bulunabilir.

REFERANSLAR

Barratt MD (1995a) Quantitative structure activity relationships for skin corrosivity of organic acids, bases and phenols (Organik asitlerin, bazların ve fenollerin cilt aşındırıcılığı için nicel yapı aktivite ilişkileri). *Toxicol Lett* 75:169-176.

Barratt MD (1995b) Appendix A: Quantitative Structure-activity Relationships for Skin Corrosivity - ECVAM Workshop 6: corrosivity (Ek A: Cilt Aşındırıcılığı için Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri - ECVAM Çalıştay 6: aşındırıcılık). *Alternatives to Laboratory Animals* 23:243-55.

Barratt MD (1996a) Quantitative Structure-Activity Relationships for Skin Corrosivity of Organic Acids, Bases and Phenols: Principal Components and Neural Network Analysis of Extended Sets (Organik Asitlerin, Bazların ve Fenollerin Cilt Aşındırıcılığı için Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri: Genişletilmiş Kümelerin Temel Bileşenleri ve Sinir Ağı Analizi). *Toxicol in Vitro* 10:85-94.

Barratt MD (1996b) Quantitative Structure-Activity Relationships for Skin Irritation and Corrosivity of Neutral and Electrophilic Organic Chemicals (Nötr ve Elektrofilik Organik Kimyasalların Cilt Tahrişi ve Aşınması için Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri). *Toxicol in Vitro* 10:247-56.

Barratt MD, Dixit MB ve Jones PA (1996c) The use of *in vitro* cytotoxicity measurements in (Q)SAR methods for the prediction of the skin corrosivity potential of acids (Asitlerin cilt aşındırma potansiyelinin tahmini için (Q)SAR yöntemlerinde *in vitro* sitotoksosite ölçümlerinin kullanımı). *Toxicol in Vitro* 10:283-90.

Berner B, Wilson DR, Guy RH, Mazzenga GC, Clarke FH, Maibach HI (1988) The relationship of pKa and acute skin irritation in man (İnsanlarda pKa ve akut cilt tahrişinin ilişkisi). *Pharm Res* 5:660-3.

Berner B, Wilson DR, Guy RH, Mazzenga GC, Clarke FH, Maibach HI (1989) Relationship of pKa and acute skin irritation in humans. (İnsanlarda pKa ve akut cilt tahrişinin ilişkisi). *J Toxicol Cutan Ocul Toxicol* 8:481-92.

Berner B, Wilson DR, Steffens RJ, Mazzenga GC, Hinz R, Guy RH, Maibach HI (1990) The relationship between pKa and acute skin irritation for a series of basic penetrants in man (İnsanlarda bir dizi bazik nüfuz edici madde için pKa ve akut cilt tahrişi arasındaki ilişki). *Fundam Applied Toxicol* 15:760-6.

Botham PA, Chamberlain M, Barratt MD, Curren RD, Esdaile DJ, Gardner JR, ve ark. (1995) A Prevalidation study on *in vitro* skin corrosivity testing: The Report and recommendations of ECVAM Workshop 6 (İn vitro cilt aşınma testi üzerine bir ön doğrulama çalışması: Rapor ve ECVAM Çalıştay 6 tavsiyeleri). *Altern Lab Anim* 23:219-42.

Combes RD ve Rodford R (2004) The Use of Expert Systems for Toxicity Prediction - Illustrated With Reference to the DEREK Program (Toksisite Tahmini için Uzman Sistemlerin Kullanımı - DEREK Programına Referansla Gösterim). *Kaynak: Predicting Toxicity and Fate (Toksisite ve Davranışın Öngörülmesi) (Cronin MTD ve Livingstone DJ Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s.193-204.*

ECETOC (1995) Teknik Rapor No. 66, Cilt Tahrişi ve Aşınma: Referans Kimyasallar Veri Bankası. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2006). Review of literature-based models for skin and eye irritation and corrosion (Cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli modellerin incelemesi). JRC raporu EUR 22320 EN. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspira, İtalya.. Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/doc/QSAR_Review_Irritation.pdf

Gallegos Saliner A, Tsakovska I, Pavan M, Patlewicz G ve Worth AP (2007) Evaluation of SARs for the prediction of skin irritation/corrosion potential - structural inclusion rules in the BfR decision support system (Cilt tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirilmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları). *SAR QSAR Environ Res* 18:331-42.

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2008) A Review of (Q)SAR Models for Skin and Eye Irritation and Corrosion (Cilt ve Göz Tahrişi ve Aşınma için (Q)SAR Modellerinin İncelenmesi). *QSAR Comb Sci* 27:49-59.

Gerner I, Schlegel K, Walker JD ve Hulzebos E (2004) Use of physico-chemical property limits to develop rules for identifying chemical substances with no skin irritation or corrosion potential (Cilt tahrişi veya aşınma potansiyeli olmayan kimyasal maddelerin tanımlanmasına yönelik kurallar geliştirmek için fiziko-kimyasal özellik sınırlarının kullanımı). *QSAR Comb Sci* 23:726-33.

Golla S, Madihally S, Robinson RL Jr ve Gasem KA (2009) Quantitative structure-property relationships modeling of skin irritation (Cilt tahrişinin nicel yapı-özellik ilişkileri modellenmesi). *Toxicol in Vitro* 23:176-84.

Hayashi M, Nakamura Y, Higashi K, Kato H, Kishida F ve Kaneko H (1999) A Quantitative Structure-Activity Relationship Study of the Skin Irritation Potential of Phenols (Fenollerin Cilt Tahrişi Potansiyelinin Nicel Yapı-Aktivite İlişkisi Çalışması). *Toxicol in Vitro* 13:915-22.

Hulzebos E, Walker JD, Gerner I ve Schlegel K (2005) Use of structural alerts to develop rules for identifying chemical substances with skin irritation or skin corrosion potential (Cilt tahrişi veya cilt aşınması potansiyeli olan kimyasal maddelerin tanımlanmasına yönelik kurallar geliştirmek için yapısal uyarıların kullanılması). *QSAR Comb Sci* 24:332-42.

- Klopman G (1992) MULTICASE.1. A Hierarchical Computer Automated Structure Evaluation Program (MULTICASE.1. Bir Hiyerarşik Bilgisayarlı Otomatik Yapı Değerlendirme Programı). *Quant Struct-Act Rel* 11:176-84.
- Klopman G, Ptchelintsev D, Frierson M, Pennisi S, Renskers K ve Dickens M (1993) Multiple computer automated structure evaluation methodology as an alternative to *in vitro* eye irritation testing (*İn vitro* göz tahrişi testine alternatif olarak çoklu bilgisayarlı otomatik yapı değerlendirme metodolojisi). *Altern Lab Anim* 21:14-27.
- Kodithala K, Hopfinger AJ, Thompson ED ve Robinson MK (2002) Prediction of skin irritation from organic chemicals using membrane-interaction QSAR Analysis (Membran etkileşimli QSAR Analizi kullanılarak organik kimyasallardan cilt tahrişinin tahmini). *Toxicol Sci* 66:336-46.
- Mombelli E (2008) An evaluation of the predictive ability of the QSAR software packages, DEREK, HAZARDEXPERT and TOPKAT, to describe chemically-induced skin irritation (QSAR yazılım paketlerinin, DEREK, HAZARDEXPERT ve TOPKAT'ın kimyasal olarak tetiklenen cilt tahrişini tanımlamada tahmin kapasitesinin bir değerlendirmesi). *Altern Lab Anim* 36:15-24.
- Rorije E ve Hulzebos E (2005) Evaluation of (Q)SARs for the prediction of Skin Irritation/Corrosion Potential. Physico-chemical exclusion rules (Cilt Tahrişi/Aşınma Potansiyelinin tahmini için (Q)SAR değerlendirilmesi. Fiziko-kimyasal dışlama kuralları). ECB sözleşmesi için nihai rapor IHCP.B430206. Avrupa Kimyasallar Bürosu, Ortak Araştırma Merkezi, İspra, İtalya. Erişim adresi: [https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/information-sources/qsar-document-area/Evaluation of Skin Irritation QSARs.pdf/view](https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/information-sources/qsar-document-area/Evaluation%20of%20Skin%20Irritation%20QSARs.pdf/view)
- Rosenkranz HS, Zhang YP ve Klopman G (1998) The Development and Characterisation of a Structure-activity Relationship Model of the Draize Eye Irritation Test (Draize Göz Tahriş Testinin Yapı-Aktivite İlişkisi Modelinin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu). *Altern Lab Anim* 26:779- 809.
- Sanderson DM ve Earnshaw CG (1991) Computer Prediction of Possible Toxic Action from Chemical Structure; The DEREK System (Kimyasal Yapıdan Olası Toksik Etkinin Bilgisayarlı Öngörülmesi; DEREK Sistemi). *Hum Exp Toxicol* 10:261-73.
- Smithing MP ve Darvas F (1992) HazardExpert: An Expert System for Predicting Chemical Toxicity (HazardExpert: Kimyasal Toksikiteyi Tahmin Etmek İçin Uzman Bir Sistem). *Kaynak: Food Safety Assessment (Gıda Güvenliği Değerlendirmesi) (Finlay SF, Robinson SF, Armstrong DJ Ed.) Amerikan Kimya Derneği, Washington, DC, ABD, s.191-200.*
- Solimeo R, Zhang J, Kim M, Sedykh A ve Zhu H (2012) Predicting Chemical Ocular Toxicity Using a Combinatorial QSAR Approach (Birleşimsel QSAR Yaklaşımı Kullanarak Kimyasal Göz Toksikitesinin Tahmini). *Chem Res Toxicol* 25: 2763-69.
- Walker JD, Gerner I, Hulzebos E ve Schlegel K (2004) (Q)SARs for Predicting Skin Irritation and Corrosion: Mechanisms, Transparency and Applicability of Predictions (Cilt Tahrişi ve Aşınmasını Tahmin Etmeye Yönelik (Q)SAR: Mekanizmalar, Şeffaflık ve Tahminlerin Uygulanabilirliği). *QSAR Comb Sci* 23:721-5.
- Walker JD, Gerner I, Hulzebos E, Schlegel K (2005) The Skin Irritation Corrosion Rules Estimation Tool (SICRET) (Cilt Tahrişi/Aşınma Kuralları Tahmin Aracı (SICRET)). *QSAR Comb Sci* 24:378-84.
- Whittle E, Barratt MD, Carter JA, Basketter DA ve Chamberlain M (1996) Skin corrosivity potential of fatty acids: *In vitro* rat and human testing and (Q)SAR studies (Yağ asitlerinin cilt aşındırma potansiyeli: *In vitro* sıçan ve insan testleri ve (Q)SAR çalışmaları). *Toxicol In vitro* 10:95-100.

Worth AP ve Cronin MTD (2001) The use of pH measurements to predict the potential of chemicals to cause acute dermal and ocular toxicity (Kimyasalların akut cilt ve göz toksisitesine neden olma potansiyelini tahmin etmek için pH ölçümlerinin kullanılması). Toxicol 169:119-31. Worth A, Barroso J, Bremer S, Burton J, Casati S, Coecke S, Corvi R, Desprez B, Dumont C, Gouliarmou V, Goumenou M, Gräpel R, Griesinger C, Halder M, Janusch Roi A, Kienzler A, Madia F, Munn S, Nepelska M, Paini A, Price A, Prieto P, Rolaki A, Schäffer M, J. Triebe, Whelan M, Wittwehr C ve Zuang V (2014) Alternative methods for regulatory toxicology – a state-of-the-art review (Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme.). JRC Bilim ve İlke Raporları, Rapor EUR 26797 EN. Hayvan Testlerine Alternatifler için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL ECVAM), Sistem Toksikolojisi Birimi, Sağlık ve Tüketici Koruma Enstitüsü, Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi, Ispra, İtalya. Erişim adresi: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/echa_jrc_sla_report_public_05-09-14_withcover_ipo.pdf

Ek R.7.2–3 Ciddi göz hasarı ve göz tahrişi için (Q)SAR ve uzman sistemler**Ek R.7.2-3 içeriği:**

- Literatür temelli QSAR modelleri
- Ticari modeller
- BfR karar destek sistemi
- OECD QSAR Araç Kutusu

Prensip olarak, KKDİK Yönetmeliği Ek 11, tahriş edici olmama tahmini dahil olmak üzere, (Q)SAR kullanımıyla standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanmasına izin verir. Bununla birlikte, ciddi göz hasarı/göz tahrişi sonlanma noktası için, halihazırda mevcut olan modellerin yalnızca çok azı, tek başına yöntem olarak kullanıldığında bu amaç için uygundur. Yine de, bu modeller, destekleyici bilgi olarak veya *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımlarında ve ciddi göz hasarı/göz tahrişinin pozitif tahmini için kullanıldıklarında hala yararlı olabilirler.

LİTERATÜR TEMELLİ QSAR MODELLERİ

Açık bilimsel literatürde, nicel yapı aktivite ilişkileri göz tahrişinin sürekli (örn. molar göz puanları) veya kategorik (örn. AB sınıflandırmaları) ölçümlerine dayanmaktadır. Matematiksel (sürekli) modellerin örnekleri, Sugai ve ark. (1991) ve Cronin ve ark. (1994) tarafından yayınlanan modeller olmuştur, kategorik modellerin örnekleri ise Sugai ve ark. (1990) ve Barratt (1997) tarafından yayınlanmıştır.

Abraham ve ark. tarafından gösterildiği gibi, solvatokromik parametrelere dayalı regresyon modelleri, göz tahrişinin derecesini tahmin etmek için kullanılabilir (Abraham, 1993; Abraham ve ark., 1998). Bu modellerin mekanik temeli, bir maddenin saf bir organik sıvıdan göz yüzeyindeki gözyaşı filmi ve hücre zarlarından oluşan organik çözücü faza aktarılmasıdır. İlk aşamada organik sıvı ne kadar çözünürse, tahriş derecesi o kadar yüksektir. Bu modeller daha fazla karakterizasyon gerektirir. Bununla birlikte, rutin düzenleyici kullanım için, bir dizi sözde "Abraham tanımlayıcıya" ilişkin bilgilerin de kullanıma sunulması gerekecektir.

Sinir açığı yaklaşımları, göz tahrişini modellemek için de kullanılabilir (örn., Patlewicz ve ark., 2000). Ancak, mevcut durumda bu modellerin çoğu, özellikle algoritmada şeffaflıktan yoksundur. Bununla birlikte, eğitim setlerinin yanı sıra doğrulama bilgileri de sağlanırsa, bunlar muhtemelen bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir. Mekanik gerekçe de sağlanmalıdır.

Kulkarni ve ark. tarafından geliştirilen Membran-Etkileşimli QSAR analizi adlı bir yaklaşım. (2001), membran-çözünen madde etkileşim özelliklerini oluşturmak için moleküler dinamik simülasyonların dahil edilmesinin bir yolunu sağlar. Moleküler simülasyonlara dayalı modellerin geliştirilmesi ve uygulanması, özel uzmanlık ve yazılım kullanımını gerektirir. Göz tahrişinin mekanizmalarının anlaşılmasını artırmak için kullanılabilirler.

Gömülü Kümelene Modeli (ECM) adı verilen bir sınıflandırma yaklaşımı, iki veya daha fazla boyutta *eliptik modeller* üretmenin bir yolunu sağlar (Worth ve Cronin, 2000), böylece tahriş edici maddeler şeffaf bir şekilde elipsin sınırları içinde bulunan maddeler olarak tanımlanabilir. Bu "gömülü kümelerin" istatistiksel anlamlılığı, Cronin (1996) tarafından bir göz tahrişi veri setinde gösterildiği gibi, küme anlamlılık analizi (CSA) ile doğrulanabilir.

SAE sınıflandırma kriterlerine göre I (tahriş edici) veya NI (tahriş edici olmayan) olarak sınıflandırılan 119 organik sıvıdan oluşan bir veri setine farklı yöntemler uygulanmıştır. Doğrusal diskriminant (ayrımcılık) analizi (LDA), ikili lojistik regresyon (BLR) ve sınıflandırma ağacı (CT) analizleri uygulanarak, tek bir öngörücü değişken (molekül ağırlık) kullanılarak ve iki sınıf için (I/NI) eşit olasılıklar atanarak sınıflandırma modelleri (CM) geliştirilmiştir. (Worth ve Cronin, 2003).

Tüm bu modellerin uygulanması basittir ve şeffaf bir algoritma ile ilişkilendirilmiştir. İstatistik, farklı eşik değerlerinin seçilmesinden kaynaklanan kaçınılmaz ödünleşmeler göstermektedir. Bu nedenle, BLR modeli pek çok tahriş ediciyi tanımlamaz, ancak yüksek derecede güvenle çalışır. Tersine, CT tahriş edici olmayanların çoğunu tanımlamaz, ancak düşük bir yanlış negatif oranına sahiptir. Bu nedenle, BLR ve CT modellerinin birlikte kullanımı, gözü tahriş eden maddelerle tahriş edici olmayanları ayırt etmek için yararlı olabilir.

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut literatüre dayalı modellere genel bir bakış [Tablo R.7.2-7](#)'de verilmiştir.

Tablo R.7.2-7 Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için mevcut literatüre dayalı modeller

Referans	İçerik
QSAR modelleri	
Abraham ve ark. (2003) İnsanlarda göz tahrişi eşikleri ile Draize tavşan göz testi uyumluluğu: bir nicel yapı-aktivite ilişkisi analizi.	Draize tavşan göz testi puanları, 68 saf yığın sıvı için değiştirilmiş maksimum ortalama değer (MMAS) olarak sıvıya-doymuş buhar basıncı P ile ayarlanmıştır. Log (MMAS/P) olarak bu 68 ayarlanmış puanın, insanlarda 23 bileşik için log (1/EIT) olarak ifade edilen göz tahriş eşiklerine (EIT) tamamen eşdeğer olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, tavşanlarda ilk kez saf yığın sıvılar için yapılan Draize göz testinin, insanlarda göz tahrişi eşikleri ile mükemmel uyumlu olduğu gösterilmiştir.
Barratt (1995) Cilt hassasiyeti, cilt aşınması ve göz tahrişinin belirlenmesi için alternatif stratejilerde yapı-aktivite ilişkilerinin ve uzman sistemlerin rolü.	Bu makale, DEREK uzman sistemine dahil edilmiş cilt hassaslaşması için bir dizi yapısal uyarının ve cilt aşındırıcılığını (organik asitler ve bazlar için) ve göz tahriş potansiyelini (nötr organik kimyasallar için) tahmin etmek için türetilen Nicel yapı-aktivite ilişkilerinin (QSAR) türetilmesini açıklamaktadır.
Gerner ve ark. (2005) Draize Tavşan Gözü Testine Alternatifler Uygulanarak Kimyasalların Göz Tahriş Edici Özelliklerinin Değerlendirilmesi: Göz Tahrişinin Sınıflandırılması için QSAR ve <i>In Vitro</i> Testlerin Kullanımı.	Bu makale, göz hasarı, orta derecede göz tahrişi ve birkaç gün içinde tamamen tersinir olan küçük tahriş etkileri arasında ayırım yapabilen belirli <i>in vitro</i> analizlerin geliştirilmesini teşvik etmek amacıyla, göz lezyonlarının doğasını ve bunların insan gözü için olası zararlılıkların sınıflandırılması ve etiketlenmesi için önemini değerlendirmekte ve tartışmaktadır. Uluslararası sınıflandırma kriterlerine göre sınıflandırılacak ve etiketlenecek göz tahrişi/aşınma zararlarının tahmini için yapısal uyarılar sunulmuştur ve bunlar (Q)SAR sistemi doğrulaması için uluslararası kabul görmüş (OECD) ilkelere uygun olarak doğrulanmalıdır. İnsan sağlığıyla ilgili herhangi bir göz tahrişi potansiyelinin bulunmadığının tahminine yönelik fizikokimyasal sınır değerleri, Draize göz tahrişi testinin yerini alması için geliştirilen alternatif yöntemlerin uygulanabilirlik alanlarının bir tanımını sağlayabilir.
Solimeo ve ark. (2012) Birleşimsel QSAR Yaklaşımı Kullanarak Kimyasal Göz Toksisitesinin Tahmini.	Bu makale, Alternatif Toksikolojik Yöntemlerin Değerlendirilmesi için Ulusal Toksikoloji Programı Kurumlar Arası Merkezi tarafından derlenen hayvan oküler toksisite verileriyle bir dizi küçük molekül için QSAR modellerini açıklamaktadır.

Mevcut modellerin gözden geçirilmesi ve değerlendirilmesi	
<p>Gallegos Saliner ve ark. (2006)</p> <p>Cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli modellerin incelemesi.</p>	<p>Bu rapor, cilt ve göz tahrişi ve aşınmasının değerlendirilmesi için en son teknoloji <i>in silico</i> ve <i>in vitro</i> yöntemleri incelemektedir. Bu derlemede, cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli QSAR modellerinin yanı sıra bilgisayar temelli uzman sistemlere vurgu yapılmaktadır.</p>
<p>Gallegos Saliner ve ark. (2008)</p> <p>Cilt ve Göz Tahrişi ve Aşınması için (Q)SAR Modellerinin İncelenmesi.</p>	<p>Bu makale, cilt ve göz tahrişi ve aşınmasını değerlendirmek için son teknoloji <i>in silico</i> yöntemleri incelemektedir. Avrupa Komisyonu Avrupa Kimyasallar Bürosu Ortak Araştırma Merkezi tarafından gerçekleştirilen kapsamlı bir incelemeye dayanmaktadır. En yaygın olarak kullanılan <i>in silico</i> yaklaşımlar, (1) cilt tahrişini, (2) cilt aşınmasını ve (3) göz tahrişini değerlendirmeye yönelik yöntemler olarak sınıflandırılır. Bu derlemede, literatüre dayanan (Q)SAR modellerine vurgu yapılmıştır.</p>
<p>Tsakovska ve ark. (2005)</p> <p>Göz Tahrişi/Aşınma Potansiyeli tahmini için (Q)SAR değerlendirmesi - fizikokimyasal hariç tutma kuralları.</p>	<p>Bu çalışmada, göz tahrişi/aşınmanın bulunmadığını tahmin etmek için (31 fizikokimyasal dışlama kuralını içeren) fizikokimyasal BfR karar destek sistemi kural tabanının bir değerlendirmesi yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre: a) göz tahrişi/aşınma için fizikokimyasal dışlama kuralları OECD doğrulama ilkelerine tam olarak uymaktadır; b) test setindeki 199 kimyasaldan 20'si için herhangi bir olumsuz etki bulunmaması ile ilgili tahminler yapılabilir; c) 45 tahriş edici/aşındırıcıdan 3'ünün tahriş edici veya aşındırıcı olmadığı yanlış şekilde tahmin edilmektedir; d) negatif bir tahminin doğru olma olasılığı (Negatif Öngörücü Değer) 0.87'dir; ve e) Draize tavşan gözü testlerinin yaklaşık %10'undan, hiçbir olumsuz etki olmayacağı öngörülerine dayanılarak kaçınılabilir.</p>
<p>Tsakovska ve ark. (2007)</p> <p>Göz tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirilmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları.</p>	<p>Bu çalışma, BfR yapısal kural tabanının performansını değerlendirmek için ECB tarafından yürütülen bir çalışmanın sonuçlarını özetlemektedir. Değerlendirme şunları içermiştir: (a) göz tahrişi ve aşınması için deneysel verilere sahip 1341 maddeden oluşan eğitim setini kullanarak yapısal uyarıların değerlendirilmesi; ve (b) 199 maddelik bağımsız bir test seti kullanılarak harici doğrulama. 199 maddeden oluşan test seti, 154 (%77) etiketlenilmemiş madde ve (i) 10 Göz tahriş edicimadde (%5); (ii) 28 göz hasarı maddesi (%14); ve (iii) cilt aşındırıcımadde (%4) olarak alt gruplara ayrılan 45 (%23) göz tahriş edici/aşındırıcı olarak etiketlenmiş madde içermiştir.</p>

Bu modellerle ilgili daha fazla ayrıntı JRC raporunun "Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme" başlıklı 4. Bölümünde bulunabilir (Worth ve ark., 2014).

TİCARİ MODELLER

Ciddi göz hasarı/göz tahrişi için nicel yapı aktivite ilişkilerine erişim sağlayan bir dizi yazılım aracı bulunmaktadır.

TOPKAT yazılımı (<http://accelrys.com/solutions/scientific-need/predictive-toxicology.html>) yapısal parçalara dayalı göz tahrişi modelleri içerir. Bu modeller orijinal olarak Enslin ve ark. tarafından geliştirilmiştir. (1988). TOPKAT algoritması çok şeffaf değildir. Model, zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş olasılığını öngörür. <0.3 ve > 0.7 olasılıkların, tahmin için yeterli kesinlik verdiğini belirtir. Model, asiklik gibi belirli sınıfların, çoğunlukla %90 civarında veya üzerinde olan hassasiyet ve özgüllük değerlerini vermektedir. Aynı zamanda deneysel sonucu da içeren şekilde TOPKAT açısından benzer yapıları gösterir.

TOPKAT'ın zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş tahminlerinin, sınıflandırma için dikkate alınmak üzere çevrilmesi gerekir. Modeller, tahminin modelin uygulanabilirlik alanında olup olmadığını gösterir.

LHASA Ltd (<http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm>) tarafından geliştirilen ve düzenli olarak güncellenen **Derek Nexus** (Sanderson ve Earnshaw, 1991; Combes ve Rodford, 2004) içerisinde tahriş için bir kural tabanı vardır. Genel bir özet için nicel yapı aktivite ilişkileriyle ilgili cilt tahrişi bölümü incelenmelidir. Derek Nexus kural tabanında, göz tahrişine özel beş uyarı ve ayrıca göz yaşlanması için bir uyarı bulunur. Derek Nexus tahriş veya aşındırıcılık tahmini yapmazsa, hiçbir etki olmadığı sonucuna varılamaz - bu, bilinen uyarıların hiçbirinin ilgili maddede bulunmadığı veya bu uyarının uygulanabilirlik alanının dışında olduğu anlamına gelebilir. Derek Nexus modelinin algoritması şeffaftır, model çalıştırıldığında yapısal uyarıyı ve kısıtlamalarını gösterir. Uyarı, literatür referanslarıyla ve bazen örnek maddelerle vurgulanır ve bu durum, bunların dahili olarak doğrulanmış olarak kabul edilmesi için yeterli değildir. Örnek maddeler mekanik mantığı vurgular. Derek Nexus modeli, cilt tahrişinin pozitif şekilde belirlenmesi için kullanılabilir. Güven seviyeleri, sınıflandırma için dikkate alınmak üzere çevrilmelidir. Derek Nexus modeli, model yalnızca ciddi göz hasarı/göz tahrişi varlığını tespit eden uyarılar içerdiğinden, ciddi göz hasarı/göz tahrişi olmadığını tahmin etmek için kullanılamaz.

Parça temelli **MultiCASE** yaklaşımı (http://www.multicase.com/case-ultra-models#skin_eye_tox_bundle) göz tahrişini modellemek için kullanılmıştır (Klopman ve ark., 1993; Enslein ve ark., 1988; Rosenkranz ve ark., 1998; Klopman, 1998). Bu modellerle ilgili yayınlar algoritmaları tanımlamaz. Prensip, MultiCASE modeli göz tahrişinin pozitif ve negatif belirtileri için kullanılabilir. Yapısal uyarı ile dahili doğrulama sağlanır. MultiCASE modeli ayrıca modelin uygulanabilirlik alanında olup olmadığını gösterir. MultiCASE zayıf/hafif/orta ve şiddetli tahriş tahminlerinin, sınıflandırma için dikkate alınmak amacıyla çevrilmesi gerekir. Tahmin, diğer modeller veya uzman değerlendirmesi kullanılarak mekanik mantık ile vurgulanmalıdır.

ACD/Labs tarafından geliştirilen **ACD/Labs Percepta** Göstergeleri (<http://www.acdlabs.com/products/percepta/predictors.php>), cilt ve göz tahrişi için bir modül içerir. Standart bir tavşan Draize testinde bir bileşiğin göz veya cilt tahrişine neden olma potansiyelini tahmin eder. Tahminler nitel tahriş kategorileri olarak raporlanır (tahriş edici değil, hafif tahriş edici, tahriş edici, oldukça tahriş edici ve aşındırıcı). Olasılıksal modeller, bileşiklerin tahriş edici özellikleriyle ilgili Yapısal Uyarıları tanımlayan bir uzman sistemiyle desteklenir.

Genel olarak, tavşan gözü tahrişi için 21 yapısal uyarı ve tavşan cildi tahrişi durumu için 17 uyarı formüle edilmiştir.

PaDEL-DDP Predictor, cilt ve göz tahrişi ve aşınması için çeşitli modeller içerir (<http://padel.nus.edu.sg/software/padelddpredictor/>). Modeller, bir ve iki boyutlu göstergeler kullanılarak 1707 bileşikten oluşan bir eğitim seti üzerinde oluşturulmuştur. Nihai tahminler, temel model tahminlerinden çoğunluk oylamasına dayanan fikir birliği modellerini temel alır. Uygulanabilirlik alanı, eğitim setindeki bileşikler için tanımlayıcıların aralığı ile tanımlanır.

BFR KARAR DESTEK SİSTEMİ

Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR) tarafından geliştirilen karar destek sistemi (DSS), bu potansiyelin varlığını tahmin etmek amaçlı yapısal dahil etme kuralları (SAR) ile birlikte ciddi göz hasarı/göz tahrişi potansiyelinin olmadığını tahmin etmek için fiziko-kimyasal hariç tutma kurallarını kullanır. (Gerner ve ark., 2005). Bu kurallar, yukarıdaki cilt aşınması ve tahrişi bölümünde açıklananlara benzer şekilde kullanılır. Fiziko-kimyasal ve yapısal kural tabanları, göz tahrişi ve ciddi göz tahrişi/aşınması tahmin etmek üzere tasarlanmıştır. ECB tarafından yapılan bağımsız değerlendirmeler, göz etkilerinin bulunmadığını tahmin etmek için fiziko-kimyasal kural tabanının performansını (Tsakovska ve ark., 2005) ve ayrıca göz etkilerinin oluşumunu tahmin etmek için yapısal kural tabanının performansını (Tsakovska ve ark., 2007) destekler.

OECD QSAR ARAÇ KUTUSU

Ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı (<http://www.qsartoolbox.org/>), bir deneysel veritabanı ve iki profil oluşturucu ile ciddi göz hasarı/göz tahrişi sonlanma noktasını kapsar.

Daha ayrıntılı olarak, deneysel verilerin veri tabanı (yazılımda "Göz tahrişi ECETOC" olarak adlandırılır), Değiştirilmiş Maksimum Ortalama Değer (MMAS) sonlanma noktasını ifade eder ve ECETOC Teknik Rapor No. 48 Göz Tahrişi: Referans Kimyasallar Veri Bankası (ECETOC, 1992) içerisinde açıklanan tavşan gözü tahrişi üzerine deneysel sonuçları toplar.

OECD QSAR Araç Kutusu, mekanik ve sonlanma noktasına özel profil oluşturuculara dayalı analogların tanımlanmasına ve çapraz okuma, eğilim analizi ve QSAR modellerinin kullanımıyla cilt tahrişi/aşınmanın tahmin edilmesine olanak tanır. Dahil etme ve hariç tutma kuralları hakkında bilgiler, hariç tutma kurallarının uygulanmasıyla ilgili ayrıntılar ve Göz tahrişi/aşınma profil oluşturucusunun sonuçları için geçerli kimyasal sınıfa özgü kurallar, OECD QSAR Araç Kutusu yazılımındaki içerik menüsünde arama yapılarak bulunabilir.

REFERANSLAR

Abraham MH (1993) Scales of solute hydrogen-bonding: their construction and application to physico-chemical and biochemical processes (Çözünen madde hidrojen bağı ölçekleri: oluşturulmaları ve fizikokimyasal ve biyokimyasal süreçlere uygulanması). *Chem Soc Rev* 22:73-83.

Abraham MH, Kumarsingh R, Cometto-Muñiz JE ve Cain WS (1998) A Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) for a Draize Eye Irritation Database (Draize Göz Tahrişi Veritabanı için Nicel Yapı-Aktivite İlişkisi (QSAR)). *Toxicol in Vitro* 12:201-7.

Abraham MH, Hassanisadi M, Jalali-Heravi M, Ghafourian T, Cain WS ve Cometto-Muñiz JE (2003) Draize rabbit eye test compatibility with eye irritation thresholds in humans: a quantitative structure-activity relationship analysis (İnsanlarda göz tahrişi eşikleri ile Draize tavşan göz testi uyumluluğu: bir nicel yapı-aktivite ilişkisi analizi). *Toxicol Sci* 76:384-91.

Barratt MD (1995) The role of structure-activity relationships and expert systems in alternative strategies for the determination of skin sensitisation, skin corrosivity and eye irritation (Cilt hassasiyeti, cilt aşınması ve göz tahrişinin belirlenmesi için alternatif stratejilerde yapı-aktivite ilişkilerinin ve uzman sistemlerin rolü). *Altern Lab Anim* 23:111-22.

Combes RD ve Rodford R (2004) The Use of Expert Systems for Toxicity Prediction - Illustrated With Reference to the DEREK Program (Toksisite Tahmini için Uzman Sistemlerin Kullanımı - DEREK Programına Referansla Gösterim). *Kaynak: Predicting Toxicity and Fate (Toksisite ve Davranışın Öngörülmesi) (Cronin MTD ve Livingstone DJ Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s.193-204.*

Cronin MTD, Basketter DA, York M (1994) A quantitative structure- activity relationship (QSAR) investigation of a Draize eye irritation database (Draize göz tahrişi veri tabanının nicel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) araştırması). *Toxicol in Vitro* 8:21-8.

Cronin MTD (1996) The use of cluster significance analysis to identify asymmetric QSAR datasets in toxicology. An example with eye irritation data (Toksikolojide asimetrik QSAR veri setlerini tanımlamak için küme anlamlılık analizinin kullanılması. Göz tahrişi verileriyle bir örnek). *SAR QSAR Environ Res* 5:167-75.

ECETOC (1992) Teknik Rapor No. 48, Göz Tahrişi Referans Kimyasallar Veri Bankası. ISSN-0773-8072-48(2). Haziran 1998 tarihli 2. baskının erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2006). Review of literature-based models for skin and eye irritation and corrosion (Cilt ve göz tahrişi ve aşınması için literatür temelli modellerin incelemesi). JRC raporu EUR 22320 EN. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspra, İtalya..

Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive_toxicology/doc/QSAR_Review_Irritation.pdf

Gallegos Saliner A, Patlewicz G ve Worth AP (2008) A Review of (Q)SAR Models for Skin and Eye Irritation and Corrosion (Cilt ve Göz Tahrişi ve Aşınma için (Q)SAR Modellerinin İncelenmesi). QSAR Comb Sci 27:49-59.

Gerner I, Liebsch M ve Spielmann H (2005) Assessment of the Eye Irritating Properties of Chemicals by Applying Alternatives to the Draize Rabbit Eye Test: The Use of QSARs and *In Vitro* Tests for the Classification of Eye Irritation (Draize Tavşan Gözü Testine Alternatifler Uygulanarak Kimyasalların Göz Tahriş Edici Özelliklerinin Değerlendirilmesi: Göz Tahrişinin Sınıflandırılması için QSAR ve In Vitro Testlerin Kullanımı). Altern Lab Anim 33:215-37.

Klopman G (1998) The MultiCASE Program II. Baseline Activity Identification Algorithm (BAIA) (MultiCASE Programı II. Temel Etkinlik Tanımlama Algoritması (BAIA)). J Chem Inf Comput Sci 38:78-81.

Kulkarni A, Hopfinger AJ, Osborne R, Bruner LH ve Thompson ED (2001) Prediction of Eye Irritation from Organic Chemicals Using Membrane-Interaction QSAR Analysis (Membran-Etkileşim QSAR Analizi Kullanılarak Organik Kimyasallardan Göz Tahrişinin Tahmini). Toxicol Sci 59:335-45.

Patlewicz GY, Rodford RA, Ellis G ve Barratt MD (2000) A QSAR Model for the Eye Irritation of Cationic Surfactants (Katyonik Yüzey Aktif Maddelerin Göz Tahrişine Yönelik Bir QSAR Modeli). Toxicol *in Vitro* 14:79-84.

Rosenkranz HS, Zhang YP ve Klopman G (1998) The Development and Characterisation of a Structure-activity Relationship Model of the Draize Eye Irritation Test (Draize Göz Tahriş Testinin Yapı-Aktivite İlişkisi Modelinin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu). Altern Lab Anim 26:779- 809.

Sanderson DM ve Earnshaw CG (1991) Computer Prediction of Possible Toxic Action from Chemical Structure; The DEREK System (Kimyasal Yapıdan Olası Toksik Etkinin Bilgisayarla Öngörülmesi; DEREK Sistemi). Hum Exp Toxicol 10:261-73.

Solimeo R, Zhang J, Kim M, Sedykh A ve Zhu H (2012) Predicting Chemical Ocular Toxicity Using a Combinatorial QSAR Approach (Birleşimsel QSAR Yaklaşımı Kullanarak Kimyasal Göz Toksisitesinin Tahmini). Chem Res Toxicol 25: 2763-69.

Sugai S, Murata K, Kitagaki T ve Tomita I (1990) Studies on eye irritation caused by chemicals in rabbits—1. A quantitative structure-activity relationships approach to primary eye irritation of chemicals in rabbits (Tavşanlarda kimyasalların neden olduğu göz tahrişi üzerine araştırmalar-1. Tavşanlarda kimyasalların birincil göz tahrişi için nicel yapı-aktivite ilişkileri yaklaşımı). J Toxicol Sci 15:245-62.

Sugai S, Murata K, Kitagaki T ve Tomita I (1991) Studies on eye irritation caused by chemicals in rabbits—II. Structure-activity relationships and *in vitro* approach to primary eye irritation of salicylates in rabbits (Tavşanlarda kimyasalların neden olduğu göz tahrişi üzerine çalışmalar—II. Tavşanlarda salisilatların birincil göz tahrişine yönelik yapı-aktivite ilişkileri ve *in vitro* yaklaşım). J Toxicol Sci 16:111-30.

Tsakovska I, Netzeva T ve Worth AP (2005) Evaluation of (Q)SARs for the prediction of Eye Irritation/Corrosion Potential - physico-chemical exclusion rules (Göz Tahrişi/Aşınma Potansiyeli tahmini için (Q)SAR değerlendirmesi - fiziko-kimyasal hariç tutma kuralları). JRC Raporu EUR 21897 EN, s. 42. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspra, İtalya.. Erişim adresi: https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive_toxicology/doc/Evaluation_of_Eye_Irritation_QSARs.pdf

Tsakovska I, Gallegos Saliner A, Netzeva T, Pavan M, Worth AP (2007) Evaluation of SARs for the prediction of eye irritation/corrosion potential - structural inclusion rules in the BfR decision support system (Göz tahrişi/aşınma potansiyelinin tahmini için SAR değerlendirmesi - BfR karar destek sisteminde yapısal dahil etme kuralları). SAR QSAR Environ Res 18:221-35.

Worth AP ve Cronin MTD (2000) Embedded cluster modelling: a novel quantitative structure-activity relationship for generating elliptic models of biological activity (Gömülü küme modelleme: biyolojik aktivitenin eliptik modellerini oluşturmak için yeni bir nicel yapı-aktivite ilişkisi). *Kaynak: Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Experimentation (Hayvan Deneylerinin Azaltılması, Geliştirilmesi ve Değiştirilmesinde İlerleme)* (Balls M, van Zeller A-M, Halder ME, Ed.) Elsevier Science, Amsterdam, Hollanda, s.479-491.

Worth AP ve Cronin MTD (2003) The use of discriminant analysis, logistic regression and classification tree analysis in the development of classification models for human health effects (İnsan sağlığı etkileri için sınıflandırma modellerinin geliştirilmesinde diskriminant analizi, lojistik regresyon ve sınıflandırma ağacı analizinin kullanımı). *J Mol Struct (Theochem)* 622:97-111.

Worth A, Barroso J, Bremer S, Burton J, Casati S, Coecke S, Corvi R, Desprez B, Dumont C, Gouliarmou V, Goumenou M, Gräpel R, Griesinger C, Halder M, Janusch Roi A, Kienzler A, Madia F, Munn S, Nepelska M, Paini A, Price A, Prieto P, Rolaki A, Schäffer M, J. Triebe, Whelan M, Wittwehr C ve Zuang V (2014) Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme. JRC Bilim ve İlke Raporları, Rapor EUR 26797 EN. Hayvan Testlerine Alternatifler için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EURL ECVAM), Sistem Toksikolojisi Birimi, Sağlık ve Tüketici Koruma Enstitüsü, Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi, Ispra, İtalya. Erişim adresi: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/echa_jrc_sla_report_public_05-09-14_withcover_ipo.pdf

R.7.3 Cilt ve solunum hassasiyeti

R.7.3.1 Giriş

Bazı hastalıklar, doğası gereği alerjik olarak kabul edilir veya olduğu varsayılır. Bunlara astım, rinit, konjunktivit, alerjik kontakt dermatit (ACD), ürtiker ve gıda alerjileri dahildir (sonuncu bu belgede tartışılmamaktadır). Bu Bölümde tartışılan sonlanma noktaları, geleneksel olarak maddelere mesleki ve tüketici maruz kalması ile ilişkili olanlardır.

Işığa hassasiyet potansiyel olarak önemlidir, ancak etki mekanizması tam olarak anlaşılammıştır ve bu belgede tartışılmamıştır.

R.7.3.1.1 Cilt ve solunum hassasiyeti tanımı

Cilt hassaslaştırıcı, hassas kişilerde cilde teması sonrasında alerjik yanıtı yol açacak bir maddedir. Sonrasında ikincil - genellikle organa özgü - tekrar maruz kalmanın bir sonucu olarak, cilt üzerinde olumsuz sağlık etkileri oluşur (alerjik kontakt dermatit).

Solunum hassaslaştırıcı, o maddeye soluma yoluyla maruz kalmayı takiben solunum yollarında aşırı hassasiyete yol açacak bir ajandır. Solunum hassaslaşması (veya aşırı hassasiyet), neden olan mekanizmadan (immünolojik veya immünolojik olmayan) bağımsız olarak, astımı ve diğer ilgili solunum rahatsızlıklarını (rinit, ekstrinsik alerjik alveolit) tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Tersine, cilt alerjisi immünolojik bir mekanizmaya dayanır. Bu anlamda, örneğin immünolojik olmayan temas ürtikerinden (NICU) veya cildin immünolojik olmayan aracılı yanıtını temsil eden toksik/tahriş edici temas egzamasından alerjik kontakt dermatiti ayırt etmek önemlidir.

Bu belgede doğrudan insan verileri ele alındığında, astım, rinit, ekstrinsik alerjik alveolit ve alerjik kontakt dermatit klinik tanı terimleri korunmuştur.

Bu tanımlar, bir maddenin zararlı özelliklerinin değerlendirilebileceği yararlı bir referans sağlayan cilt ve solunum hassaslaştırıcılarının sınıflandırılması kriterlerinde yansıtılmıştır. Bu kriterler, Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik (SEA Yönetmeliği) içerisinde verilmektedir.

SEA Yönetmeliği uyarınca sınıflandırma ve etiketleme

Cilt hassasiyetine ve/veya solunum hassasiyetine neden olan maddeler ve karışımlar, SEA Yönetmeliği kapsamındaki sınıflandırmalarıyla ayrıca karakterize edilebilir. Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), hassaslaştırıcıları sınıflandırmak için SEA (ve BM GHS) kriterleri standart hayvan verilerine, insan verilerine ve standart olmayan yöntemlerden elde edilen verilere dayanmaktadır, örneğin çapraz okuma veya standart olmayan test yöntemleri *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımıyla birlikte kullanılabilir. BM GHS düzeyindeki tartışmalar, sınıflandırma için *in vitro* temelli kriterleri içermek üzere sürmektedir. Bir maddenin hassaslaştırma potansiyeli hakkındaki bilgiler karışımların sınıflandırılması ve etiketlenmesi için önemlidir, çünkü bu hassaslaştırma kuvvetine dayalı olarak, karışım sınıflandırması için farklı özel konsantrasyon sınırlarının kullanılması gerekir. Bu rehberin R.7.3.3 bölümünde açıklandığı gibi, bir cilt hassaslaştırıcı için KKDİK Yönetmeliğine göre bir maruz kalma değerlendirmesi ve risk karakterizasyonu yapılmalıdır.

Maddelerin ve karışımların sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin ayrıntılı bilgiler, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ve SEA Yönetmeliği içerisinde bulunabilir.

a) Cilt hassasiyeti için

Cilt hassaslaştırıcılar, "Dikkat" uyarı kelimesi ve H317 "*Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar.*" zararlılık ifadesi ile Kategori 1 içerisinde sınıflandırılır. Verilerin yeterli olduğu durumlarda, cilt hassaslaştırıcılar alt kategorilere ayrılabilir. Veriler alt kategorilere ayırma için yeterli değilse Kategori 1 seçilmelidir.

- **Alt kategori 1A:** İnsanlarda yüksek meydana gelme sıklığı ve/veya hayvanlarda yüksek etki gücü gösteren maddelerin, insanlarda önemli hassasiyet oluşturma potansiyeline sahip olduğu varsayılabilir. Reaksiyonun şiddeti de düşünülebilir.
- **Alt kategori 1B:** İnsanlarda düşük ila orta derece meydana gelme sıklığı ve/veya hayvanlarda düşük ila orta etki gücü gösteren maddelerin, insanlarda hassasiyet oluşturma potansiyeline sahip olduğu varsayılabilir. Reaksiyonun şiddeti de düşünülebilir.

b) Solunum hassasiyeti için

Solunum yolu hassaslaştırıcılar, "tehlike" uyarı kelimesi ve H334 "*Solunması halinde nefes alma zorlukları, astım nöbetleri veya alerjiye yol açabilir*" zararlılık ifadesi ile Kategori 1 içerisinde sınıflandırılır. Verilerin yeterli olduğu durumlarda, solunum hassaslaştırıcılar alt kategorilere ayrılabilir. Veriler alt kategorilere ayırma için yeterli değilse Kategori 1 seçilmelidir.

- **Alt kategori 1A:** İnsanlarda yüksek meydana gelme sıklığı olan maddeler; veya hayvan veya diğer testlere göre insanlarda yüksek bir hassasiyet oranının oluşma olasılığı. Reaksiyonun şiddeti de düşünülebilir.
- **Alt kategori 1B:** İnsanlarda düşük ila orta derece meydana gelme sıklığı olan maddeler; veya hayvan veya diğer testlere göre insanlarda düşük ila orta derece hassasiyet oranının oluşma olasılığı. Reaksiyonun şiddeti de düşünülebilir.

R.7.3.1.2 Cilt ve solunum hassasiyeti hakkında rehberin amacı

Bu rehberin genel amaçları şunlardır:

- fiziksel / kimyasal verilerden, test dışı yöntemlerden (gruplama, QSAR ve uzman sistemler), *in chemico*, *in vitro* veya *in vivo* çalışmalardan⁴⁹ gelen bilgilerin veya insan deneyimi verilerinin, maddenin cilt veya solunum hassasiyeti potansiyeline sahip olup olmadığına dair yeterli kanıt sağlayıp sağlamadığını belirlemek; veya
- bu belgede sunulduğu gibi bir test ve değerlendirme stratejisi sağlayarak KKDİK Yönetmeliği kapsamındaki bilgi gerekliliklerini karşılamak için yeni bilgilerin üretilmesi gerekip gerekmediğini belirlemek⁵⁰.

⁴⁹ Bu terimler şu şekilde tanımlanır: *in vitro* çalışma, hücreleri, dokuları veya organları kullanan ve bir laboratuvarında cam veya plastik kaplarda yürütülen bir çalışmadır; *in vivo* çalışma, canlı bir organizmada yürütülen bir çalışmadır; *in chemico* çalışma, bir maddenin reaktivite veya diğer fiziko-kimyasal özelliklerinin abiyotik (yani hayvanlarda veya *in vitro* olarak yapılmayan) ölçümlerini kullanan bir çalışmadır.

⁵⁰ Test ve değerlendirme stratejileri, Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım (IATA) olarak da adlandırılır.

Bu nedenle, cilt hassasiyeti ve solunum hassasiyeti ile ilgili bölümlerde, öncelikle hassasiyet hakkında bilgi sağlayabilecek veri türlerine genel bir bakış, ardından mevcut verileri yeterlilik, eksiksizlik ve kalan belirsizlikler açısından değerlendirme sürecine ilişkin rehberlik verilir. Bölüm [R.7.3.6](#) ve [R.7.3.11](#)'de, mümkünse etki gücü de dahil olmak üzere sınıflandırma ve etiketlemeye uygunluk hakkında bir sonuca varmak için verilerin uygulanması konusunda rehberlik verilmektedir. Bununla birlikte, yeni testler gerçekleştirirken, kayıt ettirenler cilt hassaslaştırıcı maddeler için etki gücü belirlemeye ilişkin yeni gerekliliği dikkate almalıdır (Kat. 1A veya değil). Son olarak, Bölüm [R.7.3.7](#) ve [R.7.3.12](#) içerisinde, sırasıyla cilt hassasiyeti ve solunum hassasiyeti için bir test ve değerlendirme stratejisi sunulmuştur.

CİLT HASSASİYETİ

R.7.3.2 Cilt hassasiyeti mekanizmaları

Temas alerjenleri, düşük moleküler ağırlıklı (<500 - 1000 Da) reaktif maddelerdir (genellikle organik maddeler veya metal iyonları) ve cilde nüfuzu destekleyen bir lipofilikliğe sahiptir. Cilt hassasiyeti, gecikmiş tip aşırı hassasiyet olarak kabul edilir (Gell ve Coombs'a göre Tip IV) (Karlberg ve ark., 2008; Martin ve ark., 2011; Martin, 2014). Cilt hassasiyetine (insanlarda alerjik kontakt dermatit) yol açan mekanizmalardan bazıları nispeten iyi anlaşılmıştır. 2012 yılında, OECD, maddelerin cilt proteinlerine kovalent bağlanmasıyla başlatılan, cilt hassasiyetinin biyolojik mekanizmalarını tanımlayan **Olumsuz Etki Oluşum Yolları** (AOP) yayınlamıştır (OECD, 2012). Bu Olumsuz Etki Oluşum Yollarının biyolojik kökenli metalleri veya alerjenleri kapsamadığı, sadece cilt proteinlerine kovalent bağ oluşturan maddeleri kapsadığı unutulmamalıdır. Bu cilt hassasiyeti yolunun kilit olayları şunlardır: 1) elektrofilik maddenin cilt proteinlerine kovalent bağlanması; 2) proinflamatuvar sitokinlerin salımı ve keratinositlerde sito-koruyucu yolların indüksiyonu; 3) dendritik hücrelerin aktivasyonu ve olgunlaşması ve bunların lokal lenf düğümlerine göçü; 4) kimyasal alerjenin dendritik hücreler tarafından (dendritik hücre tarafından işlenen ve yüzeyinde bir epitop olarak gösterilen alerjen) saf T hücrelerine sunulması, ve bunun hücrelerin farklılaşmasına ve alerjene özel bellek T hücreleri olarak çoğalmasına yol açması. Olumsuz sonuca yol açan birden dörde kadar kilit olayların bir parçası olarak düşünülmesi bile, dermal biyoyararlanım (penetrasyon ve varsa, metabolizma) bir maddenin cilt hassasiyetine neden olması için bir ön koşuldur, yani maddenin reaktif formunda canlı epidermise erişmesi gerekir.

Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin indüksiyonuna yol açan ve aynı zamanda muhtemelen cilt hassasiyetine yol açan metal mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır (Thierse ve ark., 2005; Martin ve ark., 2006). Bazı metal iyon türleri klasik olmayan haptenerler olarak etki gösterebilir, yani işlenmiş proteinlere kararlı bağlanma gerektirmezler, ancak doğrudan veya dolaylı olarak ana doku-uyumluluk kompleksi (MHC) molekül-peptit kompleksinde (metal-protein kompleksi oluşumu yoluyla) yapısal değişikliklere neden olabilirler, bu daha sonra T hücrelerinin T hücresi reseptörleri aracılığıyla tanınmasına ve aktivasyonuna yol açar (Templeton, 2004; Gammerdinger ve ark., 2003; Lu ve ark., 2003). Berilyum gibi diğer metal iyon türleri hakkında daha az şey bilinmektedir (Bowerman ve ark., 2014). Bu nedenle, metaller için cilt hassasiyeti, metale ve mevcut bilgi miktarına bağlı olarak durum bazında değerlendirilmelidir.

Geleneksel olarak cilt hassasiyetinin gelişimi, başlangıç (indüksiyon) ve oluşum olmak üzere iki aşamaya bölünmüştür. Başlangıç aşamasında, daha önce kimyasala maruz kalmamış birey, alerjenik maddeye karşı, örn. yukarıda açıklanan moleküler olaylar yoluyla hassaslaşır ve alerjene özgü bellek T hücrelerinin oluşumuna yol açar. Bu özel bellek hücreleri, belirli alerjenle tekrarlı şekilde karşılaşmak üzere dermise ve epidermise göç eder. Oluşum aşamasında, daha önce başlangıç aşamasında oluşturulan bellek T hücreleri, bu alerjene özel T hücrelerinin hızlı çoğalmasına ve aktivasyonuna yol açan şekilde bu alerjenle yeniden karşılaşır. Aktive olan hücreler özel sitokinleri salgılamaya başlar ve bu da diğer inflamatuvar hücreleri harekete geçirerek alerjik kontakt dermatit klinik sonucuna yol açar.

R.7.3.3 Cilt hassasiyeti üzerine bilgi gereklilikleri

Kayıt ve değerlendirme amacıyla sunulması gereken cilt hassasiyeti ile ilgili bilgiler, KKDİK Yönetmeliği Ek 6 ila 11'de belirtilmiştir. Ek 6'ya göre, kayıt ettiren, ilave testleri düşünmeden önce mevcut tüm bilgileri toplamalı ve değerlendirmelidir. Bunlara yapısal hususlar, fiziko-kimyasal özellikler, (Q)SAR ((Nicel) Yapı-Aktivite İlişkisi), yapısal olarak benzer maddelerden bilgiler, *in vitro/in chemico* veriler, hayvan çalışmaları ve insan verileri dahildir.

Sınıflandırılmış maddeler için, potansiyel risklerin tanımlanması ve yeterli risk yönetimi önlemlerinin alınmasını sağlamak üzere maruz kalma, kullanım ve risk yönetimi önlemlerine ilişkin bilgiler de toplanmalı ve değerlendirilmelidir.

Bu veriler sınıflandırma ve etiketleme dahil zararlılık ve risk değerlendirmesi için yetersizse, **KKDİK Yönetmeliği Ek 7 (≥ 1 ton/yıl gerekliliklerine)** uygun olarak ilave testler yapılmalıdır.

Cilt hassasiyeti için bu tonaj bandında standart bilgi gereklilikleri (bkz. Ek 7 Sütun 1'de Bölüm 8.3, 8.3.1. ve 8.3.2) aşağıdaki belirtilen şekildedir:

8.3. Sütun 1: Cilt hassasiyeti

Aşağıdakilere ilişkin bilgiler:

- *maddenin cilt hassaslaştırıcı olup olmadığına ve insanlarda anlamlı hassaslaştırıcılık yaratma potansiyeline sahip olup olmadığına dair varsayım (Kans. Kat. 1A), ve*
- *gerekli hallerde, risk değerlendirmesi.*

8.3.1 Sütun 1: Cilt hassaslaştırıcı, in vitro/in chemico

14'üncü maddenin üçüncü fıkrasında belirtilen in vitro/in chemico test metodlarından elde edilen ve cilt hassaslaştırıcılığına dair aşağıdaki her bir anahtar olaya ilişkin bilgiler,

(a) cilt proteinleri ile olan moleküler ilişkiler;

(b) keratinositlerdeki enflamasyon cevabı;

(c) dentritik hücrelerdeki aktivasyon

8.3.2. Sütun 1: Cilt hassaslaştırıcı, in vivo

Ek 7'nin 2. Sütunu, 1. sütunda belirtilen gerekli standart bilgilerin çıkarılabileceği, başka bilgilerle değiştirilebileceği veya başka bir şekilde uyarlanabileceği özel kuralları listeler. Bu Ek'in 2. sütununun uyarlamalara izin verdiği koşullar karşılanıyorsa, her bir uyarlama için gerçekler ve nedenleri kayıt dosyasında açıkça belirtilmelidir.

Sütun 2'deki uyarlama yapılabilmesi için özel kurallar aşağıda belirtilen şekildedir:

8.3. Sütun 2:

'Aşağıdaki koşullarda 8.3.1 ve 8.3.2'de yer alan çalışmaların yapılması gerekmez:

- *madde cilt aşındırıcı olarak sınıflandırılmış ise (Kat.1), veya*
- *madde kuvvetli bir asit ($pH \leq 2,0$) ya da baz ise ($pH \geq 11,5$), veya*
- *madde oda sıcaklığında havada veya su veya nem ile temas ettiğinde alevlenir ise.*

8.3.1. Sütun 2:

Aşağıdaki durumlarda bu testin/testlerin yapılması gerekmez:

- *8.3.2'de yer alan bir in vivo çalışma varsa, veya*
- *Mevcut in vitro/in chemico test metodları uygulanamıyorsa veya sınıflandırma yapmaya ve 8.3 uyarınca belirtilen risk değerlendirmeye elverişli değilse.*

Birinci sütunda belirtilen test yönteminden/yöntemlerinden elde edilen bir veya iki anahtar olaydan elde edilen bilgiler halihazırda 8.3 uyarınca sınıflandırma ve risk değerlendirme yapmaya imkan veriyorsa, diğer anahtar olaylara ilişkin çalışmaların yapılması gerekmez.

8.3.2. Sütun 2:

Bir *in vivo* çalışma, sadece 8.3.1 de belirtilen *in vitro/in chemico* test metodları uygulanamıyorsa, veya bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar 8.3 e uygun olarak sınıflandırma yapmaya veya risk değerlendirmesine uygun değilse yürütülecektir.

Fare Lokal Lenf Düğümü Testi (LLNA) *in vivo* testler için tercih edilen ilk yöntemdir. Yalnızca istisnai koşullar altında başka teste başvurulmalıdır. Başka *in vivo* teste başvurulması durumunda, gerekçelendirme yapılacaktır.

14 üncü maddenin üçüncü ve dördüncü fıkrasına uygun olarak gerçekleştirilmiş olan veya 11 Kasım 2016 tarihinden önce başlanan *in vivo* cilt hassaslaştırıcılığına dair çalışmaların standart bilgi gerekliliklerini karşıladığı kabul edilir.

Bu, yeni veriler üretildiğinde, değerlendirmenin yalnızca bir maddenin cilt hassaslaştırıcı olup olmadığını değil, aynı zamanda cilt hassaslaştırıcı etki gücünü de araştırması gerektiği anlamına gelir ('maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline sahip olduğunun varsayıp varsayılamayacağı (Kat. 1A)').

Maddenin *in vitro/in chemico* testlere dayalı bir cilt hassaslaştırıcısı olması ve *in vitro/in chemico* test sonuçlarının, maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline sahip (Kat. 1A) olduğuna dair yeterince güvenilir bir sonuca izin vermesi durumunda, bu sınıflandırma (Kat. 1A) uygulanıyorsa daha fazla test gerekli değildir.

Maddenin *in vitro/in chemico* testlere dayalı bir cilt hassaslaştırıcısı olması durumunda ve *in vitro/in chemico* test sonuçlarının, maddenin insanlarda önemli bir hassasiyet oluşturma potansiyeline sahip olmadığına dair yeterince güvenilir bir sonuca izin vermesi durumunda, maddenin orta derecede cilt hassaslaştırıcı olacağı varsayılabilir (Kat. 1B). Bu durumda, başka test gerekli değildir. ÇŞB, kayıt ettiren tarafından bu gerekçenin ve sonuçtaki sınıflandırmanın izlenmesini tavsiye eder.

Bununla birlikte, önemli hassasiyetin (Kat. 1A) *in vitro/in chemico* testlere dayalı olarak yeterince güvenilir şekilde hariç tutulamaması durumunda, kanıtların ağırlığını güçlendirmek için ek bilgilerin (*in silico/in vitro/in chemico*) oluşturulması gerekecektir. Hala güvenilir bir sonuca ulaşılamıyorsa, son çare olarak *in vivo* testlerin (LLNA) yapılması gerekecektir.

Tüm veri kaynakları dikkate alındığında, bir maddenin "*insanlarda önemli hassasiyet*" oluşturup oluşturmayacağına dair bir karar, normalde bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı kullanılarak verilebilir. İlgili tüm veri kaynaklarının ve olasılıkların dikkate alındığı ve bu kararın hala alınmadığı nadir durumlarda, Kat. 1 sınıflandırma uygulanabilir (Ayrıca bkz. [Şekil R.7.3-2](#) dipnot e).

Mevzuat düzenlemelerinin ardından, artık etki şekli (etki gücü) değerlendirmesinin yapılması gereklidir. Bununla birlikte, cilt hassaslaştırıcı etki gücünün değerlendirilmesine izin vermeyen *in vivo* bilgilerin halihazırda mevcut olması durumunda (çalışma geçmişte başlatılmış veya yürütülmüş), bu bilgi, bilgi gerekliliğini yerine getirmek için kullanılabilir ve ek test gerekmez. Bu gibi durumlarda, bu tür çalışmalardan gelen cilt hassaslaştırıcı etki gücü hakkındaki her türlü bilgi, cilt hassaslaştırıcı maddeler için sınıflandırmayı ve risk değerlendirmesini geliştirmek üzere diğer kaynaklardan elde edilen mevcut bilgilerle veya ek hayvan dışı test verileriyle birlikte kullanılmalıdır.

Maddelerin içsel özelliklerine ilişkin bilgilerin üretilmesine ilişkin genel hükümler KKDİK Yönetmeliği Madde 14'te yer almaktadır; bu madde, özellikle insan toksisitesi için, omurgalı hayvan testleri dışında alternatif yöntemler kullanılarak, örneğin *in vitro* yöntemler veya nitel veya nicel yapı-aktivite ilişki modelleri veya yapısal olarak ilgili maddelerden (gruplandırma veya çapraz okuma) elde edilen bilgilerden, mümkün olduğunca bilgi oluşturulması (Ek 11'de belirtilen koşulların karşılanması koşuluyla) gerektiğini belirtir.

Uyarlama için özel kurallara ek olarak (Ek 7 ila 10, sütun 2), KKDİK Yönetmeliğinin Ek 11 1.2 ila 1.5'i standart bilgi gerekliliklerine uyarlama için genel kuralları ortaya koymaktadır.

Uyarlamalar için özel kurallar şunlardır: *Kanıt ağırlığı* yaklaşımı (bölüm 1.2) dahilindeki diğer yaklaşımlarla birlikte hayvan dışı test yöntemlerinin (örn. *in vitro/in chemico*) kullanımı, (Q)SAR kullanımı (bölüm 1.3), *in vitro* yöntemlerin kullanımı (bölüm 1.4, bunların bağımsız yöntemlere atıfta bulunduğu unutulmamalıdır) veya çapraz okuma (bölüm 1.5) kullanımı. Ek 11 uyarlaması durumunda da, bu gerçek ve her bir uyarlamanın nedenleri kayıt dosyasında (KKS) açıkça belirtilmelidir.

Bu kuralların uygulanmasına ilişkin rehberlik, bu Rehberin [R.7.3.7](#) Bölümünde açıklanan test ve değerlendirme stratejisinde verilmektedir.

Etki gücü değerlendirilmesine olanak sağlayan Fare Lokal Lenf Düşümü Testi (LLNA), yeni *in vivo* testin gerekçelendirilmiş olması durumunda *in vivo* test için ilk tercih edilen yöntemdir. Yalnızca istisnai koşullar altında başka teste başvurulmalıdır. Bu, belirli durumlarda diğer *in vivo* yöntemlerin kullanılabilmesi anlamına gelir. Bu tür durumlarda, kayıt dosyasında başka bir testin yapılması için ikna edici bilimsel gerekçeler sunulmalıdır.

R.7.3.4 Cilt hassasiyeti üzerine bilgi kaynakları

R.7.3.4.1 Cilt hassasiyeti üzerine insan dışı veriler

Veritabanlarında bulunan deneysel veriler

Kayıt ettirenlerin, maddeleriyle ilgili mevcut tüm bilgileri toplamaları gerekir. KKDİK kayıt dosyalarından veya diğer kaynaklardan (örn. literatürden) mevcut olabilecek cilt hassasiyetine ilişkin tüm deneysel verilere bakarak başlanması tavsiye edilir. ECHA'nın bilgi yayınlanan web sitesi, REACH verilerinin birincil kaynaklarından biridir. Veriler ayrıca OECD QSAR Araç Kutusu veya eChemPortal aracılığıyla da bulunabilir. TIMES, Ambit, Topkat, Vitic Nexus ve diğerleri gibi hesaplama araçlarından eğitim setleri de değerli bir deneysel veri kaynağıdır. Tüm bu kaynaklar, farklı standart ve standart dışı testler kaynaklı heterojen sonuçları derler. Bu araçlarda orijinal verilerin nasıl yorumlandığını değerlendirmek çok önemlidir ve mümkünse her zaman orijinal kaynaklara danışılması tavsiye edilir. Veri kaynaklarına ilişkin daha fazla ayrıntı [Ek R.7.3-1](#) içerisinde verilmiştir.

Cilt hassasiyeti üzerine test dışı veriler

Standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması, ilgiliyse kullanılabilir ve ilgilenilen madde için güvenilir alternatif veriler sağlanabilir. KKDİK yönetmeliğinin Ek 11'inde belirtildiği üzere, test dışı yöntemlerin kullanımının gerekçelendirilmesi ve yeterince belgelendirilmesi gerekir. Çapraz okuma ve (Q)SAR modelleri, cilt hassaslaşması için veri sağlayabilen test dışı yöntemlerdir.

Çapraz okuma

Çapraz okuma/kimyasal kategoriler, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6'nın R.6.1 ve R.6.2 Bölümlerinde açıklanmıştır. Gruplandırma savunmaları ve çapraz okuma vakaları oluşturmanın bilimsel temeli, kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin OECD Rehber Dokümanı'nın ikinci versiyonunda (OECD, 2014) ve cilt hassasiyetine ilişkin test ve değerlendirme için bütünlük yaklaşım (IATA) içerisinde kullanılacak tanımlanmış yaklaşımların ve bireysel bilgi kaynaklarının raporlanmasına ilişkin OECD Rehber Dokümanında yeniden ele alınmıştır (OECD, 2016b).

Çapraz okuma değerlendirmesine ilişkin daha detaylı öneriler, ECHA Çapraz Okuma Değerlendirme Çerçevesi (RAAF) içerisinde bulunabilir (bkz. <http://echa.europa.eu/support/grouping-of-substances-and-read-across>).

Cilt hassasiyeti için çapraz okumanın geliştirilmesi ve değerlendirilmesi, Patlewicz ve ark. çalışmasında tartışılmış ve örneklenmiştir (2015).

(Q)SAR modelleri

QSAR ve uzman sistemler söz konusu olduğunda, kayıt ettirenlerin bir QSAR Tahmin Raporlama Formatını (QPRF) tamamlayarak özellik tahminlerini hazırlamaları gerekir. QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF), (Q)SAR modelleri tarafından oluşturulan maddeye özgü tahminlerin özetlenmesi ve raporlanması için uyumlaştırılmış bir şablondur. KKDİK kapsamında veri boşluğunu doldurmak için, QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) belgesi izlenerek kullanılan tahmin modeli hakkında bilgi sağlamak da gereklidir. QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF), herhangi bir doğrulama çalışmasının sonuçları da dahil olmak üzere (Q)SAR modeli geçerliliği ile ilgili anahtar bilgileri özetlemek ve raporlamak için uyumlaştırılmış bir şablondur. Bilgiler, OECD (Q)SAR doğrulama ilkelerine göre yapılandırılır (daha fazla bilgi için bkz. <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/validationofqsarmodels.htm>). JRC QSAR Model Veritabanı, çevrimiçi olarak ücretsiz erişilebilen mevcut QSAR Model Raporlama Formatları hakkında bir bilgi envanteridir (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/databases/jrc-qsar-model-database>). QSAR modelleri, kullanımları ve QMRF dahil olmak üzere raporlama formatları hakkında daha ayrıntılı rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de verilmektedir. Ayrıca, QSAR modelleri ve veri setlerine ilişkin bunlara erişim sağlamak ve yeterince şeffaf ve tekrarlanabilir olan seçilmiş literatür modellerinden tahminleri kolaylaştırmak için dinamik bir havuz geliştirmeyi amaçlayan, son zamanlarda başlatılmış bir girişim (QsarDB) de mevcuttur.

Hakemli literatürde cilt hassasiyeti için bildirilmiş bazı (Q)SAR modelleri vardır. Mevcut modeller, yerel ve küresel nicel yapı aktivite ilişkilerinin yanı sıra uzman sistemleri içerir. Bir yazılım aracında uygulanmazsa, teknik nitelikte erişilebilirlik sorunları nedeniyle kullanımları kısıtlanabilir. Maddelerin reaksiyon kimyasının araştırılması, çoğu çapraz okuma gerekçesinin ve cilt hassasiyeti için mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerinin çoğunun temelini oluşturur. Proteinlere kovalent bağlanma için OECD Olumsuz Etki Oluşum Yollarına göre, bir maddenin cilt hassasiyeti potansiyeli, ilk olarak, kovalent bağlı konjugatlar oluşturmak üzere cilt proteinleriyle reaksiyona girebilme ve bunların bağışıklık sistemi tarafından tanınması ile ilgilidir. Vakaların büyük çoğunluğunda, bu, maddenin elektrofilik reaktivitesine veya metabolizma veya abiyotik bozunma tarafından üretilen bir türevine dayanır (Barratt ve ark., 1997). Cilt hassasiyetinde çeşitli tiplerde elektrofil-nükleofil reaksiyonları vardır ve bunlardan belki de en sık karşılaşılanları şunlardır: Michael tipi reaksiyonlar, S_N2 reaksiyonları, S_NAr reaksiyonları, açılma reaksiyonları ve Schiff bazı oluşumu. Bu kimyasal reaksiyon mekanizmaları, bir (Q)SAR modelinin uygulanabilirlik alanını (kapsamını) tanımlamanın bir yolu olarak görev alabilir veya maddeleri kimyasal kategoriler halinde gruplandırmak için dayanak oluşturabilir. Bu alandaki son çalışmalar başka bir yerde açıklanmıştır (Aptula ve ark., 2005; Aptula ve Roberts, 2006; Roberts ve ark., 2007, 2011; Schultz ve ark., 2009; Natsch ve ark., 2012; Enoch ve Roberts, 2013).

Cilt hassasiyeti dahil, KKDİK ile ilgili birkaç sonlanma noktasını tahmin etmek için faydalı olabilecek bazı (Q)SAR modelleri, yazılım paketlerine dahil edilmiştir. Mevcut araçların bir listesi, sonuçları çevrimiçi olarak ücretsiz şekilde mevcut bir AB LIFE projesi olan ANTARES içinde derlenmiştir (<http://www.antares-life.eu/index.php?sec=modellist>). REACH kapsamında ön kaydı gerçekleştirilmiş neredeyse tüm organik maddelerin cilt hassasiyetine (ve bir dizi diğer toksikolojik ve ekotoksikolojik sonlanma noktasına) ilişkin QSAR tahminleri, ücretsiz Danimarka QSAR veritabanına dahil edilmiştir (<http://qsar.food.dtu.dk/>), daha ayrıntılı bir tanımı [Ek R.7.3- 1](#) içerisinde bulunabilir). Her bir tahminin güvenilirliği, modelin uygulanabilirliğine ilişkin bilgilere dayalı olarak her madde için değerlendirilmelidir. Kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin OECD Rehberi (OECD, 2014) cilt hassasiyeti de dahil olmak üzere düzenleyici açıdan uygunluğa ilişkin sonlanma noktalarını tahmin etmede faydalı olabilecek araçların bir özetini de sağlamaktadır (ayrıca bkz.: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/groupingofchemicalschemicalcategoriesandread-across.htm>).

Mevcut araçların kapsamlı olmayan bir listesi ayrıca [Tablo R.7.3-1](#)'de verilmiştir.

Bilimsel yayınlarda ve *in-silico* araçlarda veriler ve (Q)SAR modelleri hakkında daha fazla ayrıntı [Ek R.7.3-1](#)'de verilmektedir, Bölüm [R.7.3.5.1](#) ise test dışı yöntemlerin değerlendirilmesini tartışmaktadır.

Tablo R.7.3-1 Cilt hassasiyeti tahmini için *in silico* araçlar. Nitel modellerin KKDİK ve SEA Yönetmeliklerinde belirtilenlerden farklı eşikler kullanılarak geliştirilmiş olabileceği unutulmamalıdır. Kullanıcının farklı bilgiler toplamak için mümkün olduğunca çok sayıda farklı yazılım kullanması tavsiye edilir

Yazılımın adı	Model/modül	Model tipi	Sonlanma noktası ve/veya eğitim seti veri türü
QSAR Araç Kutusu, ücretsiz http://www.qsartoolbox.org/	Protein bağlama profil oluşturucuları: <ul style="list-style-type: none">• OASIS v1.3• OECD• Etki gücü• OASIS v1.3 ile cilt hassaslaştırıcılığı için uyarılar	Yapısal uyarılar	Protein bağlanma
	"Sonlanma noktası" (Veritabanları): <ul style="list-style-type: none">• Cilt hassasiyeti• Cilt hassaslaştırıcılığı ECETOC• ECHA Chem	Veri havuzları	Başlıca LLNA ve GPMT
	Veri boşluğu doldurma: <ul style="list-style-type: none">• Çapraz okuma• Eğilim analizi	Nitel ⁵¹ veya nicel	Başlıca LLNA ve GPMT
ToxTree, ücretsiz http://toxtree.sourceforge.net/skinsensitisation.html	Cilt hassasiyeti reaktivite alanları	Yapısal uyarılar	Reaktivite etki şekli

⁵¹ Örn.: QSAR Araç Kutusunda OASIS ölçeği: Hassaslaştırıcı olmayan (EC3 ≥ %50), Zayıf hassaslaştırıcı (%10 ≤ EC3 < %50), Güçlü hassaslaştırıcı (EC3 < %10)

VEGA, ücretsiz http://www.vega-qsar.eu/	Cilt hassaslaştırıcı CAESAR	Nitel ⁵²	LLNA
CASE Ultra, ticari http://www.multicase.com/case-ultra	SkinEye Toksikite modelleri	Nitel ⁵³	Başlıca (GMPT, LLNA, diğer)
Derek Nexus, ticari http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm	Cilt hassasiyeti	Nitel ⁵⁴	GPMT ve LLNA
TIMES, ticari http://oasis-lmc.org/products/models/human-health-endpoints/skin-sensitization.aspx	TIMES Cilt Hassaslaştırıcılığı	Nitel ⁵⁵ (Metabolik simülatör + "yerel" QSAR)	Başlıca GPMT ve LLNA
TOPKAT, ticari http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/qsar-admet-and-predictive-toxicology.html	İki model: • Hassaslaştırıcı olmayanlar karşısında Hassaslaştırıcılar • Zayıf/Orta karşısında Güçlü hassaslaştırıcılar	Nitel ⁵⁶	GPMT
Danimarka (Q)SAR veritabanı http://qsar.food.dtu.dk/	Cilt hassasiyeti (CASE Ultra, Leadscope ve SciQSAR)	Nitel ⁵⁷	GPMT ve İnsanlarda Alerjik Kontakt Dermatit)

⁵² VEGA içindeki cilt hassaslaştırıcılığı modeli: Geberick ve ark. (2005) (aşırı, güçlü ve zayıf hassaslaştırıcılar pozitif olarak kodlanmış, NC negatif olarak kodlanmıştır)

⁵³ LLNA için CASE Ultra modeli: Zayıf (EC₃ < %100), Orta (EC₃ < %10), Güçlü (EC₃ < %1).

⁵⁴ Derek içerisinde "olumlu" uyarılar olarak kabul edilebilecek sonuçlar şunlardır: KESİN, MUHTEMEL, MAKUL veya BELİRSİZ (azalan olasılık sırasına göre), çünkü sorgu molekülü kodlanan uyarılardan biriyle eşleşen bir toksikofor içerir. BELİRSİZ, Derek içerisinde "pozitif" bir sonuç olarak önerilmektedir, çünkü uyarı hala molekül için tetiklenmiştir, ancak Derek'in hesaplamasında dikkate aldığı başka bir yön/yönler olduğuna dair bir gösterge vardır (böyle fiziko-kimyasal özellikler gibi).

⁵⁵ Farklı kaynaklardan toplanan veriler ve testler aşağıdaki düzene göre üç kategoriye (Güçlü, Zayıf ve Hassaslaştırıcı Olmayan) dönüştürülmüştür: (i) LLNA kaynaklı veriler: aşırı, güçlü ve orta seviyede LLNA verileri "Güçlü", zayıf LLNA verileri "Zayıf" ve hassaslaştırıcı olmayan LLNA verileri "hassaslaştırıcı olmayan" olarak dönüştürülmüştür; (ii) GPMT kaynaklı veriler: güçlü ve orta seviyede GPMT verileri "Güçlü", zayıf GPMT verileri "Zayıf" ve hassaslaştırıcı olmayan GPMT verileri "Hassaslaştırıcı olmayan" olarak dönüştürülmüştür; (iii) BfR kaynaklı veriler (Schlede ve ark., 2003): kategori A "Güçlü", kategori B "Zayıf", kategori C "hassaslaştırıcı olmayan" olarak dönüştürülmüştür.

⁵⁶ TOPKAT ölçeği (GPMT, pozitif hayvanların yüzdesi): Zayıf (%1-30), Orta (%30-70), Güçlü (%70-100).

⁵⁷ Aktivite sınıflandırmasında aşağıdakiler de dahil olmak üzere birkaç faktör dikkate alınmıştır: kullanılan test tipi (insan veya gine domuzu maksimizasyon testi); adjuvan kullanımı; zorlama için kullanılan doz; ve hassasiyet oranı. Zayıf, orta, güçlü ve aşırı hassaslaştırıcılar model eğitim setine pozitif olarak dahil edilmiş ve hassaslaştırıcı olmayanlar negatif olarak dahil edilmiştir (daha fazla bilgi için veri tabanının web sitesinde bulunan QSAR Model Raporlama Formatlarına bakınız).

Cilt hassasiyeti üzerine test verileri

Cilt hassasiyeti için uluslararası kabul görmüş test yöntemleri AB Test Yöntemleri Tüzüğü'nün (Konsey Tüzüğü (EC) No 440/2008) Ekinde ve OECD Test Rehberlerinde (erişim adresi: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforhetestingofchemicals.htm>) tanımlanmıştır.

AB veya OECD tarafından yayınlanıp yayınlanmadığından bağımsız olarak, yeni veri oluştururken kabul görmüş bir test rehberinin her zaman en son sürümünün kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

Cilt hassasiyeti için geliştirilen test ve değerlendirme stratejisi (bkz. bu Rehberde Bölüm R.7.3.7) herhangi bir *in chemico*, *in vitro* veya *in vivo* test yapmadan önce mevcut **tüm** bilgilerin (yapısal hususlar ve fiziko-kimyasal özellikler dahil) değerlendirilmesi ihtiyacını vurgulamaktadır.

In chemico/in vitro veriler

Bir maddenin cilt hassaslaştırıcı olup olmadığını değerlendirmek için uluslararası olarak kabul görmüş *in chemico/in vitro* test yöntemleri [Tablo R.7.3-3](#)'te listelenmiştir. İlave olarak, bu tablo, doğrulamadan geçmiş ve bağımsız hakem değerlendirmesi için doğrulama mercilerine gönderilen veya şu anda hakem değerlendirmesi sürecinde olan test yöntemlerini listeler. Bu yöntemlerden bazıları için Test Rehberlerinin geliştirilmesi, OECD tarafından değerlendirilmektedir. Bu testlerin özel kapsamı ve sınırlamaları hakkında daha fazla bilgi, Bölüm [R.7.3.5.1](#) içerisinde "Cilt Hassasiyeti üzerine test verileri" başlığı altında verilmektedir.

Anahtar bir olay için AB/OECD tarafından benimsenen birkaç test yönteminin mevcut olması durumunda, kayıt ettiren, test yönteminin uygulanabilirliğine bağlı olarak maddesi için mevcut olan en uygun test yöntemini seçmelidir.

Tablo R.7.3-2 Cilt hassasiyeti için in chemico/in vitro yöntemlerin geçerliliği ve kullanım durumu ⁵⁸

Ölçülen AOP anahtar olayı ⁵⁹	Test yöntemi	Doğrulama durumu, düzenleyici kabul	AB Test Yöntemleri /OECD test rehberi	Test yöntemine/rehberine göre sonuç	EURL ECVAM DB-ALM protokol no.
Cilt hassasiyeti					
Anahtar Olay 1 Peptit/protein bağlanma	DPRA	Doğrulanmış ve düzenleyici kabul	B.59/Test Rehberi 442C	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	154

⁵⁸ Not: Test yöntemlerinin her biri, sınırlı bir kapsam ile bağımsız olarak doğrulanmıştır. Bu, her birinin kendi sınırlamaları olduğu ve bağımsız bir test yöntemi olarak kullanılamayacağı anlamına gelir; ancak sınırlamalar birçok durumda ek bilgilerle birlikte kullanıldığında telafi edilebilir (örn. *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımındaki benzer maddelerden alınan bilgileri kullanarak). Test yöntemleri, etki gücünü tahmin etmek için doğrulanmamıştır ve şu anda etki gücünü alt kategorilere ayırmak veya tahmin etmek için kendi başlarına kullanılamaz. Bununla birlikte, *in chemico/in vitro* yöntemler etki gücü değerlendirmesi için doğrulanmamış olsa da, maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline sahip olup olmadığını değerlendirmek için kullanılabilir nitel veya konsantrasyon-cevap bilgileri sağlarlar.

⁵⁹ Belirli bir anahtar olay altında açıklanan yöntemlerden bazıları, diğer anahtar olaylar altındaki mekanizmaları da kapsayabilir.

Anahtar Olay 2 Keratinosit cevabı	KeratinoSen TM	Doğrulanmış ve düzenleyici kabul	B.60/TG 442D	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	155
	LuSens ⁶⁰	Doğrulama değerlendirilmesi altında	Uygulanamaz/Uygulanamaz	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	184
	SENS-IS ⁶¹	Doğrulama değerlendirilmesi altında	Uygulanamaz/Uygulanamaz	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	Uygulanamaz
Anahtar Olay 3 Monositik / Dendritik hücre cevabı	h-CLAT	Doğrulanmış ve düzenleyici kabul	Uygulanamaz/Test Rehberi 442E	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	158
	U-SENS TM ⁶⁰	Doğrulanmış ve düzenleyici kabul altında	Uygulanamaz/taslak Test Rehberi mevcut	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	183
	IL-8 Luc Tayin ⁶²	Doğrulanmış ve düzenleyici kabul altında	Uygulanamaz/taslak Test Rehberi mevcut	Tamamlayıcı bilgiler ile cilt hassaslaştırıcı veya cilt hassaslaştırıcı olmayan	Uygulanamaz.
Anahtar Olay 4 ⁶³ T-hücresi cevabı	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz/Uygulanamaz	Uygulanamaz.	Uygulanamaz.

NOT: "Doğrulanmış", test yönteminin bir doğrulama sürecinden geçtiği anlamına gelir (örn. EURL ECVAM, ICCVAM veya JaCVAM tarafından).

Kısaltmalar: SS = cilt hassaslaştırıcı; N.A. = uygulanamaz; NS = hassaslaştırıcı olmayan; DPRA = Doğrudan Peptid Reaktivite Testi; h-CLAT = İnsan Hücreleri Hattı Aktivasyon Testi; IL = İnterlökin; Luc = Lusiferaz; TG: Test Rehberi.

⁶⁰ LuSens ve U-SENSTM test yöntemleri, endüstri tarafından yürütülen doğrulama çalışmalarından geçmiştir (Ramirez ve ark., 2016; Alépée ve ark., 2015). Doğrulama çalışmalarında üretilen bilgiler EURL ECVAM'a gönderilmiştir ve şu anda değerlendirme aşamasındadır. U-SENSTM ESAC için uzman incelemesi gerçekleştirilmiştir ve EURL ECVAM önerisi hazırlık aşamasındadır. U-SENSTM ile ilgili bir Test Rehberi için standart bir proje sunum formu (SPSF) 2015 yılında OECD'ye sunulmuştur ve bir OECD Test Rehberi taslağı mevcuttur. Proje OECD çalışma programına dahil edilmiştir.

⁶¹ SENS-IS test yöntemi, endüstri tarafından yürütülen bir doğrulamaya tabi tutulmuş ve EURL ECVAM'a sunulmuştur (Cottrez ve ark., 2016). Bir Test Rehberinin geliştirilmesi için bir Standart Proje Sunum Formu (SPSF), 2015 yılında OECD'ye sunulmuştur.

⁶² IL-8 Luc Testi, JaCVAM (Kimura ve ark., 2015) tarafından koordine edilen bir doğrulama çalışmasına tabi tutulmuştur. Test yöntemi JaCVAM tarafından hakem incelemesinden geçmiştir (Nisan 2016). 2014 yılında OECD'ye bir Test Rehberinin geliştirilmesi için bir SPSF sunulmuştur ve bir OECD Test Rehberi taslağı mevcuttur.

⁶³ Olumsuz Etki Oluşum Yollarının Anahtar Olay 4'ü (insan T hücresi aktivasyonu) ele almak için şu anda doğrulanmış veya benimsenmiş *in vitro* test yöntemlerinin bulunmadığına dikkat edilmesi önemlidir. Bununla birlikte, LLNA antijene özgü T-hücresi cevaplarını kendi başına ölçmese de ve yalnızca hücre çoğalmasını ölçse de, LLNA'ya benzer şekilde uyarlanabilir bağışıklık tepkisini yansıtarak Alerjik Kontakt Dermatitte bu anahtar bir adımdır (Dietz ve ark., 2010; Richter ve ark., 2013).

[Tablo R.7.3-3](#) 'te belirtilen test yöntemleri *in chemico* test/testler (DPRA) ya da hücre bazlı testlerdir (Keratinosens™, LuSens, h-CLAT, U-SENS™, IL-8 Luc Analizi, SENS-IS). Bu test yöntemleri, cilt hassasiyeti olumsuz etki oluşum yollarının özel olaylarını ele almak için geliştirilmiştir (OECD, 2012). Cilt hassasiyeti için AOP, cilt hassasiyetiyle bağlantılı önemli olayların mevcut anlayışını açıklar. Test yöntemlerinin her biri yalnızca belirli bir cilt hassasiyeti olayını ele aldığından, şu anda bir cilt hassaslaştırıcıyı veya hassaslaştırıcı olmayan bir maddeyi tanımlamak için tek başına kullanılmamalıdır. Gelecekte, bağımsız yöntemler kullanılabilir hale gelebilir (örneğin, SENS-IS bağımsız bir yöntem olarak hizmet etme görev alma potansiyeline sahip olabilir, ancak bu, test yönteminin bilimsel geçerliliği belirlendikten sonra açıklığa kavuşacaktır). KKDİK bağlamında bu test yöntemlerinin nasıl kullanılabileceğine dair daha fazla bilgi, bu Rehberin [R.7.3.7.2](#) Bölümünde bulunabilir.

Şu anda birkaç hayvan dışı test yönteminin geliştirme veya değerlendirme aşamasında olduğunun ve bu nedenle bunların düzenleyici kullanımının ve tahmin değerinin henüz değerlendirilmediğinin belirtilmesi önemlidir. Güncel gelişmelerin durumunun bilimsel literatür üzerinden izlenmesi tavsiye edilmektedir. EURL ECVAM veya diğer uluslararası onay kuruluşları tarafından değerlendirilmekte olan test yöntemleri, EURL ECVAM Test Yöntemi Gönderme web sayfasından (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/test-submission/>) izlenebilir. Kayıt ettirene ayrıca Test yöntemleri ve alternatifleriyle ilgili ECHA web sayfasındaki tüm güncellemeleri takip etmesi önerilir (bkz. <http://echa.europa.eu/support/oecd-eu-test-guidelines>).

Hayvan verileri

- Rehberde uygun testler

Cilt hassasiyeti potansiyelinin yeni *in vivo* testleri için, cilt hassasiyeti potansiyelini değerlendirmek üzere mevcut durumda en iyi *in vivo* yöntem olan fare lokal lenf düğümü testi (LLNA), KKDİK Ek 7 tarafından onaylı *in vivo* yöntemdir. Bu analiz uluslararası olarak onaylanmıştır ve aşağıda açıklanan gine domuzu testleri ile karşılaştırıldığında hayvan refahına yönelik açık faydalara ve bilimsel avantajlara sahip olduğu gösterilmiştir. LLNA, bölgesel lenf düğümlerinde (indüksiyon fazı) tetiklenen lenfosit çoğaltıcı cevapların bir fonksiyonu olarak maddelerin hassasiyeti tetikleme potansiyelini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu yöntem, standart LLNA yöntemini ve rLLNA'yı içeren B.42/OECD Test Rehberi 429'da açıklanmıştır (Azaltılmış Lokal Lenf Düğümü Testinde etki gücünün değerlendirilmesine izin vermeyen şekilde sadece bir doz kullanılır). Ek olarak, Lokal Lenf Düğümü Testinin Türkiye ve OECD tarafından kabul görmüş farklı çeşitleri vardır (B.50/OECD Test Rehberi 442A (Lokal Lenf Düğümü Testi: DA) ve B.51/OECD Test Rehberi 442B (Lokal Lenf Düğümü Testi: BrdU - ELISA)). OECD Test Rehberi 429 ile karşılaştırıldığında temel farklar, bu test yöntemlerinin radyoaktif etiketleme kullanmaması ve şu anda bu yöntemlerle cilt hassaslaştırıcılığı potansiyelini tahmin etmek için hiçbir SEA kriteri bulunmamasıdır. Bununla birlikte, elde edilen doz-cevap ilişkisi bilgisi, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı içinde kullanılabilecek cilt hassasiyeti potansiyeli hakkında bazı bilgiler sağlayabilir. Yeni *in vivo* verilerin oluşturulması gerektiğinde, mümkünse B.42/OECD Test Rehberi 429'a göre "standart" LLNA kullanılması önerilir.

Cilt hassasiyeti için diğer iki hayvan test yöntemi, B.6/OECD Test Rehberi 406'da açıklanmaktadır: gine domuzu maksimizasyon testi (GPMT) ve Buehler testi. GPMT, hassasiyet oluşumunun Freund Tam Adjuvanı (FCA) kullanımı ile güçlendirildiği ve indüksiyon fazında hem intradermal hem de topikal maruz kalmanın kullanıldığı adjuvan tipi bir testtir. Buehler testi, yalnızca indüksiyon fazında topikal uygulamayı içeren, adjuvan olmayan bir yöntemdir. Her iki test yöntemi de ortaya çıkma aşamasını, yani cilt hassasiyetinin olumsuz sonuçlarını değerlendirir.

Hem GPMT hem de Buehler testleri, nispeten zayıf hassaslaştırıcı potansiyeline sahip olanlar dahil olmak üzere, orta ila güçlü hassaslaştırıcılık potansiyeline sahip maddeleri tespit edebilir. Bu tür yöntemlerde, aktivite, kontrollere kıyasla test hayvanlarında ortaya çıkan, zorlama ile tetiklenmiş cilt aşırı hassasiyet reaksiyonlarının bir fonksiyonu olarak ölçülür. LLNA yeni *in vivo* testler için tercih edilen yöntem olduğundan, bir maddenin cilt hassaslaştırıcılığı potansiyeli hakkında yeni veri elde etmek için standart gine domuzu testlerinin kullanılması yalnızca istisnai durumlarda kabul edilebilir ve bilimsel gerekçelendirme gerektirecektir.

Ancak, 10 Mayıs 2017'den önce oluşturulmuş veya çalışması 10 Mayıs 2017'den önce başlatılmış ve bu tür testlerden türetilmiş iyi kalitedeki mevcut veriler kabul edilebilir; ve eğer bu testler etki gücü (Kat. 1A veya değil) hakkında bir sonuç çıkarılmadığında bile sınıflandırma için yeterli net sonuçlar sağlıyorsa, daha fazla *in vivo* test ihtiyacını ortadan kaldıracaktır. Bununla birlikte, diğer kaynaklardan elde edilen mevcut bilgiler veya hayvan dışı test verileri, mevcutsa sınıflandırmayı geliştirmek için kullanılmalıdır. SEA Yönetmeliği, LLNA testi (B.46/OECD Test Rehberi 429) veya GMPT/Buehler testi (B.6/OECD Test Rehberi 406) tarafından oluşturulan verilerin, cilt hassaslaştırıcıları için etki gücü değerlendirmesine olanak tanıdığı durumlar için kriterler içerir (yani, 1A veya 1B; bkz. Bölüm [R.7.3.5.1](#), "Cilt hassasiyeti üzerine test verileri"). Bununla birlikte, gine domuzu testlerinde ayrı ayrı seçilen test tasarımı nedeniyle, test maddesinin güçlü/aşırı (Kat. 1A) bir cilt hassaslaştırıcı olup olmadığı sonucuna varmak çoğu zaman mümkün değildir.

ECETOC Monografı 29 (2000), bu testlerin yararlı bir tartışmasını içerir.

- [Rehbere uygun olmayan testler ve standart testlerde iyileştirmeler](#)

Mevcut veriler, bir OECD rehberine sahip olmayan testlerden elde edilebilir, örneğin:

- i. diğer gine domuzu cilt hassasiyeti test yöntemleri (Draize testi, optimizasyon testi, bölünmüş adjuvan testi, açık epikutanöz test gibi);
- ii. ek testler (fare kulak şişliği testi, lokal lenf düğümü hücre sayımı yöntemi (Basketter ve ark., 2012)).

Örneğin kalıcı kızamık ve/veya ödem gibi alerjik bir cevabın göstergesi olan etkileri gösteren tekrarlı doz cilt çalışmaları gibi diğer sonlanma noktalarından da bilgi elde edilebilir. Bu durumda, alerjenik etkileri tahris edici veya immünolojik olmayan etkilerden (immünolojik olmayan kontakt ürtiker gibi) ayırt etmek için özen gösterilmelidir.

Rehbere uygun olmayan testlerden veya standart bir testin geliştirilmesinden elde edilen verilerin Ek 11, bölüm 1.1.2'ye göre değerlendirilmesi gerekir. Bu verilerin tek başına Ek 11, Bölüm 1.1.2 kriterlerini karşılamaması durumunda, Ek 11, Bölüm 1.2'ye göre bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının uygulanması gereklidir. Ek olarak, yukarıda açıklanan rehber dışı test verilerine özel sınıflandırma kriterleriyle birlikte SEA Yönetmeliğinde atıfta bulunulmadığı unutulmamalıdır.

Bu tür çalışmalardan elde edilen bilgiler, yalnızca, normalde bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında uzman görüşü gerektiren destekleyici kanıt olarak kullanılabilir ve genellikle kendi başlarına sınıflandırma için yeterli görülmecektir.

R.7.3.4.2 Cilt hassasiyeti üzerine insan verileri

Cilt (alerjik kontakt dermatit ve ürtiker) reaksiyonlarıyla ilgili insan verileri çeşitli kaynaklardan gelebilir:

- tercihen tıbbi muayenelerin izlediği tüketici deneyimi ve yorumları (örn. tanısal yama testleri);
- tanısal klinik çalışmalar (örn. yama testleri, tekrarlı açık uygulama testleri);
- çalışanların deneyimleri, kazalar ve tıbbi gözetim dahil maruz kalma çalışmalarının kayıtları;
- genel bilimsel ve tıbbi literatürdeki vaka raporları;

- tüketici testleri (anket ve/veya tıbbi gözetim yoluyla izleme);
- epidemiyolojik çalışmalar;
- insan tekrarlı yama testi (HRIPT) (Stotts, 1980; McNamee ve ark., 2008) ve insan maksimizasyon testi (HMT) (Kligman, 1966) gibi mevcut insan deneysel çalışmaları, ancak HRIPT ve HMT dahil zararlılık tanımlaması için insanlarda *yeni* deneysel testlerin kabul edilemez olduğu göz önüne alınmalıdır.

R.7.3.5 Cilt hassasiyeti üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Zararlılık tanımlanması ve etki değerlendirmesi için, sağlanan verilerin güvenilir ve ilgili olması önemlidir. Verilerin yararlılığına ilişkin sonuç, Bölüm R.7.3.7.2 'de ("Hayvan dışı yaklaşımlara dayalı *Kanıt Ağırlığı* analizi nasıl yapılır ve raporlanır" başlığı altında) ve KKDİK Ek 11 Bölüm 1.2'de tanımlanan şekilde bir veri noktasına veya *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımına dayanabilir. Bu tür bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, hassasiyet verilerinin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesinden başlayarak, mevcut verilerin bir bütün olarak, yani sonlanma noktaları üzerinden ve sonlanma noktaları boyunca değerlendirilmesini de içerir. Bununla birlikte, cilt aşınması/tahrişi ve/veya cilt toksisitesi test/testlerinden elde edilen bilgiler, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı için ek yararlı bilgiler sağlayabilir. Örneğin, cilt aşınması verileri belirli bir uyarılama sağlayabilir (KKDİK Yönetmeliği Ek 7, sütun 2, 8.3 bölümü) ve tahriş etkilerini hassasiyetten ayırt etmeye yardımcı olabilir.

Bilgi gerekliliğini karşılamak için Bölüm R.7.3.7'deki Test ve Değerlendirme Stratejisinde açıklandığı gibi hayvan dışı bir test yaklaşımı izlendiğinde, aşağıda açıklanan onaylanmış ve/veya kabul görmüş *in chemico/in vitro* yöntemlere ağırlık verilmelidir.

Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, mevcut verilerin yetersiz görüldüğü veya veri mevcut olmayan sonlanma noktaları hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç olup olmadığına veya gerekliliklerin karşılanıp karşılanmadığına karar vermek için bir dayanak sağlar.

Aşağıdaki bölümlerde, mevcut olabilecek çeşitli veri türlerinin yeterliliği hakkında bazı ek açıklamalar yapılmıştır.

R.7.3.5.1 Cilt hassasiyeti üzerine insan dışı veriler

Cilt hassasiyeti üzerine test dışı veriler

Çapraz okuma

Çapraz okumanın kullanılması, bir hedef maddenin zararlı özelliklerinin değerlendirilmesi için bir veya daha fazla kaynak maddeden/maddelerden alınan verilerin kullanılmasını gerektirir. ECHA web sitesinde (<http://echa.europa.eu/en/support/grouping-of-substances-and-read-across>) yayınlanan çapraz okuma değerlendirme çerçevesi (RAAF) belgesi, ECHA'nın çapraz okuma uygunluğu hakkındaki değerlendirmesini açıklamaktadır. RAAF, diğerlerinin yanı sıra, maddelerin potansiyel aktivasyonu (hassasiyet durumunda: haptenizasyon öncesi ve sonrası) için dönüşüm süreçlerinin (metabolik veya abiyotik) önemini vurgulamaktadır. Bu, değerlendirme için senaryo seçimini belirleyen faktörlerden yalnızca biridir; seçilen analogların uygunluğunu değerlendirmek için diğer genel sorulardan bazıları şunlardır:

- aynı sonlanma noktası mı dikkate alınmış?
- Reaktiviteyi ve hassaslaştırıcı davranışı etkileyebilecek herhangi bir ek fonksiyonel grup veya ilave ikame maddeleri var mı (uygulanabilirlik alanı değerlendirmeleri)?

- fiziko-kimyasal parametreler benzer mi (ör. LogP, uygulanabilirlik alanı değerlendirmeleri)?
- hassaslaştırıcılık profilini etkileyen safsızlıklar var mı?
- muhtemel kimyasal mekanizma aynı mı?

Cilt hassasiyeti durumunda, iki veya daha fazla maddeyi karşılaştırmanın en kapsamlı yolu, olası kimyasal reaktivitelerinin değerlendirilmesidir. Bu alandaki çalışmalar, kurallar biçimindeki farklı kimyasal reaksiyon türü alanları için kodlama reaktivitesi yollarını araştırmıştır (Aptula ve Roberts, 2006; Aptula ve ark., 2006; Schultz ve ark., 2009; Roberts ve Aptula, 2014)⁶⁴. Kimyasal reaktivite bilinmiyorsa veya deney yoluyla belirlenemiyorsa, benzer maddeleri tanımlamanın pragmatik bir yolu, bir altyapı/analog araştırması yoluyla olabilir. Bu bağlamda, RAAF, bir yandan iki veya daha fazla analog yapı arasındaki benzerliklerin neden benzer biyolojik etki gösterdiğinin belirtilmesini gerektirir; öte yandan, yapısal farklılıkların neden farklı biyolojik etki veya etki gücünde nicel farklılıklara yol açmasının beklenmediğine dair gerekçelendirme sunulmalıdır.

(Q)SAR modelleri

(Q)SAR tahminlerinin güvenilirliğini değerlendirirken, değerlendirme hem ilgili maddelere hem de tahmin yapmak için kullanılan (Q)SAR modellerine bağlıdır. QSAR doğrulaması için OECD ilkelerinin bir değerlendirmesi dahil olmak üzere nicel yapı aktivite ilişkilerine ilişkin genel öneriler [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6'nın R.6.1.3 bölümünde verilmektedir.

Açık şekilde, cilt hassasiyeti zararlılığının tahmini için çok çeşitli farklı (Q)SAR ve uzman sistemleri mevcuttur. Yaklaşımlar oldukça çeşitlidir ve her biri farklı *in vivo* veri setlerine (başlıca olarak GPMT ve LLNA) dayalı olarak geliştirilmiştir. QSAR doğrulaması için OECD ilkeleri açısından bir dizi literatüre dayalı modeli karakterize etmek için çaba gösterilmiş olsa da (örnek olarak bkz. Roberts ve ark., 2007), bazı ticari sistemler için daha fazla çalışma hala gereklidir (ECETOC, 2003). İlave olarak, birçok durumda bu modellerin cilt hassaslaştırıcılarını doğru tahmin etmek için makul olduğu gösterilmiştir, ancak hassaslaştırıcı olmayanların doğru tahmin edilmesinde sınırlıdır (Roberts ve ark., 2007; ECETOC, 2003). Bu nedenle, model tahminlerinin diğer bilgiler ışığında (örn. analog çapraz okuma) dikkatli şekilde yorumlanması gerekir (mekanik alanlarına göre diğer benzer maddeler). İyi bir uygulama, bu modellerden elde edilen sonuçların *Kanıt Ağırlığı* için yapı taşları olarak kullanılmasıdır (örn., Olumsuz Etki Oluşum Yolunun moleküler başlatma olayını ele alan reaktivite tabanlı bir modelden gelen tahmin, eğer tahmin güvenilir olarak değerlendirilirse DPRA ile aynı şekilde kullanılabilir).

Reaktif olmayan maddeler için olduğu kadar kimyasal veya metabolik dönüşüme uğraması muhtemel maddeler için de daha fazla bilgi/kural kodlamak üzere daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Hangi model/modellerin uygulanacağına ilişkin değerlendirme, ilgilenilen özel maddelere, temel eğitim veri setine ve model/modellerin uygulanabilirlik alanına bağlı olacaktır (yani yalnızca modellerin uygulanabilirlik alanındaki tahminler normalde kabul edilebilir).

Hedef maddeye yakın analogları içeren eğitim setlerine sahip modeller tercih edilmelidir). Bu konular, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6, Bölüm R.6.1'de ve "Nicel yapı aktivite ilişkileri nasıl kullanılır ve raporlanır" başlıklı [Pratik Rehber 5](#) içerisinde daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Burada bir örnek gösterilmektedir: Eğer madde, iyi karakterize edilmiş bir kimya reaktivite alanına girerse, bu alan için geliştirilmiş bir yerel (Q)SAR modeli (daha önce tanımlananlar gibi), cilt hassasiyetinin en kapsamlı tahminine olanak tanıyabilir.

⁶⁴ Bu yaklaşım, bu farklı mekanik alanlar için *in vitro* reaktivite verilerinin sistematik olarak oluşturulmasını içerebilir.

Mekanizmanın anlaşılmadığı veya önceden bilinmediği durumlarda, TOPKAT, Derek Nexus veya daha önce tanımlanan diğerleri gibi bir veya daha fazla uzman sistem, bir tahmin sağlamak için en iyi adaylar olacaktır. Bu sistemler tamamen şeffaf olmayabilir, ancak genellikle bir tahminin kapsamlılığının değerlendirilmesini sağlamak için makul miktarda destekleyici bilgi sağlarlar.

Tahmin, modelin eğitim seti içindeki muhtemel kimyasal reaktivite ve benzer maddelerin varlığı dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Bu tür bilgilere, türetilen tahminin anlamlı ve ilgili olup olmadığını değerlendirmek için ihtiyaç vardır. Literatürde bulunan küresel modeller için, bu tür karşılaştırmaların yapılmasına izin vermek için genellikle eğitim setleri ve algoritmalar mevcuttur.

QMRF ve QPRF, belirli model ve tahmin bilgilerini dahil etmek için şablonlar sağlamak üzere geliştirilmiştir. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de daha fazla ayrıntı verilmektedir.

Diğer bilgiler

Diğer testlerdeki (örn. Ames testi) (genotoksik maddelerin ortak bir özelliği, DNA'ya kovalent olarak bağlanabilmeleri ve doğrudan DNA hasarına neden olabilmeleridir) veya sucül toksisite testlerindeki sonuçlar gibi diğer bilgiler, ilgili maddenin elektrofiliği ve dolayısıyla olası hassaslaştırıcılık kapasitesi hakkında destekleyici bilgiler sağlayabilir. *In vitro* genotoksisite testlerinin her zaman moleküler (DNA) bağlanmayı ele almaması dikkate değerdir. Ayrıca, bir sucül toksisite testinde maddenin abiyotik dönüşümü, fiilen aktif maddenin yararlanımında farklılıklara yol açabilir. Bu çalışmaların bazıları, sucül toksik maddeler ile cilt hassaslaştırıcıları (Aptula ve ark., 2006) ve deneysel olarak tanımlanmış mutajenler ve hassaslaştırıcıları (Wolfreys ve Basketter 2004; Patlewicz ve ark., 2014) arasındaki ilişkileri araştırmaktadır.

Daha yakın zaman içerisinde, mutajenite verilerinin kullanımı, cilt hassasiyetine yönelik test ve değerlendirme için bütünleşik yaklaşımın (IATA) bir parçası olarak önerilmiştir (Patlewicz ve ark., 2014) (bkz. Bölüm [R.7.3.7.2](#) "Hayvan dışı test yöntemlerinin eksikliği veya sınırlı metabolik kapasitesi nasıl ele alınır").

Cilt hassasiyeti üzerine test verileri

In chemico/in vitro veriler

In chemico/in vitro cilt hassasiyeti potansiyelinin değerlendirilmesi için birkaç doğrulanmış test yöntemi vardır ve bazıları için AB/OECD tarafından kabul görmüş test rehberleri mevcuttur (bkz. Bölüm [R.7.3.4.1](#)). Bu test yöntemleri, bağımsız test yöntemleri olarak değil, daha ziyade bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında diğer bilgilerle birlikte kullanılacak test yöntemleri olarak geliştirilmiştir⁶⁵ (örn. KKDİK Yönetmeliği Ek 7 bölüm 8.3.1'de açıklanan şekilde birkaç *in chemico/in vitro* yöntem birlikte kullanılarak).

KKDİK Yönetmeliği Ek 7, cilt hassasiyetine yönelik standart bilgi gerekliliğini yerine getirmek için yeni verilerin oluşturulması gerektiğinde, ilk adım olarak cilt hassasiyetinin üç anahtar olayını değerlendiren *in chemico/in vitro* çalışmaların gerçekleştirilmesi gerektiğini belirtir (Ek 7, bölüm 8.3, sütun 2'de belirtildiği gibi daha az anahtar olaydan veriler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece).

⁶⁵ Ek 11, bölüm 1.2 anlamında resmi *Kanıt Ağırlığı* sunulmasına gerek olmasa bile, Ek 7, 8.3.1'deki bilgi gerekliliğinin yerine getirilmesi için, üç anahtar olaydan elde edilen bilgilerin bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında dikkate alınması gerekir (Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi daha az anahtar olaydan veriler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece).

Maddenin cilt hassaslaştırıcı olup olmadığına ve insanlarda önemli hassasiyet oluşturma potansiyeline sahip olup olmadığına dair bir sonuca varılamaması durumunda (Kat. 1A veya değil), kanıtları güçlendirmek için ek olarak *in silico/in vitro/in chemico* testler yapmak mümkün olabilir. Hala bir sonuca varılamıyorsa, B.42/OECD Test Rehberi 429'a göre bir *in vivo* çalışmanın (tercihen LLNA) gerçekleştirilmesi gerekir.

Bununla birlikte, bu standart bilgi gerekliliğinin uyarlanması için, KKDİK Yönetmeliği, Ek 7, bölüm 8.3, 8.3.1 ve 8.3.2'nin 2. sütunundaki uyarılama için özel kurallar veya Ek 11'deki uyarlamalar için genel kurallar gibi çeşitli seçenekler sunar.

Sonuç olarak, aşağıda açıklanan yöntemler bağımsız yöntemler olmadığından, Ek 7, bölüm 8.3'teki koşullar karşılanırsa, aşağıda açıklanan testlerden elde edilen verilerin birbirleriyle **birlikte** kullanıldığında Ek 7 gerekliliğini karşıladığı kabul edilebilir. Ek 7, bölüm 8.3.1'de açıklanan anahtar olay/olayların *in vitro/in chemico* yöntemler dışındaki yöntemlerin kullanımı ile ele alınması durumunda (örn. *in silico* yöntemlerle veya çapraz okuma gibi diğer kanıt parçalarıyla birlikte), Ek 11, bölüm 1.2'ye göre bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı oluşturulması gerekir (bkz. Bölüm [R.7.3.7](#)). *in chemico/in vitro* test yöntemleri bağımsız yöntemler olarak kullanılmak üzere geliştirilmediğinden, bunların sonuçları bir *Kanıt Ağırlığı* bağlamında birlikte kullanılmalıdır⁶⁶. Uygulamada, kabul edilebilirlik, belirli bir madde için yöntemlerin özel kullanımının kendi uygulanabilirlik alanları içinde olup olmadığına bağlıdır.

Aşağıda açıklanan test yöntemleri şu anda **kendi başlarına** cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünü tahmin etmek için uygun değildir. Peptit tükenme seviyesi ve konsantrasyon tepkileri gibi etki gücü göstergeleri, sırasıyla mevcut *in chemico* ve *in vitro* testlerden elde edilebilir. Bu etki gücü göstergelerini yeterli bir etki gücü değerlendirmesiyle (Kat. 1A veya değil) bütünleştirmek için standartlaştırılmış bir tahmin modeli (tek bir teste dayalı) veya veri yorumlama prosedürü (çoklu testlere/bilgi kaynaklarına dayalı) olmamasına rağmen, bazı yaklaşımlar durum bazında uygulanabilecek bilimsel literatürde önerilmiştir.

Bununla birlikte, cilt hassasiyeti potansiyeline ilişkin bir sonuca varmak için ek bilgiye ihtiyaç duyulması halinde, etki gücü ile ilgili destekleyici veriler (örn. OECD QSAR Araç Kutusu kullanılarak elde edilen yapısal olarak benzer maddelerden) faydalı olabilir. Maddenin güçlü bir hassaslaştırıcı olabileceğine ilişkin bazı kanıtlar olmasına rağmen (örn. peptid reaktivitesinden) cilt hassasiyeti etki gücü (Kat. 1A veya değil) hakkında kesin bir sonuca varılamaması durumunda, ihtiyati şekilde Kat. 1A sınıflandırması düşünülebilir. [Ek R.7.3-4'te farklı yaklaşımların bir incelemesi](#) sunulmaktadır. Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), etki gücü tahmininin nasıl yapılması gerektiğine dair kesin bir rehberlik sağlanamamaktadır (bunun durum bazında yapılması gereklidir). Bu nedenle, kayıt ettirenin bu alandaki son gelişmeleri dikkatlice izlemesi tavsiye edilir (örn. ECHA'nın "[Test yöntemleri ve alternatifleri](#)" hakkındaki web sayfası üzerinden).

Şu anda birkaç hayvan dışı test yönteminin geliştirme veya değerlendirme aşamasında olduğunun, ancak bunların düzenleyici kullanımının ve değerinin henüz değerlendirilmediğinin belirtilmesi önemlidir. Güncel gelişmelerin durumunun bilimsel literatür aracılığıyla izlenmesi tavsiye edilir (örn., alandaki en son bilimsel incelemelere referans verilmesi). EURL ECVAM veya diğer uluslararası onay kuruluşları tarafından değerlendirilmekte olan test yöntemleri, EURL ECVAM Test Yöntemi Gönderimi web sayfasından (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/test-submission/>) izlenebilir.

⁶⁶ Ek 11, bölüm 1.2 anlamında resmi *Kanıt Ağırlığı* sunulmasına gerek olmasa bile, Ek 7, 8.3.1'deki bilgi gerekliliğinin yerine getirilmesi için, üç anahtar olaydan elde edilen bilgilerin bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında dikkate alınması gerekir (Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi daha az anahtar olaydan veriler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece).

- Doğrudan Peptit Reaktivite Testi (DPRA) – B.59 / OECD Test Rehberi 442C

DPRA, sistein ve lizin amino asitleri içeren sentetik heptapeptitler kullanılarak, cilt hassasiyetinin moleküler başlatıcı olayına, yani düşük moleküler ağırlıklı maddelerin proteine bağlanmasına ilişkin bilgi sağlamayı amaçlamaktadır. Testte, peptit reaktivitesi, sentetik heptapeptitlerin tükenmesinin UV saptaması kullanılarak HPLC ile ölçülmesiyle ele alınır. Bununla birlikte, bu sınırlama göz önünde bulundurulduğunda, tercihen sistein ve lizin dışındaki amino asitlerle reaksiyona giren maddelerin bağlı yüzdesinin şu anda belirsiz olduğu ve sistein ve lizin peptitlerinin, farklı reaksiyon mekanizmalarını kapsayacak şekilde daha yumuşak ila daha sert model nükleofilleri temsil ettiği akılda tutulmalıdır. Daha fazla bilgi EURL ECVAM Önerilerinden elde edilebilir (erişim adresi: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eurl-ecvam-recommendations/eurl-ecvam-recommendation-on-the-direct-peptide-reactivity-assay-dpra>).

Mevcut test rehberine göre test yönteminin belirli sınırlamaları şunlardır:

- Yalnızca 100 mM nihai konsantrasyonda uygun bir çözücü içinde çözünür test maddelerine uygulanabilir. Bu nihai konsantrasyonda çözünmeyen maddeler, daha düşük çözünür konsantrasyonlarda yine de test edilebilir. Böyle bir durumda, pozitif sonuçlar yine de bir test maddesini hassaslaştırıcı olarak tanımlamak için kullanılabilirken, < 100 mM konsantrasyonlarla elde edilen negatif sonuçların bir sonuca varmadığı kabul edilmelidir;
- Birlikte elüsyon (yani madde ve peptidin aynı anda elüsyonu), peptid reaktivitesinin belirlenmesini engelleyebilir, bu nedenle uygun birlikte elüsyon kontrollerinin test tasarımına dahil edilmesi gerekir;
- Metallerin ve metal bileşiklerinin (kovalent bağlanma dışındaki mekanizmalar yoluyla proteinlerle reaksiyona girdiği bilinen) testlerine ve bileşimi bilinmeyen kompleks karışımlar, bileşimi bilinmeyen veya değişen, kompleks reaksiyon ürünleri veya biyolojik maddelere (UVCB) test maddesi ve peptidin tanımlanan molar oranı nedeniyle uygulanamaz. Yalnızca test maddesi ve peptidin makul ölçüde iyi tanımlanmış bir molar oranının oluşturulabildiği çok bileşenli maddelere uygulanabilir;
- Test sisteminin metabolik kapasitesi yoktur, bu nedenle pro-haptenler (yani, hassaslaştırıcı aktivitelerini sergilemek için metabolik aktivasyon gerektiren maddeler) yanlış negatif sonuçlar verebilir. Pre-haptenler (yani abiyotik dönüşüm ile aktive edilen maddeler, örn. kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz), özellikle yavaş oksitleyiciler söz konusu olduğunda yanlış negatif sonuçlar verebilir. Bununla birlikte, yavaş oksitleyicilerin tanımlanması, *in vivo* yöntemler kullanılarak da başarısız olacaktır (Casati ve ark., 2016);
- Sistein veya lizin dışındaki amino asitlere karşı özel reaktiviteye sahip test maddeleri (örn. histidinin nükleofilik bölgeleri) yanlış negatif sonuçlara yol açabilir;
- Potansiyel aşırı tahminler, peptide kovalent olarak bağlanmayan ancak oksitlenmesini destekleyen maddelerden (örn. sistein dimerizasyonu) kaynaklanıyor olabilir.
- Bu yöntemin sonuçları, cilt hassasiyeti potansiyelini tahmin etmek için doğrudan kullanılamasa da, tükenmiş peptid miktarı ve/veya elde edilen kimyasal reaktivite sınıfı (yani, düşük, orta ve yüksek reaktivite), diğer bilgi kaynaklarıyla birlikte kullanıldığında etki gücü değerlendirmesi konusunda bilgi sağlamak için yararlı olabilir. Bu bilginin etki gücü tahmini için nasıl kullanıldığına dair örnekler OECD Rehber belgesinde (OECD, 2016c) sunulan vaka çalışmalarında bulunabilir.

- ARE-Nrf2 Lusiferaz Test Yöntemi (KeratinoSens™) – B.60 / OECD Test Rehberi 442D

Keap1-Nrf2-ARE yolağının, detoksifikasyon, antioksidan ve stres cevap enzimleri ve proteinlerinin ekspresyonunu kontrol ederek elektrofil ve oksidatif strese karşı sito-koruyucu cevapların ana düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir.

Testte, lusiferaz geninin indüksiyonu, yolak aktivitesinin bir göstergesi olarak ölçülür. Cilt hassasiyetine neden olan maddelerin çoğu, cilt proteinlerindeki nükleofilik merkezlerle reaksiyona giren elektrofiller olduğundan, bu yolak cilt hassasiyeti ile ilgilidir. Bununla birlikte, Keap1-Nrf2-ARE sinyal yolu yalnızca keratinositlerle ilişkili değildir, aynı zamanda diğer hücre türlerinde de tespit edilebilir ve ayrıca elektrofilik olmayan modülatörlerden (örneğin, aşındırıcı/tahriş edici maddeler) etkilenebilir ve bu nedenle yanlış pozitif yanıtlar üretebilir (Richardson ve ark., 2015). Daha fazla bilgi EURL ECVAM Önerilerinden elde edilebilir (erişim adresi:

<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eurl-ecvam-recommendations/recommendation-keratinosens-skin-sensitisation>).

Mevcut test rehberine göre test yönteminin özel kapsamı ve sınırlamaları aşağıda belirtilmiştir:

- Suda veya DMSO'da çözünür olan veya kararlı bir dağılım oluşturan test maddelerine veya seçimi bilimsel olarak gerekçelendirilmişse başka bir uygun çözücüye uygulanabilir. 2000 µM'lik en yüksek nihai gerekli konsantrasyonda bu koşulları karşılamayan test maddeleri yine de daha düşük konsantrasyonlarda test edilebilir. Böyle bir durumda, pozitif sonuçlar yine de bir test maddesini hassaslaştırıcı olarak tanımlamak için kullanılabilirken, < 1000 mM konsantrasyonlarla elde edilen negatif sonuçların bir sonuca varmadığı kabul edilmelidir;
- İnsan keratinosit hücre hattı HaCaT kullanan test sistemi sınırlı bir metabolik kapasiteye sahiptir, bu nedenle pro-haptenler (yani, hassaslaştırma aktivitesini sergilemek için metabolik aktivasyon gerektiren maddeler) yanlış negatif sonuçlar verebilir. Pre-haptenler (yani abiyotik dönüşüm ile aktive edilen maddeler, örn. kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz), özellikle yavaş oksitleyiciler söz konusu olduğunda yanlış negatif sonuçlar verebilir. Bununla birlikte, yavaş oksitleyicilerin tanımlanması, *in vivo* yöntemler kullanılarak da başarısız olacaktır (Casati ve ark., 2016);
- Sisteinin sülfhidril grubu dışındaki nükleofillere karşı özel reaktiviteye sahip test maddeleri (örn. lizin kalıntıları) testte yanlış negatif sonuçlar verebilir;
- Hassaslaştırıcı olarak davranmayan ancak yine de kimyasal etkiye neden olan test maddeleri yanlış pozitif sonuçlar verebilir;
- Yüksek ölçüde sitotoksik olan maddeler her zaman güvenilir bir şekilde değerlendirilemez;
- Lusiferaz enzimine müdahale eden test maddeleri, lüminesansı artırarak veya inhibe ederek aktivitesini etkileyebilir.
- Bu yöntemin sonuçları cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için doğrudan kullanılamasa da, konsantrasyon-cevap bilgisi, diğer bilgi kaynakları ile birlikte kullanıldığında etki gücü değerlendirmesini bilgilendirmek için faydalı olabilir. Bu bilginin etki gücü tahmini için nasıl kullanıldığına dair örnekler OECD Rehber belgesinde (OECD, 2016c) sunulan vaka çalışmalarında bulunabilir.

- İnsan Hücresi Hattı Aktivasyon Testi (h-CLAT) - OECD Test Rehberi 442E

H-CLAT testi, dendritik hücrelere (DC) alternatif bir model olarak bir insan monositik lösemi hücre hattı (THP-1) kullanarak dendritik hücre aktivasyonu hakkında bilgi sağlamayı amaçlamaktadır.

Dendritik hücre aktivasyonu, akış sitometrisi kullanılarak dendritik hücre olgunlaşmasına, yani CD86 ve CD54'e bağlı olduğu bilinen özel hücre yüzeyi göstergelerinin ekspresyonu (yukarı düzenlenmesi) analiz edilerek ölçülür. Bu analizde kullanılan monositik insan THP1 hücreleri, insan dendritik hücrelerine kıyasla belirli bir maddeyle uyarıldıktan sonra aynı hücreysel moleküllerin farklı sinyallerini verebilir (Lehtonen ve ark., 2007). Daha fazla bilgi EURL ECVAM Önerilerinden elde edilebilir (erişim adresi: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eurl-ecvam-recommendations/eurl-ecvam-recommendation-on-the-human-cell-line-activation-test-h-clat-for-skin-sensitisation-testing>).

Mevcut taslak test rehberine göre test yönteminin özel kapsamı ve sınırlamaları aşağıda belirtilmiştir:

- Uygun bir çözücü içinde çözünür olan veya kararlı bir dağılım oluşturan test maddelerine uygulanabilir;
- Log Kow \leq 3.5 olan test maddeleri test edilebilirken, Log Kow $>$ 3.5 olan maddeler daha yüksek oranda yanlış negatif sonuç üretme eğilimindedir. Log Kow $>$ 3.5 olan bu tür maddeler için pozitif sonuçlar, bir test maddesinin hassaslaştırıcı olarak tanımlanmasını desteklemek için kullanılabilir. Log Kow $>$ 3.5 olan maddeler için negatif sonuçlar dikkate alınmamalıdır.
- Test sisteminin metabolik kapasitesi sınırlıdır, bu nedenle pro-haptenler (yani, hassaslaştırıcı aktivitelerini sergilemek için metabolik aktivasyon gerektiren maddeler) yanlış negatif sonuçlar verebilir. Pre-haptenler (yani abiyotik dönüşüm ile aktive edilen maddeler, örn. kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz), özellikle yavaş oksitleyiciler söz konusu olduğunda yanlış negatif sonuçlar verebilir. Bununla birlikte, yavaş oksitleyicilerin tanımlanması, *in vivo* yöntemler kullanılarak da başarısız olacaktır (Casati ve ark., 2016);
- Yüksek ölçüde sitotoksik olan maddeler her zaman güvenilir bir şekilde değerlendirilemez;
- Floresan izotiyosiyanat (FITC) etiketli antikor ve propidyum iyodür (PI) kullandığından, FITC ile aynı dalga boyunda yayılan güçlü floresan test maddeleri, akış sitometrisi ışık sinyali alımına müdahale edebilir. Böyle bir durumda, sırasıyla diğer florokrom etiketli antikorlar veya diğer sitotoksikite göstergeleri, FITC etiketli antikorlar veya PI ile elde edilenlere benzer sonuçlar sağladıkları gösterilebildiği sürece kullanılabilir (örn. test rehberinde Ek 2'de yer alan yeterlilik maddelerinin test edilmesiyle).
- Bu yöntemlerin sonuçları cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için doğrudan kullanılamasa da, konsantrasyon-etki bilgisi, diğer bilgi kaynakları ile birlikte kullanıldığında etki gücü değerlendirmesini bilgilendirmek için faydalı olabilir. Bu bilginin etki gücü tahmini için nasıl kullanıldığına dair örnekler OECD Rehber belgesinde (OECD, 2016c) sunulan vaka çalışmalarında bulunabilir.

In chemico/in vitro test yöntemleriyle ilgili olarak, kabul edilen test rehberlerinde herhangi bir değişiklik tavsiye edilmez ve sadece istisnai durumlarda yapılmalıdır ve ayrıca uygun şekilde belgelenmeli ve bilimsel olarak gerekçelendirilmelidir ve AB/OECD test rehberinde listelenen yeterlilik maddeleri kullanılarak karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği gösterilmelidir. Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin OECD Rehber Dokümanı Ek II içerisindeki raporlama şablonu (OECD, 2016a) bu amaçla ve ayrıca kabul görmüş hiçbir test kılavuzu mevcut olmayan *in chemico/in vitro* yöntemleri belgelenmek için kullanılabilir (bkz. [Ek R.7.3-2](#)). Sunulan bilgiler, resmi olarak doğrulanmamış ve kabul görmüş test rehberleri bulunmayan test yöntemleri kullanılarak üretildiğinde, uygun belgelenme ve gerekçelenme gereklidir.

Hayvan verileri

Uluslararası kabul edilebilir protokolleri kullanan iyi bildirilmiş çalışmalar, özellikle İyi Laboratuvar Uygulamaları ilkelerine uygun olarak yürütülürse, zararlılık tanımlanması için kullanılabilir. OECD test protokollerine tam olarak eşdeğer olmayan diğer çalışmalar (bkz. Bölüm [R.7.3.4.1](#) ve aşağıda belirtilenler), bazı durumlarda faydalı bilgiler sağlayabilir. Bu testlerin kalitesine ve uygun pozitif ve negatif kontrollerin kullanımına özel dikkat gösterilmelidir. Tüm hayvan testlerinin özgüllüğü ve hassaslığı, uygun pozitif ve negatif kontrollerin dahil edilmesiyle izlenmelidir. Bu bağlamda, pozitif kontroller, uygun bir pozitif kontrol maddesi ile 6 aylık hassasiyet kontrolleridir ve negatif kontroller, her bir testin bir parçası olarak dahil edilen taşıyıcı uygulanan kontrol hayvanlarıdır.

- Rehberde uygun testler

Fare Lokal Lenf Düğümü Testi

Lokal Lenf düğümü Testinin yürütülmesi ve yorumlanması için aşağıdaki noktalar dikkate alınmalıdır:

- i. test malzemesinin ve kontrollerin uygulandığı taşıyıcı;
- ii. kullanılan test malzemesinin konsantrasyonları;
- iii. test malzemesinin uygulanmasından kaynaklanan lokal veya sistemik toksisite veya cilt yangısı için herhangi bir kanıt;
- iv. verilerin biyolojik doz cevabı ile tutarlı olup olmadığı;
- v. gönderen laboratuvar LLNA yürütme yeterliliğini gösterebilmelidir.

B.42/OECD Test Rehberi 429, önerilen taşıyıcılar, grup başına hayvan sayısı, uygulanacak test maddesi konsantrasyonları ve pozitif kontrol olarak kullanılacak maddeler hakkında rehberlik sağlar. Taşıyıcıda çözünür olan ancak kabul edilemez lokal veya sistemik toksisiteye neden olmayan en yüksek test maddesi konsantrasyonunu belirlemek için normalde mevcut akut toksisite/cilt tahrişi verilerinin bir ön çalışması veya değerlendirmesi yapılır. Geçmiş kontrol verilerinin sunulması, test laboratuvarının tutarlı yanıtlar üretme kapasitesini gösterecektir. Radyoaktif etiketlemenin (tritiatlı (3H)-metil timidin) dahil edilmesine bağlı olarak, bir veya daha fazla test konsantrasyonunda stimülasyon indeksi (SI) ≥ 3 ile sonuçlanan maddeler, cilt hassasiyeti için pozitif olarak kabul edilir. B.42/OECD Test Rehberi 429'da açıklandığı gibi yürütülen Lokal Lenf Düğümü Testindeki pozitif ve negatif yanıtlar, etki gücü tahminleri de dahil olmak üzere bir maddenin bir cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırılması için veri gerekliliklerini karşılar: daha fazla test gerekmez.

Yeterli bilimsel gerekçe sağlandığı takdirde, Lokal Lenf Düğümü Testinde B.42/OECD Test Rehberi 429'da listelenenlere alternatif taşıyıcılar kullanılabilir. Lokal Lenf Düğümü Testindeki cevabı artırabilecek veya baskılayabilecek taşıyıcı seçimi (taşıyıcı etkisi) nedeniyle bazı değişkenlikler olabilir (bkz. Bölüm [R.7.3.6.1](#)).

B.50/OECD Test Rehberi 442A'da açıklanan LLNA:DA test yöntemi, çoğalan hücrelerde ışımaya yoluyla ATP içeriğini ölçer ve bu nedenle hücrelerde radyoaktif etiketleme kullanılmasını gerektirmez. Bir veya daha fazla test konsantrasyonunda Stimülasyon İndeksi ≥ 1.8 sonucu veren maddeler, cilt hassasiyeti için pozitif olarak kabul edilir. Tespit yönteminin duyarlılığıyla bağlantılı olarak sınırdan pozitif sonuçlar ($1.8 \leq \text{Stimülasyon İndeksi} \leq 2.5$) olması durumunda, bu tür sonuçların gerçekten pozitif olduğunu doğrulamak için doz-cevap ilişkisi, sistemik toksisite veya aşırı tahriş kanıtı ve uygun olduğu durumlarda Stimülasyon İndeksi değerleriyle birlikte istatistiksel anlamlılık gibi ek bilgiler dikkate alınabilir.

Testten elde edilen doz-cevap bilgileri, cilt hassaslaştırıcı etki gücü hakkında *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir de, bu test yöntemiyle cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için mevcut SEA kriteri şu anda yoktur. Yeni *in vivo* verilerin oluşturulması gerektiğinde, mümkünse B.42/OECD Test Rehberi 429'a göre "standart" LLNA kullanılması önerilir.

B.51/OECD Test Rehberi 442B'de açıklanan LLNA: BrdU-ELISA test yöntemi, lenfosit çoğalmasını ölçmek için radyoaktif işaretli olmayan gösterge 5-bromo-2-deoksiüridin (BrdU) kullanır. Bir veya daha fazla test konsantrasyonunda Stimülasyon İndeksi ≥ 1.6 sonucu veren maddeler, cilt hassasiyeti için pozitif olarak kabul edilir. Tespit yönteminin duyarlılığıyla bağlantılı olarak sınırdaki pozitif sonuçlar ($1.6 \leq \text{Stimülasyon İndeksi} \leq 1.9$) olması durumunda, bu tür sonuçların gerçekten pozitif olduğunu doğrulamak için doz-cevap ilişkisi, sistemik toksisite veya aşırı tahriş kanıtı ve uygun olduğu durumlarda Stimülasyon İndeksi değerleriyle birlikte istatistiksel anlamlılık gibi ek bilgiler dikkate alınabilir. Testten elde edilen doz-cevap bilgileri, cilt hassaslaştırıcı etki gücü hakkında *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir de, bu test yöntemiyle cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için mevcut SEA kriteri şu anda yoktur. Yeni *in vivo* verilerin oluşturulması gerektiğinde, mümkünse B.42/OECD Test Rehberi 429'a göre "standart" LLNA kullanılması önerilir. B.50/OECD Test Rehberi 442A (LLNA: DA) ve B.51/OECD Test Rehberi 442B (LLNA: BrdU-ELISA), standart LLNA B.42/OECD Test Rehberi 429 ile aynı taşıyıcıların kullanılmasını önermektedir.

Yukarıdaki LLNA çeşitlerinin tamamının sınırlılıkları şunları içerir:

- Belirli metallere yanlı negatif tahminler elde edilebilir (örn. nikel, Schmidt ve ark., 2015) ve bazı yüzey aktif madde türü maddelerle (Kreiling ve ark., 2008; Garcia ve ark., 2010; Ball ve ark., 2011) veya siloksanlarla (Petry ve ark., 2012) yanlı pozitif tahminler elde edilebilir.
- Maddenin düşük çözünürlüğü, tahminlerin doğruluğunu etkileyebilir.
- Taşıyıcı seçimi, belirli maddeler için tahmini etkileyebilir. Örneğin, polar bir çözücü olarak DMSO, bazı test maddelerinin cilt biyoyararlanımını artırabilir ve propilen glikol, bazı test maddelerinin (örn. DNCB) çoğalma etkilerini baskılayabilir (Anderson ve ark., 2011). Bu nedenle, çalışmada kullanılan taşıyıcının doğru seçilmesi önemlidir.

2010 yılında güncellenmiş OECD Test Rehberi 429, sadece bir konsantrasyonun test edildiği ve daha az hayvanın kullanıldığı azaltılmış lokal lenf düğümü testi (rLLNA) içerir. Bu geliştirme yönteminin, yalnızca başka bir test yöntemi ile elde edilen negatif bir sonucun doğrulanması gerektiğinde kullanılması önerilir. Çalışma tasarımında yalnızca bir doz kullanıldığından, rLLNA şu anda bir maddenin cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için kullanılamamaktadır (Ezendam ve ark., 2013), ancak tek bir dozdan etki gücünü tahmin etmek için yakın zamanda bir öneri yayınlanmıştır (Roberts, 2015). LLNA çeşitleri için Test Rehberleri, yani DA ve BrdU-ELISA test yöntemleri, rLLNA çalışma tasarımının kullanımını içermez.

Gine domuzu çalışmaları

Yeni gine domuzu çalışmaları yalnızca istisnai durumlarda yapılmalıdır. Bu gibi durumlarda, LLNA dışında bir test yönteminin kullanılması için gerekçe, KKS dosyasında (KKDİK Yönetmeliği Ek 7, bölüm 8.3, sütun 2) sağlanmalıdır.

B.6/OECD Test Rehberi 406, GPMT (Magnusson ve ark., 1969; Schleder ve Eppler, 1995) ve Buehler testinde açıklanan gine domuzu test yöntemi de zararlılığın tanımlanması için uygun bilgiler sağlar. Bu yöntemlerin yürütülmesi ve analiz edilmesine ilişkin öneriler Steiling ve ark. tarafından sağlanmıştır (2001). Aşağıdaki maddeler dikkate alınarak bu testlerin kalitesine özel dikkat gösterilmelidir:

- i. test ve kontrol gine domuzlarının sayısı;
- ii. cilt reaksiyonları sergileyen test ve kontrol hayvanlarının sayısı veya yüzdesi;
- iii. indüksiyon aşamasında cilt tahrişinin görülüp görülmediği;
- iv. zorlama aşamasında maksimum tahriş edici olmayan konsantrasyonun kullanılıp kullanılmadığı;
- v. uygun taşıyıcı seçimi (ideal olarak, test malzemesini çözen veya kararlı bir süspansiyon veya emülsiyon veren, alerjenik potansiyeli olmayan, tahriş edici olmayan, korun tabakası boyunca iletimi arttıran ve test malzemesinin kullanım koşulları ile ilgili olan bir taşıyıcı, ancak tüm bu koşulları karşılamanın her zaman mümkün olmayacağı kabul edilmektedir);
- vi. sistemik toksisite belirtilerinin olup olmadığı (tahrişe neden olan ancak sistemik toksisiteye neden olmayan uygun bir indüksiyon dozunu belirlemek için bir gözlem çalışması yapılmalıdır);
- vii. herhangi bir cilt reaksiyonunu engelleyebilecek şekilde test malzemesi ile cildin boyanması (bu gibi durumlarda reaksiyon bölgesinin kimyasal epilasyonu, histopatolojik inceleme veya cilt kıvrımı kalınlığının ölçümü gibi diğer prosedürler gerçekleştirilebilir);
- viii. eğer yapılırsa yeniden zorlama uygulamalarının sonuçları;
- ix. uygun bir kontrol maddesi kullanılarak düzenli aralıklarla gerilme hassasiyetinin kontrol edilmesi (OECD rehberlerinde ve AB Test Yöntemlerinde belirtildiği gibi). Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), tavsiye edilen aralık 6 aydır.

Gine domuzu testlerindeki şüpheli reaksiyonların araştırılmasında, özellikle ilk zorlamanın ardından cilt tahrişi kanıtıyla ilişkili olanlar, test hayvanlarının yeniden zorlanmasından faydalanabilir. Reaksiyonların cildin boyanmasıyla maskelenmiş olabileceği durumlarda, yoruma yardımcı olmak için diğer güvenilir prosedürler kullanılabilir; bu tür yöntemlerin kullanıldığı yerlerde, gönderen laboratuvar bunların değerine ilişkin kanıt sağlamalıdır.

Bir LLNA yerine yeni bir gine domuzu testinin yapılmasının gerekçesi, örneğin, LLNA içerisinde nikelin doğru bir şekilde tahmin edilmediği bilindiğinden test maddesinin nikel içermesi olabilir.

Gine domuzu testlerine dayalı olarak cilt hassaslaştırma gücünü tahmin etmek amaçlı kriterler mevcuttur. Bununla birlikte, ayrı ayrı seçilen test tasarımı nedeniyle, test maddesinin güçlü/aşırı cilt hassaslaştırıcı (yani Kat. 1A) olup olmadığı sonucuna varmak çoğu zaman mümkün değildir. Bununla birlikte, böyle bir bilginin mevcut olması, bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinde, cilt hassaslaştırıcı maddenin insanlardan önemli ölçüde hassasiyet üretme potansiyeline sahip olduğunun (Kat. 1A veya değil) varsayılıp varsayılamayacağına belirlenmesine yol açabilecek bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinde hala değerli olabilir.

- **Rehbere uygun olmayan testler ve standart testlerde geliştirmeler**

Sunulan dosya, rehber yöntemlerden bir değişiklik veya sapma olan herhangi bir yeni testin yürütülmesi için bilimsel gerekçeler içermelidir. Bu gibi durumlarda, teste başlamadan önce testin uygunluğu konusunda uygun uzman tavsiyesi alınması tavsiye edilir.

Geçmişte, OECD test protokollerine tam olarak eşdeğer olmayan gine domuzu çalışmaları yapılmıştır ve yararlı zararlılık bilgileri sağlayabilir. Bu çalışmalar aşağıdakileri içerir, ancak bunlarla sınırlı değildir: Draize testi, optimizasyon testi, split adjuvan testi, açık epikutanöz test ve kümülatif temas geliştirme testi.

Pozitif sonuçlar alınması durumunda, madde potansiyel bir cilt hassaslaştırıcısı olarak değerlendirilebilir. Yukarıdaki kalite kriterleri, özellikle pozitif ve negatif kontrol verileri dikkate alındığında, net bir negatif sonuç varsa, yani herhangi bir hassasiyet reaksiyonu belirtisi gösteren hiçbir hayvan yoksa, o zaman başka bir hayvan testine gerek yoktur. Düşük seviyede yanıt olduğunda, çalışmanın kalitesi şüpheli olduğunda veya indüksiyon ve/veya zorlama için kabul edilemeyecek kadar düşük konsantrasyonlarda test malzemesi kullanıldığı durumlarda, daha fazla test gerekebilir. Ek olarak, mevcut bilgiler (örn. Lokal Lenf Düğümü Testinin değişik bir çeşidi olan fare kulak şişliği testinden (MEST)) zaten bulunabilir. MEST laboratuvarlar arası çalışmalarda değerlendirilmiş ve MEST'in güçlü cilt hassaslaştırıcılarını tanımlamak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Dunn ve ark., 1990; EC, 2004).

R.7.3.5.2 Cilt hassasiyeti üzerine insan verileri

Güvenilir ve ilgili insan verileri mevcut olduğunda, zararlılığın tanımlanması için yararlı olabilir ve hatta hayvan verilerine göre tercih edilebilir. Bununla birlikte, insanlarda pozitif bulguların bulunmaması, pozitif olan kaliteli hayvan verilerini hükümsüz kılmayabilir.

İyi yürütülen insan çalışmaları cilt hassasiyeti konusunda çok değerli bilgiler sağlayabilir. Bununla birlikte, bazı durumlarda (maruz kalma hakkında bilgi eksikliği, az sayıda denek, diğer maddelere eşzamanlı maruz kalma, hasta sekinde yerel veya bölgesel farklılıklar vb. nedeniyle) insan verileriyle ilişkili önemli düzeyde belirsizlik olabilir. Ayrıca, tanısal testler maddenin hassasiyete neden olup olmayacağını belirlemekten ziyade bir bireyin belirli bir maddeye hassasiyeti olup olmadığını görmek için yapılır. Tanısal testlerden elde edilen cilt hassaslaştırma aktivitesi kanıtı, test edilen maddeye karşı cilt hassasiyetinin indüksiyonunu veya kimyasal olarak çok benzer bir maddeyle çapraz reaksiyonu yansıtabilir. Her iki durumda da, normal sonuç, bunun, tanısal testte kullanılan maddenin cilt hassaslaştırma aktivitesinin pozitif kanıtını sağlamasıdır.

Değerlendirme amacıyla, cilt hassasiyetine yönelik mevcut insan deneyimi verileri aşağıdakiler hakkında yeterli bilgi içermelidir:

- kullanılan test protokolü (çalışma tasarımı, kontroller);
- incelenen madde veya müstahzar (asıl ve ideal olarak, araştırılan zararlılığa sahip olabilecek tek madde veya müstahzar olmalıdır);
- maruz kalmanın kapsamı (santimetre kare başına doz veya konsantrasyon, sıklık ve süre);
- etkilerin sıklığı (maruz kalan kişilerin sayısına karşı);
- sağlık etkilerinin kalıcılığı veya bulunmaması (nesnel tanımlama ve değerlendirme);
- girişimde bulunan faktörlerin varlığı (örn. önceden var olan cilt sağlığı etkileri, ilaçlar, diğer cilt hassaslaştırıcıların varlığı);
- grup büyüklüğü, istatistikler, belgelendirme açısından alaka düzeyi;
- *sağlıklı çalışan* etkisi⁶⁷.

⁶⁷ Başlangıçta meslek hastalıkları çalışmalarında gözlemlenen olgu: **çalışanlar** genellikle genel nüfustan daha düşük ölüm oranları sergilemektedir çünkü ağır hasta ve engelliler istihdam dışıdır.

Cilt hassasiyeti hakkında insanlar üzerinde deneysel çalışmaları normalde yapılmamaktadır ve bundan kaçınılmalıdır. İnsan verilerinin mevcut olduğu yerlerde, ECETOC monograf no 32'de (ECETOC, 2002) sunulan kalite kriterleri ve etik hususlar dikkate alınmalıdır.

Sonuç olarak, çok sayıda bireyin (örneğin, 10^s) en az iki yıl boyunca sık sık (günlük) cilt maruz yoluyla kaldığı ve şikayetleri ve olumsuz reaksiyon raporlarını (dermatoloji klinikleri aracılığıyla dahil) almak için aktif bir sistemin mevcut olduğu durumlarda, ve alerjik kontakt dermatit vakalarının hiç görülmediği veya çok az izole vakaların olduğu durumlarda, maddenin önemli bir cilt hassaslaştırıcısı olma ihtimali düşüktür. Bununla birlikte, diğer kaynaklardan gelen bilgiler de maddenin cilt hassasiyetini tetikleme kapasitesi hakkında bir yargıya varılırken dikkate alınmalıdır.

İnsan gönüllülerde test yapılmasının kesinlikle tavsiye edilmediği vurgulanmaktadır, ancak halihazırda mevcut olan kaliteli veriler mevcutsa, bunların gerekçeli durumlarda uygun şekilde kullanılması gerekir.

R.7.3.6 Cilt hassasiyeti üzerine varılan sonuçlar

R.7.3.6.1 Cilt hassasiyeti için kalan belirsizlikler

KKDİK standart bilgi gerekliliklerine uygun veriler, iyi tasarlanmış ve iyi yürütülmüş hayvan ve hayvan dışı çalışmalardan elde edilebilir. Bununla birlikte, hiçbir toksikolojik testin mükemmel olmadığı ve her test yönteminin, insan popülasyonundaki etkinin tahmin edilmesinin hassasiyeti (gerçek pozitiflerin oranı) ve özgüllüğü (gerçek negatiflerin oranı) arasında denge kurması gerektiği unutulmamalıdır. Adjuvanın GPMT içerisinde kullanılması tahriş eşliğini düşürebilir ve bu nedenle yanlış pozitif reaksiyonlara yol açabilir, bu nedenle yorumlamayı karmaşıklaştırabilir (Freund Tam Adjuvanı uygulanan hayvanlarla bir ön test yapmak yararlı bilgiler sağlayabilir). Uluslararası araştırmalarda, lokal lenf düğümü testinin insan verilerine kıyasla cilt hassaslaştırıcılarının %80'inden fazlasını öngördüğü gösterilmiştir, ancak gine domuzu testleri gibi kullanılan taşıyıcıya bağlıdır. Taşıyıcı seçimine bağlı değişkenlik (taşıyıcı etkisi), lokal lenf düğümü testindeki cevabı bir basamak artırabilir veya baskılayabilir (Anderson ve ark., 2011; Hoffmann, 2015; Wright ve ark. 2010), bu nedenle taşıyıcı seçimiyle ilişkili bir miktar içsel belirsizlik olabilir. Lokal lenf düğümü testinin (tahriş edici) yüzey aktif maddeler (özel olmayan lenfosit proliferasyonu) için yanlış pozitif sonuçlar oluşturabileceği iddia edilmiştir (Garcia ve diğerleri, 2010; Kreiling ve ark., 2008). Ancak Basketter ve Kimber (2011), çalışma OECD Test Rehberi 429'da belirtilen doz seçim kriterine göre yapılırsa, sadece maddenin tahriş edici özelliklerine dayalı olarak yanlış pozitif sonuç alınmaması gerektiğini belirtmektedir. İyi bir çözelti ve/veya yeterli konsantrasyonda bir çözelti elde etmedeki zorluklar nedeniyle maruz kalmanın optimumun altında olabileceği durumlar dikkatlice düşünülmelidir. Bazı durumlarda, gine domuzu çalışmalarından tutarsız sonuçlar veya gine domuzu ile LLNA çalışmaları arasındaki tutarsız sonuçlar, doğru bir yorum yapmadaki belirsizliği artırabilir. Son olarak, mevcut insan verileri için, bireyler arası değişkenliğin sınırlı bir popülasyondan genelleme yapmanın bilimsel olarak sağlam olmayacağı şekilde olup olmadığı dikkate alınmalıdır.

Şu anda mevcut olan hayvan dışı test yöntemlerinin (*in chemico/in vitro*) metabolik kapasitesi yoktur veya sınırlıdır (Fabian ve ark., 2013). Bu nedenle, hassaslaştırıcı hale gelmeden önce metabolik aktivasyon gerektiren maddeler bu tür test yöntemleriyle doğru bir şekilde tanımlanamayabilir. Ayrıca, aktif hale gelmeden önce abiyotik dönüşüm gerektiren bazı maddeler (örn. kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) tespit edilemeyebilir, ancak bu sorun aynı zamanda hayvan testi yöntemleri için de geçerlidir. Bu sınırlamalarla ilgili daha fazla bilgi bu Rehberde Bölüm [R.7.3.7](#) içerisinde bulunabilir. QSAR modelleri aynı zamanda çoğu zaman kendi başlarına metabolizma/abiyotik dönüşümü (örn., kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) hesaba katmaz veya bunu yalnızca, hem metabolik aktivasyon gerektirmeyen maddeler hem de bu tür metabolik özellikleri gerektiren maddeler için model eğitim seti olarak kullanarak dolaylı yoldan yaparlar.

Bununla birlikte, metabolik bilgilerin değerlendirilmesini kolaylaştırabilecek stratejiler vardır (örn., bkz. Bölüm [R.7.3.7.2](#) "Hayvan dışı test yöntemlerinin metabolik kapasitesinin eksikliği veya sınırlı olmasıyla ilgili nasıl başa çıkılır" başlığı).

R.7.3.6.2 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

Cilt hassasiyetine ilişkin uygun bir sınıflandırma ve etiketleme konumuna karar vermek için, mevcut veriler SEA Yönetmeliği Ek 1 kriterleri kullanılarak değerlendirilmelidir. SEA Yönetmeliği, cilt hassaslaştırıcıların mümkün olduğunda alt kategorilere (yani 1A veya 1B) ayrılması gerektiğini belirtir. Verilerin alt kategorilere ayırma için yeterli olmaması durumunda, madde genel Kategori 1'de sınıflandırılmalıdır (daha fazla bilgi için bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.4).

R.7.3.6.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç: etki gücü ve doz cevap değerlendirmesi

Etki gücü ölçülmesi

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 bölüm 8.3'e göre, maddenin bir cilt hassaslaştırıcı veya hassaslaştırıcı olmayan bir madde olup olmadığının değerlendirilmesine ek olarak, cilt hassaslaştırıcı maddelerin etki gücü, insanlarda önemli hassasiyet ürettiğinin varsayılabileceğine (Kat. 1A veya değil) karar verebilmek için değerlendirilmelidir. Sınıflandırma (Kat. 1A veya değil) ve risk değerlendirmesi hakkında bir karar verilebiliyorsa, başka testlere gerek yoktur. İyi kaliteye sahip (yani rehberine uygun ve İLU kapsamında gerçekleştirilen) *in vivo* çalışma/çalışmaların, cilt hassaslaştırma potansiyelinin değerlendirilmesine izin vermeseler bile (Kat. 1A veya değil) KKDİK bilgi gerekliliğini karşıladığı kabul edilir. Ancak, bu gibi durumlarda diğer kaynaklardan (örn. çapraz okuma ve/veya QSAR) mevcut bilgiler, sınıflandırma ve risk değerlendirmesini geliştirmek için kullanılmalıdır. Ayrıca, sınıflandırma ve risk değerlendirmesini geliştirmek için yeni hayvan dışı test verilerinin oluşturulması da kullanılabilir. Uygun doz-cevap verileri, test edilen malzemenin etki gücü hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. Bu, daha doğru risk değerlendirmelerinin geliştirilmesini kolaylaştırabilir. Bu bölüm, hassasiyetin indüksiyon aşamasındaki etki gücünü ifade eder.

Standart LLNA veya GPMT/Buehler testi, test maddelerinin cilt hassaslaştırıcı potansiyelini değerlendirmek için özel olarak tasarlanmamıştır. Bunun yerine, sınıflandırma amacıyla hassasiyet potansiyelini belirlemek için kullanılırlar. Bununla birlikte, bu testlerin tümü, etki gücünü değişen derecelerde tahmin etmek için kullanılabilir.

Maddelerin bağıl etki gücü, test edilen intradermal veya topikal indüksiyon konsantrasyonları ile ilgili olarak gine domuzu çalışmalarındaki pozitif hayvanların yüzdesi ile gösterilebilir. Benzer şekilde, Lokal Lenf Düşümü Testinde, EC3 değeri (lokal lenf düşümü proliferatif aktivitesinde 3 kat artışa neden olduğu tahmin edilen doz), bir etki gücü ölçüsü olarak kullanılır (bkz. SEA Yönetmeliği, Tablo 3.4.3 ve 3.4.4 ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Tablo 3.4.2.f). Çoğunlukla, EC3'ten kritik bir etki dozunun doğrusal interpolasyonu önerilir (ECETOC, 2000), ancak varılan sonuçları doz-cevap eğrisinin özelliklerine ve sonuçların değişkenliğine dayandıran daha gelişmiş istatistiksel yaklaşımlar da kullanılır (Basketter ve ark., 1999; van Och ve ark., 2000). LLNA tarafından üretilen doz-cevap verileri, bu testi, cilt hassaslaştırıcı etki gücünün değerlendirilmesi için gine domuzu testlerinden daha bilgilendirici hale getirir.

EC3 verileri, geçmiş test verilerinden elde edilen HRIPT eşikleri ile oldukça iyi ilişki göstermektedir (Griem, 2003; Schneider ve Akkan, 2004; Basketter ve ark., 2005b; ICCVAM, 2011; Basketter ve McFadden, 2012). Ancak, insan verileri tek bir iyi tanımlanmış protokol kullanılarak elde edilmemiştir ve bu nedenle bazı belirsizlikler bu karşılaştırmalarla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, elde edilen eşikler doğrudan genel nüfusa uygulanamaz. Çeşitli güvenlik değerlendirme faktörlerinin uygulanması dahil olmak üzere sıkı bir risk değerlendirme sürecine tabi tutulmalıdırlar (Api ve ark., 2008; Basketter ve Safford, 2015a).

Bununla birlikte, insan ve/veya gine domuzu verileriyle karşılaştırıldığında LLNA verilerinin ICCVAM (2011) tarafından gerçekleştirilen geriye dönük bir analizi, analiz edilen 27 güçlü hassaslaştırıcı madde için, bunların yaklaşık yarısının, <%2'lik bir EC3 kesme değerine göre olduğundan düşük derecede sınıflandırıldığını ortaya çıkarmıştır. SEA Yönetmeliğinde, hayvan verilerine (hem LLNA hem de GPMT/Buehler testleri) ve insan verilerine dayalı olarak etki gücünü belirlemek için kriterler vardır.

GPMT ve Buehler testi durumunda, OECD Test Rehberi 406'da belirtilen doz seçim kriterleri nedeniyle, Kategori 1A'daki sınıflandırma hariç tutulamayacağından bir maddenin Kategori 1B hassaslaştırıcı olduğuna dair kesin bir sonuca varmak genellikle mümkün değildir. Bu nedenle, Kategori 1A'daki sınıflandırmanın dışlanamaması durumunda, genel Kategori 1 sınıflandırması seçilmelidir.

Bilimsel literatürde hayvan dışı yaklaşımları kullanarak etki gücü tahmini için çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir ve bunlardan bazıları, güçlü hassaslaştırıcıların tanımlanmasını ve özel konsantrasyon sınır değerlerinin düzenlenmesini desteklemek için vaka bazında faydalı olabilir. Bu yaklaşımların bir incelemesi [Ek R.7.3-4](#)'te verilmektedir. Ancak, SEA Yönetmeliğine göre özel konsantrasyon sınır değerlerinin sınıflandırılması ve ayarlanmasıyla ilgili olarak, şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), yalnızca *in vitro* verilere dayalı olarak sınıflandırmak için hiçbir SEA kriteri bulunmamaktadır ve hayvan dışı verilere (*in chemico, in vitro*) dayanan yaygın olarak kabul edilen bir yaklaşım ve veri yorumlama prosedürü yoktur. *In chemico/in vitro* yöntemlerden elde edilen bilgilerin bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımındaki benzer maddelerden elde edilen bilgilerle birleştirilmesi, cilt hassaslaştırıcılığı potansiyeli (Kat. 1A veya değil) hakkında bir sonuca varmada yine de yardımcı olabilir.

Etki gücü bilgisi eksikliği ve ardından özel konsantrasyon sınır değerlerini alt kategorilere ayırma ve düzenleme olasılığı, insanların daha düşük düzeyde korunmasına neden olabilir. Bu önemli bir husustur, özellikle madde bir karışımda kullanılıyorsa ve uygun konsantrasyon sınırları kullanılmıyorsa, karışımın yanlış etiketlenmesine neden olur. Bu nedenle, Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi, maddeye ilişkin KKDİK bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için, hayvan dışı test yöntemlerinden (*in chemico/in vitro/in silico*) elde edilen veriler, maddenin cilt hassaslaştırıcı veya hassaslaştırıcı olmayan bir madde olup olmadığına ve insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline sahip olduğunun (Kat. 1A veya değil) varsayılabileceğine dair sonuçlara izin vermelidir. Cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünü değerlendirmek için farklı yaklaşımların bir incelemesi [Ek R.7.3-4](#)'te verilmektedir. Bununla birlikte, hayvan dışı yaklaşımlara dayanan etki gücü karakterizasyonunun eksikliğini gidermek için çalışmalar halen devam ettiğinden, kayıt ettirenin bu alandaki son ve gelecek gelişmeleri takip etmesi tavsiye edilir (örn. ECHA web sitesi aracılığıyla test yöntemleri ve alternatifleri hakkında).

DNEL türetilmesi

Lokal Lenf Düğümü Testinden (B.42/OECD 429) (Basketter ve ark., 2007) elde edilen EC3 değerleri DNEL türetilmesi için kullanılabilir de, ilk adım her zaman cilt hassasiyetine neden olan bir maddeye maruz kalmadan kaynaklanan riskleri değerlendirmek ve kontrol etmek için nitel bir yaklaşım uygulamak olmalıdır. Şu anda, gine domuzu, rLLNA, LLNA-DA, LLNA-BrDU-ELISA verileri veya hayvan dışı test yaklaşımları kullanılarak nicel bir değerlendirmenin gerçekleştirilemeyeceği unutulmamalıdır. Nitel bir değerlendirme için etki gücü bilgilerinin nasıl kullanılacağına (ayrıca bkz. [BG ve KGD Rehberinde](#) *Kısım E* Bölüm E.3.4.2) ve hassaslaştırıcıların güvenlik değerlendirmesinde ikinci bir adım olarak nasıl DNEL türetilmesine dair rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) *Kısım R.8* Bölüm R.8.6 ve Ek R.8- 10 içerisinde verilmektedir.

Cilt hassaslaştırıcı maddeler için güvenli tüketici maruz kalma düzeylerinin belirlenmesi amacıyla nicel risk değerlendirme (QRA) yaklaşımları önerilmiştir. Bir QRA yaklaşımı, mevcut tüm bilgileri, yani insan ve hayvan verilerini kullanmalıdır. Böyle bir yaklaşım, örn. koku endüstrisi tarafından kullanılmıştır (Api ve ark., 2008; 2015). Ancak, bu yaklaşım, özellikle Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi (SCCS) tarafından değerlendirildiğinde, QRA kullanılarak belirlenen güvenli seviyeler mevcut veriler tarafından desteklenmediğinden eleştiri almıştır (SCCS, 2015a). Ayrıca, o sırada SCCS tarafından değerlendirilen QRA metodolojisi, örn. toplu ve mesleki riskleri hesaba katmamıştır.

SCCS, yaklaşımın daha da geliştirilmesini önermektedir (SCCS, 2015b). IDEA projesi (<http://www.ideaproject.info>) çerçevesinde, orijinal QRA metodolojisi (Api ve ark., 2008) revize edilmiştir (Api ve ark., 2015). Bu revizyonlar, güvenlik değerlendirme faktörlerinin bir revizyonunu ve toplam maruz kalma değerlendirmesi için olasılıksal bir yaklaşımın uygulanmasını içerir. Adına rağmen, nicel risk değerlendirme yaklaşımının hassas bir araç olmadığı unutulmamalıdır.

Cilt hassasiyeti için güvenli kullanım seviyelerinin türetilmesi sorunlu olabilir ve önemli ölçüde belirsizlikle ilişkilendirilebilir. Örneğin ECHA (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.19) ve IPCS/WHO (2014) tarafından belirsizlik değerlendirme yaklaşımları yayınlanmıştır ve ayrıca EFSA (2015) tarafından bir taslak rehber doküman mevcuttur.

R.7.3.6.4 İlave hususlar

Kimyasal alerjinin genel olarak cilt hassasiyeti (ACD) ve/veya solunum yolu hassasiyeti (astım riniti ve dışsal alerjik alveolit) ile ilişkili olduğu belirtilir. Bunun ışığında, bazen solunum yolunun alerjik hassasiyetinin yalnızca nedensel maddeye solunum yoluyla maruz kalmadan kaynaklanacağı ve cilt hassasiyetinin zorunlu olarak yalnızca cildin maruz kalmasından kaynaklandığı varsayılır. Bu yanıltıcıdır ve risk yönetiminin amaçları açısından hassasiyetin başka maruz kalma yollarından da elde edilebileceğini kabul etmek önemlidir. Uyarlanabilir bağışıklık tepkileri doğası gereği esasen sistemik olduğundan, cilt yüzeylerinin hassasiyeti, cilt teması dışındaki maruz kalma yolları yoluyla temas alerjenleri ile karşılaşma sonucu gelişebilir. Benzer şekilde, hem deneysel hem de insan çalışmalarından, solunum yolunun etkili bir şekilde hassaslaşmasının, kimyasal bir solunum alerjeninin cilt temasından kaynaklanabileceğini gösteren kanıtlar vardır (Redlich, 2010; Kimber ve ark., 2014c). Bu nedenle, bu durumda, solunum yolu hassasiyetinin oluşması için gerekli olan bağışıklık tepkisinin, kimyasal solunum alerjenleri ile cilt teması yoluyla oluşabileceği görülmektedir (Arts ve Kuper 2007; Kimber ve ark., 2002). Bu tür düşüncelerin risk yönetimi için önemli çıkarımları vardır. Bu nedenle, örneğin, solunum hassasiyetinin etkili bir şekilde önlenmesinin hem cildin hem de solunum yollarının korunmasını gerektirdiğine dair büyüyen bir görüş vardır. Bu, spreylere gibi tüketicilerin solunum yoluyla maruz kaldığı (veya kalabileceği) ürünlerde bilinen temas alerjenlerinin dikkatli kullanımını içerir. Kimyasal alerjenlere karşı hassasiyet riskini en aza indirmek için uygun stratejilere yönelik genel tavsiye, tüm ilgili maruz kalma yollarının korunmasını sağlamaktır.

R.7.3.6.5 Bilgilerin yeterli olmaması

Tonajla tetiklenen KKDİK bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için, aşağıda Bölüm [R.7.3.7](#) içerisinde açıklanan test ve değerlendirme stratejisi kullanılabilir.

R.7.3.7 Cilt hassasiyeti için test ve değerlendirme stratejisi

R.7.3.7.1 Amaç / Genel ilkeler

Bir maddenin cilt hassaslaştırıcı özelliklerinin değerlendirilmesi ve sınıflandırılması için yeterli ve bilimsel olarak sağlam verilerin geliştirilmesi için aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi önerilir. Yetersiz veriye sahip mevcut maddeler için, bu strateji, halihazırda mevcut olanların yanı sıra hangi ek verilere ihtiyaç duyulduğuna karar vermek için de kullanılabilir. Amaç, cilt hassasiyeti riskini değerlendirmek ve/veya yeni bilgilerin oluşturulmasıyla kapsanacak bilgi boşluklarını belirlemek için mevcut tüm bilgileri (test yöntemleri ve test dışı yaklaşımlardan gelen veriler dahil) toplamaktır. Bu stratejinin temel ilkesi, mevcut tüm bilgilerin başka bir çalışma başlatılmadan önce değerlendirilmesidir. Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanmasını sağlamayı amaçlamaktadır.

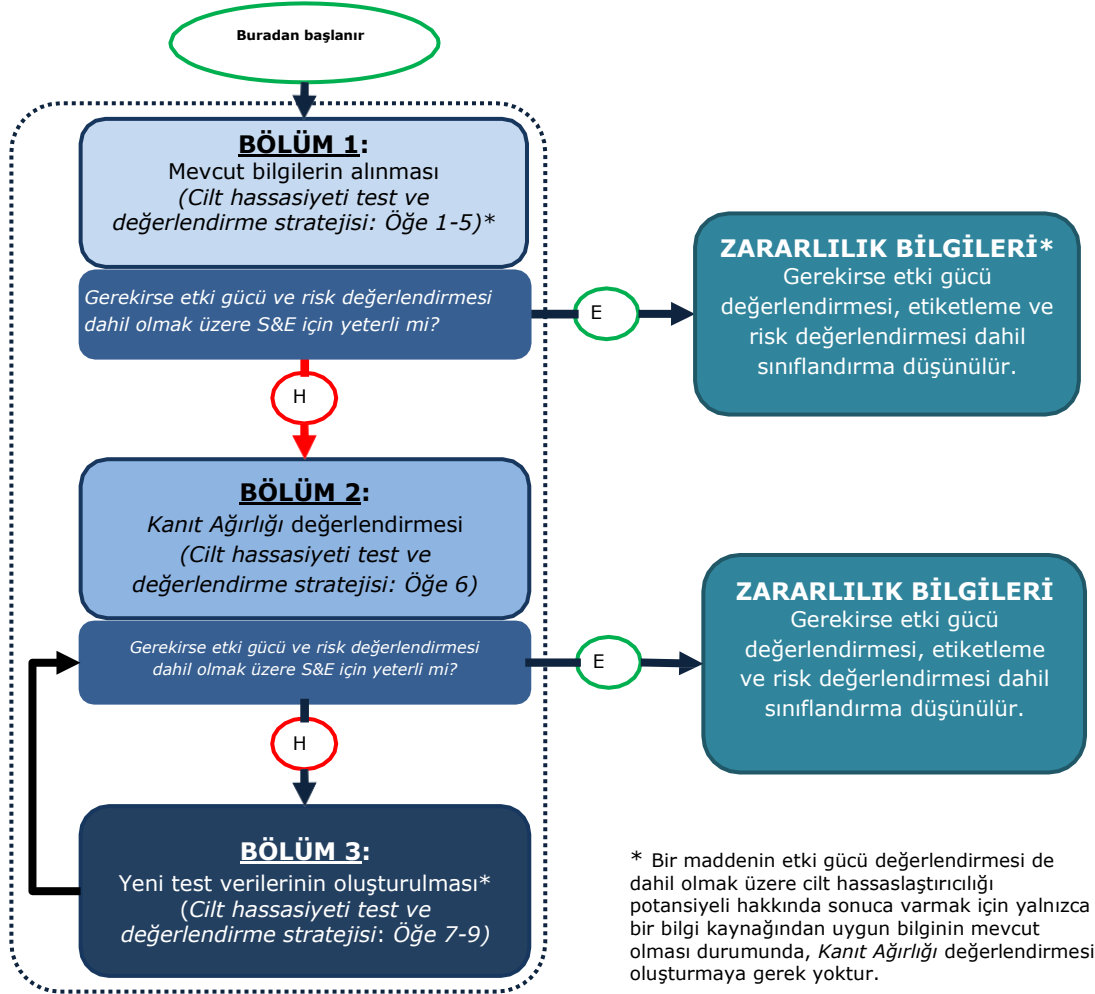
Hayvan refahı hususları ve KKDİK Yönetmeliğinin bilgi gereklilikleri, son birkaç yılda cilt hassasiyeti için bütünleşik stratejiler üzerine araştırmaları teşvik etmiştir. Bu çalışmalardan bazıları, bireysel test dışı veya hayvan dışı test yöntemleri (örn. *in silico* (Teubner ve ark., 2013) veya *in vitro* bilgiler (Martin ve ark., 2010; Maxwell ve ark., 2014; Reisinger ve ark., 2015; Urbisch ve ark., 2015)) hakkında veri sağlar, diğerleri de farklı kombinasyonlar kullanır (Basketter ve ark., 2013; Roriye ve ark., 2013; Jaworska ve ark., 2013). Yukarıda bahsedilen yaklaşımların yanı sıra, vaka çalışmaları olarak dahil edilen bir dizi başka veri birleştirme yaklaşımı OECD Rehber Dokümanı Ek I: Cilt Hassasiyetine Yönelik Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda (IATA) Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanın Vaka Çalışmaları (OECD, 2016c) içerisinde belgelenmiştir.

Burada sunulan test ve değerlendirme stratejisi üç bölümden oluşur (bkz. [Şekil R.7.3-1](#) ve [Şekil R.7.3-2](#)): Bölüm 1 (öğ 1 ila 5) mevcut bilgilerin edinilmesiyle ilgilidir, Bölüm 2 (öğ 6) *Kanıt Ağırlığı* analizi ve uzman görüşünü temsil eder (1. Bölümde listelenen tek bir unsura dayalı olarak bir sonuca varılamaması durumunda). Bölüm 3 (öğ 7 ila 9), gerekirse test yapılarak yeni bilgilerin üretilmesiyle ilgilidir. [Şekil R.7.3-2](#)'de sunulan öğeler, maddenin cilt hassasiyetine neden olma potansiyeline ilişkin sonuca varmak için gerekli bilgilere dayalı olarak uygun şekilde yeniden düzenlenebilir. Bu, özellikle hepsini dikkate almak zorunda kalmadan, belirli öğelerden bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir.

Cilt hassasiyetine yönelik standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için özel kurallar KKDİK Yönetmeliği Ek 7'nin 2. sütununda açıklanırken, standart bilgi gerekliliklerinden uyarlama için genel kurallar Ek 11'de verilmiştir.

Stratejideki yeni öğeler, yakın zamanda AB/OECD tarafından kabul görmüş ve/veya uluslararası olarak onaylanmış cilt hassasiyeti için *in chemico/in vitro* test yöntemleridir (özellikle [Şekil R.7.3-2](#)'de öğ 5b ve öğ 7a ila 7c içerisinde belirtilen üç test yöntemi). Bu yöntemler, yeni bilginin üretilmesi gerektiğinde ilk adım olarak standart bilgi gerekliliği olarak KKDİK Yönetmeliğine dahil edilen kilit olayları temsil eder. Bu yöntemler, maddenin cilt proteinlerine kovalent bağlanmasıyla başlayan cilt hassaslaşmasının biyolojik temel olaylarının mekanik anlayışına dayanmaktadır. Bu anahtar olaylar, OECD tarafından onaylanmış cilt hassasiyetine yönelik Olumsuz Etki Oluşum Yolunda kodlanmıştır (OECD, 2012). Bu önemli olaylardan üçü, yani peptit/protein reaktivitesi, keratinosit cevabı ve dendritik hücre cevabı, aşağıdaki [Şekil R.7.3-2](#) içerisindeki öğ 5b'ye (mevcut veriler) ve öğ 7a, 7b ve 7c'ye (yeni verilerin oluşturulması) karşılık gelir.

Strateji, kayıt ettirenin, cilt hassasiyetine yönelik bu *in chemico/in vitro* test yöntemlerinin, zararlılık tanımlanmasını ve uygun sınıflandırma kararını ve bir madde için (gerektiğinde) risk değerlendirmesini sağlamak için Ek 7, bölüm 8.3.1'e göre veya KKDİK Yönetmeliği Ek 11 bölüm 1.2 – 1.5'e göre *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında nasıl kullanılabileceğini bulmasına yardımcı olmayı amaçlamaktadır. Ayrıca (Q)SAR, çapraz okuma ve insan verileri gibi diğer veri türleri de *in chemico/in vitro* test sonuçlarıyla birlikte kullanılmalıdır. *In chemico/in vitro* testlerin ve diğer veri türlerinin temel güçlü yönleri ve sınırlamaları aşağıda ele alınmaktadır.



Şekil R.7.3–1 Cilt hassasiyeti için test ve değerlendirme stratejisine genel bakış

R.7.3.7.2 Test ve değerlendirme stratejisinin uygulanması

Cilt hassasiyeti için hayvan dışı test yöntemleri alanındaki son gelişmeler nedeniyle ve KKDİK Yönetmeliği Madde 14(1) ve Ek 7 bölüm 8.3 uyarınca, kayıt ettirenler cilt hassasiyeti için bilgi gerekliliğinin hayvan dışı test yöntemlerinden (mevcut) sonuçlar kullanılarak yerine getirilip getirilemeyeceğini araştırmalıdır (örn. Kanıt Ağırlığı yaklaşımında). Hayvan dışı test/testlerin sonuçlarının belirsiz kalması, madde için geçerli olmadığı belgelenmesi veya Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi sınıflandırma ve risk değerlendirme için uygun olmaması durumunda *in vivo* test yapılması gerekli olabilir.

Seçilen test yönteminin (örn. *in vitro*, *in chemico* veya *in silico*) maddeyi test etmek ve yeterli bilgi almak için uygun olduğundan emin olmanın kayıt ettirenin sorumluluğunda olduğuna dikkat etmek önemlidir. Bu nedenle, belirli bir hayvan dışı test gerçekleştirilmeden önce, kayıt ettiren, testin performansını engelleyebilecek maddeye özgü sınırlamalar olup olmadığını değerlendirmelidir (örn. düşük çözünürlük veya log Kow, maddenin UVCB yapıda olması, örneğin DPRA UVCB maddeler için geçerli değildir). Metabolik kapasitenin olmaması veya sınırlı olması gibi test sisteminde bazı sınırlamalar olabilir ve bu nedenle pro-haptenler doğru bir şekilde tespit edilemeyebilir ve yanlış negatif sonuçlar verebilir. Ayrıca abiyotik dönüşüm, örneğin kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz gerektiren maddeler (pre-haptenler) doğru bir şekilde tanımlanamayabilir.

Maddenin, hayvan dışı test yöntemlerinin uygulanabilirlik alanına girmemesi durumunda, bir *in vivo* testin (yani LLNA) gerçekleştirilmesi gerekecektir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 6 Adım 1'e göre, tüm mevcut test verileri, herhangi bir yeni test başlatılmadan önce toplanmalıdır. Bu stratejinin 1. Bölümünde (öğ 1 ila 5c) literatürde ve veri tabanlarında bulunan ve mevcut bilgiler toplanır ve değerlendirilir. Bölüm 1'in farklı öğelerinin sırası yalnızca gösterge niteliğindedir ve uygun şekilde düzenlenebilirler. Bu, özellikle, hepsini dikkate almak zorunda kalmadan belirli unsur/unsurlardan güvenilir bir sonucun çıkarılabileceği durumlarda yardımcı olabilir. Örneğin, maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline (Kat.1A veya değil) sahip olduğunun varsayılabileceğinin belirlenmesi de dahil olmak üzere, maddenin SEA Yönetmeliğine göre cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırılması gerektiğini gösteren yeterli insan verileri (öğ 2) varsa daha ileri testler gerekli değildir. Bölüm 1'in sonunda ve mevcut bilgi parçalarının birinden veya birkaçından doğrudan nihai bir sonuç çıkarılamazsa, toplanan tüm bilgiler bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı (öğ 6) kullanılarak analiz edilmelidir.

Bilgi oluşturma bölümünde (öğ 7 ila 9), maddenin cilt hassaslaştırıcı potansiyeli hakkında yeni bilgiler, hayvan dışı test yöntemleri veya son çare olarak Ek 7, bölüm 8.3.2'ye göre *in vivo* test yoluyla üretilir. (öğ 9). Maddenin özellikleri ve mevcut bilgiler yeni bilgi oluşturma ihtiyacını belirler, yani, öğelerin sırası yalnızca gösterge niteliğinde olduğundan bilgi oluşturma bölümü altındaki tüm öğeler için yeni verilerin oluşturulması gerekmeyebilir.

Bu yaklaşımın izlenmesi tavsiye edilirken, diğer yaklaşımlar duruma göre daha uygun ve verimli kabul edilebilir.

Cilt hassasiyeti sonlanma noktasının karmaşıklığından dolayı, cilt hassasiyetinin nihai değerlendirmesine olan güveni artırmak için bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında alternatif test yöntemlerinin bir kombinasyonunun (örn. *in silico*, *in chemico* ve *in vitro*) göz önünde bulundurulması gerekir (örneğin çapraz okuma ve hayvan dışı test yöntemlerinin bir kombinasyonu, cilt hassasiyetinin değerlendirilmesinin sonuçlandırılmasında faydalı olabilir). Bölüm R.7.3.4.1 ve R.7.3.5.1'de ve aşağıda Şekil R.7.3-2'de (öğ 5 ve 7 olarak) açıklanan *in vitro* ve *in chemico* test yöntemleri, özellikle negatif sonuçlar elde edilen durumlarda bağımsız yöntem olarak geliştirilmemiştir. Nihai sonlanma noktasını tahmin etmeyi amaçlayan *in silico* yöntemleriyle elde edilen sonuçlar (örn., EC3 değeri dahil LLNA sonucu), Ek 11, bölüm 1.3 gerekliliklerini karşılıyorsa, KKDİK Yönetmeliğine göre kullanılabilir. Ancak, aksi takdirde değerlendirilmesi ve kabul edilmesi zor olan (Q)SAR tahmininin güvenilirliğini doğrulamak için, analoglardan çapraz okuma veya sonuç yöntem/yöntemleri gibi ek kanıtlara ihtiyaç duyulabilir.

Bir madde için cilt hassasiyeti hakkında hiçbir bilgi bulunmuyorsa, değerlendirmenin OECD QSAR Araç Kutusu kullanılarak başlatılması önerilir (bkz. Bölüm R.7.3.4.1). Araç Kutusu birçok amaç için kullanılabilir. İlk olarak, ilgilenilen madde için halihazırda mevcut olan *in chemico*, *in vitro* ve *in vivo* verilerin tanımlanmasını kolaylaştırır. İkinci olarak, profil oluşturucuları kullanarak cilt hassasiyetine özel uyarıları ve protein bağlama uyarılarını tanımlar. Üçüncüsü, maddenin metabolik veya abiyotik dönüşüm (örn. kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz) ürünlerini tahmin etmek ve karakterize etmek için kullanılabilir. Dördüncüsü, çapraz okuma, eğilim analizi ve QSAR model oluşturma için deneysel verilerle analogların tanımlanmasını kolaylaştırır. İlave olarak, madde ve/veya analog madde/maddeler için mevcut *in vivo* veriler, cilt hassaslaştırıcılığı etki gücü hakkında yararlı bilgiler sağlayabilir (örn. Mevcut LLNA çalışmalarından elde edilen EC3 değerleri ile). Tahminlerin *in vivo* sonlanma noktaları ile *in vitro* sonlanma noktalarını ele alabileceğine dikkat edilmelidir (şu an için Araç Kutusunda çok *in vitro* veri bulunmamaktadır ve analogların verilerle tanımlanması zor olabilir).

Mevcut tüm verilerin, OECD QSAR Araç Kutusu ve/veya diğer *in silico* araçların kullanımının, bir maddenin hassaslaştırıcı gücü de dahil olmak üzere cilt hassasiyeti zararlılığı hakkında sonuca varılmasına izin vermemesi durumunda, hayvan dışı test yöntemlerinden veya diğer bilgi kaynakları yoluyla bilgi sağlayarak cilt hassasiyetine yönelik Olumsuz Etki Oluşum Yollarında açıklandığı gibi yeterli sayıda anahtar olayların (örn. [Şekil R.7.3-2](#)'de öge 7a, b ve c) araştırılması gerekir.

Mevcut durumdaki anlayış, farklı anahtar olayların *in chemico/in vitro/in silico* veya diğer verilerle kapsanmasının sonlanma noktası için en iyi tahmini sağlamasıdır. Bu nedenle, bir veya iki önemli olayın kapsamdan çıkarılması durumunda, kayıt ettirenin mevcut bilgilere dayalı olarak alınan yaklaşımı gerekçelendirmesi gerekecektir. Mevcut bilgilere dayanarak, *in chemico veya in silico* yöntemlerle elde edilmiş peptid reaktivitesinden elde edilen bilgilerin, en yüksek öngörü gücünü gösterdiği görülmektedir ve cilt hassasiyetinin genel değerlendirmesine daha fazla ağırlık sağlayabilir (Natsch ve ark., 2013, Urbisch ve ark., 2015). Ancak, araştırılan maddeyle ilgili olarak yaklaşımın belirli sınırlamalarının dikkate alınması önemlidir.

Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin OECD Rehber Dokümanı (OECD, 2016a), Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda öğeler olarak kullanılan tanımlanmış yaklaşımların raporlanması için uyumlaştırılmış bir yaklaşıma katkıda bulunmayı amaçlamaktadır (bkz. OECD Rehber Dokümanı Ek I ve II ve bu Rehberde [Ek R.7.3-2](#) ve [Ek R.7.3-3](#)). Olumsuz Etki Oluşum Yolları ile bilgilendirilmiş bir Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım durumunda, farklı bilgiler tanımlanmış toksisite yolu boyunca kilit olayları ve [Şekil R.7.3-2](#)'de belirtildiği gibi bir düzenleyici kararı bildirmek için kullanılan sonuçları hedefleyecektir. Kayıt ettirene, [Şekil R.7.3-2](#)'de açıklanan test ve değerlendirme stratejisinin bir bölümü olarak kullanılıyorsa, tanımlanmış bir veri yorumlama prosedürünü raporlamak için [Ek R.7.3-3](#)'te açıklanan şablonu kullanması önerilir. Pratik anlamda, bu, her bilgi kaynağı için ayrı bir sonlanma noktası çalışma kaydının oluşturulması gerektiği anlamına gelir (örn. *in vitro*, *in chemico* çalışma verileri, KKS dosyasında). Sonrasında, tüm bilgi kaynaklarını bir araya getiren *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, örn. OECD Rehber Dokümanları ve [Ek R.7.3-3](#)'te açıklanan şablonlar kullanılarak cilt hassasiyeti sonlanma noktası özetine eklenebilir.

Bilimsel literatürde, hayvan dışı test yaklaşımlarından gelen verilerin nasıl birleştirilip yorumlanacağına ilişkin çeşitli yaklaşımlar bildirilmiştir ve bağımsız değerlendirmeler tartışılmaktadır. *In chemico/in vitro* test yöntemlerinden elde edilen pozitif tahminlerin kullanımı, negatif veya çelişkili tahminlerin elde edilmesi durumunda olduğundan daha basit olma eğilimindedir. *In chemico/in vitro* test yöntemlerinin her birinin özel sınırlamaları nedeniyle, negatif bir tahmin elde edilmesi durumunda, potansiyel bir yanlış tahminin nasıl reddedilebileceğini dosyada gerekçelendirmek önemlidir. Maddenin bir pro-hapten olup olmadığı ve metabolizmanın *in vivo* meydana gelmesinin beklenip beklenmediği konusunda destekleyici bilgiler (örn. *in silico* yöntemlerden veya diğer sonlanma noktaları için test verilerinden) elde edilebilir (bkz. Bölüm [R.7.3.7.2](#), "*Hayvan dışı test yöntemlerinin eksikliği veya sınırlı metabolik kapasitesi ile nasıl başa çıkılır?*").

Ayrıca maddenin bir pre-hapten olup olmadığı ve cilt hassaslaştırıcılığı potansiyelini uygulamak için abiyotik dönüşüm (örn. kendiliğinden oksitlenme veya hidroliz) gerektirip gerektirmediği de dikkate alınmalıdır (not: pre-haptenleri doğru şekilde tanımlamama sorunu yalnızca *in chemico/in vitro* yöntemlerle ilgili değildir, *in vivo* test yöntemleriyle de ortaya çıkabilir).

Şekil R.7.3–2 Maddelerin cilt hassaslaştırıcılığı potansiyelini değerlendirmek için test ve değerlendirme stratejisi (dipnot a - f şeklin altında detaylandırılmıştır).

Öge	Bilgi	Varılan Sonuç
Fizikokimyasal özelliklere ilişkin mevcut veriler		
1	Madde güçlü bir asit ($\text{pH} \leq 2.0$) veya baz ($\text{pH} \geq 11.5$), cilt için aşındırıcı mı veya (kendiliğinden) havada veya oda sıcaklığında su veya nem ile temas halinde alevlenir mi?	<p>EVET:</p> <p><i>In vivo</i> test gerekmez (Ek 7 Sütun 2 uyarlaması, bölüm 8.3)</p> <p>Not: Aşırı pH değerleri/aşındırıcı özellikler, uygun konsantrasyonlarda <i>in chemico/in vitro/in vivo</i> test/testlerde gerçekleştirilmeyi engellemez ve bu nedenle, gerekli görülmesi halinde aşındırıcılık altındaki konsantrasyonlarda cilt hassasiyeti tehlikesini değerlendirmek mümkündür.</p>
Mevcut insan verileri		
2	Maddenin cilt hassaslaştırıcı olduğuna dair kanıt sağlayan yeterli mevcut insan verisi ^a var mı?	<p>EVET:</p> <p>SEA kriterlerine göre sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil).</p> <p>Kendi başına kesin değilse bu bilgi 6. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>
Hassaslaştırıcılık çalışmalarından elde edilen mevcut hayvan verileri		
3	Maddenin hassaslaştırıcı veya hassaslaştırıcı olmadığına dair kapsamlı ve kesin kanıtlar sağlayan, laboratuvar hayvanlarında <i>cilt hassasiyeti</i> ile ilgili mevcut çalışmalardan (LLNA, GPMT veya Buehler testi, B.42, B.50, B.51 ve B.6/OECD Test Rehberi 429, 442A, 442B ve 406) elde edilen veriler var mı?	<p>EVET:</p> <p>SEA kriterlerine göre sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil^e) veya sınıflandırmama düşünülür.</p> <p>Kendi başına kesin değilse bu bilgi 6. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p> <p>Not: Rehberde uygun olan ve İyi Laboratuvar Uygulamalarına göre gerçekleştirilen <i>in vivo</i> çalışma/çalışmalar, cilt hassaslaştırıcılığı etki gücü hakkında bir sonuca ulaşılamasa bile cilt hassasiyeti gerekliliklerini karşılamak için kullanılabilir. Bununla birlikte, diğer kaynaklardan elde edilen mevcut bilgiler veya hayvan dışı test verileri, sınıflandırmayı geliştirmek için kullanılmalıdır.</p>

Mevcut (Q)SAR verileri ve çapraz okuma		
4	Yapısal ve mekanik olarak ilgili maddelerden "çapraz okuma" ve/veya uygun (Q)SAR tahminleri, cilt hassaslaştırıcılığı potansiyelini veya maddede bulunmadığını güvenilir bir şekilde gösteriyor mu? ^b	EVET: SEA kriterlerine göre sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil ^e) veya sınıflandırmama düşünülür. Kendi başına kesin değilse bu bilgi 6. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.
Mevcut <i>in chemico</i> ve <i>in vitro</i> veriler		
5a	Fiziko-kimyasal, <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> veya <i>in vivo</i> verilere dayanan cildin biyoyararlanımına dair kanıt/hipotez var mı?	EVET/HAYIR: Bu bilgiler <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır
5b	Madde, AB/OECD tarafından kabul görmüş bir <i>in chemico</i> testte (örn. OECD Test Rehberi 442c) peptit/protein bağlanma özellikleri göstermiş mi? (<i>AOP 1. anahtar olayı</i>), ve/veya Madde, AB/OECD tarafından kabul görmüş bir <i>in vitro</i> testte (örn. OECD Test Rehberi 442d) Nrf2-Keap1-ARE toksisite yolu aktivasyonu göstermiş mi? (<i>AOP 2. anahtar olayı</i>), ve/veya Madde, doğrulanmış bir <i>in vitro</i> testte monositik hücreler üzerinde hücre yüzeyi göstergelerinin (CD54 ve/veya CD86) indüksiyonunu göstermiş mi (örn. h-CLAT)? (<i>AOP 3. anahtar olayı</i>). Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli olduğu kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul edilmemiş <i>in chemico/in vitro</i> test yöntemlerinden elde edilen veriler, KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir.	EVET/HAYIR: Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil ^e) veya sınıflandırmama düşünülür ⁶⁸ . Kesin değilse bu bilgi 6. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.

⁶⁸ Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), yalnızca *in vitro* verilere dayalı olarak nasıl sınıflandırılacağı ve etki gücünün nasıl türetileceğine dair SEA (veya BM GHS) kriteri bulunmamaktadır. BM GHS düzeyindeki tartışmalar sürmektedir. Cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünü değerlendirmek için farklı yaklaşımların bir incelemesi [Ek R.7.3-4](#)'te verilmektedir. *In vitro* veriler, LLNA verilerinden türetilenlere benzer olarak doğrudan etki gücü sonuçlarına dönüştürülemez. Bununla birlikte, elde edilen *in vitro* veriler, cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünün bazı göstergelerini sağlayabilir ve örn. çapraz okuma verilerinin desteğiyle, bir maddenin cilt hassaslaştırıcı etki gücünün (Kat. 1A veya değil) türetilmesine izin verebilir.

5c	Maddenin cilt hassaslaştırıcı olabileceğine dair kanıt sağlayan, doğrulanmamış <i>in vitro</i> test/testlerden veriler var mı?	<p>EVET/HAYIR:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil)⁶⁸.</p> <p>Kesin değilse bu bilgi 6. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>
Kanıt ağırlığı analizi		
6	<p>Yukarıda açıklanan "öğeler" uygun şekilde düzenlenebilir. Tüm mevcut ve ilgili verileri (öğe 1-5) hesaba katarak, Ek 7 Bölüm 8.3'teki bilgi gerekliliğini karşılamak ve sınıflandırma ve etiketlemenin gerekli olup olmadığına karar vermek için yeterli bilgi var mı?</p> <p><i>Kanıt Ağırlığına</i> ilişkin özel rehberlik için aşağıya bakınız.</p>	<p>EVET:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırılır (Kat. 1A veya değil) veya sınıflandırmama düşünülür⁶⁸.</p> <p>Cilt Hassaslaştırıcı Kat. 1 olarak sınıflandırma, yalnızca mevcut <i>in vivo</i> verilere dayandığında kabul edilebilir (bkz. öğe 3).</p> <p>HAYIR:</p> <p>Stratejideki sonraki öğeler düşünülür.</p>
Yeni hayvan dışı verilerin oluşturulması ^c		
<p>Not: KKDİK Yönetmeliği Ek 7 Bölüm 8.3.1, yeni bilgilerin oluşturulması gerektiğinde testin <i>in chemico/in vitro</i> yöntemlerle başlaması gerektiğini belirtir. <i>In chemico/in vitro</i> test gerçekleştirilmeden önce, kullanılacak test yöntemi/yöntemlerinin madde için uygun olup olmadığını, yani maddenin belirli bir test yönteminin uygulanabilirlik alanına uyup uymadığını dikkate almak önemlidir. <i>In chemico/in vitro</i> testlerin madde için uygun olmaması durumunda, Ek 7, bölüm 8.3.2'de belirtildiği gibi bir lokal lenf düğümü testinin gerçekleştirilmesi gerekecektir.</p>		
7a	<p>Madde, AB/OECD tarafından kabul görmüş bir <i>in chemico</i> testte (örn. B. 59/OECD Test Rehberi 442c) peptit/protein bağlanma özellikleri gösteriyor mu? (<i>AOP 1. anahtar olayı</i>).</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul görmemiş <i>in chemico</i> test yöntemleri de KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir.</p>	<p>EVET/HAYIR:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil)⁶⁸.</p> <p>Kesin değilse bu bilgi 8. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>

7b	<p>Madde, AB/OECD tarafından kabul görmüş bir <i>in vitro</i> testte (örn. B.60/OECD Test Rehberi 442d) Nrf2-Keap1-ARE toksisite yolu aktivasyonu göstermiş mi? (AOP 2. anahtar olayı)</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul görmemiş <i>in vitro</i> test yöntemleri de KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir.</p>	<p>EVET/HAYIR:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil^e)⁶⁸.</p> <p>Kesin değilse bu bilgi 8. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>
7c	<p>Madde, doğrulanmış bir <i>in vitro</i> testte monositik hücreler üzerinde hücre yüzeyi göstergelerinin (CD54 ve/veya CD86) indüksiyonunu göstermiş mi (örn. h-CLAT)? (AOP 3. anahtar olayı).</p> <p>Doğrulanmış ve bilimsel olarak geçerli kabul edilen ancak henüz AB ve/veya OECD tarafından kabul görmemiş <i>in vitro</i> test yöntemleri de KKDİK Yönetmeliği Ek 11'de tanımlanan hükümler karşılanırsa kullanılabilir.</p>	<p>EVET/HAYIR:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırma düşünülür (Kat. 1A veya değil^e)⁶⁸.</p> <p>Kesin değilse bu bilgi 8. madde altında <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>
7d	<p>Sınıflandırma hakkında sonuca varmak için veya önceki öğelerde elde edilen tutarsız verileri açıklamak veya bir <i>in vitro</i> test ile AOP 4. anahtar olayını (T hücresi çoğalması) ele almak için herhangi bir ek test/veri oluşturma gerekli görülüyor mu? ^d</p>	<p>EVET/HAYIR:</p> <p>Testin yapılması düşünülür ve bu bilgi <i>Kanıt Ağırlığı</i> analizi için kullanılır.</p>

Kanıt ağırlığı analizi

8	<p>Yukarıda açıklanan "öğeler" uygun şekilde düzenlenebilir. Tüm mevcut ve ilgili verileri (öğeler 1-7) hesaba katarak, Ek 7 Bölüm 8.3'teki bilgi gerekliliğini karşılamak ve sınıflandırma ve etiketlemenin gerekli olup olmadığına karar vermek için yeterli bilgi var mı?</p> <p><i>Kanıt Ağırlığına</i> ilişkin özel rehberlik için aşağıya bakınız.</p>	<p>EVET:</p> <p>Cilt hassaslaştırıcı olarak sınıflandırılır (Kat. 1A veya değil^e) veya sınıflandırmama düşünülür⁶⁹.</p> <p>HAYIR:</p> <p>Stratejideki sonraki öğe düşünülür.</p>
---	--	--

Son çare olarak hassasiyet için yeni in vivo verilerin oluşturulması (KKDİK Yönetmeliği Ek 7)

9	<p>Madde, bir AB/OECD tarafından kabul edilen bir <i>in vivo</i> test olan lokal lenf düğümü testinde (B.42/OECD Test Rehberi 429f) hassaslaştırıcı özellikler gösteriyor mu? →</p>	<p>EVET:</p> <p>SEA kriterlerine göre sınıflandırılır (Cilt Hassaslaştırıcı Kat. 1A veya değil^e).</p> <p>HAYIR:</p> <p>Sınıflandırmaya gerek yoktur.</p>
---	---	---

Cilt hassasiyeti üzerine test ve değerlendirme şekline ilişkin notlar:

a) Vaka raporları, mesleki deneyim, zehir bilgi merkezleri, İnsan Yama Testleri veya klinik çalışmalardan elde edilen veriler.

b) OECD QSAR Araç Kutusu'nun (bkz. Bölüm [R.7.3.4.1](#)) ilgilenilen madde için mevcut veriler olup olmadığını veya potansiyel analog maddeler için cilt hassaslaşmasına ilişkin mevcut ve kaliteli verilerin mevcut olup olmadığını kontrol etmek için uygulanması faydalı olacaktır. Çapraz okuma veya bir kategori yaklaşımının kullanılması durumunda, yeterli gerekçelendirme sağlanmalıdır (ECHA'nın çapraz okuma değerlendirme çerçevesi (RAAF) hakkında daha fazla bilgi için bkz. <http://echa.europa.eu/support/grouping-of-substances-and-read-across>). Cilt hassasiyeti için mevcut ve uygun (Q)SAR modellerinin kullanılması da tavsiye edilir. Madde metabolizması ve/veya abiyotik dönüşümün (örneğin, kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) yeni kimyasal türlerin oluşumuna yol açması durumunda, QSAR Araç Kutusu kullanılması, kullanılabilir ilgilili verilerin bulunmasında yardımcı olabilir.

c) Hayvan dışı test yaklaşımı/yaklaşımları kullanıldığında, bu maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretip üretmediğinin (Kat. 1A veya değil) varsayılabilirliği dahil olmak üzere cilt hassasiyeti sonlanma noktasında sonuca varmak için, 7a ila 7c ögelerinde belirtilen yeterli sayıda anahtar olayı ele almak üzere bilgi üretilmesi gerekir (Basketter ve ark., 2015b). Örneğin, nicel yapı aktivite ilişkilerinden elde edilen ek bilgiler ulaşılan sonuçları desteklemek için kullanılabilir. Anahtar olaylardan birinin değerlendirilmesinden elde edilen bilgiler, bir sonraki en uygun *in chemico/in vitro* testi seçmek için kullanılabilir.

d) Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), T hücresi çoğalmasını almak için doğrulanmış veya kabul görmüş *in vitro* test yöntemleri bulunmamaktadır. Gelecekte, *in chemico/in vitro* test yöntemleri alanında, kabul gören ve/veya doğrulanmış test yöntemlerinin sınırlamalarını ele alabilen ve halihazırda elde edilen sonuçlara daha fazla güven sağlayabilen gelişmeler meydana gelebilir.

e) Sınıflandırma/sınıflandırmama konusunda bir sonuca varmak için aşağıdaki sorular ele alınmalıdır:

i) Kanıtlar, maddenin bir cilt hassaslaştırıcısı olmadığı sonucuna varmayı sağlıyor mu? Eğer öyleyse, sınıflandırmama sonucuna varılır.

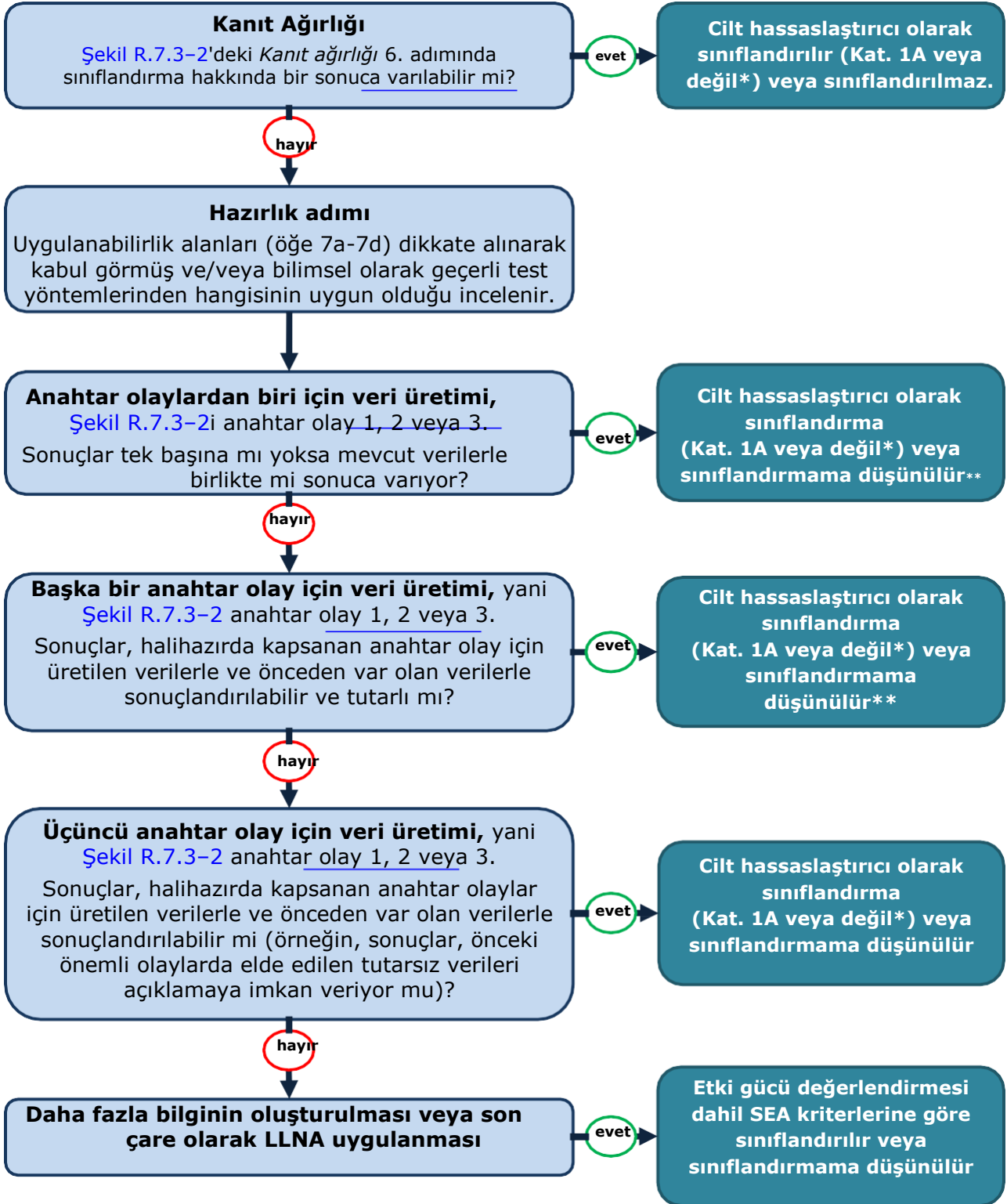
ii) Kanıtlar, maddenin insanlarda önemli hassasiyet oluşturduğunun (Kat. 1A) varsayılma sonucuna olanak tanıyor mu? Eğer öyleyse, buna göre sınıflandırılır.

iii) Kanıtlar, maddenin bir cilt hassaslaştırıcısı olduğu ve insanlarda önemli hassasiyetin (Kat. 1A) **dışlanabileceği** sonucuna varmayı mümkün kılıyor mu? Eğer öyleyse, maddenin orta derecede bir cilt hassaslaştırıcısı olduğu (Kat. 1B) varsayılır ve buna göre sınıflandırılma önerilir.

Bu koşullardan hiçbirinin karşılanmaması durumunda (örn. Kat. 1A dışlanmadığında), *in vivo* testler son çare olmak üzere daha fazla test yapılması gerekir.

f) Not: LLNA çeşitleri için (yani B.50/OECD Test Rehberi 442A ve B.51/442B), şu anda cilt hassaslaştırma etki gücünü tahmin etmek üzere SEA kriteri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, doz-cevap ilişkisi bilgisi, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı içinde kullanılabilir. Yeni *in vivo* verilerin oluşturulması gerektiğinde, mümkünse B.42/OECD Test Rehberi 429'a göre "standart" LLNA kullanılması önerilir.

Farklı Anahtar olaylara ilişkin bilgilerin nasıl kullanılacağına dair genel bir bakış aşağıdaki [Şekil R.7.3-3](#)'te verilmiştir.



* Hassaslaştırıcı bir madde için, insanlarda önemli hassasiyeti dışlamak için yeterince güvenilir bir sonuca varılabiliyorsa (Kat. 1A), maddenin orta derecede cilt hassaslaştırıcı olacağı varsayılır (Kat. 1B).

** Anahtar olaylardan biri için üretilen verilere dayalı olarak "sınıflandırmama" ile sonuçlandırma, ancak sonucu destekleyecek ilave bilgiler mevcut olduğunda mümkündür.

Şekil R.7.3-3 Test ve Değerlendirme Stratejisinin Görünümü - Önemli olaylarda veriler nasıl kullanılır. Not: anahtar olayların sırası belirtilmemiştir ve uygun şekilde düzenlenebilir

İnsan verileri ile karşılaştırıldığında mevcut *in vivo* ve hayvan dışı testlerin tahmin kapasitesi

Bilimsel literatürde, hayvan dışı test yaklaşımlarının öngörülebilirliği konusunda farklı yaklaşımlar sunulmuştur (bkz. "Hayvan dışı yaklaşımlara dayalı *Kanıt Ağırlığı* analizi nasıl yapılır ve raporlanır" hakkındaki aşağıdaki Paragraf). Örn.: Urbisch ve ark. (2015), LLNA'nın ve hayvan dışı (*in chemico/in vitro*) test stratejilerinin insanlarda cilt hassaslaştırıcılarına yönelik tahmin kapasitesini karşılaştırmıştır. Yazarlar, insanlarda LLNA karşısında geçmişteki tahmin testleri için tahmin doğruluğunun %82, hassasiyetin (gerçek pozitif oran) %91 ve özgüllüğün (gerçek negatif oran) %64 olduğunu göstermiştir. Birlikte kullanılan hayvan dışı test yöntemleri için doğruluk %90, hassasiyeti ve özgüllük %90 (n ~ 100 madde) olmuştur. Verilerin doğası sadece kısmen açıklanmış ve bu veriler bağımsız olarak değerlendirilmemiş olsa da, *in chemico* ve *in vitro* yöntemler birlikte kullanıldığında, insan verilerini tahmin etme kapasitelerinin insanlar için hassaslaştırıcıların ve hassaslaştırıcı olmayan maddelerin tanımlanmasında LLNA ile karşılaştırılabilir görüldüğüne dair bazı göstergeler vardır (yani, Kat. 1 karşısında sınıflandırılmamış maddeler). Ancak, bireysel testler kendi başlarına LLNA kadar hassas değildir.

Hayvan dışı test yöntemlerinin metabolik kapasitesinin eksikliği veya sınırlı olması ile nasıl başa çıkılır

In chemico Doğrudan Peptit Reaktivite Testinin herhangi bir metabolik kapasitesi yoktur ve *in vitro* KeratinosenTM testi ve h-CLAT testi, test sistemlerinde yalnızca sınırlı metabolik kapasiteye sahiptir. Metabolik kapasitenin olmaması veya sınırlı olması nedeniyle, bu test yöntemleri, hassaslaştırıcı etkinliklerini göstermeleri için metabolik aktivasyon gerektiren hassaslaştırıcıları doğru şekilde tanımlayamayabilir ve bu nedenle yanlış negatif sonuçlar verebilir. Yukarıdaki hayvan dışı test yöntemleri, özellikle yavaş oksitleme oranları durumunda, abiyotik dönüşüm gerektiren maddeler için (örn., kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) yanlış negatif sonuçlar da sağlayabilir. Pre-haptenlerin doğru bir şekilde tanımlanamaması sorunu yalnızca *in chemico/in vitro* yöntemlerle ilgili değildir, aynı zamanda *in vivo* testlerde de ortaya çıkabilir. Şu anda, pro-haptenlerin daha iyi tanımlanması için (Merckel ve ark., 2013) *in chemico* Doğrudan Peptit Reaktivite Testinin bir değişikliği geliştirilmektedir (Peroksidaz Peptid Reaktivite Testi (PPRA)), ancak bu testin katma değerini değerlendirmek için çalışmalar devam etmektedir.

2015 yılında yapılan EURL ECVAM uzman toplantısı vesilesiyle hayvan dışı test yöntemlerinin pro- ve pre-haptenleri tespit etme kabiliyetine ilişkin bir analiz gerçekleştirilmiş ve bir grup uzmanla tartışılmıştır (Casati ve ark., 2016).

Uzmanlar, pro-hapten olduğuna inanılan maddelerin çoğunun aslında aynı zamanda pre-hapten (örn. geraniol) olduğunu belirtmiştir. Dolaylı etkili haptenlerin çoğunluğunun, genellikle DPRA ve hücre bazlı testlerle tanımlanan pre-haptenler olduğu da kaydedilmiştir. Yavaş oksitleyicilerde doğru bir şekilde tanımlanmayan bir sorun kaydedilmiştir, ancak tanımlanmaları *in vivo* test yöntemleri kullanılarak da başarısız olacaktır. DPRA tarafından tanımlanmayan, yalnızca pro-hapten olan maddeler, genellikle hücre bazlı testlerden biri (bunların çoğunu h-CLAT tespit eder) tarafından doğru şekilde tanımlanmıştır. Analizin sonucu, hayvan dışı test yöntemleri kullanılarak, lokal lenf düğümü testiyle karşılaştırılabilir bir cilt hassaslaştırıcılığı zararlılık tahmini elde edilmesidir. Uzman grubu, bu analizin ışığında, bir maddenin münhasıran metabolik olarak aktive edilen bir pro-hapten olabileceğine dair ikna edici bir bilimsel savunma olmadıkça, hayvan dışı test yöntemlerinden elde edilen negatif sonuçların kabul edilebilir olarak görülebileceği sonucuna varmıştır. TIMES-SS veya OECD QSAR Araç Kutusu gibi *in silico* araçlar bu tür tartışmaları desteklemek için kullanılabilir.

Bu belirsizlikler nedeniyle, mevcut tüm toksikokinetik bilgilerin değerlendirilmesi (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7c, Bölüm R.7.12) ve metabolik veya abiyotik dönüşüm (örn., kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) bilgisinin olmamasını kısmen kapsayabilecek OECD QSAR Araç Kutusu veya TIMES-SS gibi hesaplama araçlarının çalıştırılması şiddetle tavsiye edilir.

Bununla birlikte, kullanıcı, metabolik aktivasyon veya abiyotik dönüşümün (örn. kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) meydana gelme olasılığını dışlamak için yalnızca bu araçlardan elde edilen sonuçlara güvenmemelidir. Bu yazılımlar, maddelerin (cilt) metabolizmasını ve abiyotik dönüşümünü (örneğin, kendiliğinden oksitleme veya hidroliz) taklit etmek için modüllere sahiptir. TIMES-SS şu anda örneğin hidrolizi cilt hassaslaştırıcılığı sonlanma noktasıyla birleştiren bir cilt hassasiyeti modeline sahip değildir. Maddenin hassaslaştırıcı olmadığı tahmin ediliyor ancak temsil edilen metabolitler veya ürünler pozitif deneysel verilere sahipse veya cilt hassaslaştırma uyarılarını tetikliyorsa, sonuncu belirtilen hassasiyetten sorumlu olabilir. Temsil edilen metabolitler özel bir değerlendirmeye ihtiyaç duyar ve yeni deneysel verilerin oluşturulmasını gerektirebilir. Diğer araçlar (örn. Derek Nexus), cilt hassasiyeti için uyarı geliştirmede metabolik dönüşüm bilgisini birleştirir (örn. hidrokinon ve öncüler).

Diğer sonlanma noktalarından (örn. *in vitro* mutajeniteden) elde edilen deneysel verilerin, hayvan dışı test yöntemlerinden elde edilen cilt hassasiyetine ilişkin sonuçları desteklemek için ek bilgiler sağlayabileceği öne sürülmüştür. Potansiyel metabolit oluşumunu değerlendirmek için *in vitro* mutajenite testi sonuçlarını kullanma yaklaşımı bağımsız bir incelemeden geçmemiştir ve daha fazla deneyim kazanılması gerekmektedir. Bununla birlikte, metabolik koşullar altında maddenin potansiyel elektrofilik reaktivitesi hakkında bazı yararlı bilgiler sağlayabilir (Patlewicz ve ark., 2010). *In vitro* mutajenite çalışmalarından elde edilen bilgiler, hesaplama araçlarıyla birlikte kullanıldığında *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinde yararlı bilgiler sağlayabilir; bu da, *in chemico/in vitro* test yöntemlerinden elde edilen sonuçları destekleyebilir veya daha fazla test gerekliliğini tetikleyebilir.

Kategori yaklaşımını desteklemek için hayvan dışı verilerin (örn. *in vitro* yöntemler) kullanılması

KKDİK bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için bir kategori yaklaşımının kullanılması ve verilerin yalnızca bazı kategori üyeleri için mevcut olması durumunda, örn. *in chemico/in vitro* test yöntemleri kullanılarak veri oluşturulması, bu sonlanma noktası için kategori yaklaşımını desteklemek için kullanılabilir. Bu, özellikle bir (veya daha fazla) hayvan dışı test yönteminden cilt hassasiyeti potansiyeli (veya bunun olmaması) üzerine benzer sonuçlar elde edildiğinde geçerlidir. Uygulamada, çapraz okumanın hedef maddesi için yalnızca bir veya iki *in chemico/in vitro* test gerçekleştirmek mümkün olabilir. Çelişkili sonuçların olması durumunda, neden oluştuklarını değerlendirmek önemlidir: bunun nedeni, belirli bir maddenin, kaliteli hayvan ve/veya insan verilerine sahip kategori üyelerinden farklı hassaslaştırıcı özellikleri nedeniyle kategoriye ait olmaması veya maddenin belirli hayvan dışı testin uygulanabilirlik alanına uymaması olabilir. Bu durumlarda, maddenin cilt hassaslaştırıcı potansiyelini değerlendirmek için *in vivo* testler gerekebilir.

Bir kategori yaklaşımı uygulandığında, verilerin kategori üyesi maddelerden kaliteli hayvan ve/veya insan verileri bulunmayan hedef maddeye kadar neden çapraz okuma yapılabileceğini her zaman gerekçelendirmek önemlidir. Gerekçe aynı zamanda sonlanma noktasına özgü olmalıdır.

Bir kategorinin nasıl oluşturulacağı ve raporlanacağına dair tavsiyeler ECHA web sitesinde bulunabilir: <http://echa.europa.eu/support/grouping-of-substances-and-read-across>.

Alt kategorilere ayırma

Ek 7, bölüm 8.3'e göre, maddenin bir cilt hassaslaştırıcı mı yoksa hassaslaştırıcı mı olduğunun değerlendirilmesine ek olarak, cilt hassaslaştırıcı maddelerin etki gücü (Kat. 1A veya değil) ele alınmalıdır. Maddenin *in vitro/in chemico* test sonuçlarına göre cilt hassaslaştırıcı olarak tanımlanması ve bu sonuçların, maddenin insanlarda önemli bir hassasiyet oluşturma potansiyeline sahip olmadığına dair yeterince güvenilir bir sonuca izin vermesi durumunda, maddenin orta derecede cilt hassaslaştırıcı (Kat. 1B) olacağı varsayılabilir. Bir *in vivo* çalışmadan elde edilen bilgilerin mevcut olması durumunda, etki gücü değerlendirmesini mümkün kılmıyorsa, bu bilgiler yine de bu sonlanma noktası için KKDİK bilgi gerekliliğini karşılamak üzere kullanılabilir. Bununla birlikte, cilt hassaslaştırıcı maddeler için, diğer kaynaklardan elde edilen mevcut bilgilerin ek olarak dikkate alınması önerilir (örn. yeterli sınıflandırma ve risk değerlendirmesini sağlamak için çapraz okuma ve QSAR veya yeni hayvan dışı test verilerinin oluşturulması).

Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), hayvan dışı verileri yeterli bir hassasiyet potansiyeli sınıflandırmasında birleştirmek için yaygın olarak kabul edilen bir yaklaşım yoktur. Etki gücü tahmini için bazı yaklaşımlar önerilmiştir (bkz. [Ek R.7.3-4](#)). LLNA (B.42/OECD Test Rehberi 429), etki gücü tahminine ve Özel Konsantrasyon Sınır Değerlerinin ayarlanmasına izin verir, ancak ICCVAM (2011) tarafından LLNA verilerinin insana kıyasla gerçekleştirilen geçmişe yönelik bir analizi, analiz edilen 27 güçlü hassaslaştırıcı maddenin yaklaşık yarısının < %2'lik bir EC3 kesme değerine göre yetersiz sınıflandırıldığını göstermiştir. Diğer *in vivo* test yöntemlerinin ya sınırlamaları vardır ya da etki gücünü tahmin edemezler (daha fazla ayrıntı için bkz. [Bölüm R.7.3.5.1](#) "Hayvan verileri").

Mevcut ve yeni oluşturulan tüm bilgilerin, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı dahilinde etki gücü değerlendirmesi için dikkatlice ele alınması gerekir⁶⁹. Bu, cilt hassaslaştırıcı bir madde içeren bir karışımın sınıflandırılması için özellikle önemlidir, çünkü etki gücü değerlendirmesi, hassaslaştırıcı bir madde içeren karışımların sınıflandırılması için uygulanacak konsantrasyon sınırlarının temelidir. Bu nedenle, bir maddenin cilt hassaslaştırıcı potansiyeline dayalı olarak, karışımın sınıflandırılması için farklı konsantrasyon sınırları uygulanacaktır: örn. Kat. 1 ve Kat. 1B için genel konsantrasyon sınırı (GCL) %1, Kat. 1A (güçlü) için GCL %0.1 ve çok güçlü (aşırı) hassaslaştırıcılar için %0.001 (veya daha düşük) SCL önerilir (bkz. *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi*, Bölüm 3.4). Kısacası, etki gücü hakkında bilgi eksikse, bu, güçlü hassaslaştırıcılara sahip karışımların karışımın zararlılığını yansıtan bir şekilde sınıflandırılmayacağı bir duruma yol açacaktır. Bu, mevcut duruma kıyasla güvenlik seviyesinin düşürülmesi anlamına gelir ve bu da, güçlü hassaslaştırıcılara karşı insan hassasiyetinin artmasına neden olabilir. Şu anda, hayvan dışı test yöntemleri her zaman etki gücü tahmini hakkında yeterli bilgi sağlamayabilir.

Bu nedenle, Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi bir maddeye ilişkin KKDİK bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için, hayvan dışı test yöntemlerinden elde edilen veriler (*in chemico/in vitro*) maddenin bir cilt hassaslaştırıcı olup olmadığı ve insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline sahip olduğunun (Kat. 1A) varsayıp varsayılamayacağı konusunda sonuca varılmasına izin vermelidir. *In vitro/in chemico* yöntemlerinden elde edilen sonuçlara dayalı olarak bir sonuca varılamaması durumunda, ek mevcut bilgiler, örneğin benzer maddeler için lokal lenf düğümü testinden elde edilen veriler, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir ve cilt hassaslaştırıcı potansiyeli (Kat. 1A veya değil) hakkında bir sonuca varılmasına veya sınıflandırmama sonucuna varılmasına yardımcı olabilir. Maddenin güçlü bir hassaslaştırıcı olabileceğine ilişkin bazı kanıtlar olmasına rağmen (örn. peptid reaktivitesinden) cilt hassasiyet etki gücü (Kat. 1A veya değil) hakkında kesin bir sonuca varılamaması durumunda, ihtiyati şekilde Kat. 1A sınıflandırması düşünülebilir.

Cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünün göstergelerini sağlamayı amaçlayan farklı yaklaşımların bir incelemesi [Ek R.7.3-4](#)'te verilmektedir. Bununla birlikte, hayvan dışı yaklaşımlara dayanılarak etki gücü karakterizasyonunun eksikliğini ele almaya yönelik çalışmalar halen devam ettiğinden (örneğin Reisinger ve ark., 2015), kayıt ettirene bu alandaki son ve gelecek gelişmeleri takip etmesi tavsiye edilir. Kayıt ettirene ayrıca test yöntemleri ve alternatifleriyle ilgili ECHA web sayfasındaki tüm güncellemeleri takip etmesi önerilir (bkz. <http://echa.europa.eu/support/oecd-eu-test-guidelines>).

Güvenilir ve ilgili insan verileri mevcut olduğunda, cilt hassaslaştırıcı maddelerin SEA Yönetmeliğine göre alt kategoriler halinde sınıflandırılması için de kullanılabilirler (daha fazla bilgi için, bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.4.2.2.3.1)

⁶⁹ Ek 11, bölüm 1.2 anlamında resmi *Kanıt Ağırlığı* sunulmasına gerek olmasa bile, Ek 7, 8.3.1'deki bilgi gerekliliğinin yerine getirilmesi için, üç anahtar olaydan elde edilen bilgilerin bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında dikkate alınması gerekir (Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi daha az anahtar olaydan veriler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece).

Hayvan dışı yaklaşımlara dayalı bir Kanıt Ağırlığı analizi nasıl yapılır ve raporlanır

Ek 11, bölüm 1.2 anlamında resmi Kanıt Ağırlığı sunulmasına bu durumda gerek olmasa bile, Ek 7, 8.3.1'deki bilgi gerekliliğinin yerine getirilmesi için, üç anahtar olaydan elde edilen bilgilerin bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımında dikkate alınması gerekir (Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi daha az anahtar olaydan veriler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece). *In chemico/in vitro* olarak kullanılan yaklaşım, cilt hassasiyeti için OECD olumsuz etki oluşum yollarına ve anahtar olaylarına dayanmaktadır (OECD, 2012). Lokal lenf düğümü testinde 1 ila 4 arasındaki anahtar olayların ele alındığı, çünkü biyolojik cevabın, yani cilt hassasiyetinin başlamasının bu anahtar olayların kademeli yapısından kaynaklandığı kabul edilmektedir. Bu nedenle, Kanıt Ağırlığı yaklaşımında bu anahtar olaylar mümkün olduğu ölçüde ele alınmalıdır. Şu anda, her biri olumsuz etki oluşum yollarının belirli bir anahtar olayını ele alan üç *in chemico/in vitro* test, OECD tarafından kabul görmüş ve EURL ECVAM tarafından onaylanmıştır.

Ek 7, bölüm 8.3.1'de belirtildiği gibi, bir veya iki temel olayı ele alan test yöntemi/yöntemlerinden elde edilen bilgiler, Ek VII, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi sınıflandırmaya ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermedikçe, üç anahtar olay bir *in chemico/in vitro* test tarafından kapsanmalıdır. Bir veya daha fazla anahtar olay hakkında bilgi örneğin (Q)SAR veya çapraz okuma ile sağlanırsa, Ek 11 uyarlamaları kullanılmalıdır (Ek 11, 1.2 - Kanıt Ağırlığı, Ek 11, 1.5 - çapraz okuma). Mevcut bilgilere dayanarak, *in chemico* veya *in silico* yöntemlerle elde edilmiş, peptid reaktivitesinden elde edilen bilgilerin en yüksek tahmin gücünü gösterdiği ve cilt hassasiyetinin genel değerlendirmesine daha fazla ağırlık sağlayabileceği belirtilmelidir (Natsch ve ark., 2012, Urbisch ve ark., 2015). Şu anda, dördüncü anahtar olayı, yani lenfosit çoğalmasını kapsayacak bilimsel olarak geçerli veya uluslararası kabul görmüş bir *in vitro* yöntem bulunmamaktadır. Uygun bir hayvan dışı test yöntemin (örn. *in vitro* yöntem) kullanılabilir hale gelmesi durumunda, bu genel Kanıt Ağırlığı yaklaşımına daha fazla ağırlık getirebilir. Bununla birlikte, *in chemico/in vitro* yöntemlerin/diğer bilgi türlerinin farklı kombinasyonlarının tahmin gücüne ilişkin mevcut çalışmalar, zararlılığın tanımlanması (Kat. 1 karşısında hassaslaştırıcı olmayan) için iyi bir tahmin gücünün ilk üç anahtar olayı kapsayarak elde edilebileceğini göstermektedir (Hirota ve ark., 2015; Maxwell ve ark., 2014; Patlewicz ve ark., 2014; Takenouchi ve ark., 2015; Tsujita-Inoue ve ark., 2014; Urbisch ve ark., 2015; Van der Veen ve ark., 2014): Hayvan dışı test yöntemlerinin birlikte halinde kullanılması, insanlar için hassaslaştırıcıların ve hassaslaştırıcı olmayan maddelerin (Kat. 1 karşısında sınıflandırılmamış) tanımlanmasında LLNA ile karşılaştırılabilir gibi görünmektedir. Ancak, bireysel testler kendi başlarına LLNA kadar hassas değildir.

In chemico/in vitro çalışmalar, cilt hassasiyeti için bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere Ek 7 Bölüm 8.3.1'de belirtildiği gibi kullanıldığında, kayıt ettiren, bir Kanıt ağırlığı yaklaşımında kullanılan *in chemico/in vitro* verilerin neden ve nasıl bilgi gereksinimini karşılayabileceğine dair olguya özel bir gerekçe sağlamalıdır⁷⁰. Bu Kanıt Ağırlığı gerekçesinde, örn. **anahtar olayların** kapsamı (bkz. yukarıda "Cilt hassasiyeti için test ve değerlendirme stratejisi"), verilerin kalitesi ve güvenilirliği, kullanılan her test yönteminin kapsamı ve sınırlamaları dikkate alınmalıdır.

Tüm kanıtlar bir araya getirildiğinde, kanıtların tutarlılığı ve verilerin eksiksizliği değerlendirilmelidir. Kanıt Ağırlığına ilişkin diğer hükümler, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.4, Bölüm R.4.4 ve SEA Yönetmeliği Madde 11 (3) içerisinde bulunabilir.

In chemico/in vitro sonuçlarda veya diğer verilerde, anahtar olayları kapsamak için kullanılan verilerin tutarsız olabileceği unutulmamalıdır.

⁷⁰ Ek 11, bölüm 1.2 anlamında resmi Kanıt Ağırlığı sunulmasına gerek olmasa bile, Ek 7, 8.3.1'deki bilgi gerekliliğinin yerine getirilmesi için, üç anahtar olaydan elde edilen bilgilerin bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımında dikkate alınması gerekir (Ek 7, bölüm 8.3'te belirtildiği gibi bir veya iki anahtar olayı ele alan test yöntemi/yöntemlerinden elde edilen bilgiler sınıflandırma ve risk değerlendirmesine halihazırda izin vermediği sürece).

Örneğin, cilt hassasiyeti için iki test/veri noktası negatif ve biri pozitif olabilir. Tutarsız veya gelişki veriler olması durumunda, bilimsel bir açıklama sağlanmalıdır. Açıklama, örneğin, maddenin bir cilt hassaslaştırıcısı olmak için metabolik aktivasyona ihtiyaç duyduğu ve test sisteminin gerekli metabolik yeterliliği olmadığı olabilir. Test maddesinin, kullanılan *in chemico/in vitro* yöntemlerden bir veya daha fazlasının uygulanabilirlik alanı/alanlarına girmemesi de olabilir. Çelişkili bilgiler/sonuçlar açıklanamazsa, kayıt ettirenin, maddenin cilt hassaslaştırıcı potansiyelinin tahminini desteklemek için daha fazla bilgi oluşturması/toplaması gerekecektir. Sonunda kayıt ettiren, tutarsız veya kesin olmayan veriler nedeniyle bu sonlanma noktasında sonuca varamazsa, bir LLNA gerçekleştirme ihtiyacı olabilir.

Yukarıdaki test ve değerlendirme stratejisinin 6. ve 8. öğelerinde (*Kanıt Ağırlığı* analizi) belirtildiği gibi, maddenin insanlarda önemli hassasiyet üretme potansiyeline (Kat. 1A veya değil) sahip olup olmadığının varsayılmasının bir değerlendirmesi dahil olmak üzere bir maddenin cilt hassaslaştırıcı potansiyelinin, mevcut verilere dayalı olarak uygun şekilde karakterize edilememesi durumunda, yeni verilerin oluşturulması gereklidir. Bu veriler, örneğin (Q)SAR, bir anahtar olaya özgü veriler (örn. *in chemico/in vitro*), çapraz okuma veya son çare olarak *in vivo* çalışma, yani LLNA olabilir. Lokal Lenf Düğümü Testinin her durumda gerçekleştirilmesi gereken durumlar, örneğin:

- Kayıt ettiren, benzer maddelerden ve/veya nicel yapı aktivite ilişkilerinden, maddenin güçlü veya aşırı cilt hassaslaştırıcı olabileceğini gösteren bazı mevcut bilgilere sahip olabilir ve *in chemico/in vitro* yöntemleri kullanarak ek bilgiler oluştursa bile, sınıflandırma ve etiketleme ve risk değerlendirmesi için yeterli sonuca varamayabilir,
- Test maddesi, cilt hassaslaştırıcılığı için *in chemico/in vitro* testlerin hiçbirinin uygulanabilirlik alanına girmiyor olabilir (Not: bir madde için bir test yönteminin uygunluğunun değerlendirilmesi, test başlatılmadan önce yapılmalıdır) veya
- *In chemico/in vitro* testlerin sonuçları tutarsızdır ve bu tutarsızlık bilimsel olarak açıklanamamaktadır veya
- Maddenin insanlarda önemli bir hassasiyet yaratma potansiyeline sahip olduğunun (Kat. 1A veya değil) varsayıp varsayılamamasının belirlenmesi, Ek 7, bölüm 8.3'te gerekli görülen, hayvan dışı test yaklaşımlarına göre mümkün değildir.

Test ve değerlendirme stratejisinin sonunda, elde edilen veriler, test yöntemlerinin seçiminin gerekçelendirilmesi, veri tutarlılığının analizi, zararlılığın tanımlanması ve SEA Yönetmeliğine göre sınıflandırılması hakkında varılan sonuç açık ve şeffaf bir şekilde raporlanmalıdır. Bir test ve değerlendirme stratejisine göre uygulanan yaklaşımın raporlanması için, bu Rehberde [Ek R.7.3-3](#)'te verilen ve Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin OECD Rehber Dokümanı Ek I'e (OECD, 2016a) dayanan şablonun kullanılması tavsiye edilir.

Her bir bilgi kaynağının KKS dosyasında ayrı bir sonlanma noktası çalışma kaydında raporlanması gerektiği unutulmamalıdır. Sonrasında, tüm bilgi kaynaklarını bir araya getiren *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, cilt hassasiyeti sonlanma noktası özetine eklenebilir.

SOLUNUM HASSASİYETİ

NOT: Solunum hassasiyeti KKDİK kapsamında standart bir bilgi gerekliliği değildir. Bununla birlikte, verilerin mevcut olması durumunda, bunlar teknik dosyaya dahil edilmeli ve ilgili yerlerde sınıflandırma ve etiketlemeyi desteklemek için kullanılmalıdır.

R.7.3.8 Solunum hassasiyeti mekanizmaları

Solunum yoluyla hassaslaştırıcı olan maddeler için, solunum hassasiyetine yol açan kesin mekanizmalarla ilgili hala belirsizlik vardır. Mevcut bilgilere dayanarak, hassaslaştırıcı maddenin solunması veya cilt yoluyla maruz kalınması yoluyla solunum hassaslaşması gerçekleşebilir (Redlich, 2010; Kimber *ve ark.*, 2015).

Mevcut hipotez, mekanizmanın, IL-4 ve IL-5 gibi sitokinlerin ve IgE antikorlarının üretimi ile karakterize edilen Th2-tipi bağışıklık cevaplarını (cilt hassasiyeti Th1-tipi cevabı tercih eder) desteklediğidir. Bu, kemirgenlerde yapılan çalışmalar ve insan kanitiyla desteklenmektedir (Adenuga *ve ark.*, 2012; Kimber *ve ark.*, 2014b; Helakoski *ve ark.*, 2015). Son zamanlarda, Th17 hücrelerinin IL-17 salgılanması yoluyla solunum hassasiyetinde de önemli bir rol oynayacağı varsayılmıştır (Lambrecht ve Hammad, 2013). Uygun özgünlükte serum IgE antikorları sergileyen hastalar olduğu, ancak diğer durumlarda (ve özellikle diizosiyanatlarla ilgili olarak), bu IgE antikorlarının tespit edilmesi mümkün olmayan semptomatik denekler olduğu için IgE'nin rolü belirsizliğin en büyük nedeni olabilir. IgE'den bağımsız solunum hassasiyetine yol açan bir mekanizma olabileceği veya bunun haptene özel IgE antikorlarının doğru ölçümlerindeki teknik zorluklarla bağlantılı olabileceği varsayılmıştır (Cochrane *ve ark.*, 2015).

İlave olarak, düşük moleküler ağırlıklı maddelere karşı solunum hassasiyeti için bir AOP şu anda OECD dahilinde geliştirilmektedir. Solunum hassasiyeti için önerilen Anahtar Olaylar şunlardır:

- Anahtar Olay 1: Maddelerin proteinlere kovalent bağlanması (not: mevcut bilgilere dayanarak, cilt hassaslaştırıcıları hem sisteine hem de lizine bağlanırken, lizin reaktivitesi için solunum hassaslaştırıcıların seçiciliği sisteine göre daha fazla görünmektedir (Lalko *ve ark.*, 2013a));
- Anahtar Olay 2: Hücresel tehlike sinyalleri (inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin ve sitokoruyucu gen yollarının (Th2) aktivasyonu);
- Anahtar Olay 3: Dendritik hücre aktivasyonu ve göçü (Th2 çarpık);
- Anahtar Olay 4: T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalması (Th2) (Mekenyan *ve ark.*, 2014 ve Sullivan *ve ark.*, 2015).

R.7.3.9 Solunum hassasiyeti üzerine bilgi kaynakları

R.7.3.9.1 Solunum hassasiyeti üzerine insan dışı veriler

Solunum hassasiyeti üzerine test dışı veriler

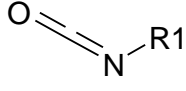
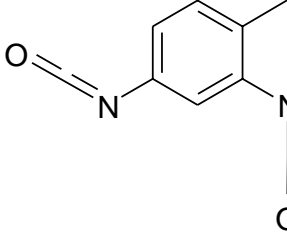
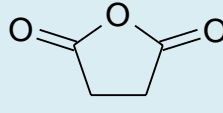
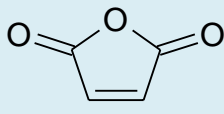
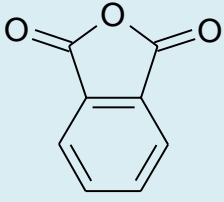
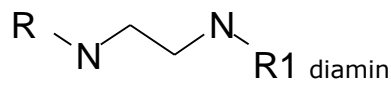
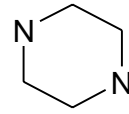
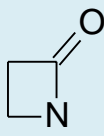
Solunum hassasiyetini modelleme girişimleri, kimyasal solunum hassasiyetini değerlendirmek için öngörücü bir test protokolünün olmaması nedeniyle engellenmiştir. (Q)SAR modelleri mevcuttur, ancak bunlar büyük ölçüde insanlarda solunum aşırı hassasiyetine neden olduğu bildirilen maddelere ilişkin verilere dayanmaktadır. Bazı yapısal uyarıların örnekleri [Tablo R.7.3-3](#)'te gösterilmektedir.

Agius ve ark. (1991) mesleki astıma neden olan maddelerin kimyasal yapısına ilişkin nitel gözlemlerde bulunmuştur. Bu çalışma, en az iki reaktif grup (örn. etilen diamin ve toluen diizosiyanat) içeren kimyasal astım ajanlarının büyük oranda olduğuna dikkat çekmiştir. Daha önceki çalışmayı, benzer sonuçlarla birlikte, aktiviteyle ilişkili yapısal parçaların oluşumunun basit bir istatistiksel analizi izlemiştir (Agius ve ark., 1994 ve 2000).

MCASE grubu, solunum aşırı hassasiyeti için üç model geliştirmiştir (Karol ve ark., 1996; Graham ve ark., 1997, Cunningham ve ark., 2005). Danimarka (Q)SAR Veri Tabanı, tahminlerin çevrimiçi veri tabanından (erişim adresi: <http://qsar.food.dtu.dk/>) alınabildiği, solunum aşırı hassasiyeti için kurum içi bir modele sahiptir. Derek Nexus, bir dizi solunum hassaslaştırıcı/astım ajanından türetilen birkaç uyarı içerir (Payne ve ark., 1995).

Yapısal uyarılar (SAR) prensipte şeffaftır ve uygulanması kolaydır. Solunum hassasiyetiyle ilgili yapısal uyarılar toplanmış ve literatürde açıklanmıştır (Agius ve ark., 1991, 1994 ve 2000; Payne ve ark., 1995). Bununla birlikte, bunların kimyasal astım ajanlarından, yani immünolojik mekanizmalarla veya immünolojik mekanizmalar olmaksızın astım benzeri semptomlara neden olan maddelerden türetildiği ve özellikle kimyasal solunum alerjenlerinden kaynaklanmadığı vurgulanmalıdır. Enoch ve ark. (2012), solunum hassasiyetine neden olma potansiyeli olan düşük moleküler ağırlıklı organik maddeler için bir dizi mekanizmaya dayalı yapısal uyarı geliştirmiştir. Kapsamlı bir öngörücü test yöntemi mevcut olacağı zaman, yeni nicel yapı aktivite ilişkilerinin geliştirilme ihtiyacı devam etmektedir.

Tablo R.7.3–3 Solunum hassasiyeti için yapısal uyarı örnekleri

Yapısal Uyarı Açıklaması	Yapı örnekleri
 <p>izosiyanat</p>	 <p>O Toluen-2,4-diizosiyanat</p>
 <p>siklik anhidrit</p>	 <p>maleik anhidrit</p>  <p>trimellitik anhidrit</p>
 <p>diamin</p>	 <p>piperazin</p>
 <p>β-laktam</p>	<p>Penisilin ve sefalosporin gruplarından bazı β-laktam antibiyotikler</p>

İnsanlarda solunum hassasiyeti mekanizması ve solunum hassasiyetine özgü yapısal uyarıların tanımlanması üzerine yapılan son çalışmalar, Enoch ve ark. (2009, 2010, 2012 ve 2014) çalışmalarında tanımlanmıştır. Bu makalelerde, yazarlar, düşük moleküler ağırlıklı solunum hassaslaştırıcıları için ortak bir moleküler başlatıcı olayı ve mekanizmasını araştırmış (akciğerde kovalent bir bağ oluşumu olduğu bulunmuştur) ve bulgularını çapraz okuma ile solunum hassasiyetini tahmin etmek için uygulamıştır. Yazarlar, akciğerde kovalent protein bağlanması ile ilişkili kimyayı tanımlayan 52 yapısal uyarıdan oluşan bir set önermişlerdir. Her yapısal uyarı ayrıca bir mekanik alan ("mekanik uyarı") ve etkinin varlığını gösteren bazı verilerle karakterize edilir. Bu uyarıların çoğu (toplam 41), OECD QSAR Araç Kutusu (versiyon 3.3) profil oluşturucusu "Solunum hassasiyeti" içinde kodlanmıştır. Solunum hassasiyeti için kodlanmış yapısal uyarıların tam listesi, açıklama, uygulanabilirlik alanı, mekanizma, profil eğitim seti için kullanılan maddeler seti, profil/uyarı analizi ile birlikte OECD QSAR Araç Kutusu "dokümantasyon" özelliği altında mevcuttur. Bazı yapısal uyarı örnekleri, di-izosiyanatlar, anhidritler ve laktamlardır (örn. β-laktamlar). Dik ve ark. (2014) okuyucuya, farklı modeller/uyarıların nasıl değerlendirileceği ve kademeli bir yaklaşımda farklı pozitif ve negatif öngörü ile SAR kaynaklı öngörüü nasıl geliştirebileceği konusunda bazı güncel bilgiler vermektedir. Makale, solunum yolu hassaslaştırıcısı olarak kabul edilen maddeler hakkında derlenmiş veri setlerini (QSAR eğitim veri setleri, literatür verileri, mesleki astım verileri) içermektedir. Böylelikle, gruplama ve sonlanma noktasına özgü çapraz okuma verileri için bir analog kaynağı sağlayabilir.

Solunum hassasiyeti için test verileri

İn vitro veriler

Hassaslaşma sürecinin mekanizmalarının karmaşıklığından dolayı, solunum hassasiyetine özgü doğrulanmış veya yaygın olarak tanınan *in vitro* test yöntemleri henüz mevcut değildir. Bu, büyük olasılıkla, özellikle IgE antikorunun rolü ile ilgili olarak, altta yatan immünolojik mekanizmalarla ilgili hala birçok belirsizlik olması gerçeğinden kaynaklanmaktadır.

Solunum hassasiyetini değerlendirmek için bazı *in vitro* yöntemler yayınlanmıştır ve birkaç örnek verilmiştir:

- Birden çok sonlanma noktasını incelemek için 3D insan hava yolu epitel modelini kullanan Epithelix®'in MucilAir modeli, örn. hareketli kirpik izlemesi, trans-epitel elektrik direnci, sitotoksosite ve sitokin/kemokin salımı (Huang ve ark., 2013);
- Akış sitometrisi kullanarak miyeloid ve dendritik hücreler için ortak olan hücresel ekspresyon belirteçlerini ölçen Gen Alerjen Hızlı Tespit (GARD) testi (Forreryd ve ark., 2015);
- Peptit/protein bağlanma aşaması hem cilt hem de solunum hassaslaştırıcıları için benzer olduğundan, solunum hassaslaştırıcılarının tanımlanması için *in chemico* DPRA ve PPRA kullanımı da dikkate alınmıştır; ancak solunumsal hassaslaştırıcılarla ilgili mevcut bilgilere dayanarak, test edilen maddelerin çoğu için lizin reaktivitesi için sisteinden daha fazla bir seçicilik olduğu görülmektedir (Lalko ve ark., 2012; 2013a; 2013b).

Diğer test yöntemleri şu anda geliştirme aşamasındadır. Bu nedenle alandaki son gelişmelerin takip edilmesi önerilir.

Mevcut testlerin optimizasyonunda en alakalı sonlanma noktalarını belirlemek için hala çaba gösterilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, solunum hassasiyetinin ilgili mekanik adımlarını kapsayan birkaç *in vitro* testin bir test serisinde birleştirilmesi, sonuçta solunum hassaslaştırıcılarının tanımlanmasına yol açabilir. Solunum hassasiyeti için bir AOP geliştirmek üzere devam eden çabalar vardır.

Hayvan verileri

Şu anda, düşük moleküler ağırlıklı solunum alerjenlerini tespit etmek için bir dizi *in vivo* test protokolü yayınlanmış olmasına rağmen, bunların hiçbiri doğrulanmamıştır ve bunlar geniş çapta kabul görmemektedir. Modellerden bazıları aşağıda kısaca tartışılmıştır, ancak liste kapsamlı değildir.

- Bir model, farelerin ardışık 3 gün boyunca soluma yoluyla maruz kaldığı ve ardından boşaltıcı (mandibular) lenf düğümlerinde lenfosit çoğalmasının ölçüldüğü lokal lenf düğümü testine dayanmaktadır. Anhidritler ve diizosiyanatlar gibi bilinen solunum hassaslaştırıcılar bu modelde değerlendirilmiş ve bu testte de pozitif olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, test edilen maddelerin çoğu akciğerlerde lokal toksisite göstermiştir, bu nedenle lokal toksisite nedeniyle, cilt maruz kalmasına kıyasla genel olarak daha düşük dozlar uygulanabilir. Okumaya, yani stimülasyon indekslerine dayalı olarak, sonuçlar, solunum hassaslaştırıcı etki gücü hakkında bilgi verebilir (Arts ve ark., 2008).
- Diğer protokollerde, solunum hassasiyetiyle ilgili sitokin profillerini değerlendirmek ve ölçmek için LLNA tabanlı bir yöntem kullanılır.
- Bir protokolde, fareler cilt yoluyla maruz bırakılır, daha sonra boşaltıcı (auriküler) lenf düğümlerinden lenfositler toplanır ve kültürlenir ve sitokin tayini için hazırlanır (Dearman ve ark., 2002).

- Sitokin profilini değerlendirmenin başka bir yöntemi, farelerde soluma maruz kalmasını kullanır; burada hayvanlar, ardışık 3 gün boyunca soluma yoluyla maruz bırakılır, daha sonra lenfositler toplanır ve *ex vivo* çoğalmayı takiben sitokin profilinin belirlenmesi için hazırlanır (De Jong ve ark. , 2009; Johnson ve ark, 2011). Sitokin profillerinin değerlendirilmesine ek olarak, benzer bir fare modelinde gen ekspresyon profillerinin değerlendirilmesi, solunum hassaslaştırıcılarını solunum tahriş edicilerden ayırt etmede faydalı olabilir (Adenuga ve ark, 2012).
- Modellerden biri, solunum hassasiyetinin ortaya çıkmasının değerlendirildiği Kahverengi Norveç farelerine dayanmaktadır. Bu yöntem, diizosiyanatlar gibi bilinen solunum hassaslaştırıcıları değerlendirmek için kullanılmıştır. Bu modelde, sıçanlar soluma yoluyla ya da cilt yoluyla maruz kalma ile hassaslaştırılır, ardından hayvanlar soluma yoluyla zorlanır. Bu modelde ölçülen sonlanma noktaları, solunum yolu tahrişi, bronkoalveolar lavajın değerlendirilmesi, solunumla verilen nitrik oksit ölçümü ve solunum cevabının gecikmeli başlangıcıdır (Pauluhn, 2014).
- Nispeten basit bir başka yaklaşım, solunum yolunun hassaslaşmasını özel olarak tahmin etme (indüksiyondan sonra toplam serum IgE antikorlarındaki artışlar) amacını sağlayabilir. Bu yöntem, toplam serum IgE seviyesindeki istatistiksel olarak anlamlı artışlara dayanmaktadır (Arts ve Kuper, 2007; Kimber ve ark., 2011; Vandebriel ve ark., 2011).

İmmünolojik olmayan mekanizmalar yoluyla astımı tetikleyen maddeleri tespit etmek üzere şu anda hiçbir öngörü yöntemi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, hassaslaşmamış ancak zorlanmış kontroller dahil olmak üzere zorlama testleri gerçekleştirilirken, bu maddelerin immünolojik olmayan etkileri hakkında bilgi elde edilebilir.

R.7.3.9.2 Solunum hassasiyeti üzerine insan verileri

Solunum reaksiyonları (astım, rinit ve ekstrinsik alerjik alveolit) hakkındaki insan verileri çeşitli kaynaklardan gelebilir:

- tercihen profesyoneller tarafından takip edilen tüketici deneyimi ve yorumları (örn. bronşiyal provokasyon testleri, cilt delme testleri ve özel IgE serum seviyelerinin ölçümleri);
- çalışanların deneyimleri, kazalar ve tıbbi gözetim dahil maruz kalma çalışmalarının kayıtları;
- genel bilimsel ve tıbbi literatürdeki vaka raporları;
- tüketici testleri (anket ve/veya tıbbi gözetim yoluyla izleme);
- epidemiyolojik çalışmalar.

R.7.3.10 Solunum hassasiyeti üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.3.10.1 Solunum hassasiyeti için insan dışı veriler

Solunum hassasiyeti için test dışı veriler

Ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı (<http://www.qsartoolbox.org/>), solunum hassasiyetine özel bir profil oluşturucuyu (kurallar ve yapısal alanlar) kodlar. Profil oluşturucu, kullanıcıya, ortak yapısal uyarıları paylaşan ve muhtemelen çapraz okuma yoluyla solunum hassasiyeti potansiyelini tahmin eden maddelerin gruplandırılmasında destek sunar. Profil oluşturucunun mevcut versiyonu, solunum hassasiyeti için 41 yapısal uyarıyı kodlamaktadır.

Bu profil oluşturucunun, düşük moleküler ağırlıklı maddelerin solunum hassasiyeti potansiyelinin değerlendirilmesi için kullanılması amaçlanmıştır.

Profil oluşturucu, solunum hassasiyetinin ortaya çıkma aşamasına ait mekanik bilgilere dayanarak geliştirilmiştir ve böylece akciğerdeki proteinlere kovalent olarak bağlanabilen maddeleri tanımlar. Aktivitenin varlığı, pozitif tahminlerden tahmin edilebilir. Ancak, etkinin olmadığı uyarının olmamasından tahmin edilemez, çünkü uyarı eksikliği, etkisizlik veya bilgi eksikliğinden kaynaklanıyor olabilir.

Bu profil oluşturucu, yapısal uyarıların geliştirilmesi için mevcut sınırlı veriler nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır. Bunun nedeni, potansiyel solunum hassasiyetini belirlemeye uygun standartlaştırılmış bir testin (*in vivo* veya *in vitro*) olmamasıdır. Mevcut veriler, bazı vakalarda az sayıda maddeye dayalı olarak tanımlanan yapısal uyarılara neden olan mesleki astım klinik raporlarından alınmıştır. Bununla birlikte, tüm yapısal uyarıların kendileriyle ilişkili açık bir mekanik mantığı vardır (kovalent protein bağlanması açısından).

Solunum hassasiyetine ilişkin deneysel veriler OECD QSAR Araç Kutusu veritabanlarının ikisinde bulunabilir: "Cilt hassasiyeti ECETOC" ve ECHA Chem. Araç Kutusunda adı geçen "Cilt hassasiyeti ECETOC" veritabanı, hem cilt hem de solunum yolu hassaslaştırıcıları için veriler içerir.

Solunum hassasiyeti için test verileri

In vitro veriler

Şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte) solunum hassasiyetini değerlendirmek için bilimsel olarak geçerli veya kabul görmüş *in vitro* testler bulunmamaktadır. Literatürde birkaç *in vitro* test yöntemi açıklanmıştır; ancak, belirli bir test yönteminin daha geniş ölçüde kabulü için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bazı *in vitro* test yöntemleri Bölüm [R.7.3.9.1](#)'de açıklanmaktadır. *In vitro* yöntemlerin listesi tam değildir ve diğerleri mevcuttur. Bununla birlikte, mevcut test yöntemlerinin hiçbirisi bir doğrulama sürecinden geçmemiştir ve bu nedenle bu tür yöntemlerden elde edilen bilgileri ve bunların ilgi düzeyini değerlendirirken uzman görüşü ve dikkati gereklidir.

Hayvan verileri

Solunum hassasiyeti için yeni bilgilerin oluşturulması KKDİK Yönetmeliği uyarınca standart bir bilgi gerekliliği olmamasına rağmen, mevcut bilgiler değerlendirilmelidir. Solunum hassasiyetine ilişkin hayvan verilerinin mevcut olması durumunda, bu veriler değerlendirilmeli ve KKS dosyasına dahil edilmelidir.

Bölüm [R.7.3.9.1](#)'de açıklanan LLNA modeli/modellerine dayalı bilgiler, maddenin olası solunum hassasiyeti hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Çalışmalarda sitokin değerlendirmesinin kullanılması, Th2 tipi sitokinleri tanımlayarak faydalı bilgiler sağlayabilir. Ayrıca, sitokinlerin ve gen ifadelerinin değerlendirilmesi, solunum hassasiyeti ile solunum tahrişi arasında ayırım yapmaya çalışırken faydalı olabilir (Adenuga ve ark., 2012).

Solunum hassasiyetinin ortaya çıkmasını değerlendiren Kahverengi Norveç sıçan modeline dayalı bilgiler (bkz. Bölüm [R.7.3.9.1](#)), özellikle hassasiyeti destekleyen değişikliklerin ölçülen sonlanma noktasında belirlenmesi durumunda solunum hassasiyeti için ilgili bilgileri sağlayabilir. İlave olarak, bu test sistemindeki ortaya çıkış eşliğine ilişkin NOAEL için bazı göstergeler elde edilebilir (Pauluhn ve Poole, 2011; Pauluhn, 2014).

Ayrıca, hayvan modellerinde değişkenlik gözlemlenmiş olsa da kemirgen modellerinde serum IgE seviyelerinin ölçülmesi, solunum hassaslaştırıcıların tanımlanmasını destekleyebilir (Arts ve Kuper, 2007; Kimber ve ark., 2011, Vandebriel ve ark., 2011 ; Kimber ve ark. 2014b).

R.7.3.10.2 Solunum hassasiyeti üzerine insan verileri

Tahmine dayalı modeller doğrulama altında olsa da, solunum hassasiyetinin belirlenmesi için henüz uluslararası kabul görmüş bir hayvan yöntemi yoktur. Bu nedenle, insan verileri genellikle zararlılık tanımlamasına yönelik kanıtlardır. Solunum hassasiyetine ilişkin insan verilerinin mevcut olması durumunda, bu veriler değerlendirilmeli ve KKS dosyasına dahil edilmelidir.

İnsan çalışmaları, solunum aşırı hassasiyeti hakkında bazı bilgiler sağlasa da, veriler genellikle sınırlıdır ve insan cilt hassasiyeti verileriyle aynı kısıtlamalara tabidir.

Değerlendirme amacıyla, solunum hassasiyetine yönelik mevcut insan deneyimi verileri aşağıdakiler hakkında yeterli bilgi içermelidir:

- kullanılan test protokolü (çalışma tasarımı, kontroller);
- incelenen madde veya müstahzar (asıl ve ideal olarak, araştırılan zararlılığa sahip olabilecek tek madde veya müstahzar olmalıdır);
- maruz kalma derecesi (büyüklük, sıklık ve süre);
- etkilerin sıklığı (maruz kalan kişilerin sayısına karşı);
- sağlık etkilerinin kalıcılığı veya bulunmaması (nesnel tanımlama ve değerlendirme);
- karıştırıcı faktörlerin varlığı (örn. önceden var olan solunum sağlığı etkileri, ilaçlar; diğer solunum hassasiyetlerinin varlığı);
- grup büyüklüğü, istatistikler, belgelendirme açısından alaka düzeyi;
- sağlıklı çalışan etkisi.

Tanısal testlerden elde edilen cilt hassasiyeti aktivitesi kanıtı, test edilen maddeye karşı cilt hassasiyetinin indüksiyonunu veya kimyasal olarak çok benzer bir maddeyle çapraz reaksiyonu yansıtabilir. Her iki durumda da, normal sonuç, bunun, tanısal testte kullanılan maddenin cilt hassasiyeti aktivitesinin pozitif kanıtını sağlamasıdır.

Solunum hassasiyeti için, deneysel çalışmalar için klinik test protokolleri mevcut değildir, ancak kanıtlar klinik geçmişten ve maddeye maruz kalmayla ilgili uygun akciğer fonksiyon testlerinden elde edilen verilerden veya maddeyle yapılan bir veya daha fazla pozitif bronşiyal zorlama testinden elde edilen verilerden kaynaklı olabilir (bkz. SEA Yönetmeliği Bölüm 3.4.2.1.2.3). Test yukarıdaki genel kriterleri karşılamalıdır, örn. uygun kontroller dahil olmak üzere ilgili bir tasarıma göre yürütülmeli, ilaç kullanımı, sigara içme veya diğer maddelere maruz kalma gibi karıştırıcı faktörleri ele almalıdır. Ayrıca, solunum yolu tahrişi ve alerji belirtileri arasındaki ayırım çok zor olabilir. Bu nedenle, durum bazında değerlendirme için bu tür verilerin yararlılığını belirlemek üzere uzman görüşü gereklidir.

Bir maddeye mesleki olarak önemli ölçüde soluma yoluyla maruz kalmanın solunum alerjisi veya ilgili semptomların gelişmesine yol açmadığına dair kanıt varsa, o zaman maddenin solunum yolunda hassasiyet potansiyeline sahip olmadığı sonucuna varmak mümkün olabilir. Bu nedenle, örneğin, geniş bir gönüllü grubunun solunum belirtileri veya ilgili sağlık şikayetlerinin yokluğunda bir maddeye uzun süre düzenli olarak önemli ölçüde soluma yoluyla maruz kalma fırsatına sahip olduğuna dair güvenilir (örneğin, tıbbi gözetim raporları ile desteklenen) kanıtların olduğu durumlarda, bu bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı içinde solunum hassasiyeti zararlılığının olmadığına ilişkin güvence sağlayacaktır.

İnsan verilerinin Sınıflandırma ve Etiketleme amacıyla nasıl uygulanacağına ilişkin daha fazla bilgi [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.4.2.1.3.1 içerisinde bulunabilir.

R.7.3.11 Solunum hassasiyeti üzerine varılan sonuçlar

R.7.3.11.1 Solunum hassasiyeti için kalan belirsizlik

Bir maddenin alerjen olup olmadığının ve eğer öyleyse, onu solunum yolu hassaslaştırıcısı yapan faktörlerin anlaşılmasında büyük belirsizlikler devam etmektedir. Bir maddenin solunum aşırı hassasiyetine yol açabileceğine dair kanıt, normalde insan deneyimlerine dayanacaktır. Aşırı hassasiyet normalde astım olarak görülür, ancak rinit veya ekstrinsik alerjik alveolit gibi diğer aşırı hassasiyet reaksiyonları da dikkate alınır. Durum, bir alerjik reaksiyonun klinik karakterine sahip olacaktır. Bununla birlikte, immünolojik mekanizmaların SEA kriterlerine göre gösterilmesine gerek yoktur. Maddenin astım benzeri belirtileri yalnızca tahriş yoluyla tetiklediğine dair kanıt varsa, bu maddeler solunum yolu hassaslaştırıcısı olarak kabul edilmemelidir.

Mevcut bilgilere göre, tüm düşük moleküler ağırlıklı solunum hassaslaştırıcıları aynı zamanda cilt hassaslaştırıcısıdır (Kimber ve ark., 2007), ancak bu tersi durumda doğru değildir. Solunum hassasiyetine neden olan yüksek moleküler ağırlıklı maddeler vardır (örn. enzimler), ancak boyutları nedeniyle cilde nüfuz edemezler ve ciltte hassasiyet oluşturmazlar.

R.7.3.11.2 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

SEA Yönetmeliği, cilt hassaslaştırıcıların mümkün olduğunda alt kategorilere (yani 1A veya 1B) ayrılması gerektiğini belirtir. Verilerin alt kategorilere ayırma için yeterli olmaması durumunda, madde genel Kategori 1'de sınıflandırılmalıdır (daha fazla bilgi için bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.4).

R.7.3.11.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç: doz-cevap değerlendirmesi ve etki gücü

Hem cilt hassasiyeti hem de solunum aşırı hassasiyeti için doz-cevap ilişkilerinin var olduğuna dair kanıtlar vardır, ancak bunlar solunum aşırı hassasiyeti durumunda genellikle daha az iyi tanımlanmıştır. Daha önce maruz kalmamış bir denekte veya hayvanda hassasiyeti tetiklemek için gereken madde dozu, genellikle önceden hassasiyet yaşamış bir denekte bir reaksiyon ortaya çıkarmak için gerekenden daha fazladır. Bu nedenle, iki aşama için doz-cevap ilişkisi farklı olacaktır.

İmmünolojik olmayan mekanizmalarla solunum aşırı hassasiyetinin gelişmesinde doz-cevap ilişkileri hakkında çok az şey bilinmektedir veya hiçbir şey bilinmemektedir.

Sadece tek bir test malzemesi konsantrasyonunun incelendiği mevcut insan veya hayvan verilerinden doz-cevap bilgisi elde etmek sıklıkla zordur. İnsan verileriyle, maruz kalma ölçümleri, hastalık değerlendirilirken aynı anda alınmamış olabilir, bu da bir doz cevabını belirleme zorluğunu artırır.

Etki gücü tahmini

Solunum yolu hassasiyeti için etki gücü tahmini şu anda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte) yalnızca insan verilerine dayanmaktadır (bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.4.2.1).

DNEL türetilmesi

Solunum hassasiyetinin bir eşik etkisi (indüksiyon ve ortaya çıkarma) olduğu düşünülebilecek olsa da, şu anda mevcut yöntemler bir eşik belirlenmesine ve bir DNEL oluşturulmasına izin vermemektedir. Solunum yolları hassaslaştırıcıları için nitel bir güvenlik değerlendirmesinin nasıl yapılacağına dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım E, Bölüm E.3.4.2 ve Bölüm R.8 Ek R.8-10'da bulunabilir.

R.7.3.11.4 Ek hususlar

Kimyasal alerji, genel olarak solunum yolunun hassaslaşmasıyla (astım, rinit ve dışsal alerjik alveolit) ilişkili olarak tanımlanır. Mevcut bilgilere göre solunum hassasiyeti hem cilt hem de soluma yoluyla tetiklenebilir. Bu nedenle, risk yönetimi amaçları için her iki yoldan maruz kalmanın önlenmesi önemlidir.

Solunum yolu aşırı hassasiyetine yol açan bir maddenin kanıtı normalde insan verilerine dayandığından, her ikisinin de klinik semptomları benzer olduğu için solunum hassasiyetini solunum tahrişinden ayırt etmek zor olabilir.

R.7.3.12 Solunum hassasiyeti için değerlendirme stratejisi

R.7.3.12.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu değerlendirme stratejisinin amacı, solunum hassasiyeti sonlanma noktasına göre zararlılığın tanımlanmasına yönelik adım adım bir yaklaşım konusunda rehberlik sağlamaktır. Stratejinin temel ilkelerinden biri, bir çalışmanın sonuçlarının bir başkası başlatılmadan önce değerlendirilmesidir. Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanmasını sağlamayı amaçlamaktadır.

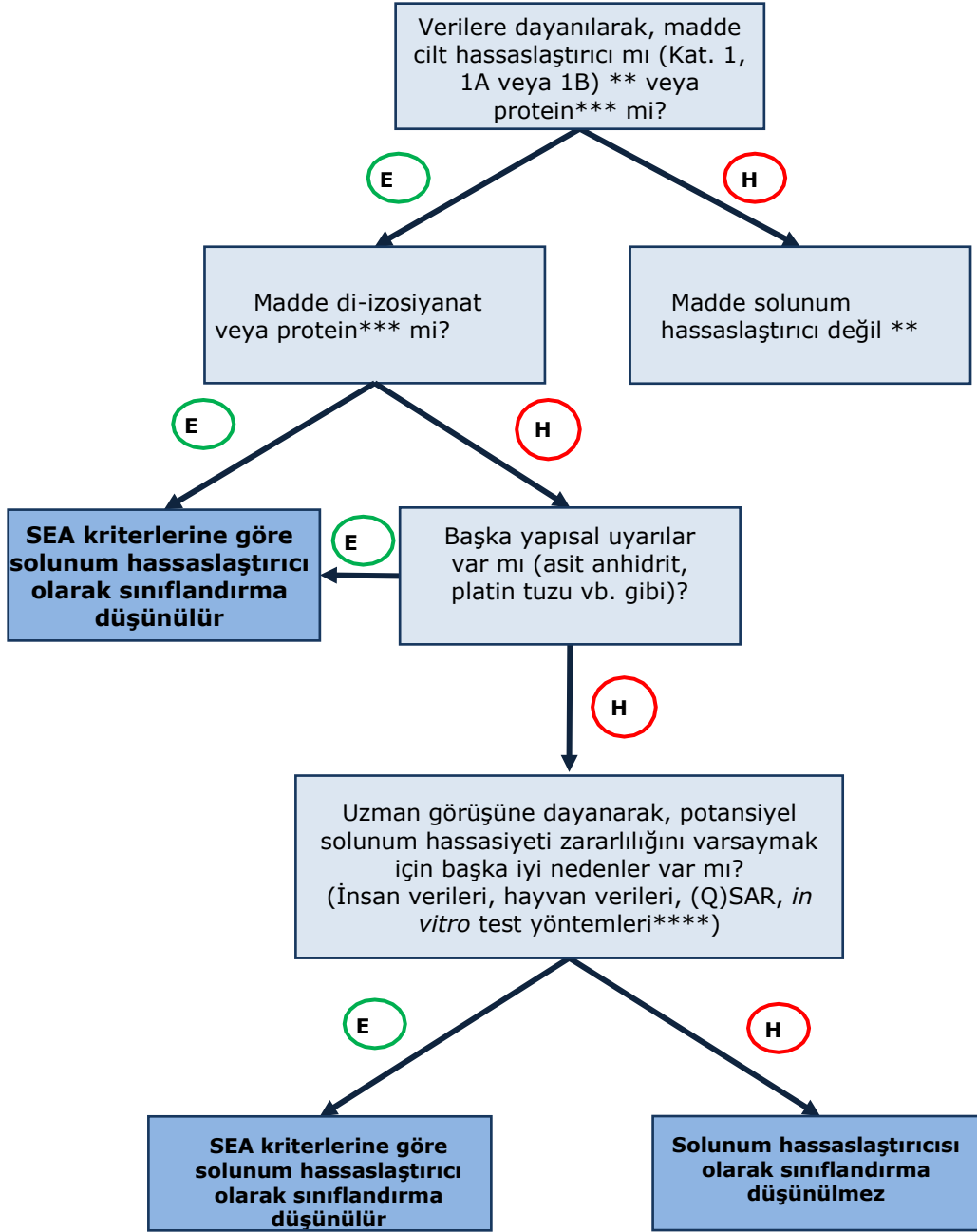
R.7.3.12.2 Ön hususlar

Değerlendirme stratejisinin (yukarıya bakınız) temel hedeflerine ulaşıp ulaşılmadığını tespit etmek için mevcut toksikolojik verilerin, maruz kalma özelliklerinin ve mevcut risk yönetimi prosedürlerinin dikkatlice değerlendirilmesi tavsiye edilir. İlgili sonlanma noktası için veri gerekliliklerini azaltabilecek diğer faktörler, örn. teknik olarak testi mümkün kılmayan diğer toksik özelliklere sahip olunması da dikkate alınmalıdır.

R.7.3.12.3 Önerilen yaklaşım

Solunum hassasiyeti değerlendirmesi için aşağıdaki strateji ([Şekil R.7.3-4](#)) izlenebilir:

Şekil R.7.3–4 Solunum hassasiyeti verileri için değerlendirme stratejisi*



* Cilt hassasiyeti testlerinin aksine, solunum hassasiyeti testlerinin gerçekleştirilmesi şu anda KKDİK kapsamında gerekli değildir. Bu nedenle, mevcut strateji düzeni, mevcut verileri değerlendirmek için bir strateji açıklamaktadır.

** Mevcut bilgilere göre, cilt hassasiyetine neden olmayacak düşük moleküler ağırlıklı solunum hassaslaştırıcıları yoktur (Kimber ve ark., 2007).

*** Enzimlerin solunum hassasiyetine neden olma potansiyeline sahip olduğuna dair bir gösterge vardır, örn. Hayvan Besleme Bilimsel Komitesi (SCAN), "Enzim ve mikrobiyal katkı maddeleri, aksi yönde ikna edici kanıtlar sağlanmadıkça solunum hassaslaştırıcıları olarak kabul edilecektir" ifadesinde bulunmuştur (<http://ec.europa.eu/environment/archives/dansub/pdfs/enzymerepcomplete.pdf>). Bu nedenle, SEA Yönetmeliği tüm enzimlerin solunum hassaslaştırıcıları olarak sınıflandırılmasını gerektirmese de, bir enzim söz konusu olduğunda solunum hassasiyeti potansiyelinin dikkate alınması tavsiye edilir.

**** Bilimsel olarak doğrulanmış/bağımsız olarak gözden geçirilmiş veya kabul görmüş test yöntemleri henüz mevcut değildir.

R.7.3.13 Cilt ve solunum hassasiyeti için referanslar

Adenuga D, Woolhiser MR, Gollapudi B ve Boverhof DR (2012) Differential gene expression responses distinguish contact and respiratory sensitizers and nonsensitizing irritants in the local lymph node assay (Diferansiyel gen ekspresyon cevapları, lokal lenf düğümü testinde temas ve solunum hassaslaştırıcıları ve hassaslaştırıcı olmayan tahriş edicileri ayırt eder). *Toxicol Sci* 126:413-25.

Agius RM, Nee J, McGovern B ve Robertson A (1991) Structure activity hypotheses in occupational asthma caused by low molecular weight substances (Düşük moleküler ağırlıklı maddelerin neden olduğu mesleki astımda yapı aktivite hipotezleri). *Ann Occup Hyg* 35:129-37.

Agius RM, Elton RA, Sawyer L ve Taylor P (1994) Occupational asthma and the chemical properties of low molecular weight organic substances (Mesleki astım ve düşük moleküler ağırlıklı organik maddelerin kimyasal özellikleri). *Occup Med (Lond)* 44:34-6.

Agius RM (2000) Why are some low molecular weight agents asthmagenic? (Neden bazı düşük moleküler ağırlıklı ajanlar astmajeniktir?). *Occup Med (Lond)* 50:369-84.

Alépée N, Piroird C, Aujoulat M, Dreyfuss S, Hoffmann S, Hohenstein A, Meloni M, Nardelli L, Gerbeix C ve Cotovio J (2015) Prospective multicentre study of the U-SENS test method for skin sensitization testing (Cilt hassasiyeti testi için U-SENS test yönteminin prospektif çok merkezli çalışması). *Toxicol In Vitro* 30:373-82.

Alves VM, Muratov E, Fourches D, Strickland J, Kleinstreuer N, Andrade CH ve Tropsha A (2015) Predicting chemically-induced skin reactions. Part I: QSAR models of skin sensitization and their application to identify potentially hazardous compounds. (Kimyasal olarak tetiklenen cilt reaksiyonlarını tahmin edilmesi. Bölüm I: QSAR cilt hassasiyeti modelleri ve potansiyel olarak zararlı bileşikler tanımlamak için uygulamaları). *Toxicol Appl Pharmacol* 284:262-72.

Anderson SE, Siegel PD ve Meade BJ (2011) LLNA: son gelişmeler ve sınırlamaların kısa bir incelemesi (The LLNA: a brief review of recent advances and limitations). *J Allergy (Cairo)* 2011:1-10.

Api AM, Basketter DA, Cadby PA, Cano M-F, Ellis G, Gerberick G F, Griem P, McNamee PM, Ryan CA ve Safford B (2008) Dermal sensitization quantitative risk assessment (QRA) for fragrance ingredients (Koku bileşenleri için cilt hassasiyeti nicel risk değerlendirmesi (QRA)). *Regul Toxicol Pharmacol* 52:3-23.

Api AM, Belsito D, Bruze M, Cadby P, Calow P, Dagli ML, Dekant W7, Ellis G, Fryer AD, Fukayama M, Griem P, Hickey C, Kromidas L, Lalko JF, Liebler DC, Miyachi Y, Politano VT, Renskers K, Ritacco G, Salvito D, Schultz TW, Sipes IG, Smith B, Vitale D, Wilcox DK (2015) Criteria for the Research Institute for Fragrance Materials, Inc. (RIFM) safety evaluation process for fragrance ingredients (Koku bileşenleri için (RIFM) güvenlik değerlendirme süreci). *Food Chem Toxicol* 82 Suppl:S1-S19.

Aptula AO, Patlewicz G ve Roberts DW (2005) Skin Sensitisation: Reaction Mechanistic Applicability Domains for Structure-Activity Relationships (Cilt Hassasiyeti: Yapı-Aktivite İlişkileri için Reaksiyon Mekanizması Uygulanabilirlik Alanları). *Chem Res Toxicol* 18:1420-6.

Aptula AO ve Roberts DW (2006) Mechanistic applicability domains for non-animal-based prediction of toxicological endpoints: general principles and application to reactive toxicity (Toksikolojik sonlanma noktalarının hayvan temelli olmayan tahmini için mekanik uygulanabilirlik alanları: genel ilkeler ve reaktif toksisiteye uygulama). *Chem Res Toxicol* 19:1097-105.

Aptula AO, Patlewicz G, Roberts DW ve Schultz TW (2006) Non-enzymatic glutathione reactivity and *in vitro* toxicity: A non-animal approach to skin sensitisation (Enzimatik olmayan glutatyon reaktivitesi ve *in vitro* toksisite: Cilt hassasiyetine hayvan dışı bir yaklaşım). *Toxicol in Vitro* 20:239-47.

Arts JHE ve Kuper CF (2007) Animal models to test respiratory allergy of low molecular weight chemicals: a guidance (Düşük moleküler ağırlıklı kimyasalların solunum alerjisini test etmek için hayvan modelleri: bir rehber). *Methods* 41:61-71.

Arts JH, de Jong WH, van Triel JJ, Schijf MA, de Klerk A, van Loveren H ve Kuper CF (2008) The respiratory local lymph node assay as a tool to study respiratory sensitizers (Solunum hassaslaştırıcılarını incelemek için bir araç olarak solunum lokal lenf düğümü testi). *Toxicol Sci* 106:423-34.

Ball N, Cagen S, Carrillo JC, Certa H, Eigler D, Emter R, Faulhammer F, Garcia C, Graham C, Haux C, Kolle SN, Kreiling R, Natsch A ve Mehling A (2011) Evaluating the sensitization potential of surfactants: integrating data from the local lymph node assay, guinea pig maximization test, and *in vitro* methods in a weight-of-evidence approach (Yüzey aktif maddelerin hassasiyet potansiyelinin değerlendirilmesi: lokal lenf düğümü testi, gine domuzu maksimizasyon testi ve *in vitro* yöntemlerden elde edilen verilerin kanıt ağırlığı yaklaşımında birleştirilmesi). *Regul Toxicol Pharm* 60:389-400.

Barratt MD, Basketter DA ve Roberts DW (1997) Quantitative structure activity relationships (Nicel yapı aktivite ilişkileri). *Kaynak: The Molecular Basis of Allergic Contact Dermatitis (Alerjik Kontakt Dermatitin Moleküler Temeli) (Lepoittevin J-P, Basketter DA, Dooms-Goossens A ve Karlberg A-T, Ed.) Springer-Verlag, Heidelberg, Almanya, s. 129-154.*

Basketter DA, Lea LJ, Dickens A, Briggs D, Pate I, Dearman RJ ve Kimber I (1999) A comparison of statistical approaches to the derivation of EC3 values from local lymph node assay dose responses (Lokal lenf düğümü testi doz cevaplarından EC3 değerlerinin türetilmesine istatistiksel yaklaşımların bir karşılaştırması). *J Appl Toxicol* 19:261-6.

Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern P ve Menné T (2003) Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new millennium (Tüketici ürünlerinde nikel, krom ve kobalt: yeni milenyumda güvenli seviyelerin yeniden gözden geçirilmesi). *Contact Dermatitis* 49:1-7.

Basketter DA, Clapp C, Jefferies D, Safford RJ, Ryan CA, Gerberick GF, Dearman RJ ve Kimber I (2005a) Predictive identification of human skin sensitisation thresholds (İnsan cilt hassasiyeti eşiklerinin tahmini tanımlaması). *Contact Dermatitis* 53:260-7.

Basketter DA, Andersen KE, Lidén C, van Loveren H, Boman A, Kimber I, Alanko K ve Berggren E (2005b) Evaluation of the skin sensitising potency of chemicals using existing methods and considerations of relevance for elicitation (Kimyasalların cilt hassaslaştırıcı gücünün mevcut yöntemler ve ortaya çıkma için uygunluk değerlendirmeleri kullanılarak değerlendirilmesi). *Contact Dermatitis* 52:39-43.

Basketter DA ve Kimber I (2006) Predictive test for irritants and allergens and their use in quantitative risk assessment (Tahriş edici maddeler ve alerjenler için tahmin testi ve bunların nicel risk değerlendirmesinde kullanımı). *Kaynak: Contact Dermatitis (Kontakt Dermatit), 4. Baskı (Frosch PJ, Menné T ve Lepoittevin J-P, Ed.) Springer Verlag, Heidelberg, Almanya, s. 179-188.*

Basketter DA, Gerberick GF ve Kimber I (2007) The local lymph node assay EC3 value: status of validation (Lokal lenf düğümü testi EC3 değeri: doğrulama durumu). *Contact Dermatitis* 57:70-5.

Basketter DA, Clapp CJ, Safford BJ, Jowsey IR, McNamee PM, Ryan CA ve Gerberick GF (2008) Preservatives and skin sensitisation quantitative risk assessment: risk benefit considerations (Koruyucular ve cilt hassasiyeti nicel risk değerlendirmesi: risk-fayda konuları). *Dermatitis* 19:20-7.

Basketter DA ve McFadden JP (2012) Cutaneous allergies (Kutanöz alerjiler). *Kaynak: Immunotoxicity, Immune Dysfunction and Chronic Disease (İmmünotoksisite, Bağışıklık Bozukluğu ve Kronik Hastalık) (Dietert RR ve Luebke RW, Ed.) Humana Press, New York, ABD, s. 103-126.*

Basketter DA, Kimber I (2011) Skin irritation, false positives and the local lymph node assay: a guideline issue? (Cilt tahrişi, yanlış pozitifler ve lokal lenf nodu testi: bir rehber sorunu mu?) *Regul Toxicol Pharmacol* 61:137-40.

Basketter D, Kolle SN, Schrage A, Honarvar N, Gamer AO, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2012) Experience with local lymph node assay performance standards using standard radioactivity and nonradioactive cell count measurements (Standart radyoaktivite ve radyoaktif olmayan hücre sayısı ölçümlerini kullanarak lokal lenf düğümü testi performans standartlarıyla ilgili deneyim). *J Appl Toxicol* 32:590-6.

Basketter D, Alépée N, Casati S, Crozier J, Eigler D, Griem P, Hubesch B, de Knecht J, Landsiedel R, Louekari K, Manou I, Maxwell G, Mehling A, Netzeva T, Petry T ve Rossi LH (2013) Skin sensitisation--moving forward with non-animal testing strategies for regulatory purposes in the EU (Cilt hassasiyeti - AB'de düzenleyici amaçlar için hayvan dışı test stratejileriyle ilerleme). Regul Toxicol Pharmacol 67:531-5.

Basketter DA ve Safford RJ (2015a) Skin sensitisation quantitative risk assessment; a review of underlying assumptions (Cilt hassasiyeti nicel risk değerlendirmesi; temeldeki varsayımların gözden geçirilmesi). Regul Toxicol Pharmacol 74:105-16.

Basketter DA, Ashikaga T, Casati S, Hubesch B, Jaworska J, de Knecht J, Landsiedel R, Manou I, Mehling A, Petersohn D, Rorije E, Rossi LH, Steiling W, Teissier S ve Worth A (2015b) Alternatives for skin sensitisation: Hazard identification and potency categorisation: Report from an EPAA/CEFIC LRI/Cosmetics Europe cross sector workshop, ECHA Helsinki, April 23rd and 24th 2015 (Cilt hassasiyeti için alternatifler: Zararlılık tanımlama ve etki gücü sınıflandırması: EPAA/CEFIC LRI/Cosmetics Europe sektörler arası çalıştay raporu, ECHA Helsinki, 23 Nisan ve 24 Nisan 2015). Regul Toxicol Pharmacol 73:660-6.

Bernstein IL, Bernstein DI, Chan-Yeung M ve Malo J-L (1993) Definition and classification of asthma (Astımın tanımı ve sınıflandırılması). *Kaynak: Asthma in the Workplace (İşyerinde Astım) (Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo J-L ve Bernstein DI, Ed.) Marcel Dekker, New York, ABD, s. 1-4.*

Bowerman NA, Falta MT, Mack DG, Wehrmann F, Crawford F, Mroz MM, Maier LA, Kappler JW ve Fontenot AP (2014) Identification of multiple public TCR repertoires in chronic beryllium disease (Kronik berilyum hastalığında birden fazla halka açık TCR repertuarının tanımlanması). J Immunol 192:4571-80.

Casati S, Aschberger K, Asturiol D, Basketter D, Sabcho D, Dumont C, Karlberg AT, Lepoittevin JP, Patlewicz C, Roberts D ve Worth A (2016) Cilt hassasiyeti için hayvan dışı yöntemlerin pre- ve pro-haptenleri tespit etme yeteneği - EURL ECVAM Uzman Toplantısı Raporu ve Önerileri. JRC Teknik Rapor no. EUR 27752 EN. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC100479>

Chan-Yeung M ve Malo J-L (1993) Özet 1: mesleki astımın başlıca tetikleyicileri tablosu (Compendium 1: table of major inducers of occupational asthma). *Kaynak: Asthma in the Workplace (İşyerinde Astım) (Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo J-L ve Bernstein DI, Ed.) Marcel Dekker, New York, ABD, s. 595-623.*

Cochrane SA, Arts JH, Ehnes C, Hindle S, Hollnagel HM, Poole A, Suto H ve Kimber I (2015) Thresholds in chemical respiratory sensitisation (Kimyasal solunum hassaslaşmasında eşikler). Toxicology 333:179-94.

Cottrez F, Boitel E, Ourlin JC, Peiffer JL, Fabre I, Henaoui IS, Mari B, Vallauri A, Paquet A, Barbry P, Auriault C, Aeby P ve Groux H (2016) SENS-IS, a 3D reconstituted epidermis based model for quantifying chemical sensitization potency: Reproducibility and predictivity results from an inter-laboratory study (SENS-IS, 3 boyutlu yeniden yapılandırılmış epidermis tabanlı kimyasal hassasiyet potansiyelini ölçmek için model: Laboratuvarlar arası bir çalışmadan tekrarlanabilirlik ve tahmin edilebilirlik). Toxicol In Vitro 32:248-60.

Cunningham AR, Cunningham SL, Consoer DM, Moss ST ve Karol MH (2005) Development of an information-intensive structure-activity relationship model and its application to human respiratory chemical sensitizers (Bilgi açısından yoğun bir yapı-aktivite ilişkisi modelinin geliştirilmesi ve insan solunumu için kimyasal hassaslaştırıcılara uygulanması). SAR QSAR Environ Res 16:273-85.

Dearman RJ, Warbrick EV, Skinner R ve Kimber I (2002) Cytokine fingerprinting of chemical allergens: species comparisons and statistical analyses (Kimyasal alerjenlerin sitokin parmak izi: tür karşılaştırmaları ve istatistiksel analiz). Food Chem Toxicol 40:1881-92.

Dearman RJ, Betts CJ, Humphreys N, Flanagan BF, Gilmour NJ, Basketter DA ve Kimber I (2003) Chemical allergy: considerations for the practical application of cytokine profiling (Kimyasal alerji: sitokin profillemenin pratik uygulaması için hususlar). Toxicol Sci 71:137-45.

De Jong WH, Arts JHE, Klerk AD, Schijf MA, Ezendam J, Kuper CF ve van Loveren H (2009) Contact and respiratory sensitizers can be identified by cytokine profiles following inhalation exposure (Temas ve solunum hassaslaştırıcıların soluma yoluyla maruz kalmayı takiben sitokin profilleri ile belirlenmesi). Toxicology 261:103-11.

Dik S, Ezendam J, Cunningham AR, Carrasquer CA, van Loveren H and Rorije E (2014) Evaluation of in silico models for the identification of respiratory sensitizers (Solunum hassaslaştırıcılar için in silico modellerin değerlendirilmesi). *Toxicol Sci* 142(2):385-94.

Dunn BJ, Rusch GM, Siglin JC ve Blaszcak DL (1990) Variability of a mouse ear swelling test (MEST) in predicting weak and moderate contact sensitization (Zayıf ve orta derecede temas hassasiyetini tahmin etmede bir fare kulak şişliği testinin (MEST) değişkenliği). *Fundam Appl Toxicol* 15:242-8.

EC (2004) 4. Cilt Hassasiyeti. Erişim adresi: [http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/antest/\(5\)_chapter_3/4_skin_sensitisation_\(final\)_1_en.pdf](http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/antest/(5)_chapter_3/4_skin_sensitisation_(final)_1_en.pdf)

ECETOC (2000) ECETOC Monograf No. 29: Zararlılık Tanımlama ve Risk Değerlendirmesi Amacıyla Cilt Hassasiyet Testi. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

ECETOC (2002) ECETOC Monograf No. 32: Tahriş ve Hassasiyeti için Zararlılık Sınıflandırmasında İnsan Verilerinin Kullanımı. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

ECETOC (2003) ECETOC Teknik Rapor 89 (Q)SAR: Kimyasal yönetim uygulamaları açısından insan sağlığı ve çevre sonlanma noktaları için piyasadaki mevcut yazılımın değerlendirilmesi. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/technical-reports>

EFSA (2015) EFSA Bilimsel Değerlendirmesinde Belirsizlik Rehberi. Erişim adresi: <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/150618.pdf> (Taslak)

Enoch SJ, Roberts DW ve Cronin MT (2009) Electrophilic reaction chemistry of low molecular weight respiratory sensitizers (Düşük moleküler ağırlıklı solunum hassaslaştırıcılarının elektrofilik reaksiyon kimyası). *Chem Res Toxicol* 22:1447-53.

Enoch SJ, Roberts DW ve Cronin MT (2010) Mechanistic category formation for the prediction of respiratory sensitization (Solunum hassasiyetinin tahmini için mekanik kategori oluşumu). *Chem Res Toxicol* 23:1547-55.

Enoch SJ, Seed MJ, Roberts DW, Cronin MT, Stocks SJ ve Agius RM (2012) Development of mechanism-based structural alerts for respiratory sensitization hazard identification (Solunum hassasiyeti zararlılığının tanımlanması için mekanizmaya dayalı yapısal uyarıların geliştirilmesi). *Chem Res Toxicol* 25:2490-8.

Enoch SJ ve Roberts DW (2013) Predicting skin sensitization potency for Michael acceptors in the LLNA using quantum mechanics calculations (Kuantum mekaniği hesaplamalarını kullanarak LLNA içerisindeki Michael alıcıları için cilt hassasiyeti potansiyelinin tahmini). *Chem Res Toxicol* 26:767-74.

Enoch SJ, Roberts DW, Madden JC ve Cronin MT (2014) Development of an in silico profiler for respiratory sensitization (Solunum hassasiyeti için bir in silico profil oluşturucunun geliştirilmesi). *Altern Lab Anim* 42:367-75.

Enoch SJ, Seed MJ, Roberts DW, Cronin MTD, Stocks SJ ve Agius RM (2012) Development of Mechanism-Based Structural Alerts for Respiratory Sensitization Hazard Identification (Solunum Hassasiyeti Zararlılık Tanımlaması için Mekanizma Tabanlı Yapısal Uyarıların Geliştirilmesi). *Chem Res Toxicol* 25 (11):2490-98.

Ezendam J, Muller A, Hakkert BC ve van Loveren H (2013) Evaluation of the performance of the reduced local lymph node assay for skin sensitization testing (Cilt hassasiyeti testi için azaltılmış lokal lenf düğümü testinin performansının değerlendirilmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 66:66-71.

Fabian E, Vogel D, Blatz V, Ramirez T, Kolle S, Eltze T, van Ravenzwaay B, Oesch F ve Landsiedel R (2013) Xenobiotic metabolizing enzyme activities in cells used for testing skin sensitization *in vitro* (Cilt hassasiyetinin *in vitro* testleri için kullanılan hücrelerde ksenobiyotik metabolize edici enzim aktiviteleri). *Arch Toxicol* 87:1683-96.

Felter SP, Robinson MK, Basketter DA ve Gerberick GF (2002) A review of the scientific basis for default uncertainty factors for use in quantitative risk assessment of the induction of allergic contact dermatitis (Alerjik kontakt dermatitin indüksiyonunun nicel risk değerlendirmesinde kullanılmak üzere varsayılan belirsizlik faktörlerinin bilimsel temeli üzerine bir inceleme). *Contact Dermatitis* 47:257-66.

Felter SP, Ryan CA, Basketter DA ve Gerberick GF (2003) Application of the risk assessment paradigm to the induction of allergic contact dermatitis (Alerjik kontakt dermatitin indüksiyonunda risk değerlendirme paradigmasının uygulanması). *Regul Toxicol Pharmacol* 37:1-10.

Forreryd A, Johansson H, Albrekt A-S, Borrebaeck CAK ve Lindstedt M (2015) Prediction of Chemical Respiratory Sensitizers Using GARD, a Novel In Vitro Assay Based on a Genomic Biomarker Signature (Genomik Biyogösterge İmzasına Dayalı Yeni Bir İn Vitro Test olan GARD Kullanılarak Kimyasal Solunum Hassaslaştırıcılarının Tahmini). *PloS One* 10(3):e0118808.

Garcia C, Ball N, Cagen S, Carrillo JC, Certa H, Eigler D, Esch H, Graham C, Haux C, Kreiling R ve Mehling A (2010): Comparative testing for the identification of skin-sensitizing potentials of nonionic sugar lipid surfactants (Noniyonik şeker lipid yüzey aktif maddelerinin cilt hassasiyeti potansiyellerinin belirlenmesi için karşılaştırmalı test). *Regul Toxicol Pharmacol* 58:301-7.

Gamerding K, Moulon C, Karp DR, Van Bergen J, Koning F, Wild D, Pflugfelder U ve Weltzien HU (2003) A new type of metal recognition by human T cells: contact residues for peptide-independent bridging of T cell receptor and major histocompatibility complex by nickel (İnsan T hücreleri tarafından yeni bir metal tanıma türü: T hücresi reseptörünün peptidden bağımsız köprülenmesi için temas kalıntıları ve nikel ile temel doku uyumluluk kompleksi). *J Exp Med* 197:1345-53.

Gerberick GF, Robinson MK, Felter S, White I ve Basketter DA (2001) Understanding fragrance allergy using an exposure-based risk assessment approach (Maruz kalmaya dayalı bir risk değerlendirme yaklaşımı kullanarak koku alerjisinin anlaşılması). *Contact Dermatitis* 45:333-40.

Graham C, Rosenkranz HS ve Karol MH (1997) Structure-activity model of chemicals that cause human respiratory sensitisation (İnsan solunum hassasiyetine neden olan kimyasalların yapı-aktivite modeli). *Regul Toxicol Pharmacol* 26:296-306.

Griem P, Goebel C ve Scheffler H (2003) Proposal for a risk assessment methodology for skin sensitisation potency data (Cilt hassaslaştırıcı etki gücü verileri için bir risk değerlendirme metodolojisi önerisi). *Regul Toxicol Pharmacol* 38:269-90.

Helaskoski E, Suojalehto H, Kuuliala O ve Aalto-Korte K (2015) Prick testing with chemicals in the diagnosis of occupational contact urticaria and respiratory diseases (Mesleki temas ürtikeri ve solunum yolu hastalıklarının tanısında kimyasallarla delme testi). *Contact Dermatitis* 72(1):20-32.

Hirota M, Fukui S, Okamoto K, Kurotani S, Imai N, Fujishiro M, Kyotani D, Kato Y, Kasahara T, Fujita M, Toyoda A, Sekiya D, Watanabe S, Seto H, Takenouchi O, Ashikaga T ve Miyazawa M (2015) Evaluation of combinations of *in vitro* sensitization test descriptors for the artificial neural network-based risk assessment model of skin sensitization (Cilt hassasiyetinin yapay sinir ağı tabanlı risk değerlendirme modeli için *in vitro* hassasiyet testi tanımlayıcı kombinasyonlarının değerlendirilmesi). *J Appl Toxicol* 2015 35:1333-47.

Hoffmann S (2015) LLNA Variability: An Essential Ingredient for a Comprehensive Assessment of Non-Animal Skin Sensitization Test Methods and Strategies (LLNA Değişkenliği: Hayvan Dışı Cilt Hassasiyeti Test Yöntemleri ve Stratejilerinin Kapsamlı Değerlendirilmesi için Temel Bir İçerik). *ALTEX* 32:379-83.

HSE, Birleşik Krallık Sağlık ve Güvenlik İdaresi (1997) Asthmagens? Critical assessments of the evidence for agents implicated in occupational asthma (Astmajenler? Mesleki astıma karışan maddelere ilişkin kanıtların eleştirel değerlendirmeleri). HSE Books, Sudbury, Suffolk, İngiltere. Erişim adresi: <http://www.hse.gov.uk/asthma/asthmagen.pdf>.

Huang S, Wiszniewski L, Constant S ve Roggen E (2013) Solunum hassaslaştırıcılarını değerlendirmek için in vitro yeniden yapılandırılmış 3D insan hava yolu epiteli (MucilAir™) potansiyeli. *Toxicol In Vitro* 27:115-6.

ICCVAM (2011) ICCVAM Test Yöntemi Değerlendirme Raporu: İnsanlarda Alerjik Kontakt Dermatite Neden Olan Kimyasalların Potansiyel Sınıflandırması için Fare Lokal Lenf Düğümü Testinin Kullanışlılığı ve Sınırlamaları. Erişim adresi: http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/immunotox_docs/llna-pot/3-appc-brd-body.pdf

IPCS/WHO (2014) Zararlılık karakterizasyonundaki belirsizliğin değerlendirilmesi ve ifade edilmesi hakkında rehber doküman. Cenevre: Dünya Sağlık Örgütü, Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS Uyumlaştırma Projesi Doküman No. 11). Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/uncertainty_in_hazard_characterization.pdf

Jaworska J, Dancik Y, Kern P, Gerberick F ve Natsch A (2013) Bayesian integrated testing strategy to assess skin sensitization potency: from theory to practice (Cilt hassaslaştırıcı etki gücünü değerlendirmek için Bayes bütünlük test stratejisi: teoriden pratiğe). *J Appl Toxicol* 33:1353-64.

Johnson VJ, Reynolds JS, Wang W, Fluharty K ve Yucesoy B (2011) Inhalation of Ortho-Phthalaldehyde vapour causes respiratory sensitization in mice (Orto-Ftalaldehit buharının solunmasının farelerde solunum hassasiyetine neden olması). *J Allergy* 2011:751052.

Karlberg AT, Andersen Bergström M, Börje A, Luthman K ve Nilsson JLG (2008) Allergic Contact Dermatitis-Formation, Structural Requirements, and Reactivity of Skin Sensitizers (Alerjik Kontakt Dermatit-Oluşumu, Yapısal Gereksinimler ve Cilt Hassaslaştırıcılarının Reaktivitesi). *Chem Res Toxicol* 21:53-69.

Karol MH, Graham C, Gealy R, Macina OT, Sussman N ve Rosenkranz HS (1996) Structure-activity relationships and computer-assisted analysis of respiratory sensitisation potential (Yapı-aktivite ilişkileri ve solunum hassaslaştırıcı potansiyelin bilgisayar destekli analizi). *Toxicol Lett* 86:187-91.

Kimber I (1995) Contact and respiratory sensitization by chemical allergens: uneasy relationships (Kimyasal alerjenlerle temas ve solunum hassasiyeti: huzursuz ilişkiler). *Am J Contact Derm* 6:34-9.

Kimber I ve Dearman RJ (2002) Chemical respiratory allergy: role of IgE antibody and relevance of route of exposure (Kimyasal solunum alerjisi: IgE antikorunun rolü ve maruz kalma yolunun önemi). *Toxicology* 181-182:311-5.

Kimber I, Agius R, Basketter DA, Corsini E, Cullinan P, Dearman RJ, Gimenez-Arnau E, Greenwell, L, Hartung T, Kuper F, Maestrelli P, Roggen E ve Rovida C (2007) Chemical respiratory allergy: opportunities for hazard identification and characterisation. The report and recommendations of ECVAM Workshop 60 (Kimyasal solunum alerjisi: zararlılık tanımlama ve karakterizasyon fırsatları. ECVAM Çalıştay 60 raporu ve tavsiyeleri). *Altern Lab Anim* 35:243-65.

Kimber I, Basketter DA, Gerberick GF, Ryan CA ve Dearman RJ (2011) Chemical allergy: translating biology into hazard characterization (Kimyasal alerji: biyolojiyi zararlılık karakterizasyonuna çevirmek). *Toxicol Sci Suppl* 1:S238-68.

Kimber I ve Pemberton MA (2014a) Assessment of the skin sensitising potency of the lower alkyl methacrylate esters Düşük alkil metakrilat esterlerin cilt hassaslaştırıcı etki gücünün değerlendirilmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 70:24-36.

Kimber I, Dearman RJ, Basketter DA (2014b) Diisocyanates, occupational asthma and IgE antibody: implications for hazard characterization (Diizosiyanatlar, mesleki astım ve IgE antikorunu: zararlılık karakterizasyonu için çıkarımlar). *J Appl Toxicol* 10:1073-7.

Kimber I, Griffiths CEM, Basketter DA, McFadden JP ve Dearman RJ (2014c) Epicutaneous exposure to proteins and skin immune function (Proteinlere ve cilt bağışıklık fonksiyonuna epikutanöz maruz kalma). *Eur J Dermatol* 24:10-4.

Kimber I, Dearman RJ, Basketter DA ve Boverhof DR (2015) Chemical respiratory allergy: reverse engineering an adverse outcome pathway (Kimyasal solunum alerjisi: tersine mühendislik, bir olumsuz sonuç yolu). *Toxicology* 318:32-9.

Kimura Y, Fujimura C, Ito Y, Takahashi T, Nakajima Y, Ohmiya Y ve Aiba S (2015) Optimization of the IL-8 Luc assay as an in vitro test for skin sensitization (IL-8 Luc analizinin cilt hassasiyeti için in vitro test olarak optimizasyonu). *Toxicol In Vitro* 29:1816-30.

Kligman AM (1966) The identification of contact allergens by human assay. III. The maximization test: a procedure for screening and rating contact sensitizers (Kontakt alerjenlerin insan analizleri ile tanımlanması. III. Maksimizasyon testi: temas hassaslaştırıcıları taramak ve derecelendirmek için bir prosedür). *J Invest Derm* 47:393-409.

Kreiling R, Hollnagel HM, Hareng L, Eigler L, Lee MS, Griem P, Dreessen B, Kleber M, Albrecht A, Garcia C ve Wendel A (2008) Comparison of the skin sensitizing potential of unsaturated compounds as assessed by the murine local lymph node assay (LLNA) and the guinea pig maximization test (GPMT) (Doymamış bileşiklerin cilt hassaslaştırıcı potansiyelinin fare lokal lenf düğümü testiyle (LLNA) ve gine domuzu maksimizasyon testiyle (GPMT) değerlendirilen şekilde karşılaştırılması). *Food Chem Toxicol* 46:1896-1904.

Lambrecht BN ve Hammad H (2013) Asthma: The importance of dysregulated barrier immunity (Astım: Düzensiz bariyer bağışıklığının önemi). *Eur J Immunol* 43:3125-37.

Lalko JF, Kimber I, Gerberick GF, Foertsch LM, Api AM ve Dearman RJ (2012) The direct peptide reactivity assay: selectivity of chemical respiratory allergens (Doğrudan peptit reaktivite deneyi: kimyasal solunum alerjenlerinin seçiciliği). *Toxicol Sci* 129:421-31.

Lalko JF, Kimber I, Dearman RJ, Api AM ve Gerberick GR (2013a) The selective peptide reactivity of chemical respiratory allergens under competitive and non-competitive conditions (Kimyasal solunum alerjenlerinin rekabetçi ve rekabetçi olmayan koşullar altında seçici peptit reaktivitesi). *J Immunotoxicol* 10:292-301.

Lalko JF, Dearman RJ, Gerberick GF, Troutman JA, Api AM ve Kimber I (2013b) Reactivity of chemical respiratory allergens in the Peroxidase Peptide Reactivity Assay (Peroksidaz Peptid Reaktivite Testinde kimyasal solunum alerjenlerinin reaktivitesi). *Toxicol In Vitro* 27:651-61.

Lehtonen A, Ahlfors H, Veckman V, Miettinen M, Lahesmaa R ve Julkunen I (2007) Gene expression profiling during differentiation of human monocytes to macrophages or dendritic cells (İnsan monositlerinin makrofajlara veya dendritik hücrelere farklılaşması sırasında gen ekspresyonu profili). *J Leukoc Biol* 82:710-20.

Lu L, Vollmer J, Moulon C, Weltzien HU, Marrack P, Kappler J (2003) Components of the ligand for a Ni⁺⁺ reactive human T cell clone (Ni⁺⁺ reaktif insan T hücre klonu için ligand bileşenleri). *J Exp Med* 197:567-74.

Magnusson B ve Kligman AM (1969) The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximisation test (Hayvan analizi ile temas alerjenlerinin tanımlanması. Gine domuzu maksimizasyon testi). *J Invest Dermatol* 52:268-76.

Martin SF, Merfort I ve Thierse HJ (2006) Interactions of chemicals and metal ions with proteins and role for immune responses (Kimyasalların ve metal iyonlarının proteinlerle etkileşimleri ve bağışıklık tepkilerinin rolü). *Mini Rev Med Chem* 6:247-55.

Martin SF, Esser PR, Schmucker S, Dietz L, Naisbitt DJ, Park BK, Vocanson M, Nicolas JF, Keller M, Pichler WJ, Peiser M, Luch A, Wanner R, Maggi E, Cavani A, Rustemeyer T, Richter A, Thierse HJ ve Sallusto F (2010) T-cell recognition of chemicals, protein allergens and drugs: towards the development of *in vitro* assays (Kimyasallar, protein alerjenleri ve ilaçlar için T-hücresi tanıma: in vitro analizlerin geliştirilmesine doğru). *Cell Mol Life Sci* 67:4171-84.

Martin SF, Esser PR, Weber FC, Jakob T, Freudenberg MA, Schmidt M ve Goebeler M (2011). Mechanisms of chemical-induced innate immunity in allergic contact dermatitis (Alerjik kontakt dermatitte kimyasal kaynaklı doğal bağışıklığın mekanizmaları). *Allergy* 66:1152-63.

Martin SF (2015) New concepts in cutaneous allergy (Kutanöz alerjide yeni kavramlar). *Contact Dermatitis* 72:2-10.

Maxwell G, MacKay C, Cubberley R, Davies M, Gellatly N, Glavin S, Guoin T, Jacquilleot S, Moore C, Pendlington R, Saib O, Sheffield D, Stark R ve Summerfield V (2014) Applying the skin sensitisation adverse outcome pathway (AOP) to quantitative risk assessment (Cilt hassasiyeti olumsuz etki oluşum yollarının (AOP) nicel risk değerlendirmesine uygulanması). *Toxicol in Vitro* 28:8-12.

McNamee PM, Api AM, Basketter DA, Frank Gerberick G, Gilpin DA, Hall BM, Jowsey I ve Robinson MK (2008) A review of critical factors in the conduct and interpretation of the human repeat insult patch test (İnsan tekrarlı hasar yama testinin yürütülmesi ve yorumlanmasındaki kritik faktörlerin bir incelemesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 52:24-34.

Mekenyan O, Patlewicz G, Kuseva C, Popova I, Mehmed A, Kotov S, Zhechev T, Pavlov T, Temelkov S ve Roberts DW (2014) A Mechanistic Approach to Modeling Respiratory Sensitization (Solunum Hassasiyetini Modellemeye Mekanik Bir Yaklaşım). *Chem Res Toxicol* 27:219-39.

Merckel F, Giménez-Arnau E, Gerberick GF ve Lepoittevin JP (2013) In chemico evaluation of prohapten skin sensitizers: behavior of 2-methoxy-4-(¹³C)methylphenol in the peroxidase peptide reactivity assay (PPRA) as an alternative to animal testing (Prohapten cilt hassaslaştırıcılarının in chemico değerlendirilmesi: peroksidaz peptit reaktivite testinde (PPRA) hayvan testlerine alternatif olarak 2-metoksi-4-(¹³C) metilfenolün davranışı). *Toxicol Lett* 218:266-72.

Natsch A, Gfeller H, Haupt T ve Brunner G (2012) Chemical reactivity and skin sensitization potential for benzaldehydes: can Schiff base formation explain everything) (Benzaldehitler için kimyasal reaktivite ve cilt hassasiyeti potansiyeli: Schiff bazı oluşumu her şeyi açıklayabilir mi?). *Chem Res Toxicol* 25:2203-15.

Natsch A, Ryan CA, Foertsch L, Emter R, Jaworska J, Gerberick F ve Kern P (2013) A dataset on 145 chemicals tested in alternative assays for skin sensitization undergoing prevalidation (Ön validasyona tabi tutulan cilt hassasiyeti için alternatif testlerde test edilen 145 kimyasal bulunan bir veri seti). *J Appl Toxicol* 33:1337-52.

Natsch A, Emter R, Gfeller H, Haupt T ve Ellis G (2014) Predicting skin sensitizer potency based on *in vitro* data from KeratinoSens and kinetic peptide binding: global versus domain-based assessment (KeratinoSens ve kinetik peptit bağlanmasından alınan *in vitro* verilere dayalı olarak cilt hassaslaştırıcı etki gücünün tahmini: global ve alan bazlı değerlendirme). *Toxicol Sci* 143:319-32.

OECD (2012) Proteinlere Kovalent Bağlanma ile Başlatılan Cilt Hassasiyeti için Olumsuz Etki Olumsuz Etki Oluşum Yolu, Bölüm 1: Bilimsel Kanıtlar, Test ve Değerlendirme Serisi No. 168 (ENV/JM/MONO(2012)10/PART1), erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2012\)1_0/part1&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)1_0/part1&doclanguage=en)

OECD (2014) Kimyasalların Gruplandırılmasına İlişkin Rehber, İkinci Baskı. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 194 (ENV/JM/MONO(2014)4). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en)

OECD (2016a) Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin Rehber Doküman (ENV/JM/MONO(2016)2). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2_8&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2_8&doclanguage=en)

OECD (2016b) Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda (IATA) Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanı (ENV/JM/MONO(2016)29). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2_9&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2_9&doclanguage=en)

OECD (2016c) Ek I: Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlar (IATA) Kapsamında Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanın Vaka Çalışmaları (ENV/JM/MONO(2016)29/ANN1). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2_9/ann1&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2_9/ann1&doclanguage=en)

OECD (2016d) Ek II: Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlar (IATA) Kapsamında Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanın Vaka Çalışmalarında Kullanılacak Bilgi Kaynakları (ENV/JM/MONO(2016)29/ANN2). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2_9/ann2&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2_9/ann2&doclanguage=en)

Patlewicz G, Mekenyan O, Dimitrova G, Kuseva C, Todorov M, Kotov S, Stoeva S ve Donner EM (2010) Can mutagenicity information be useful in an Integrated Testing Strategy (ITS) for skin sensitization (Mutajenite bilgileri, cilt hassaslaşmasına ilişkin Bütünleşik Test Stratejisinde (BTS) faydalı olabilir mi?) SAR QSAR Environ Res 21:619-56.

Patlewicz G, Kuseva C, Kesova A, Popova I, Zhechev T, Pavlov T, Roberts DW ve Mekenyan O

(2014) Towards AOP application--implementation of an integrated approach to testing and assessment (IATA) into a pipeline tool for skin sensitization (AOP uygulamasına doğru - test ve değerlendirme için bütünlük yaklaşımın (IATA) cilt hassasiyetine yönelik bir hat aracına uygulanması). *Regul Toxicol Pharmacol* 69:529- 45.

Patlewicz G, Ball N, Boogaard PJ, Becker RA ve Hubesch B (2015) Building scientific confidence in the development and evaluation of read-across (Çapraz okumanın geliştirilmesi ve değerlendirilmesinde bilimsel güven oluşturma). *Regul Toxicol Pharmacol* 72:117- 33.

Pauluhn J ve Poole A (2011) Brown Norway rat asthma model of diphenylmethane-4,4'-diisocyanate (MDI): determination of the elicitation threshold concentration of after inhalation sensitization (Kahverengi Norveç sıçan astım modeli difenilmetan-4,4'-diizosiyanat (MDI): soluma sonrası hassasiyetin ortaya çıkardığı eşik konsantrasyonunun belirlenmesi). *Toxicology* 281(1-3):15-24.

Pauluhn J (2014) Development of a respiratory sensitization/elicitation protocol of toluene diisocyanate (TDI) in Brown Norway rats to derive an elicitation-based occupational exposure level (Oluşuma dayalı mesleki maruz kalma düzeyini türetmek için Kahverengi Norveç sıçanlarında toluen diizosiyanatın (TDI) solunum hassaslaştırma/ortaya çıkarma protokolünün geliştirilmesi). *Toxicology* 319:10-22.

Payne MP ve Walsh PT (1994) Structure-activity relationships for skin sensitisation potential: development of structural alerts for use in knowledge-based toxicity prediction systems (Cilt hassasiyeti potansiyeli için yapı-aktivite ilişkileri: bilgiye dayalı toksisite tahmin sistemlerinde kullanılmak üzere yapısal uyarıların geliştirilmesi). *J Chem Inf Comput Sci* 34:154-61.

Payne MP ve Walsh PT (1995) Structure-activity relationships for respiratory sensitisation (Solunum hassasiyeti için yapı-aktivite ilişkileri). Bildiriler, İngiliz Toksikoloji Derneği Toplantısı York, Yorkshire, İngiltere, Mart/Nisan 1995.

Petry T, Bosch A, Coste X, Dupuis V, Eigler D ve Germain P (2012) An assessment of the skin sensitisation hazard of a group of polyfunctional silicones using a weight of evidence approach (Kanıt ağırlığı yaklaşımı kullanılarak bir grup çok işlevli silikonun cilt hassasiyeti zararlılığının bir değerlendirmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 64:305-14.

Ramirez T, Stein N, Aumann A, Remus T, Edwards A, Norman KG, Ryan C, Bader JE, Fehr M, Burleson F, Foertsch L, Wang X, Gerberick F, Beilstein P, Hoffmann S, Mehling A, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2016) Intra- and inter-laboratory reproducibility and accuracy of the LuSens assay: A reporter gene-cell line to detect keratinocyte activation by skin sensitizers (LuSens testinin laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği ve doğruluğu: Cilt hassaslaştırıcılar tarafından keratinosit aktivasyonunu tespit etmek için bir haberci gen-hücre hattı). *Toxicol In Vitro* 32:278-86.

Redlich CA (2010) Skin Exposure and Asthma: Is There a Connection? (Cilt Maruz Kalması ve Astım: Bağlantı Var mı?). *Proc Am Thorac Soc* 7:134-7.

Reisinger K, Hoffmann S, Alépée N, Ashikaga T, Barroso J, Elcombe C, Gellatly N, Galbiati V, Gibbs S, Groux H, Hibatallah J, Keller D, Kern P, Klaric M, Kolle S, Kuehnl J, Lambrechts N, Lindstedt M, Millet M, Martinozzi-Teissier S, Natsch A, Petersohn D, Pike I, Sakaguchi H, Schepky A, Tailhardat M, Templier M, van Vliet E ve Maxwell G (2015) Systematic evaluation of non-animal test methods for skin sensitisation safety assessment (Cilt hassasiyeti güvenlik değerlendirmesi için hayvan dışı test yöntemlerinin sistematik değerlendirmesi). *Toxicol in Vitro* 29:259- 70.

Richardson BG, Jain AD, Speltz TE ve Moore TW (2015) Non-electrophilic modulators of the canonical Keap1/Nrf2 pathway (Kanonik Keap1/Nrf2 yolunun elektrofilik olmayan modülatörleri). *Bioorg Med Chem Lett.* 25(11):2261-8.

Roberts DW, Aptula AO, Cronin MTD, Hulzebos E ve Patlewicz G (2007) Global (Q)SARs for skin sensitization - assessment against OECD principles (Cilt hassasiyeti için global (Q)SAR - OECD ilkelerine göre değerlendirme). *SAR QSAR Environ Res* 18:343-65.

Roberts DW, Aptula AO ve Patlewicz GY (2011) Chemistry-based risk assessment for skin sensitization: quantitative mechanistic modeling for the S(N)Ar domain (Cilt hassasiyeti için kimyaya dayalı risk değerlendirmesi: S(N)Ar alanı için nicel mekanik modelleme). *Chem Res Toxicol* 24:1003-11.

Roberts DW ve Aptula AO (2014) Electrophilic reactivity and skin sensitization potency of SNAr electrophiles (SNAr elektrofillerinin elektrofilik reaktivitesi ve cilt hassaslaştırıcı etki gücü). *Chem Res Toxicol* 27:240-6.

Roberts DW (2015) Estimating skin sensitization potency from a single dose LLNA (Tek doz lokal lenf düğümü testinden cilt hassaslaştırıcı etki gücünün tahmin edilmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 71:437-43.

Rorije E, Aldenberg T, Buist H, Kroese D ve Schüürmann G (2013) The OSIRIS Weight of Evidence approach: ITS for skin sensitisation (OSIRIS Kanıt Ağırlığı yaklaşımı: Cilt hassasiyeti için BTS). *Regul Toxicol Pharmacol* 67:146-56.

Schlede E ve Eppler R (1995) Testing for skin sensitisation according to the notification procedure for new chemicals: the Magnusson and Kligman test (Yeni kimyasallar için bildirim prosedürüne göre cilt hassasiyeti testi: Magnusson ve Kligman testi). *Contact Dermatitis* 32:1-4.

SCCS (Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi) (2015a) Yalnızca Metilzotiyazolinon (MI) (P94) hakkında görüş, 25 Haziran 2015, SCCS/1557/15. Erişim adresi: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_178.pdf

SCCS (Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi) (2015b) Cilt hassasiyeti risk değerlendirmesinde insan verilerinin kullanımına ilişkin bildiri, 15 Aralık 2015, SCCS/1567/15. Erişim adresi: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_010.pdf

Schmidt ve Goebler (2015) Immunology of metal allergies (Metal alerjilerinin immünolojisi). *J Dtsch Dermatol Ges* 13:653-60.

Schneider K ve Akkan Z (2004) Quantitative relationship between the local lymph node assay and human skin sensitisation assays (Lokal lenf düğümü testi ve insan cildi hassaslaştırıcı testleri arasındaki nicel ilişki). *Regul Toxicol Pharmacol* 39:245-55.

Schultz TW, Rogers K ve Aptula AO (2009) Read-across to rank skin sensitization potential: subcategories for the Michael acceptor domain (Cilt hassaslaşma potansiyelini sıralamak için çapraz okuma: Michael alıcı alanı için alt kategoriler). *Contact Dermatitis* 60:21-31.

Steiling W, Basketter DA, Berthold K, Butler M, Garrigue J-L, Kimber I, Lea L, Newsome C, Roggeband R, Stropp G, Waterman S ve Wieman C (2001) Skin sensitisation testing - new perspectives and recommendations (Cilt hassasiyeti testi - yeni bakış açıları ve öneriler). *Food Chem Toxicol* 39:293-301.

Stotts J (1980) Planning, conduct and interpretation of human predictive sensitisation patch tests (İnsan öngörücü hassasiyet yama testlerinin planlanması, yürütülmesi ve yorumlanması). *Kaynak: Cilt toksisitesinde güncel kavramlar* (Drill VA ve Lazar P, Ed.), Academic Press, New York, ABD, s. 41-53.

Sullivan K, Cochrane S, Enoch SJ, Ezendam J, Patlewicz G, Roggen EL ve Sewald K (2014) Constructing an Adverse Outcome Pathway for Sensitization of the Respiratory Tract: Network Thinking Meets Regulatory Utility (Solunum Yolunun Hassasiyeti için Olumsuz Etki Oluşum Yolunun Oluşturulması: Ağ Düşüncesi Düzenleyici Yardımcı Programla Buluşuyor). Çek Cumhuriyeti, Prag kentinde düzenlenen 9. Dünya Yaşam Bilimlerinde Alternatifler ve Hayvan Kullanımı Kongresi'nde sunulan poster. Erişim adresi: <http://tt21c.org/wp-content/uploads/2015/03/Cochrane-RS-AOP-poster.pdf>

Takenouchi O, Fukui S, Okamoto K, Kurotani S, Imai N, Fujishiro M, Kyotani D, Kato Y, Kasahara T, Fujita M, Toyoda A, Sekiya D, Watanabe S, Seto H, Hirota M, Ashikaga T ve Miyazawa M (2015) Test battery with the human cell line activation test, direct peptide reactivity assay and DEREK based on a 139 chemical data set for predicting skin sensitizing potential and potency of chemicals (Kimyasalların cilt hassaslaştırıcı potansiyelini ve etki gücünü tahmin etmek için insan hücre hattı aktivasyon testi, doğrudan peptid reaktivite testi ve DEREK ile 139 kimyasal veri setine dayalı test dizisi). *J Appl Toxicol* 35):1318-32.

Templeton DM (2004) Mechanisms of immunosensitization to metals (Metallere karşı immünohassasiyet mekanizmaları). *Pure Appl Chem* 76:1255-68.

Ter Burg W, Bouma K, Schakel DJ, Wijnhoven SW, van Engelen J, van Loveren H ve Ezendam J (2014) Assessment of the risk of respiratory sensitization from fragrance allergens released by air fresheners (Oda spreyleri tarafından salınan koku alerjenlerinden kaynaklanan solunum hassasiyeti riskinin değerlendirilmesi). *Inhal Toxicol* 26:310-8.

Teubner W, Mehling A, Schuster PX, Guth K, Worth A, Burton J, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2013) Computer models versus reality: how well do in silico models currently predict the sensitization potential of a substance (Bilgisayar modelleri gerçekliğe karşı: in silico modellerinde şu anda bir maddenin hassaslaştırıcı potansiyelini ne kadar iyi tahmin ediliyor?). *Regul Toxicol Pharmacol* 67:468-85.

Thierse HJ, Gamerdinger K, Junkes C, Guerreiro N ve Weltzien HU (2005) T cell receptor (TCR) interaction with haptens: metal ions as non-classical haptens (T hücre reseptörünün (TCR) haptenlerle etkileşimi: klasik olmayan haptenler olarak metal iyonları). *Toxicology* 209:101-7.

Tsujita-Inoue K, Hirota M, Ashikaga T, Atobe T, Kouzuki H ve Aiba S (2014) Skin sensitization risk assessment model using artificial neural network analysis of data from multiple in vitro assays (Çoklu in vitro testlerden elde edilen verilerin yapay sinir ağı analizini kullanan cilt hassasiyeti risk değerlendirme modeli). *Toxicol In Vitro* 28:626-39.

Urbisch D, Mehling A, Guth K, Ramirez T, Honarvar N, Kolle S, Landsiedel R, Jaworska J, Kern PS, Gerberick F, Natsch A, Emter R, Ashikaga T, Miyazawa M ve Sakaguchi H (2015) Assessing skin sensitization hazard in mice and men using non-animal test methods (Hayvan dışı test yöntemleri kullanılarak farelerde ve insanlarda cilt hassasiyeti zararlılığının değerlendirmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 71:337-51.

Van der Veen JW, Rorije E, Emter R, Natsch A, van Loveren H ve Ezendam J (2014) Evaluating the performance of integrated approaches for hazard identification of skin sensitizing chemicals (Cilt hassaslaştırıcı kimyasalların zararlılık tanımlaması için bütünlük yaklaşımının performansının değerlendirmesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 69:371-9.

Van Och FM, Slob W, de Jong WH, Vandebriel RJ ve van Loveren H (2000) A quantitative method for assessing the sensitizing potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of the uncertainty margins (Lokal lenf düğümü testi kullanılarak düşük moleküler ağırlıklı kimyasalların hassaslaştırıcı gücünü değerlendirmek için nicel bir yöntem: belirsizlik sınırlarının belirlenmesini içeren bir regresyon yönteminin kullanılması). *Toxicology* 20:146:49-59.

Van Och FMM, Loveren van H, Jong de WH ve Vandebriel RJ (2002) Cytokine production induced by low-molecular-weight chemicals as a function of the stimulation index in a modified local lymph node assay: an approach to discriminate contact sensitizers from respiratory sensitizers (Değiştirilmiş bir lokal lenf düğümü testinde stimülasyon indeksinin bir fonksiyonu olarak düşük moleküler ağırlıklı kimyasallar tarafından tetiklenen sitokin üretimi: Temas hassaslaştırıcıları solunum hassaslaştırıcılardan ayırmak için bir yaklaşım). *Toxicol Appl Pharmacol* 184:46-56.

Wolfreys A ve Basketter DA (2004) Mutagens and Sensitizers – an unequal relationship? (Mutajenler ve Hassaslaştırıcılar - eşitsiz bir ilişki mi?) *J Toxicol: Cutaneous Ocular Toxicol* 23:197-205.

Wright ZM, Basketter PA, Blaikie L, Cooper KJ, Warbrick EV, Dearman RJ ve Kimber I (2001) Vehicle effects on skin sensitizing potency of four chemicals: assessment using the local lymph node assay (Dört kimyasalın cilt hassaslaştırıcı etki gücü üzerindeki taşıyıcı etkileri: lokal lenf düğümü testi kullanılarak değerlendirme). *Int J Cosmet Sci* 23:75-83.

Zachariae C, Rastogi S, Devantier C, Menne T ve Johansen JD (2003) Methyl dibromo glutaronitrile: clinical experience and exposure-based risk assessment (Metildibromo glutaronitril: klinik deneyim ve maruz kalmaya dayalı risk değerlendirmesi). *Contact Dermatitis* 48:150-4.

Bölüm R.7.3 için Ek R.7.3-1 ila 4

Ek R.7.3-1 Literatür modelleri ve cilt hassasiyeti için *in silico* araçlar

Ek R.7.3-1 içeriği:

- Bilimsel yayınlardaki veriler ve (Q)SAR modelleri
- *In-silico* araçlara dahil edilen veriler ve modeller

BİLİMSEL YAYINLARDAKİ VERİLER VE (Q)SAR MODELLERİ

Veriler

Hakemli yayınlar, cilt hassasiyeti verileri için değerli bir kaynaktır. Cronin ve Basketter (1994), 270'den fazla *in vivo* cilt hassasiyeti testinin sonuçlarını yayınlamıştır (başlıca olarak gine domuzu maksimizasyon testinden). Tüm veriler aynı laboratuvarında elde edilmiştir ve kurumsal veritabanlarından büyük miktarda bilginin açık literatüre yayımlandığı birkaç durumdan birini temsil etmektedir. 1034 madde için hayvan ve insan çalışmalarının daha büyük bir veritabanı olan MCASE veritabanı Graham ve ark. (1996) tarafından tanımlanmıştır. Schlede ve ark. (2003) 244 maddeye ilişkin verileri raporlamıştır. Bu veriler değerlendirilmiş ve insanlardan verilere ve hayvan testlerinin sonuçlarına dayalı olarak temas alerjenik özelliklere sahip 244 maddenin etki gücü sıralaması üzerine uzman görüşü makalede sağlanmıştır.

Lokal lenf düğümü testi için nispeten çok sayıda veri yayınlanmıştır; örnekler arasında Ashby ve ark. (1995), Gerberick ve ark. (2005) ve Kern ve ark. (2010) yayınlarını içerir.

SAR

Literatürde yayınlanan bazı yapısal uyarı koleksiyonları (henüz) yazılımlarda kodlanmamıştır (örneğin, Gerner ve ark. (2004)). Bununla birlikte, cilt hassasiyeti uzmanları, ilgilenilen maddeyle ilgili değerlendirmeler yapmak için bu yapısal uyarıları yine de manuel olarak kullanabilir.

Yerel (Q)SAR modelleri

Yerel modeller, belirli kimyasal sınıfları veya etki şekilleri için geliştirilmiş (Q)SAR modelleridir. Cilt hassasiyeti için yerel modellerin çoğu, bağıl alkilasyon indeksi (RAI) yaklaşımı kullanılarak doğrudan etkili elektrofiller için geliştirilmiştir. Bu, Roberts ve Williams (1982) tarafından türetilen matematiksel bir modeldir. İndüksiyonda oluşan hassasiyet derecesinin ve zorlamadaki hassasiyet cevabının büyüklüğünün, indüksiyon ve zorlama sırasında meydana gelen taşıyıcı proteine kovalent bağlanma derecesine (haptenasyon, alkilasyon) dayalı olduğu kavramına dayanmaktadır. RAI, taşıyıcı protein haptenasyonunun bağıl derecesinin bir indeksidir ve hidrofobik bir ortamda taşıyıcı haptenasyon reaksiyonu ile hassaslaştırıcının polar lenfatik sıvılara dağılarak uzaklaştırılması arasındaki rekabeti modelleyen diferansiyel denklemlerden türetilmiştir. En genel haliyle RAI şu şekilde ifade edilir:

$$\text{RAI} = \log D + a \log k + b \log P \quad (1)$$

Böylelikle haptenasyon derecesi, artan reaktivite ile (bir model nükleofil ile hassaslaştırıcının reaksiyonu için hız sabiti veya bağıl hız sabiti k ile ölçülen şekilde) ve artan hidrofobiklik ($\log P$ ile ölçülen şekilde, P , oktanol/su dağılım katsayısı) ile birlikte artan hassaslaştırıcı dozu D ile artar. Bu RAI modeli, cilt hassaslaştırıcı maddelerin çok çeşitli farklı veri kümelerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Örnekler arasında sülfonat esterler (Roberts ve Basketter, 2000), sülfonlar (Roberts ve Williams, 1982), birincil alkil bromürler (Basketter ve ark., 1992), akrilatlar (Roberts, 1987), aldehitler ve diketonlar (Patlewicz ve ark., 2001 ; Patlewicz ve ark., 2002; Patlewicz ve ark., 2004; Roberts ve ark., 1999; Roberts ve Patlewicz, 2002; Patlewicz ve ark., 2003) bulunur.

Bu yaklaşım, yerel modellerin şeffaf, basit ve mekanik olarak türetilme eğiliminde olduğunu, ancak geliştirme için yoğun emek gerektiğini ve yerel kimya alanlarıyla sınırlı olduğunu göstermiştir (Cronin ve ark., 2011).

Kovalent hipotez iyi hizmet vermiştir ve mekanik tabanlı kapsamlı nicel yapı aktivite ilişkileri geliştirmenin en umut verici yolu olmaya devam etmektedir. Bunlar yereldir, çünkü kapsamları, Aptula ve ark. (2005), Aptula ve Roberts (2006) ve Roberts ve ark. (2007a) çalışmalarında belirtildiği gibi mekanik bir reaktivite alanı ile karakterize edilir. Bu tür mekanik modelin bir örneği yakın zamanda yayınlanmıştır (Roberts ve ark., 2006). RAI modelinde log k, tipik olarak deneysel hız sabitleri, ikame sabitleri veya moleküler yörünge parametreleri ile modellenmiştir. Reaktiviteyi tanımlayıcılara kodlamak için daha fazla çaba gerekir; bu, Aptula ve Roberts (2006), Aptula ve ark. (2006), Schultz ve ark. (2006), Gerberick ve ark. (2004) ve sonraki bölümde özetlenen şekilde *in vitro* reaktivite verilerinin sistematik şekilde oluşturulması yoluyla elde edilebilir.

Global istatistiksel modeller

Global istatistiksel modeller genellikle biyolojik veri setlerine ve yapısal tanımlayıcılara istatistiksel yöntemlerin uygulanması yoluyla deneysel nicel yapı aktivite ilişkilerinin geliştirilmesini içerir.

Bunların, daha geniş bir madde yelpazesi için tahmin oluşturma avantajına sahip olduğu düşünülmektedir. Bazı durumlarda, bu modellerin kapsamı/alanı iyi tanımlanmıştır, diğer birçok durumda modelin eğitim setinin ilgili maddeyle ilgili olup olmadığını belirlemek için bir dereceye kadar gerekçe gerekir. Bu tür modellerde sıklıkla kullanılan eleştiri, mekanik yorumlanabilirlikten yoksun olmalarıdır. Tanımlayıcıların fiziksel anlamı yokmuş gibi görünebilir veya kimyasal bir açıdan yorumlanması zor olabilir. Kullanılan tanımlayıcı türleri, kimyasal reaktivite/elektrofilikliği kodlayabilir, (örn. LUMO (en düşük moleküler orbitalin enerjisi) ve dağılım etkileri (örn. Log P)), ancak daha yaygın bir durum, yapısal, topolojik ve/veya geometrik bilgileri kodlayan çok sayıda tanımlayıcının hesaplanmasıdır. Son zamanlarda literatürde bir dizi model bildirilmiştir; örnekler, LLNA verileri kullanılarak geliştirilenleri içerir (Devillers, 2000; Estrada ve ark., 2003; Fedorowicz ve ark., 2004; Fedorowicz ve ark., 2005; Li ve ark., 2005; Miller ve ark., 2005; Ren ve ark., 2006; Li ve ark., 2007; Golla ve ark., 2009; Chaudhry ve ark., 2010).

İN-SİLİCO ARAÇLARA DAHİL EDİLEN VERİLER VE MODELLER

Veriler

Hedef madde veya analogları için cilt hassasiyeti verilerinin aranmasını ve geri alınmasını kolaylaştırmak için bir dizi hesaplama aracı ve veri tabanı mevcuttur. Bu tür veri tabanlarına ve araçlara örnekler internet üzerinden ücretsiz erişilebilen OECD QSAR Araç Kutusu (<http://www.qsartoolbox.org/>), Chemfinder (www.chemfinder.com), ChemID (<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>), NICEATM, LNA, Veritabanı (<http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/evalatm/test-method-evaluations/immunotoxicity/nonanimal/index.html>) ve DssTox (<http://www.epa.gov/nheerl/dsstox/>) ve ticari olan Leadscope'tur (<http://www.leadscope.com>).

Mevcut arama motorlarından bazıları veri tabanlarına (köprüler ve dizinler aracılığıyla) bağlanırken, DssTox gibi diğerleri, uygun QSAR/veritabanı yazılım araçlarında daha sonra kullanılmak üzere indirilebilen mevcut QSAR veri setlerinin bir havuzunu sağlar.

***In-silico* araçlar**

OECD QSAR Araç Kutusu

OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı (<http://www.qsartoolbox.org/>, mevcut versiyon 3.3), çeşitli mekanik ve cilt hassasiyeti sonlanma noktasına özgü veri tabanlarını ve profil oluşturucuyu kodlar. Kullanıcının, ortak yapısal uyarıları paylaşan maddeleri gruplandırmasına ve çapraz okuma yoluyla cilt hassasiyeti potansiyelini tahmin etmesine olanak tanır. ECHA, OECD QSAR Araç Kutusu (https://echa.europa.eu/documents/10162/21655633/illustrative_example_qsar_part2_en.pdf) kullanılarak cilt hassasiyeti çapraz okuma tahminlerinin nasıl yapılacağına dair açıklayıcı örnekler yayınlamıştır.

Cilt hassasiyeti için iki özel veritabanı, 1.036 madde ve 1.573 deneysel veri noktası (OASIS cilt hassaslaştırma veritabanı ve Liverpool John Moores Üniversitesi cilt hassaslaştırma veritabanını içerir) içeren "Cilt hassasiyeti" ve 39 madde ve 42 deneysel veri noktası ile "Cilt hassasiyeti ECETOC" olmuştur. REACH dosyalarında bulunan bilgileri toplayan ECHA Chem veritabanı, cilt hassasiyetine ilişkin verileri de içerir.

Cilt hassasiyeti için dört ilgili profil oluşturucu vardır. Hepsi protein bağlanmasına dayanır. Bu profil oluşturucuların üçü genel mekanik profil oluşturucu dalının altında bulunabilir: OASIS v1.3 ile protein bağlama, OECD ile protein bağlama, Protein bağlama etki gücü. Dördüncü profil oluşturucu, sonlanma noktasına özgü dalın altındadır: OASIS v1.3 ile cilt hassaslaştırıcılığı için protein bağlama uyarıları

Kullanıcılar, mekanik ortaklıkları temel alan analogların tanımlanması için profil oluşturucuları kullanabilir ve özel veritabanlarından deneysel bilgiler alabilir. İlgili madde için cilt hassasiyetini tahmin etmek üzere çeşitli veri boşluğu doldurma teknikleri kullanılabilir: çapraz okuma, trend analizi ve QSAR modelleri.

OECD QSAR Araç Kutusu ayrıca cilt hassasiyeti için bir Olumsuz Etki Oluşum Yolu (AOP) kodlamaktadır. Bu, QSAR Araç Kutusunda Olumsuz Etki Oluşum Yolları aracılığıyla tahminlere izin vermek için yapılan ilk girişimdir ve bu aşamada, hassasiyetini tahmin etmek için OECD QSAR Araç Kutusu içindeki AOP işlevinin kullanılmasını tavsiye etmek için erkendir.

Uzman sistemler

VEGA veya Toxtree gibi yazılımları indirmek ve kullanmak ücretsizdir. Uzman incelemesinden geçmiş literatürde cilt hassasiyeti için bildirilmiş bazı (Q)SAR modelleri vardır. Örnekler arasında TOPKAT, CASE, Derek Nexus (DN), TIMES (Doku Metabolizması Simülatörü), Molcode, HazardExpert ve muhtemelen diğerleri bulunur.

- **İstatistiksel Modeller:**

Toxtree, kullanıcının bir karar ağacı yaklaşımı uygulayarak toksik zararlılığı tahmin etmesini sağlar. SMARTS şablonuna dayalı bir yaklaşım kullanarak toksik etki mekanizmalarının tanımlanması için "Cilt hassasiyeti reaktivite alanları" eklentisini içerir. Uyarıların, reaktivite etki şekline gruplama sağlama amacını taşıdığını ve cilt hassasiyeti potansiyelini tahmin etmediğini unutmamak önemlidir.

TOPKAT (Discovery Studio paketine dahildir), BIOVIA Foundation (eski adıyla Accelrys Enterprise Platform 'AEP') tarafından pazarlanan, iki modelden oluşan bir pakettir: bunlardan biri Hassaslaştırıcı olmayanlara karşı Hassaslaştırıcılar ve diğeri Zayıf/Orta karşısında Güçlü hassaslaştırıcılarıdır.

İlk model, bir kimyasal yapının hassaslaştırıcı olma olasılığını hesaplar. Olasılık 0,7'den büyük veya 0,7'ye eşitse, maddenin bir hassaslaştırıcı olduğu tahmin edilir, hassaslaştırıcı olmayan bir maddenin olasılığı 0,30'dan düşük veya eşit olacaktır. İkinci model, birinci model tarafından hassaslaştırıcı olarak tahmin edilen yapılar için geçerlidir ve etki gücünü şu zayıf/orta karşısında güçlü şeklinde belirtir, burada 0,7 veya üzeri olasılık güçlü bir hassaslaştırıcıyı ve 0,30'un altındaki bir olasılık zayıf veya orta derecede bir hassaslaştırıcıyı gösterir.

0.30 ile 0.70 arasındaki olasılık değerleri belirsiz olarak adlandırılır. Optimum tahmin alanı algoritması, tahminlerin yalnızca modelin uygulanabilirlik alanı içindeki maddeler için yapılmasını sağlar. Modellerin hepsinin gine domuzu maksimizasyon testine dayalı olduğu unutulmamalıdır (Enslin ve ark., 1997; <http://accelrys.com/solutions/scientific-need/predictive-toxicology.html>).

CASE metodolojisi ve tüm türevleri Klopman ve Rosenkranz tarafından geliştirilmiştir. Çeşitli sonlanma noktaları ve donanım platformları için çok sayıda model vardır. CASE yaklaşımı, yapısal bir parçanın toksisite ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için bir olasılık değerlendirmesi kullanır (Cronin ve ark., 2003). Cilt hassasiyeti için geliştirilen MCASE modelleri (şu anda CASE Ultra) birincil makalelerde daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır (Gealy ve ark., 1996; Graham ve ark., 1996; Johnson ve ark., 1997). MultiCase Inc'den (Ohio, ABD) (<http://www.multicase.com/case-ultra-models>) satın alınabilecek iki hassasiyet modülü vardır. Ek olarak, bir MCASE cilt hassasiyeti modeli için (Q)SAR tahminleri, Danimarka Çevre Koruma Ajansı (EPA) (Q)SAR veritabanına (<http://qsar.food.dtu.dk/>) dahil edilmiştir.

Ücretsiz olarak indirilebilen **VEGA** platformu (<http://www.vega-qsar.eu/>), sekiz tanımlayıcıya dayalı bir Uyarlamalı Bulanık Dağılım (AFP) algoritması kullanılarak geliştirilmiş bir model (Chaudhry ve ark., 2010) içerir. AFP, maddeleri iki sınıfa ayırır: hassaslaştırıcılar ve hassaslaştırıcı olmayanlar. Tahmin uygulanabilirlik alanının, esas olarak modelin eğitim setindeki maddelerle benzerliğe dayalı olarak derinlemesine bir değerlendirmesi de sağlar.

- Bilgiye dayalı sistemler:

Derek Nexus (DN), yapı-toksisite ilişkileri bilgisi ve etki ve metabolizma mekanizmalarını anlama ihtiyacına vurgu yapılarak oluşturulmuş bilgiye dayalı bir uzman sistemdir. Kar amacı gütmeyen bir şirket ve eğitim amaçlı hayır kurumu olan LHASA Ltd (Leeds, Birleşik Krallık), (<https://www.lhasalimited.org/>) tarafından pazarlanmaktadır ve geliştirilmiştir.

DN dahilinde (versiyon 9), çok çeşitli toksikolojik sonlanma noktalarını kapsayan 361 uyarı vardır. Bir uyarı, ilgili literatür referansları, yorumlar ve örneklerin yanı sıra toksisiteden sorumlu olduğu bilinen veya sorumlu olduğu düşünülen bir alt yapı olan bir toksikofordan oluşur. DN içerisindeki cilt hassasiyeti bilgi tabanı, ilk olarak 1993 yılında Unilever ile işbirliği içinde, 294 madde için gine domuzu maksimizasyon testi (GPMT) verilerinin tarihsel veri tabanı kullanılarak geliştirilmiştir ve yaklaşık kırk uyarı içermiştir (Barratt ve ark., 1994). O zamandan beri, daha fazla veri elde edildikçe bilgi tabanı kapsamlı iyileştirmelerden geçmiştir (Payne ve Walsh, 1994). Mevcut versiyon, cilt hassasiyeti için yaklaşık yetmiş uyarı ve fotoalerjenite için bazı uyarılar içermektedir (Barratt ve ark., 2000; Langton ve ark., 2006). Cilt hassasiyeti için DN tahmin gücü yakın zamanda Guesne ve ark. tarafından değerlendirilmiştir. (2014). Hatırlatıcı olarak, uyarı tabanlı sistemler, ayırt edici modellerin aksine, özgüllükleri ve genel doğrulukları açısından değerlendirilmemelidir.

- Melezler:

Doku Metabolizması Simülatörü (TIMES) yazılımı, cilt hassasiyeti potansiyellerini tahmin etmek üzere maddelerin reaktivitesini değerlendirmek için bir Cilt metabolizması Simülatörünü (SS) 3D nicel yapı aktivite ilişkileri ile bütünleştirmek için geliştirilmiştir (Dimitrov ve ark., 2005). Simülatörün güncel versiyonu (versiyon 2.27.16), 200'den fazla hiyerarşik olarak sıralanmış kendiliğinden ve enzim kontrollü reaksiyon içerir. Maddelerin/metabolitlerin cilt proteinleri ile kovalent etkileşimleri 47 uyarı grubu tarafından tanımlanmıştır. Bu uyarı gruplarından bazıları için 3D nicel yapı aktivite ilişkileri (COREPA) uygulanır. TIMES-SS'nin karakterizasyonu ve değerlendirilmesi sırasıyla Patlewicz ve ark. (2007) ve Roberts ve ark. (2007b) çalışmalarında bulunabilir. TIMES ile yapılan yeni araştırma, Patlewicz ve ark. (2014) çalışmasını içermektedir.

Danimarka QSAR veritabanı, 70.000'den fazla REACH ön kayıtlı madde dahil olmak üzere 600.000'den fazla ayrı organik madde için alerjik kontakt dermatit (ACD) dahil bir dizi tehlike sonlanma noktası için önceden hesaplanmış tahminlerin bir koleksiyonunu içerir.

Tahminler, Danimarka Teknik Üniversitesi tarafından geliştirilen veya izin düzenlenen modellerde yapılmıştır. ACD için ticari CASE Ultra modeli, Leadscope ve SciQSAR'da yeniden modelleme için özel izinle MultiCASE'den lisanslanmıştır. Eğitim setine, ACD (Alerjik Kontakt Dermatit) ile ilgili insan epidemiyolojik çalışmalarından bilgiler ve Gine Domuzu Maksimizasyon Testinden elde edilen sonuçlarla birlikte 1.031 bileşik dahildir. Modellerin ikili tahminleri (pozitif/negatif), maddenin tanımlanan model uygulanabilirlik alanı içinde olup olmadığına dair bilgilerle birlikte verilmiştir. Ek olarak, diğer üç yaklaşım arasında "çoğunluk oy algoritmasına" dayalı dördüncü bir tahmin sağlanmıştır. Çevrimiçi veritabanı arayüzü, örn. CAS RN, EC No, ad, yapı/alt yapı/kimyasal yapı benzerliği, dahil edilen tüm tahmin sonlanma noktaları ve önceki aramaların karmaşık VE/VEYA/DEĞİL kombinasyonları gibi arama fonksiyonları içermektedir. Üç ayrı model için QSAR Model Raporlama Formatlarını içeren veri tabanı şu adreste ücretsiz olarak mevcuttur: <http://qsar.food.dtu.dk/>.

DN, TOPKAT vb. gibi uzman sistemler için, eğitim setleri ve bir dereceye kadar kullanılan algoritmalar veya tanımlayıcılar genellikle yazılım içinde gizli tutulur. Belirli bir tahminin sağlamlığı ve alaka düzeyi hakkında bazı destekleyici bilgiler sağlanır. Örneğin, DN içinde, temsili örnek maddeler ve geliştirilen SAR için mekanik temelin açıklamalarını görmek mümkündür.

TOPKAT, tahminin güvenilirliğini aşağıda belirtilen şekillerde değerlendirmede kullanıcıları destekler: 1) maddenin modelin uygulanabilirlik alanına girip girmediğini değerlendirmek (yapısal parçalar ve tanımlayıcılara dayalı olarak), 2) kimyasal maddenin veri tabanında bulunup bulunmadığını kontrol etmek ve 3) kimyasal benzerliğe dayalı olarak hedef maddenin analoglarını belirlemek. Mevcut diğer ticari uzman sistemlerin çoğunda benzer işlevler ve özellikler mevcuttur.

Cilt hassasiyetini tetikleyen ana faktörler (ve dolayısıyla nicel yapı aktivite ilişkileri) bir maddenin elektrofiliğinin altında yatan olgu olmakla birlikte, oktanol/su dağılım katsayısında (log P) kodlanan hidrofobiklik gibi diğer faktörlerin de gözlemlenen hassasiyet cevabının değişmesinde bir rol oynadığı düşünülebilir. DN içinde, Potts ve Guy tarafından geliştirilen algoritma kullanılarak olası cilde nüfuz kabiliyetinin bir değerlendirmesi yapılır. Bu, Kp değerini log P ve MW ile ilişkilendirir (Potts ve Guy, 1992). Böylelikle, çıktığı nüfuz potansiyeli bantları açısından mantıksallaştırmak mümkündür. Perkütan emilimi değerlendirmek için bazı yöntemler Howes ve ark. (1996) tarafından tanımlanmıştır.

Referanslar

Aptula AO, Patlewicz G ve Roberts DW (2005) Skin Sensitisation: Reaction Mechanistic Applicability Domains for Structure-Activity Relationships (Cilt Hassasiyeti: Yapı-Aktivite İlişkileri için Reaksiyon Mekanizması Uygulanabilirlik Alanları). *Chem Res Toxicol* 18:1420-6.

Aptula AO ve Roberts DW (2006) Mechanistic applicability domains for non-animal-based prediction of toxicological endpoints: general principles and application to reactive toxicity (Toksikolojik sonlanma noktalarının hayvan temelli olmayan tahmini için mekanik uygulanabilirlik alanları: genel ilkeler ve reaktif toksisiteye uygulama). *Chem Res Toxicol* 19:1097-105.

Aptula AO, Patlewicz G, Roberts DW ve Schultz TW (2006) Non-enzymatic glutathione reactivity and in vitro toxicity: A non-animal approach to skin sensitisation (Enzimatik olmayan glutatyon reaktivitesi ve in vitro toksisite: Cilt hassasiyetine hayvan dışı bir yaklaşım). *Toxicol in Vitro* 20:239-47.

Ashby J, Basketter DA, Paton D ve Kimber I (1995) Structure activity relationships in skin sensitisation using the murine local lymph node assay (Fare lokal lenf düğümü testi kullanarak hassasiyetinde yapı aktivitesi ilişkileri). *Toxicology* 103:177-94.

Barratt MD, Basketter DA, Chamberlain M, Admans GD ve Langowski JJ (1994) An expert system rulebase for identifying contact allergens (Temas alerjenlerinin belirlenmesi için bir uzman sistem kural tabanı). *Toxicol in Vitro* 8:1053-60.

Barratt MD, Castell JV, Miranda MA, Langowski JJ (2000) Development of an expert system rulebase for the prospective identification of photoallergens (Fotoalerjenlerin ileriye dönük şekilde belirlenmesi için bir uzman sistem kural tabanı geliştirilmesi). *J Photochem Photobiol B* 58:54- 61.

Basketter DA, Roberts DW, Cronin M ve Scholes EW (1992) The value of the local lymph node assay in quantitative structure-activity investigations (Nicel yapı aktivite araştırmalarında lokal lenf düğümü testinin değeri). *Contact Dermatitis* 27:137-42.

Chaudhry Q, Piclin N, Cotterill J, Pintore M, Price NR, Chrétien JR ve Roncaglioni A (2010) Global QSAR models of skin sensitizers for regulatory purposes (Düzenleyici amaçlara yönelik cilt hassaslaştırıcıların global QSAR modelleri). *Chem Cent J* 4 Suppl 1:S5.

Cronin MT ve Basketter DA (1994) Multivariate QSAR analysis of a skin sensitisation database (Bir cilt hassasiyeti veritabanının çok değişkenli QSAR analizi). *SAR QSAR Environ Res* 2:159-79.

Cronin MTD, Jaworska JS, Walker JD, Comber MHI, Watts CD ve Worth AP (2003) Use of QSARs in International Decision-Making Frameworks to Predict Health Effects in Chemical Substances (Kimyasal Maddelerde Sağlık Etkilerini Tahmin Etmek İçin Uluslararası Karar Çerçevesinde QSAR Kullanımı). *Environ Health Perspect* 111:1391-401.

Cronin MT, Enoch SJ, Hewitt M ve Madden JC (2011) Formation of mechanistic categories and local models to facilitate the prediction of toxicity (Toksisite tahminini kolaylaştırmak için mekanik kategorilerin ve yerel modellerin oluşturulması). *ALTEX* 28:45-9.

Devillers J (2000) A Neural Network SAR Model for Allergic Contact Dermatitis (Alerjik Kontakt Dermatit için Sinir Ağı SAR Modeli). *Toxicol Meth* 10:181-93.

Dimitrov SD, Low LK, Patlewicz GY, Kern PS, Dimitrova GD, Comber MH, Phillips RD, Niemela J, Bailey PT ve Mekenyan OG (2005) Skin sensitisation: modeling based on skin metabolism simulation and formation of protein conjugates (Cilt hassasiyeti: cilt metabolizması simülasyonuna ve protein konjugatlarının oluşumuna dayalı modelleme). *Int J Toxicol* 24:189-204.

Enslin K, Gombar VK, Blake BW, Maibach HI, Hostynek JJ, Sigman CC ve Bagheri D (1997) A quantitative structure-toxicity relationships model for the dermal sensitisation guinea pig maximization assay (Cilt hassasiyeti gine domuzu maksimizasyon deneyi için bir nicel yapı-toksisite ilişkileri modeli). *Food Chem Toxicol* 35:1091-8.

Estrada E, Patlewicz G, Chamberlain M, Basketter D ve Larbey S (2003) Computer-aided knowledge generation for understanding skin sensitisation mechanisms: The TOPS-MODE approach (Cilt hassasiyeti mekanizmalarını anlamak için bilgisayar destekli bilgi üretimi: TOPS-MODE yaklaşımı). *Chem Res Toxicol* 16:1226-35.

Fedorowicz A, Zheng L, Singh H ve Demchuk E (2004) Structure-Activity Models for Contact Sensitisation (Temas Hassasiyeti için Yapı-Aktivite Modelleri). *Int J Mol Sci* 5:56-66.

Fedorowicz A, Singh H, Soderholm S ve Demchuk E (2005) Structure-activity models for contact sensitisation (Temas hassasiyeti için yapı-aktivite modelleri). *Chem Res Toxicol* 18:954-69.

Gealy R, Graham C, Sussman NB, Macina OT, Rosenkranz HS ve Karol MH (1996) Evaluating clinical case report data for SAR modeling of allergic contact dermatitis (Alerjik kontakt dermatitin SAR modellemesi için klinik vaka raporu verilerinin değerlendirilmesi). *Hum Exp Toxicol* 15:489-93.

Gerberick GF, Vassallo JD, Bailey RE, Chaney JG, Morrall SW ve Lepoittevin JP (2004) Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens (Temas alerjenlerini taramak için bir peptid reaktivite deneyinin geliştirilmesi). *Toxicol Sci* 81:332- 43.

Gerberick GF, Ryan CA, Kern PS, Schlatter H, Dearman RJ, Kimber I, Patlewicz GY ve Basketter DA (2005) Compilation of historical local lymph node data for evaluation of skin sensitisation alternative methods (Cilt hassaslaştırıcılığı alternatif yöntemlerinin değerlendirilmesi için geçmiş lokal lenf düğümü verilerinin derlenmesi). *Dermatitis* 16:157-202.

Gerner I, Barratt MD, Zinke S, Schlegel K ve Schlede E (2004) Development and prevalidation of a list of SAR rules to be used in expert systems for the prediction of skin sensitising properties of chemicals (Kimyasalların cilt hassaslaştırıcı özelliklerinin tahmini için uzman sistemlerde kullanılacak SAR kuralları listesinin geliştirilmesi ve ön doğrulaması). *Altern Lab Anim* 32:487-509.

Golla S, Madihally S, Robinson RL Jr ve Gasem KA (2009) Quantitative structure-property relationship modeling of skin sensitization: a quantitative prediction (Cilt hassasiyetinin nicel yapı-özellik ilişkisi modellenmesi: nicel bir tahmin). *Toxicol in Vitro* 23:454- 65.

Graham C, Gealy R, Macina OT, Karol MH ve Rosenkranz HS (1996) QSAR for allergic contact dermatitis (Alerjik kontakt dermatit için QSAR). *Quant Struct-Act Relat* 15:224-9.

Guesne S, Canipa S ve Williams R (2014) Derek Nexus predicts human skin sensitisation accurately. What is the rationale behind its predictive performance? (Derek Nexus ile insan cildi hassasiyetinin doğru bir şekilde tahmini. Tahmine dayalı performansının ardındaki mantık nedir?) (Toplantı özeti: P-3.42) *Toxicol Lett* 229 Suppl:S160.

Howes D, Guy R, Hdgraft J, Heylings J, Hoeck U, Kemper F, Maibach H, Marty JP, Merk H, Parra J, Rekkas D, Rondelli I, Schaefer H, Täuber U ve Verbiese N (1996) Methods for assessing percutaneous absorption The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 13.(Perkütan emilim değerlendirme yöntemleri. ECVAM Çalıştay 13 Raporu ve Önerileri). *Altern Lab Anim* 24:81-106.

Johnson R, Macina OT, Graham C, Rosenkranz HS, Cass GR ve Karol MH (1997) Prioritizing testing of organic compounds detected as gas phase air pollutants: Structure-activity study for human contact allergens (Gaz fazı hava kirleticileri olarak tespit edilen test veya organik bileşiklere öncelik verilmesi: İnsan temas alerjenleri için yapı-aktivite çalışması). *Environ Health Perspect* 105:986-92.

Kern PS, Gerberick GF, Ryan CA, Kimber I, Aptula A ve Basketter DA (2010) Local lymph node data for the evaluation of skin sensitization alternatives: a second compilation (Cilt hassaslaştırıcılığı alternatiflerinin değerlendirilmesi için lokal lenf düğümü verileri: ikinci bir derleme). *Dermatitis* 21:8-32.

Langton K, Patlewicz GY, Long A, Marchant CA ve Basketter DA (2006) Structure-activity relationships for skin sensitization: recent improvements to Derek for Windows (Cilt hassasiyeti için yapı-aktivite ilişkileri: Windows için Derek üzerindeki son gelişmeler). *Contact Dermatitis* 55:342-7.

Li S, Fedorowicz A, Singh H ve Soderholm SC (2005) Application of the Random Forest method in Studies of Local Lymph Node Assay Based skin sensitisation data (Cilt Hassasiyeti Verilerine Dayanan Lokal Lenf Düğümü Testi Çalışmalarında Rastgele Forest Yönteminin Uygulanması). *J Chem Inf Model* 45:952-64.

Li Y, Tseng YJ, Pan D, Liu J, Kern PS, Gerberick GF ve Hopfinger AJ (2007) 4D-Fingerprint Categorical QSAR Models for skin sensitisation based on the classification of Local Lymph Node assay measures (Lokal Lenf Düğümü Testi ölçümlerinin sınıflandırmasına dayanan cilt hassasiyeti için 4D Parmak İzli Kategorik QSAR Modelleri). *Chem Res Tox* 20:114-28.

Miller MD, Yourtee DM, Glaros AG, Chappelow CC, Eick JD ve Holder AJ (2005) Quantum Mechanical Structure-Activity Relationship Analyses for Skin Sensitisation (Cilt Hassasiyeti için Kuantum Mekanik Yapı-Aktivite İlişkisi Analizleri). *J Chem Inf Model* 45:924-9.

Patlewicz G, Basketter DA, Smith CK, Hotchkiss SA ve Roberts DW (2001) Skin-sensitisation structure-activity relationships for aldehydes (Aldehitler için cilt hassasiyeti yapı-aktivite ilişkileri). *Contact Dermatitis* 44:331-6.

Patlewicz G, Wright ZM, Basketter DA, Pease CK, Lepoittevin J-P ve Arnau EG (2002) Structure-activity relationships for selected fragrance allergens (Seçilen koku alerjenleri için yapı-aktivite ilişkileri). *Contact Dermatitis* 47:219-26.

Patlewicz G, Roberts DW ve Walker JD (2003) QSARs for the skin sensitisation potential of aldehydes and related compounds (Aldehitlerin ve ilgili bileşiklerin cilt hassasiyeti potansiyeli için nicel yapı aktivite ilişkileri). *QSAR Comb Sci* 22:196-203.

Patlewicz G, Basketter DA, Pease CK, Wilson K, Wright ZM, Roberts DW, Bernard G, Gimenez Arnau E ve Lepoittevin JP (2004) Further evaluation of quantitative structure-activity relationship models for the prediction of the skin sensitisation potency of selected fragrance allergens (Seçilen koku alerjenlerinin cilt hassasiyeti etki gücünün tahmini için nicel yapı-aktivite ilişkisi modellerinin daha ileri değerlendirmesi). *Contact Dermatitis* 50:91-7.

Patlewicz G, Dimitrov SD, Low LK, Kern PS, Dimitrova GD, Comber MI, Aptula AO, Phillips RD, Niemelä J, Madsen C, Wedeby EB, Roberts DW, Bailey PT ve Mekenyan OG (2007) TIMES-SS--a promising tool for the assessment of skin sensitization hazard. A characterization with respect to the OECD validation principles for (Q)SARs and an external evaluation for predictivity (TIMES- SS - Cilt hassasiyeti zararlılığının değerlendirilmesi için ümit verici bir araç. Nicel yapı aktivite ilişkileri için OECD doğrulama ilkelerine göre karakterizasyon ve tahmin gücü için harici bir değerlendirme). Regul Toxicol Pharmacol 48:225-39.

Patlewicz G, Kuseva C, Mehmed A, Popova Y, Dimitrova G, Ellis G, Hunziker R, Kern P, Low L, Ringeissen S, Roberts DW ve Mekenyan O (2014) TIMES-SS--recent refinements resulting from an industrial skin sensitisation consortium (TIMES-SS - endüstriyel cilt hassasiyeti birliği kaynaklı son gelişmeler). SAR QSAR Environ Res 25:367-91.

Payne MP ve Walsh PT (1995) Structure-activity relationships for respiratory sensitisation (Solunum hassasiyeti için yapı-aktivite ilişkileri). Bildiriler, İngiliz Toksikoloji Derneği Toplantısı York, Yorkshire, İngiltere, Mart/Nisan 1995.

Potts RO ve Guy RH (1992) Predicting skin permeability (Cilt geçirgenliğinin tahmini). Pharm Res 9:663-9.

Ren Y, Liu H, Xue C, Yao X, Liu M ve Fan B (2006) Classification study of skin sensitizers based on support vector machine and linear discriminant analysis (Destek vektör makinesi ve doğrusal ayırt edici analizine dayalı cilt hassaslaştırıcıların sınıflandırma çalışması). Anal Chim Acta 572:272-82.

Roberts DW ve Williams DL (1982) The derivation of quantitative correlations between skin sensitisation and physico-chemical parameters for alkylating agents and their application to experimental data for sultones (Alkileyici ajanlar için cilt hassasiyeti ve fiziko-kimyasal parametreler arasındaki nicel korelasyonların türetilmesi ve bunların sülfonlar için deneysel verilere uygulanması). J Theor Biol 99:807-25.

Roberts DW (1987) Structure-activity relationships for skin sensitisation potential of diacrylates and dimethacrylates (Diakrilatların ve dimetakrilatların cilt hassasiyeti potansiyeli için yapı-aktivite ilişkileri). Contact Dermatitis 17:281-9.

Roberts DW, York M ve Basketter DA (1999) Structure-activity relationships in the murine local lymph node assay for skin sensitisation: alpha, beta-diketones (Cilt hassasiyeti için fare lokal lenf düğümü testinde yapı-aktivite ilişkileri: alfa, beta-diketonlar). Contact Dermatitis 41:14- 7.

Roberts DW ve Basketter DA (2000) Quantitative structure-activity relationships: sulfonate esters in the local lymph node assay (Nicel yapı-aktivite ilişkileri: lokal lenf düğümü testinde sülfonat esterler). Contact Dermatitis 42:154-61.

Roberts DW ve Patlewicz G (2002) Mechanism based structure-activity relationships for skin sensitisation - the carbonyl group domain (Cilt hassasiyeti için mekanizmaya dayalı yapı-aktivite ilişkileri - karbonil grubu alanı). SAR QSAR Environ Res 13:145-52.

Roberts DW, Aptula AO ve Patlewicz GY (2006) Mechanistic Applicability Domains for Non-Animal Based Toxicological Endpoints. QSAR Analysis of the Schiff Base Applicability Domain for Skin Sensitisation (Hayvan Temelli Olmayan Toksikolojik Sonlanma Noktaları için Mekanik Uygulanabilirlik Etki Alanları. Cilt Hassasiyeti için Schiff Bazı Uygulanabilirlik Alanının QSAR Analizi). Chem Res Toxicol 19:1228-33.

Roberts DW, Aptula AO, Cronin MTD, Hulzebos E ve Patlewicz G (2007a) Global (Q)SARs for skin sensitization - assessment against OECD principles (Cilt hassasiyeti için Global (Q)SAR - OECD ilkelerine göre değerlendirme). SAR QSAR Environ Res 18:343-65.

Roberts DW, Patlewicz G, Dimitrov SD, Low LK, Aptula AO, Kern PS, Dimitrova GD, Comber MI, Phillips RD, Niemelä J, Madsen C, Wedeby EB, Bailey PT ve Mekenyan OG (2007b) TIMES- SS--a mechanistic evaluation of an external validation study using reaction chemistry principles (TIMES- SS - reaksiyon kimyası ilkeleri kullanılarak harici bir doğrulama çalışmasının mekanik değerlendirmesi). Chem Res Toxicol 20:1321-30.

Schlede D, Aberer W, Fuchs T, Gerner I, Lessmann H, Maurer T, Rossbacher R, Stropp G, Wagner E ve Kayser D (2003) Chemical substances and contact allergy - 244 substances ranked according to allergenic potency (Kimyasal maddeler ve temas alerjisi - alerjenik potansiyele göre sıralanmış 244 madde). Toxicology 193:219-59.

Schultz TW, Carlson RE, Cronin MTD, Hermens JLM, Johnson R, O'Brien PJ, Roberts DW, Siraki A, Wallace KB ve Veith GD (2006) A conceptual framework for predicting the toxicity of reactive chemicals" modelling soft electrophilicity (Yumuşak elektrofiliği modelleyen reaktif kimyasalların toksisitesinin tahmini için kavramsal bir çerçeve). SAR QSAR Environ Res 17:413-28.

Ek R.7.3–2 Doğrulanmamış ve/veya kullanımda olmayan test yöntemleri kullanılırken hayvan dışı bir test yöntemi için bireysel bilgi kaynaklarının raporlanmasına yönelik şablon

Aşağıdaki raporlama formatı ([Tablo R.7.3–4](#)) özellikle cilt hassasiyeti için KKDİK bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere hayvan dışı test yöntemleriyle bilgi oluşturulduğunda dikkate alınmalıdır. Bu raporlama şablonunun kullanımı, uluslararası bir doğrulama çalışmasında bilimsel olarak geçerli kabul edilmemiş test yöntemi/yöntemlerinin kullanıldığı ve/veya uluslararası olarak kabul edilmiş bir test rehberi bulunmayan durumlarda çok önemlidir.

Bir test yönteminin uluslararası olarak kabul görmüş bir test rehberine sahip olması durumunda, bu şablon da kullanılabilir, ancak aşağıda açıklanan noktalardan bazıları test rehberinin kendisine zaten dahil edilebilir, bu nedenle bu tür bilgi bir kaynağının/kaynaklarının ayrıntılı raporlanması genellikle gerekli değildir. Her bir bilgi kaynağının raporlanması, KKS dosyasının ayrı bir sonlanma noktası çalışma kaydına (ESR) dahil edilmelidir, yani her bir bilgi kaynağı için bir ESR doldurulmalıdır.

Not: Bu raporlama şablonu, bireysel bilgi kaynaklarının (OECD, 2016) raporlanması için OECD şablonuna dayanmaktadır ve cilt hassasiyeti sonlanma noktasına ve KKDİK bilgi gerekliliklerine özel olacak şekilde değiştirilmiştir.

Tablo R.7.3–4 Cilt hassasiyeti için KKDİK bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere doğrulanmamış ve/veya kullanımda olmayan test yöntemlerini kullanırken hayvan dışı bir test yöntemini açıklayan bireysel bilgi kaynaklarının raporlanması için şablon.

Bilgi kaynağı adı	Bilgi kaynağının adı ve kısaltması (varsa) sağlanır
AOP kapsamı dahil olmak üzere mekanik temel	Bilgi kaynağı tarafından cilt hassasiyeti Olumsuz Etki Oluşum Yollarının hangi anahtar olayının ele alındığı açıklanır. Bilgi kaynağının mekanik temelini, (anahtar) olayın kapsadığı kimyasal/biyolojik mekanizma ile ne ölçüde ilişkili olduğuna dair bir açıklama sağlanmalıdır.
Açıklama	Kullanılan deneysel sistem ve prosedürün ilgili herhangi bir yönü dahil olmak üzere bilgi kaynağının kısa bir tanımı sağlanır (örn. deneysel sistemin test maddesiyle maruz kalma süresi, test edilen doz/konsantrasyon sayısı, tekrar sayısı, eş zamanlı kontrol/kontroller ve taşıyıcı/taşıyıcıların testleri, cevabı ölçmek için kullanılan laboratuvar aletleri/teknikleri).
Ölçülen cevaplar	Bilgi kaynağı tarafından ölçülen cevaplar ve ölçümü belirtilir (örneğin, sentetik peptitlere <i>in chemico</i> bağlanma, peptit tükenmesi yüzdesi olarak ifade edilir).
Tahmin modeli	Bilgi kaynağı ve amacı ile ilişkili bir tahmin modelinin olup olmadığı belirtilir. Tahmin modeli kısaca açıklanır ve tahmin modelinin açıklandığı bir yayın veya belgeye (varsa) bir referans sağlanır.
Metabolik yeterlilik (varsa)	Bilgi kaynağının metabolik olarak yeterli herhangi bir sistemi/adımı kapsayıp kapsamadığı ve mümkün olduğu ölçüde bunun <i>in vivo</i> durumla nasıl ilişkili olduğu belirtilir.
Gelişim durumu, standardizasyon, doğrulama	Bilgi kaynağının aşağıda belirtilenlerden biri olup olmadığı belirtilir: a) resmi olarak kabul görmüş (standart) bir test yöntemi (örn. bir OECD Test Rehberi kapsamındaki bir test yöntemi); b) doğrulanmış ancak standart olmayan bir test yöntemi; c) resmi değerlendirmeden geçen bir test yöntemi (örn. ön doğrulama, doğrulama, diğerleri); d) yaygın olarak kullanılan doğrulanmamış bir test yöntemi; e) az sayıda kullanıcı tarafından uygulanan doğrulanmamış bir test yöntemi.
Teknik sınırlamalar ve uygulanabilirlik alanına ilişkin sınırlamalar	Bilgi kaynağının teknik sınırlamalar nedeniyle uygulanabilir olmadığı gösterilen madde/maddeler ve/veya kimyasal kategoriler (örn. fiziko-kimyasal özelliklere veya fonksiyonel gruplara dayalı olarak) belirtilir (örn. yüksek uçuculuğa sahip maddeler, suda az çözünen maddeler, katı maddeler, maddenin tespit sistemi ile etkileşimi (örn. spektrofotometrik analizi engelleyen renkli veya kendiliğinden floroya gösteren maddeler)). Bilgi kaynağının çok bileşenli maddelerin, UVCB ve karışımların test edilmesine teknik olarak uygulanabilir olup olmadığı belirtilir. İlave olarak, bilgi kaynağının referans sınıflandırmalarına göre yanlış ve/veya güvenilmez tahminler verdiği deneysel olarak gösterilen madde/maddeler ve/veya kimyasal kategoriler belirtilir (örneğin, metabolik aktivasyon gerektiren maddelerle ilgili yanlış negatif tahminler, yüksek yanlış pozitif alkol oranı).
Güçlü ve zayıf yönler	Diğerlerinin yanı sıra, aşağıdaki hususlar da göz önünde bulundurularak, mevcut benzer test dışı veya test yöntemlerine kıyasla bilgi kaynağının güçlü ve zayıf yönlerine ilişkin bir gösterge sağlanır: a) sağlanan mekanik bilginin kapsamı ve alaka düzeyi (yani, aynı deneysel modeldeki çeşitli cevapların ölçülmesi, araştırılan etkinin temelinde mekanizmaların sınırlı veya iyi bir şekilde kapsanması, insanlarda cevapların tahmini);

	b) sağlanan bilgi seviyesi (tek nokta tahmini veya doz-cevap bilgisi); c) performans seviyesi (örneğin, daha yüksek veya daha düşük tekrarlanabilirlik, tahmin kapasitesi); d) uygulanabilirlik alanının kapsamı; e) yayınlanan bilgilere sahip maddelerin sayısı.
Güvenilirlik (laboratuvar içinde ve laboratuvarlar arasında) (geçerliyse)	Bilgi kaynağının güvenilirlik düzeyi (yani, bir veya birden fazla laboratuvarda aynı protokolü kullanarak aynı maddelerin zamana karşı test edilmesinden elde edilen sonuçlar arasındaki uyum derecesi) ve değerlendirme için kullanılan maddelerin sayısı dahil olmak üzere ne ölçüde karakterize edildiği açıklanır.
Tahmin kapasitesi (geçerliyse)	Bilgi kaynağının ilgili anahtar olayı ne ölçüde tahmin ettiği açıklanır (bilimsel yayınlarda bildirilen ve doğrulama çalışmalarında belirlenen şekilde). Tahmin kapasitesi, hassasiyet, özgüllük ve doğruluk açısından veya diğer uyum iyiliği istatistikleri (örneğin doğrusal korelasyon analizi) ile ifade edilir. Bu değerlendirmede kullanılan madde sayısı ve bunların tahminleri referans yöntem kullanarak dahil edilir.
Önerilen düzenleyici kullanım	Bilgi kaynağının önerilen düzenleyici kullanımı belirtilir (örn. bağımsız tam değiştirme yöntemi, kısmi değiştirme yöntemi, tarama yöntemi, diğerleri).
Test ve Değerlendirme Stratejisi içindeki potansiyel rol	Bilgi kaynağının, veri bütünleştirmeye yönelik yapılandırılmış bir yaklaşım (varsa) ve/veya bir Test ve Değerlendirme Stratejisi dahilinde taşınması beklenen potansiyel ağırlığı ve hangi özel amaçla bilgi kaynağının kendi başına kullanılabileceği belirtilir.

Referans

OECD (2016a) Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin Rehber Doküman

Erişim

adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2_8&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2_8&doclanguage=en)

Ek R.7.3–3 Birden fazla bilgi kaynağına dayanan test ve değerlendirmeye yönelik tanımlanmış yaklaşımlar için raporlama formatı

Bu şablon, IATA içinde kullanılacak test ve değerlendirmeye yönelik tanımlanmış yaklaşımların raporlanması ve cilt hassasiyeti için KKDİK bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere kullanılan bireysel bilgi kaynaklarının bütünleştirilmesi hakkında tavsiye sağlamayı amaçlamaktadır. Test ve değerlendirmeye yönelik tanımlanmış yaklaşımların ve bunlardan elde edilen sonuçların raporlanması dosyaya, yani KKS dosyasının cilt hassasiyeti sonlanma noktası özet kaydına ek olarak dahil edilmelidir.

Not: Raporlama şablonu, Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin OECD Rehber Dokümanı Ek I'de açıklanan tanımlanmış yaklaşımların raporlanması için OECD raporlama formatına dayanmaktadır (OECD, 2016a), ancak, şablon KKDİK'e özgü amaçlara uyarlanmıştır.

1 Özet

Önerilen tanımlanmış yaklaşıma kısa bir genel bakış sağlamak için raporlama formatındaki bilgiler özetlenir.

2 Genel bilgi

2.1 Tanımlayıcı: *Yapılandırılmış yaklaşım için kısa ve bilgilendirici bir başlık sağlanır.*

2.2 Ana bilimsel makalelere referans: *Ana kaynakça referansları (varsa) listelenir.*

3 Ele alınan sonlanma noktası

Sonlanma noktası belirtilir (burada cilt hassasiyeti). Ayrıca, önerilen yaklaşımla ölçülen veya tahmin edilen ilgili özellikler belirtilir ve bunların bir sonlanma noktasını mı yoksa mevcut bir test rehberi tarafından tahmin edilen anahtar olayı mı ele aldığı (veya kısmen ele aldığı) belirtilir.

4 Amacın tanımı

Varsayılan: cilt hassasiyeti için KKDİK bilgi gerekliliğini (Ek 7, 8.3) ve ilgili sınıflandırma ve/veya risk değerlendirme yükümlülüklerini karşılamak.

5 Tanımlanmış yaklaşım yapısının temel mantığı

Tanımlanan yaklaşımı oluşturmak için kullanılan mantık açıklanır. Bu, bilinen maddeye yaklaşım içinde kullanılan bireysel bilgi kaynaklarının ve tahmin edilen anahtar olayların bağlantısının bir değerlendirmesini içermelidir. Muhtemelen diğer mevcut benzer bilgi kaynaklarının ışığında, belirli bir anahtar olayı/olayları ele alan belirli bilgi kaynak(lar)ı/test(ler)in seçim nedeni sağlanmalıdır.

Mevcut bir test rehberinin mevcut olduğu (örn. AB veya OECD) anahtar bir olay için rehber dışı bir bilgi kaynağının kullanılması durumunda, bunun gerekçelendirilmesi gerekir.

6 Yaklaşım içinde kullanılan bireysel bilgi kaynaklarının açıklaması (bkz. OECD Rehber Dokümanları (OECD, 2016a ila d) ve **bu Rehberde** [Ek R.7.3–2](#))

Önerilen tanımlanmış yaklaşım dahilinde kullanılan bilgi kaynakları listelenir (örn. fiziko-kimyasal özellikler, test dışı (in silico) yöntemler ve test (in chemico, in vitro, in vivo) yöntemleri, ölçülen cevap/cevaplar ve ilgili ölçüm/ölçümler dahil) (örneğin sentetik peptitlere in chemico bağlanma, %peptit tükenmesi olarak ifade edilir). In chemico, in vitro ve in vivo yöntemlerde her birinin ayrıntılı açıklamaları, KKS'deki sonlanma noktası çalışma kayıtları (ESR) (yani, her bir bilgi kaynağı için bir ESR) kullanılarak sağlanmalıdır.

Ek olarak, QSAR modelleri kullanıldığında, QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) sağlanmalı ve varsa, bireysel tahminler QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF) kullanılarak raporlanmalı ve KKS'nin sonlanma noktası çalışma kaydına dahil edilmelidir. Her iki raporlama formatına şu adresten erişilebilir: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/laboratories-research/predictive-toxicology/qsar-tools/QRF>.

7 Uygulanan veri yorumlama prosedürü

Kullanılan veri yorumlama işlemi (DIP) açıklanır. DIP çıktısının nitel mi yoksa nicel mi olduğu belirtilir. Mümkünse, veri yorumlama işleminin uygulanması gereken yolu göstermek için bir iş akışı sağlanır.

8 DIP geliştirmek ve test etmek için kullanılan maddeler

8.1 Eğitim ve test setlerinin mevcudiyeti: Bir eğitim setinin (yani veri yorumlama işleminin geliştirilmesinde kullanılan kimyasal veriler) ve test setinin (yani, veri yorumlama işlemini değerlendirmek için kullanılan kimyasal veriler) mevcut olup olmadığı (örneğin, bir yayında yayınlanmış, bir veritabanında saklanmış) veya bu Raporlama formatına eklenmiş olup olmadığı belirtilir. Mevcut değilse nedeni açıklanır. Örnek: "Mevcut ve eklenmiştir"; "Mevcuttur ve referans gösterilmiştir"; "Veri seti tescilli olduğu için mevcut değildir"; "Veri seti alınamamıştır".

8.2 Veri yorumlama işlemini değerlendirmek için kullanılan eğitim seti ve test setinin seçimi: Eğitim seti ve test seti mevcutsa, seçilmelerinin gerekçesi açıklanır (örneğin, tahmin edilen sonlanma noktası için yüksek kaliteli in vivo verilerin mevcudiyeti, in vivo gözlemlenen etkilerin kapsamı, çeşitli fiziko-kimyasal özelliklerin kapsamı, yapısal çeşitlilik kapsamı, diğerleri).

8.3 Eğitim ve test setleriyle ilgili destekleyici bilgiler: Eğitim ve/veya test setleri mevcutsa, bunlar destekleyici bilgi olarak, tercihen bir Excel tablosu biçiminde eklenir. Her iki setle ilgili aşağıdaki bilgiler, mevcut olduğu yerde ve mümkün olduğu ölçüde raporlanmalıdır: a) kimyasal ad (yaygın ve/veya IUPAC); b) CAS ve/veya EC numaraları; c) çok bileşenli veya UVCB maddeler söz konusu olduğunda, bileşim mümkün olduğunca rapor edilir; d) her bir madde için referans verileri veya sınıflandırma/sınıflandırmalar (örn. in vivo veriler); e) tanımlanan yaklaşımda kullanılan bireysel bilgi kaynaklarından veriler; f) her bir madde için nihai sonuç/tahmin.

8.4 Eğitim ve test setleriyle ilgili diğer bilgiler: Eğitim ve/veya test setleri destekleyici bilgi olarak dahil edilmek üzere mevcut değilse, eğitim ve/veya test setleriyle ilgili diğer ilgili bilgiler belirtilir (örn. maddelerin sayısı ve türü). Bu, örn. kimyasal kapsam konusunda bir anlayış kazanmak için yararlı olacaktır.

9 Tanımlanmış yaklaşımın uygulanmasındaki sınırlamalar

Maddelerin fiziko-kimyasal özellikleri, yapıları ve fonksiyonel grupları açısından, bu maddelerin test edilmesindeki teknik kısıtlamalar nedeniyle (örn. düşük çözünürlük, tespit sistemi ile girişim vb.) veya bu tür maddelerin güvenilmez sonuçlar verdiği tespit edildiği için (örn. tanımlanan yaklaşım birden çok kez uygulandığında veya referans sınıflandırmasına ilişkin yanlış tahminler nedeniyle tekrarlanabilir olmayan sonuçlar) yaklaşımın geçerli **olmadığı** düşünülen madde türü/türleri belirtilir.

10 Yaklaşımın tahmin kapasitesi

Tanımlanan yaklaşımın, ilişkili bilgi kaynaklarını dikkate alarak ve yukarıdaki sınırlamalarda tanımlanan kimyasal türleri hariç tutarak, cilt hassasiyeti potansiyelini ne ölçüde öngördüğüne dair bir gösterge sağlanır. Tahmin kapasitesi, hassasiyet, özgüllük ve uyum açısından veya diğer uyum iyiliği istatistikleri (örneğin doğrusal korelasyon analizi) ile ifade edilir. Yaklaşımın uygulanabilirlik alanı tarafından kapsandığı düşünülen maddeler için olası yanlış sınıflandırmalar (yani, referans sınıflandırmaya göre gereğinden düşük tahmin edilen veya fazla tahmin edilen maddeler) veya güvenilmez tahminler olabildiğince gerekçelendirilir.

11 Tanımlanmış yaklaşımın uygulanmasıyla ilgili belirsizliklerin dikkate alınması

11.1 Belirsizlik kaynakları

Aşağıdakilerden kaynaklanan belirsizlik kaynağı/kaynakları yakalanarak tanımlanmış yaklaşımın uygulanmasıyla ilişkili olduğu düşünülen belirsizlik/belirsizlikler açıklanır:

1. Veri yorumlama işleminin yapısı

- *Seçilen veri yorumlama işleminin yapısıyla ilgili belirsizlikler nelerdir?*
- *Veri yorumlama işleminin kapsamı veya AOP anahtar olaylarının ağırlığı, genel tahmine olan güveni nasıl etkiler?*
- *Veri yorumlama işleminin tahminine olan güven farklı maddeler arasında nasıl değişiklik gösteriyor?*

2. Tanımlanmış yaklaşım dahilinde kullanılan bilgi kaynakları

- *Yaklaşım bilgi kaynağının belirli bir maddeye ilişkin verilerindeki değişkenlik (yani tekrarlanabilirlik), veri yorumlama işleminin tahminine olan güveni nasıl etkiler?*

3. Kullanılan karşılaştırma verileri

- *Referans verilerinin (örneğin LLNA, insan) doğal değişkenliği, veri yorumlama işleminin tahminine olan güveni nasıl etkiler?*

4. Diğer kaynakları

11.2 Belirsizliğin veri yorumlama işleminin tahmini üzerindeki etkisi

Bu belirsizlik kaynaklarının, tanımlanan yaklaşım uygulaması bağlamında nihai tahmindeki genel belirsizliği nasıl etkilediği değerlendirilir.

12 Referanslar

Yapılandırılmış yaklaşımın kendisini tanımlayanlar dahil olmak üzere ilgili referanslar, web bağlantıları vb. listelenir (ayrıca Genel Bilgiler Bölüm 2'de verilmiştir).

Referanslar

OECD (2016a) Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların Raporlanmasına İlişkin Rehber Doküman (ENV/JM/MONO(2016)2). Erişim adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)2&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)2&doclanguage=en)

OECD (2016b) Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlarda (IATA) Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanı (ENV/JM/MONO(2016)29). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)29&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)29&doclanguage=en)

OECD (2016c) Ek I: Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlar (IATA) Kapsamında Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanın Vaka Çalışmaları (ENV/JM/MONO(2016)29/ANN1). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)29/ann1&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)29/ann1&doclanguage=en)

OECD (2016d) Ek II: Cilt Hassasiyetine İlişkin Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımlar (IATA) Kapsamında Kullanılacak Tanımlı Yaklaşımların ve Bireysel Bilgi Kaynaklarının Raporlanmasına İlişkin Rehber Dokümanın Vaka Çalışmalarında Kullanılacak Bilgi Kaynakları (ENV/JM/MONO(2016)29/ANN2). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)29/ann2&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)29/ann2&doclanguage=en)

Ek R.7.3–4 Cilt hassasiyeti için etki gücü tahmini

Temel bilgiler

Cilt hassasiyetine yönelik etki gücü tahmini, çalışanları ve tüketicileri korumak açısından önemlidir. SEA Yönetmeliğine göre cilt hassaslaştırıcılar iki sınıfa ayrılabilir: Aşırı ve güçlü hassaslaştırıcılar (Kat. 1A) ve orta derecede hassaslaştırıcılar (Kat. 1B).

KKDİK Yönetmeliğinin bilgi gerekliliklerini karşılamak için hayvan dışı test yöntemleri, örn. *in chemico/in vitro* test yöntemleri kullanılan durumlarda, SEA Yönetmeliğine göre alt kategorilere yol açan etki gücünü değerlendirmek için yaygın olarak kabul edilen bir yaklaşımın mevcut olmadığı unutulmamalıdır. Buna karşılık, Ek 7'nin gerekliliklerini yerine getirmek için KKDİK kapsamındaki mevcut standart gereklilik, yöntem B.42/OECD Test Rehberi 429 kullanıldığında cilt hassasiyeti etki gücünün değerlendirilmesine ve ardından maddelerin alt kategorilere ayrılmasına (Kat. 1A karşısında Kat. 1B) izin veren bir *in vivo* test yöntemidir (LLNA).

Güçlü ve aşırı cilt hassaslaştırıcıların tanımlanması ve daha sonra SEA Yönetmeliğine göre 1A alt kategorisine sınıflandırılması, insan sağlığının korunması açısından önemlidir. Bunun nedeni, cilt hassaslaştırıcı etki gücüne bağlı olarak farklı konsantrasyon sınırlarının uygulanmasıdır; SEA Kriterleri Uygulama Rehberine göre Kat. 1 ve Kat. 1B için Genel Konsantrasyon Sınır Değeri (GKSD) %1, Kat. 1A (aşırı veya güçlü) için GKSD %0,1 ve aşırı hassaslaştırıcılar için Özel Konsantrasyon Sınır Değeri (SCL) %0,001 olarak önerilir (daha fazla bilgi için, bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.4). Kısacası, eğer genel Kat. 1 kullanılırsa ve %0,1 veya %0,001 yerine %1 GKSD uygulanırsa, bu güçlü hassaslaştırıcılar içeren karışımların doğru şekilde sınıflandırılmamasına neden olabilir. Bu, güvenlik seviyelerinin düşmesine yol açarak, daha güçlü hassaslaştırıcılara karşı insan hassasiyetinin artmasına neden olabilir.

Bu ekte, cilt hassaslaştırıcı etki gücünü değerlendirmek için farklı yaklaşımlar, mevcut standart *in vivo* yöntemin kapasitesi ve sınırlamaları bağlamında incelenmektedir.

LLNA belirsizliği

Bir apikal sonlanma noktasını tahmin etmeye çalışırken alternatif (değiştirme) yaklaşımları için zorluklardan biri, hayvana dayalı referans verilerinin doğal değişkenliği ile ilişkili belirsizliktir. Cilt hassasiyeti durumunda, lokal lenf düğümü testinin değişkenliği, özellikle çözücü etkilerinden önemli ölçüde etkilenebilen etki gücü sınıflarını tahmin etmeye çalışırken, alternatif yöntemlerin tahmin gücü için bir üst sınır tanımlar (Basketter ve ark., 2001). Son zamanlarda, bu, ECETOC (2003) tarafından kullanılan beş kategorili sınıflandırma sistemine göre araçla ilgili potansiyel değişkenliği analiz eden Hoffmann (2015) tarafından doğrulanmıştır. LLNA verilerini insan verileriyle karşılaştıran ICCVAM (2011) tarafından yapılan geriye dönük bir analiz, araştırılan sınırlı sayıda vakaya dayalı olarak, SEA kriterlerinde güçlü hassaslaştırıcıları (Kat. 1A) tanımlamak için kullanılan kesme değerlerinde, Kat. 1A hassaslaştırıcıların yaklaşık olarak yarısının LLNA temelli (yöntem B.42/OECD Test Rehberi 429) SEA kriterlerine göre olduğundan düşük sınıflandırıldığını, Kat. 1B hassaslaştırıcıların yaklaşık üçte birinin ise yanlış sınıflandırıldığını ve hassaslaştırıcı olmayanların yaklaşık %60'ının olduğundan fazla sınıflandırıldığını

göstermiştir⁷¹.

EURL ECVAM (Dumont ve ark., 2016) tarafından yapılan daha yakın tarihli bir LLNA değişkenliği çalışmasında, cilt hassaslaştırıcı etki gücünü (BM GHS/SEA zararlılık alt kategorileri) tahmin eden çalışmaların sayısı göz önünde bulundurulmuş ve madde başına (çözücüden bağımsız olarak) ve madde-çözücü kombinasyonu başına değişkenlik analiz edilmiştir. ICCVAM analizi ile tutarlı olarak, sonuçlar, lokal lenf düğümü testinin doğal değişkenliğinin Kat. 1A maddeler için daha az anlamlı olduğunu, ancak Kat. 1B ve hassaslaştırıcı olmayan maddeler için daha anlamlı olduğunu göstermiştir⁷².

Cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için yaklaşımların incelemesi (sınıflar ve EC3)

Mevcut durumda, ilerideki paragraflarda gösterilen sonuçlar, hakemli literatürde yayınlanmış olmasına rağmen, EURL ECVAM veya OECD gibi kuruluşlar tarafından onaylanmamış veya doğrulanmamıştır. Bu bölümün amacı, mevcut literatüre genel bir bakış sağlamaktır, ancak riski kayıt ettirenin kendi sorumluluğunda olarak kullanılacak veya kullanılmayacak olan raporlanmış sonuçların doğruluğu konusunda ÇŞB sorumluluk almamaktadır. Her durumda, okuyucuya en son gelişmeler için son literatürü taraması tavsiye edilir.

Cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmek için, EURL-ECVAM tarafından doğrulanmış yöntemler olan Doğrudan Peptit Reaktivite Testi (DPRA; (Gerberick ve ark., 2004), KeratinoSenSM (Natsch ve Emter 2008; Emter ve ark., 2010), h-CLAT (Ashikaga ve ark., 2006; Nukada ve ark., 2011, 2012) ve diğer yöntemleri (Ade ve ark., 2006; Piroird ve ark., 2015; Python ve ark., 2007, Ramirez ve ark., 2014) birleştirmek üzere birden fazla gayret gösterilmiştir (Natsch ve ark., 2009, 2015; Bauch ve ark., 2012; Hirota ve ark., 2013, 2015; Jaworska ve ark., 2013, 2015; Tsujita-Inoue ve ark., 2014; Urbisch ve ark., 2015). En ümit verici yaklaşımların bir özeti aşağıda verilmiştir.

Natsch ve ark. hayvan dışı yöntemleri birleştirerek 116 maddelik bir veri setinin cilt hassaslaştırıcı etki gücünü potansiyelini tahmin etmek için ilk girişimlerden birini (Natsch ve ark., 2009) gerçekleştirmiştir. Model, olumsuz etki oluşum yolunun (AOP) farklı anahtar olaylarını açıklayan dört tanımlayıcı içerir. Protein bağlanması için bir vekil olarak peptit reaktivitesi, hücre bazlı bir test olarak antioksidan/elektrofile cevap veren elemente bağlı lusiferaz aktivitesinin indüksiyonu ve cilt hassaslaştırıcılığı potansiyeli için bir in sillico tahmin (TIMES-SS) (Dimitrov ve ark., 2005) olmak üzere tek yöntemlerden alınan puanlara (Jowsey ve ark., 2006) dayalı bir sistem kullanmışlardır. Puanlar ve etki gücü arasındaki ilişki, etki sınıfları arasında uygun şekilde ayırım yapmak için yeterli değildir ($R_2=0.423$). Bununla birlikte, 59 zayıf hassaslaştırıcı/hassaslaştırıcı olmayan maddeden 57'si <3 ortalama tahmini EC3 değerlerine sahip olduğundan, aşırı hassaslaştırıcılar (güçlü olmayan) zayıf hassaslaştırıcılardan ve hassaslaştırıcı olmayanlardan kolayca ayırt edilebilir.

⁷¹ Daha belirli olarak, ICCVAM analizi, bilinen güçlü insan hassaslaştırıcıların ($\leq 500 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ cilt alanı başına bir indüksiyon dozunda pozitif yanıtlar gösteren, yani insan verileri için SEA kriterlerine göre Kat. 1A olan) %48'inin > %2 EC3 (%41) gösterdiğini veya lokal lenf düğümü testinde negatif olduğunu (%7), bu nedenle LLNA SEA kriterlerine göre yetersiz sınıflandırıldığını göstermiştir. Ayrıca, güçlü olmayan insan hassaslaştırıcıların (insan verileri için SEA kriterlerine göre Kat. 1B) %6'sı Kat. 1A olarak olduğundan yüksek tahmin edilmiş ve %22'si hassaslaştırıcı olmayan maddeler olarak LLNA tarafından olduğundan düşük tahmin edilmiştir. Son olarak, insanlarda hassaslaştırıcı olmayan maddelerin %7 ve %52'si sırasıyla Kat. 1A ve Kat. 1B olarak LLNA tarafından olduğundan fazla sınıflandırılmıştır.

⁷² Daha belirli olarak, EURL ECVAM analizi, hassaslaştırıcı olmayan bir sonuç veren en az bir LLNA çalışmasına sahip maddeler için, mevcut tüm LLNA çalışmalarının (aynı çözücü ile gerçekleştirilen) yalnızca %66'sının bu maddeleri tutarlı bir şekilde hassaslaştırıcı olmayan maddeler olarak tanımladığını ortaya koymuştur. Çalışmaların geri kalanı bu maddeleri Kat. 1B (%23) veya Kat. 1A (%11) olarak sınıflandırmıştır. Kat. 1B sonuç veren en az bir LLNA çalışmasına sahip maddeler için, mevcut tüm LLNA çalışmalarının yalnızca %68'i (aynı çözücü ile gerçekleştirilmiş) bunları tutarlı bir şekilde 1B olarak sınıflandırmıştır. Geriye kalan çalışmalar (%32), maddeleri hassaslaştırıcı olmayan maddeler veya Kat. 1A hassaslaştırıcılar olarak eşit oranda sınıflandırmıştır. Kat. 1A sonuç veren en az bir LLNA çalışmasına sahip maddelerin sınıflandırılmasının daha az değişken olduğu bulunmuştur, çalışmaların %79'u (aynı çözücü ile yapılan) bu maddeleri 1A (%15 Kat. 1B ve %6 hassaslaştırıcı olmayan maddeler) olarak sınıflandırmıştır.

Güçlü, orta ve zayıf hassaslaştırıcılar arasındaki büyük örtüşme nedeniyle, yayınlanmış model Kat. 1A ve 1B maddeleri ayırt etmek için önerilmez.

Diğer yaklaşımlar (aynı zamanda LLNA karşısında kıyasla orta hassaslaştırıcıların olduğundan fazla tahminlerine yol açar), yapay sinir ağlarına (Hirota ve ark., 2013, 2015; Tsujita-Inoue ve ark., 2014), karar ağaçları, puan temelli modeller (Nukada ve ark., 2013; Takenouchi ve ark., 2015) ve mekanik alan temelli regresyon modellerine (Natsch ve ark., 2015) olmak üzere verileri bütünleştirmenin farklı yollarına dayanmaktadır. Lokal lenf düğümü testindeki değişkenlikle tutarlı olarak, doğrulanmış *in vitro* yöntemleri veya *in silico* tanımlayıcılar olan veya olmayan benzer hücre tabanlı testleri birleştiren bu modeller, cilt hassaslaştırıcılığı etki gücü kategorilerini tahmin etmede %70 ila %85 arasında değişen genel doğruluğa sahiptir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin genellikle çok sayıda maddeyi, en uç durumda 244 maddeyi (Natsch ve ark., 2015) tahmin etmeye çalıştığını belirtmek gerekir, ki bu, daha küçük sayıları (≤ 50 madde) tahmin etmekten daha zordur, çünkü uygulanabilirlik alanı çok daha küçüktür ve modeller daha yereldir.

Bu çalışmalardan çıkarılabilecek sonuçlardan biri, bazı mekanik alanların tahmin edilmesinin diğerlerinden daha kolay olduğudur. Örneğin, Natsch ve ark. $R_2 > 0.80$ ile epoksitler ve nükleofil ikame alanları için daha iyi tahmin gücü bulmuştur. Aldehitler, $R_2 = 0.21$ ile en kötü tahmin edilen gruptur. En fazla tahmin gücüne sahip parametreler, alanlara göre de değişkenlik gösterir ve bunlar modellerin daha fazla geliştirilmesi için değerli bilgilerdir: kinetik hız sabitlerinin, S_{N2}/S_{NAr} alanı için en belirgin öngörücü olduğu bulunmuştur; KeratinoSenTM EC3, Michael alıcıları için en iyi öngörücü ve epoksitler için sitotoksisite ve buhar basıncı en iyi öngörücüdür. Natsch ve ark. yöntemi tarafından tahmin edilen çok sayıda madde ve Kat. 1A maddeleri geri kalan maddelerden ayırt edebildiği gerçeği göz önüne alındığında (Kat. 1A, 1B ve hassaslaştırıcı olmayan maddelerden ayırt ediliyorsa hassasiyet = 0.70, sonuçlar gösterilmemiştir), yöntem, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında veya gruplama ve çapraz okuma için dayanak olarak kullanılabilir.

Mekanik alanlarla ilgili önemli bilgiler Urbisch ve ark. tarafından da sağlanmıştır (Urbisch ve ark., 2015). KeratinoSenTM ve LuSens gibi antioksidan/elektrofil cevap elementine dayalı testlerin, açılma ajanlarının cilt hassaslaştırıcı potansiyelini tahmin etmede iyi performans göstermediğini ve Schiff bazının araştırılan yöntemlerden herhangi biri ile iyi sınıflandırılmadığını gözlemlemişlerdir (DPRA, KeratinoSenTM, LuSens, h-CLAT, mMUSST). Bu bilgiler, daha ileri testlere ihtiyaç duyan yöntemler (aşağıda tartışılmıştır) için yüksek değerli olabilir.

In vitro temelli modellerin aksine, Dearden ve ark. LLNA EC3 değerlerini tamamen hesaplamalı tanımlayıcılardan (CODESSA, MOE ve winMolconn41 yazılımı) tahmin etmek için nicel yapı aktivite ilişkileri (Dearden ve ark., 2015) geliştirmiştir. LLNA EC3 ile 204 hassaslaştırıcıdan oluşan bir veri setini 10 mekanik alana bölmüşler ve her alan için QSAR türetmişlerdir. 10 alandan 7'si için iyi tahmin gücü⁷³ ($R_2 > 0.83$) ve 10 alandan 6'sı için $Q_2 > 0.79$ elde etmişlerdir - Test seti için Q_2 R_2 eşdeğeridir. En iyi tahminlere sahip alanlar şu sıradadır: oksitleme potansiyeli ($R_2 = 0.91$), acil transferi ($R_2 = 0.90$), Michael alıcısı ($R_2 = 0.83$), pro-Michael alıcısı ($R^2 = 0.83$), S_{N2} ($R^2 = 0.82$) ve Schiff bazı + pro-Schiff baz oluşturmalar ($R^2 = 0.82$). S_{N1} , pro- S_{N2} ve S_{NAr} alanları anlamlı nicel yapı aktivite ilişkileri geliştirmek için çok az madde içermiştir. Yayın, etki gücü sınıflarını sınıflandırmak için tahminleri kullanmaz, ancak LLNA-EC3 ile korelasyonun çok yüksek olduğu göz önüne alındığında, iyi bir performans beklenmektedir. Bu model bağımsız bir tahmin yöntemi olarak yeterli olmayabilirken, özellikle hesaplamalı ve dolayısıyla hızlı ve tekrarlanabilir karakteri göz önüne alındığında, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılmak için yüksek potansiyele sahiptir. Maddeleri çapraz okuma için gruplamanın bir yolu olarak da kullanılabilir.

⁷³ Dearden ve ark. EC3'ü (g/ml) SSP adlı molar birimlerle eşdeğer bir parametreye dönüştürmüştür. Prensipte olarak, bu dönüşüm, EC3 g/ml cinsinden ifade edilirse, eşit derecede hassaslaştırıcı olan ve farklı moleküler ağırlığa sahip iki maddenin anlamlı ölçüde farklı EC3 değerlerine sahip olacağı ve farklı etki gücü sınıflarına düşebileceği bakış açısından uygundur. SSP, maddelerin moleküler ağırlığına bağlı olmadığı için bunu düzeltir. Uygulamada, EC3'ten (g/ml) SSP'ye (M) dönüşüm, incelenen maddeler için etki gücü sınıfı tanımları üzerinde hiçbir etkiye sahip değildir ve her iki parametre de güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir ($R_2 = 0.96$).

Yüksek tahmin gücüne sahip kısmen *in silico* tabanlı bir başka model, Jaworska ve ark. tarafından önerilen Bayes ağıdır (BN) (Jaworska, 2011; Jaworska ve ark., 2013, 2015). BN modeli, çeşitli bilgi kaynaklarını birleştirir ve tahminde daha yüksek bir güven elde etmek için yapılması gereken testlere rehberlik edebilir. Modelin ikinci versiyonu (ITS-2; Jaworska ve ark., 2013) 124 madde (eğitim seti) üzerinde oluşturulmuştur ve 21 madde üzerinde test edilmiştir, test setindeki maddelerin %95 ve %86'sını zararlılık ve LLNA etki gücü sınıfları için sırasıyla doğru tahmin etmiştir. LLNA sınıfları, güçlü ve aşırı hassaslaştırıcıların güçlü hassaslaştırıcılar altında birleştirilmesi nedeniyle dörde indirilmiştir. Bununla birlikte, zayıf ve orta hassaslaştırıcılar Kat. 1B maddeler olarak kabul edilirse, model SEA kategorilerini tahmin etmek için kullanılabilir. Model, farklı *in silico* (TIMES-SS), *in vitro* (KeratinoSens™, mMUSST U937, cilt nüfuz modeli okumaları), *in chemico* (DPRA okumaları) ve oktanol-su dağılım katsayısı (K_{ow}) parametrelerini kullanır. LLNA etki gücü gruplarının her birine ait olmanın olasılıksal değerini türetmek için model sağlanan tüm parametreleri kullanır. Bununla birlikte, model aynı zamanda veri boşluklarıyla da çalışır ve bu tür testleri gerçekleştirmeden önce belirli test verileri elde edilirse tahminde ne kadar kesinlik kazanılacağı tahmin edilmesine izin verir. Genel olarak model çok iyi performans göstermiştir, ancak hassaslaştırıcı olmayanlar ve zayıf maddeler için daha iyi performans göstermiştir. Performansı belirtilen şekildedir: hassaslaştırıcı olmayan maddeler (93, 100), zayıf (89, 93), orta (75, 83) ve güçlü/aşırı (81, 73) hassaslaştırıcılardır. Parantez içindeki değerler, sırasıyla eğitim seti ve test seti için eğri altındaki % alana (AUC) karşılık gelir (puanlama hakkında daha fazla bilgi için orijinal yayın incelenmelidir). Bu model, sistematik olarak olduğundan fazla tahmin edilen Michael alıcıları için bir düzeltme faktörü içerir.

Modelin üçüncü bir geliştirilmiş versiyonu (ITS-3) yakın zamanda yayınlanmıştır (Jaworska ve ark., 2015). Sistem, kimya ve biyolojinin temsiliyi geliştirerek, ITS-2'nin ötesinde LLNA etki gücünü tahmin etmeye keskinliği ve doğruluğu artırmak amacıyla oluşturulmuştur. Yeni unsurlar arasında, *in vivo* ve *in vitro* biyoyararlanım için düzeltmelerin yanı sıra, tahmin sürecinde bireysel analizlerin uygulanabilirlik alanlarının dikkate alınması bulunmaktadır. Cilt hassasiyeti için olumsuz sonuç oluşum yolunun ilk üç anahtar olayını temsil eden üç doğrulanmış alternatif analiz, DPRA, KeratinoSens ve h-CLAT, ITS-3 içerisine entegre edilmiştir. Bu modelde, cilt hassaslaştırıcılığı etki gücü tahmini, dört etki gücü sınıfı üzerinde bir olasılık dağılımı olarak sağlanır. Olasılık dağılımı: 1) eğitim seti etki gücü dağılımının getirdiği tahmin önyargısını ortadan kaldırmak ve 2) belirsizliği nicel bir şekilde ifade ederek, şeffaf ve tutarlı kriterlerin bir tahmini oluşturmasına izin vermek için Bayes faktörlerine dönüştürülür. Yeni ITS-3 veritabanı, tam bir *in vivo* ve *in vitro* veri setiyle birlikte 207 maddeyi içerir. Harici test setinde (n = 60) LLNA sonuçlarını tahmin etmenin doğruluğu üç seviyede değerlendirilmiştir ve zararlılık (iki sınıf) > GHS etki gücü sınıflandırması (üç sınıf) > etki gücü (dört sınıf) sırasını izleyerek yüksek (> %90) bulunmuştur.

Başka bir *in vitro* model, epidermal-eşdeğer (EE) etki gücü testidir (Gibbs ve ark., 2013). Model, etki gücünü (olumsuz etki oluşum yollarının 2 anahtar olayı) tahmin etmek için 3D yeniden oluşturulmuş insan epidermisi, sitotoksosite ve IL-1 α (IL-1 α 2x) kat artışı kullanır. Tekrarlanabilirliği ve tahmin kapasitesi, 13 madde için uluslararası bir halka araştırmasında değerlendirilmiştir (Teunis, 2014). Model, hassasiyet = %69 ve özgüllük = %84 ile güçlü/aşırı hassaslaştırıcılardan zayıf/orta hassaslaştırıcıları ayırabiliyor gibi görünmektedir. Bu yöntemin avantajlarından biri, maddeler saf olarak test edilebildiği için çoğu *in vitro* yöntemde olduğu gibi suda çözünürlük ve kararlılık sorunlarının olmamasıdır. Bu model, Kat. 1A ve Kat. 1B maddeleri ayırt etmek için bir yol sunabilir, ancak tek başına hassaslaştırıcı olmayanları hassaslaştırıcılardan ayırmak için kullanılamaz.

Cilt hassasiyetini tahmin etmek için "klasik" *in vitro* ve *in chemico* analizler, *in silico* modellerle birleştirildiğinde bile her zaman LLNA etki gücünü yüksek doğrulukla tahmin etmez. Gen tabanlı yöntemlerin daha yeni versiyonları daha umut verici görünmektedir. Bu yöntemlerden biri (McKim ve ark., 2010), 2010 yılında Cyprotex tarafından geliştirilen ve SenCeeTox olarak da bilinen *in vitro* toksisite indeksidir (IVTI) (McKim ve ark., 2012). Hücre canlılığı, doğrudan ve dolaylı kimyasal (peptid) reaktivitesi ve ARE/EpRE aracılı gen ifadesinin birleşimine dayanır ve insan keratinosit (HaCaT) hücreleri ve insan 3D cilt modelleriyle kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Aşırı/güçlü, orta, zayıf ve hassaslaştırıcı olmayanlardan oluşan dört etki gücü sınıfını öngörür. Model, aşırı, güçlü ve orta derecede hassaslaştırıcıları zayıf hassaslaştırıcı ve hassaslaştırıcı olmayan maddelerden ayırt etmede yüksek özgüllük

(%92) ve hassasiyet (%81) göstermiştir ve 4 aşırı/güçlü hassaslaştırıcıdan 4'ünün, orta hassaslaştırıcıların %70'inin, zayıf hassaslaştırıcıların %79'unun ve hassaslaştırıcı olmayanların %73'ünün doğru sınıflandırıldığı bildirilmiştir. Model, 97 madde (eğitim setinde 39 ve test setinde 58) üzerinde test edilmiştir ve zayıf hassaslaştırıcıları hassaslaştırıcı olmayanlardan ayırt edemese bile, aşırı/güçlü hassaslaştırıcı (Kat. 1A) maddeleri belirleme ve onları Kat. 1A olmayan maddelerden ayırt etme yeteneğine sahip görünmektedir.

LLNA EC3 değerlerini tahmin etmek için başka bir yöntem, test maddesinin neden olduğu hücre sitotoksitesinin (IC20) ve CCR2 (C-C kemokin reseptörü tip 2) ve transkripsiyon faktörü cAMP duyarlı element modülatörü (CREM) ekspresyonundaki kat değişikliğin doğrusal bir kombinasyonuna dayanan VITOSENS'dir (Lambrechts ve ark., 2010). İki farklı kordon kanı bağışçısından alınan hücre kültürleri (uyumsuz sonuçlar olması durumunda üç) kullanılır. Yazarlar, 15 madde için tahmin edilen ve EC3 değerleri arasında çok yüksek bir korelasyon (Pearson $R_2=0.79$, Spearman sıra korelasyon katsayısı = 0.91) göstermiştir. Yöntem, bir miktar metabolik kapasite gösteren bazı pro-haptenleri doğru bir şekilde tahmin etmektedir, ancak iki madde çok yüksek sitotoksite nedeniyle aykırı değerler olarak kabul edildiğinden aşırı sitotoksik maddeler için yeterli olmayabilir.

Gen alerjeni hızlı tespit (GARD) yöntemi, cilt hassasiyetini tahmin etmek için maruz kalmadan sonra MUTZ-3 hücrelerinde (birincil insan dendritik hücrelerinin vekili olarak) 200 genin farklı şekilde düzenlenmiş transkriptlerini kullanır (Johansson ve ark., 2011, 2013). 38 madde üzerinde eğitilmiş bir destek vektör makine modeli, nihai cilt hassasiyeti tahminini gerçekleştirir. Yazarlar, etki gücü sınıflandırma performansı hakkında istatistik sağlamamıştır, ancak PCA grafikleri, aynı etki gücü gruplarına ait madde kümelerini göstermiştir. Yakın zaman öncesinde (Forreryd ve ark., 2015) modelin 30 madde için solunum hassasiyeti zararlılığını öngördüğü bildirilmiştir. Bununla birlikte, MUTZ-3 hücrelerindeki 200 genin düzenlenmiş transkriptlerinin, aynı şekilde MUTZ-3 ve insan keratinositlerini kullanan bir proteomik analize (insan cildi hassaslaştırıcıları güvenilir şekilde tanımlamak için yaklaşık 110 aday protein ile) benzer şekilde halka açık olmadığı belirtilmelidir (Reisinger ve ark., 2015; Thierse ve ark., 2011; Roggen ve ark., 2011). Not: mevcut durumda (bu Rehberin yayınlandığı tarihte), testi AB'de yalnızca bir laboratuvar yürütmektedir.

Az önce yukarıda açıklanan iki yöntemin gelişiminin SENS-IS testi olduğu görülmektedir (Cottrez ve ark., 2015). SENS-IS, farelerde veya insanlarda hassasiyeti sırasında modüle olan 60'ın üzerinde geni kullanır ve bu genlerin modülasyonunu yeniden yapılandırılmış insan epidermis modellerinde (Episkin) maddelerin cilt hassaslaştırıcı potansiyelini ve etki gücünü tahmin etmek için kullanır. Bu hassasiyet biyobelirteç genleri seti, veri madenciliği yoluyla belirlenen 900'den fazla hedef genden oluşan bir panelden başlayarak, farelerde (LLNA), insanlarda (kabarcıklar) veya yeniden yapılandırılmış insan epidermisinde hassasiyet süreci sırasında modüle olan genlerin kapsamlı bir analizine dayanarak seçilmiştir. Ekspresyon modellerinin ayrıntılı analizi, hassaslaştırıcı potansiyel ile en iyi korelasyonun yukarı regülasyon (düzenleme) yoğunluğundan ziyade modüle olan genlerin sayısını göstermiştir (Cottrez ve ark., 2015). Bu nedenle, model, maruz kalmadan sonra yukarı düzenlenen genlerin sayısını belirlemekten ibarettir. Bir eşik, maddenin hassaslaştırıcı olarak veya hassaslaştırıcı olmayan bir madde olarak tahmin edileceğini belirler. Bir test maddesi, "SENS-IS" olarak adlandırılan gen setinde (17 genden oluşur) veya "ARE" gen setinde (21 genden oluşur) en az yedi genin ekspresyonunu arttırırsa, cilt hassaslaştırıcı olarak kabul edilir. Test maddesinin tahriş edici olup olmadığını belirlemek için 23 genden oluşan üçüncü bir set kullanılır (eğer bu 23 genden en az 15'i uyarılmışsa). Bir test maddesinin cilt hassaslaştırıcı etki gücü, SENS-IS testinde pozitif hale geldiği en düşük konsantrasyona göre belirlenir. Bu nedenle test maddesi, %0,1'de pozitifse aşırı hassaslaştırıcı, %1'de pozitifse güçlü, %10'da pozitifse orta veya %50'de pozitifse zayıf hassaslaştırıcı olarak kabul edilir.

SENS-IS, 150 madde (9 aşırı, 17 güçlü, 27 orta, 36 zayıf hassaslaştırıcı ve 61 hassaslaştırıcı olmayan madde) için LLNA verilerine dayalı olarak %97 doğrulukla ve 130 madde için (52 hassaslaştırıcı olmayan ve 78 hassaslaştırıcı) insan verilerine dayalı olarak %96 doğrulukla cilt hassaslaştırıcıları hassaslaştırıcı olmayanlardan ayırt edebilir. Test yönteminin cilt hassaslaştırıcı etki gücünü tahmin etmedeki performansı, aynı 150 madde için beş farklı LLNA sınıfını (hassaslaştırıcı olmayan, zayıf, orta, güçlü ve aşırı hassaslaştırıcı) ayırt etmek için kullanıldığında %93 doğruluğa ulaşır (Cottrez ve ark., 2016).

Bu 150 maddenin verilerini bildiren bir makale yayınlanmak üzere sunulmuştur ve yeni bir Test Rehberinin geliştirilmesi için OECD'ye sunulan yakın tarihli bir Standart Proje Sunum Formu (SPSF) teklifine ek olarak sunulmuştur. Bu veriler ayrıca Ekim 2015'te cilt hassasiyeti konusunda OECD uzman grubuna sunulmuştur.

Son olarak, yeniden yapılandırılmış insan epidermis modellerini kullanan test yöntemlerinin test sistemlerinin, maddelerin cilt hassaslaştırıcı potansiyelinin/etki gücünün değerlendirilmesinde ilgili hedef organ olan doğal insan derisine daha yakın bir metabolik kapasiteye sahip olma avantajına sahip olduğu da belirtilmelidir (Hewitt ve ark., 2013).

Varılan Sonuçlar

Cilt hassaslaştırıcılığı etki gücünün alternatif yöntemlerle tahmini mevcut durumda önemli bir amaçtır ve yaklaşım geliştirme çabaları, lokal lenf düğümü testinin doğal değişkenliği bağlamında değerlendirilmelidir.

Alternatif test stratejileri için kesin öneriler yapılamasa da, bu mini inceleme bazı *in vitro* ve *in silico* yöntemlerin Kat. 1A maddelerin tanımlanması veya hatta etki sınıfları arasında ayırım için umut vaat ettiğini göstermektedir. Özellikle, farklı metodolojileri (örn. Dearden ve ark., 2015; Natsch ve ark., 2015; Takenouchi ve ark., 2015; Hirota ve ark., 2015; Jaworska ve ark. 2015) ve *in vitro* gen temelli yöntemlerden bazılarını (örn. Cottrez ve ark., 2015, 2016; Lambrechts ve ark., 2010) birleştiren çeşitli yaklaşımlar için umut verici sonuçlar bildirilmiştir.

Referanslar

Ade N, Martinozzi-Teissier S, Pallardy M ve Rousset F (2006). Activation of U937 Cells by Contact Sensitizers: CD86 Expression is Independent of Apoptosis (U937 Hücrelerinin Temas Hassaslaştırıcılarla Aktivasyonu: CD86 İfadesinin Apoptozdan Bağımsızlığı). *Journal of Immunotoxicology* 3(4):189–197.

Ashikaga T, Yoshida Y, Hirota M, Yoneyama K, Itagaki H, Sakaguchi H, Miyazawa M, Ito Y, Suzuki H ve Toyoda H (2006). Development of an *in vitro* skin sensitization test using human cell lines: The human Cell Line Activation Test (h-CLAT): I Optimization of the h-CLAT protocol (İnsan hücre dizileri kullanılarak bir *in vitro* cilt hassaslaştırma testinin geliştirilmesi: İnsan Hücre Hattı Aktivasyon Testi (h-CLAT): I h-CLAT protokolünün optimizasyonu). *Toxicology in Vitro* 20(5):767–773.

Basketter D ., Gerberick G . ve Kimber I (2001). Skin sensitisation, vehicle effects and the local lymph node assay (Cilt hassasiyeti, taşıyıcı etkileri ve lokal lenf düğümü testi). *Food and Chemical Toxicology* 39(6):621–627.

Bauch C, Kolle S N, Ramirez T, Eltze T, Fabian E, Mehling A, Teubner W, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2012). Putting the parts together: combining *in vitro* methods to test for skin sensitizing potentials (Parçaları bir araya getirmek: cildi hassaslaştırıcı potansiyellerini test etmek için *in vitro* yöntemlerin birleştirilmesi). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 63(3):489–504.

Cottrez F, Boitel E, Auriault C, Aeby P ve Groux H (2015). Genes specifically modulated in sensitized skins allow the detection of sensitizers in a reconstructed human skin model Development of the SENS-IS assay (Hassaslaştırılmış ciltlerde özel olarak modüle edilen genlerin, yeniden yapılandırılmış bir insan cildi modelinde hassaslaştırıcıların saptanmasına izin vermesi: SENS-IS testinin gelişimi). *Toxicology in Vitro* 29(4):787–802.

Cottrez F, Boitel E, Ourlin J-C, Peiffer J-L, Fabre I, Henaoui I-S, Mari B, Vallauri A, Paquet A, Barbry P, Auriault C, Aeby P ve Groux H (2016). SENS-IS, a 3D reconstituted epidermis based model for quantifying chemical sensitization potency: reproducibility and predictivity results from an interlaboratories study (Kimyasal hassaslaştırıcılığı etki gücünü ölçmek için 3D yeniden yapılandırılmış epidermis tabanlı bir model, SENS-IS: laboratuvarlar arası bir çalışmadan tekrarlanabilirlik ve tahmin edilebilirlik sonuçları). *Toxicology in Vitro* 32:248-60.

Dearden J C, Hewitt M, Roberts D W, Enoch S J, Rowe P H, Przybylak K R, Vaughan-Williams G D, Smith M L, Pillai G G ve Katritzky A. R (2015). Mechanism-Based QSAR Modeling of Skin Sensitization (Cilt Hassasiyetinin Mekanizma Tabanlı QSAR Modellemesi). *Chemical Research in Toxicology* 28(10):1975-1986.

Dimitrov S D, Low L K, Patlewicz G Y, Kern P S, Dimitrova G D, Comber M H I, Phillips R D, Niemela J, Bailey P T ve Mekenyan O G (2005). Skin sensitization: Modeling based on skin metabolism simulation and formation of protein conjugates (Cilt hassasiyeti: Cilt metabolizması simülasyonuna ve protein konjugatlarının oluşumuna dayalı modelleme). *International Journal of Toxicology* 24(4):189-204.

Dumont C , Barroso J, Matys I, Worth A ve Casati S (2016) Analysis of the Local Lymph Node Assay (LLNA) variability for assessing the prediction of skin sensitisation potential and potency of chemicals with non-animal approaches (Cilt hassaslaştırıcı potansiyelin tahminini ve hayvan dışı yaklaşımlarla kimyasalların etki gücünü değerlendirmek için Lokal Lenf Düğümü Testi (LLNA) değişkenliğinin analizi). *Toxicology in Vitro* 34:220-8.

ECETOC (2003). Contact sensitisation: Classification according to potency (Temas hassasiyeti: etki gücü uyarınca sınıflandırma). Brüksel.

Emter R, Ellis G ve Natsch A (2010). Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line to screen skin sensitizers in vitro (Cilt hassaslaştırıcıların in vitro taranması için yeni bir keratinosit bazlı haberci hücre hattının performansı). *Toxicology and Applied Pharmacology* 245(3):281-290.

Forreryd A, Johansson H, Albrekt A-S, Borrebaeck C A K ve Lindstedt M (2015). Prediction of chemical respiratory sensitizers using GARD, a novel in vitro assay based on a genomic biomarker signature (Genomik biyobelirteç imzasına dayanan yeni bir in vitro test olan GARD kullanılarak kimyasal solunum hassaslaştırıcılarının tahmini). *PloS one* 10(3):23.

Gerberick G F, Vassallo J D, Bailey R E, Chaney J G, Morrall S W ve Lepoittevin J P (2004). Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens (Temas alerjenlerinin taranması için bir peptid reaktivite testinin geliştirilmesi). *Toxicological Sciences* 81(2):332-343.

Gibbs S, Corsini E, Spiekstra S W, Galbiati V, Fuchs H W, DeGeorge G, Troese M, Hayden P, Deng W ve Roggen E (2013). An epidermal equivalent assay for identification and ranking potency of contact sensitizers (Temas hassaslaştırıcıların tanımlanması ve derecelendirilmesi için epidermal eşdeğer bir test). *Toxicology and Applied Pharmacology* 272(2):529-541.

Hewitt N J, Edwards R J, Fritsche E, Goebel C, Aeby P, Scheel J, Reisinger K, Ouédraogo G, Duche D, Eilstein J, Latil A, Kenny J, Moore C, Kuehnl J, Barroso J, Fautz R ve Pfuhrer S (2013). Use of human *in vitro* skin models for accurate and ethical risk assessment: metabolic considerations (Doğru ve etik risk değerlendirmesi için insan *in vitro* cilt modellerinin kullanımı: metabolik hususlar). *Toxicological Sciences* 133(2):209-217.

Hirota M, Kouzuki H, Ashikaga T, Sono S, Tsujita K, Sasa H ve Aiba S (2013). Artificial neural network analysis of data from multiple in vitro assays for prediction of skin sensitization potency of chemicals (Kimyasalların cilt hassaslaştırıcı etki gücünün tahmini için çoklu in vitro testlerden elde edilen verilerin yapay sinir ağı analizi). *Toxicology in Vitro* 27(4):1233-1246.

Hirota M, Fukui S, Okamoto K, Kurotani S, Imai N, Fujishiro M, Kyotani D, Kato Y, Kasahara T, Fujita M, Toyoda A, Sekiya D, Watanabe S, Seto H, Takenouchi O, Ashikaga T ve Miyazawa M (2015). Evaluation of combinations of *in vitro* sensitization test descriptors for the artificial neural network-based risk assessment model of skin sensitization (Cilt hassasiyetinin yapay sinir ağı tabanlı risk değerlendirme modeli için *in vitro* hassasiyet testi tanımlayıcı kombinasyonlarının değerlendirilmesi). *Journal of Applied Toxicology* 35(11):1333-1347.

Hoffmann S (2015). LLNA variability: An essential ingredient for a comprehensive assessment of non-animal skin sensitization test methods and strategies (LLNA değişkenliği: Hayvan dışı cilt hassasiyeti test yöntemleri ve stratejilerinin kapsamlı bir değerlendirmesi için temel bir bileşen). *ALTEX* In Press.

ICCVAM (2011). ICCVAM Test Yöntemi Değerlendirme Raporu: İnsanlarda Alerjik Kontakt Dermatite Neden Olan Kimyasalların Potansiyel Sınıflandırması için Fare Lokal Lenf Düğümü Testinin Kullanışlılığı ve Sınırlamaları. Ulusal Sağlık Enstitüsü Yayın Numarası 11-7709. Erişim adresi: http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/immunotox_docs/llna-pot/3-appc-brd-body.pdf

- Jaworska J (2011). Integrating non-animal test information into an adaptive testing strategy – skin sensitization proof of concept case (Hayvan dışı test bilgilerinin uyarlanabilir bir test stratejisine birleştirilmesi - kavramsal vakanın cilt hassasiyeti kanıtı). *ALTEX* 28(2006):211–225.
- Jaworska J, Dancik Y, Kern P, Gerberick F ve Natsch A (2013). Bayesian integrated testing strategy to assess skin sensitization potency: from theory to practice (Cilt hassaslaştırıcı etki gücünü değerlendirmek için Bayes bütünlük test stratejisi: teoriden pratiğe). *Journal of Applied Toxicology* 33(11):1353–64.
- Jaworska J S, Natsch A, Ryan C, Strickland J, Ashikaga T ve Miyazawa M (2015). Bayesian integrated testing strategy (ITS) for skin sensitization potency assessment: a decision support system for quantitative weight of evidence and adaptive testing strategy (Cilt hassaslaştırıcı etki gücünün değerlendirmesi için Bayesian bütünlük test stratejisi (ITS): nicel kanıt ağırlığı ve uyarlanabilir test stratejisi için bir karar destek sistemi). *Archives of Toxicology* (Baskıda).
- Johansson H, Albrekt A-S, Borrebaeck C A K ve Lindstedt M (2013). The GARD assay for assessment of chemical skin sensitizers (Kimyasal cilt hassaslaştırıcılarının değerlendirilmesi için GARD testi). *Toxicology in Vitro* 27(3):1163–1169.
- Johansson H, Lindstedt M, Albrekt A-S ve Borrebaeck C A (2011). A genomic biomarker signature can predict skin sensitizers using a cell-based in vitro alternative to animal tests (Genomik bir biyobelirteç imzasının hayvan testlerine göre hücre bazlı bir in vitro alternatif kullanarak cilt hassaslaştırıcıları tahmini). *BMC Genomics* 12(1):399.
- Jowsey I R, Basketter D A, Westmoreland C ve Kimber I (2006). A future approach to measuring relative skin sensitising potency: a proposal (Bağıl cilt hassaslaştırıcı etki gücünü ölçmek için gelecek bir yaklaşım: bir öneri). *Journal of Applied Toxicology* 26(4):341–350.
- Lambrechts N, Vanheel H, Nelissen I, Witters H, Van Den Heuvel R, Van Tendeloo V, Schoeters G ve Hooyberghs J (2010). Assessment of Chemical Skin-Sensitizing Potency by an In Vitro Assay Based on Human Dendritic Cells (İnsan Dendritik Hücrelerine Dayalı İn Vitro Testle Kimyasal Cilt Hassaslaştırıcı Etki Gücünün Değerlendirilmesi). *Toxicological Sciences* 116(1):122–129.
- McKim J M, Keller D J ve Gorski J R (2010). A new in vitro method for identifying chemical sensitizers combining peptide binding with ARE/EpRE-mediated gene expression in human skin cells (İnsan cilt hücrelerinde peptit bağlanmasını ARE/EpRE aracılı gen ekspresyonu ile birleştiren kimyasal hassaslaştırıcıları tanımlamak için yeni bir in vitro yöntem). *Cutaneous and Ocular Toxicology* 29(3):171–192.
- McKim J M, Keller D J ve Gorski J R (2012). An in vitro method for detecting chemical sensitization using human reconstructed skin models and its applicability to cosmetic, pharmaceutical, and medical device safety testing (İnsan yeniden yapılandırılmış cilt modelleri ve kozmetik, farmasötik ve tıbbi cihaz güvenlik testlerine uygulanabilirliği kullanılarak kimyasal hassasiyeti tespit etmek için in vitro bir yöntem). *Cutaneous and Ocular Toxicology* 31(4):292–305.
- Natsch A ve Emter R (2008). Skin Sensitizers Induce Antioxidant Response Element Dependent Genes: Application to the In Vitro Testing of the Sensitization Potential of Chemicals (Cilt Hassaslaştırıcıların Antioksidan Cevap Öğesine Bağlı Genleri İndüklemesi: Kimyasalların Hassaslaştırıcı Potansiyelinin İn Vitro Testine Uygulama). *Toxicological Sciences* 102(1):110–119.
- Natsch A, Emter R ve Ellis G (2009). Filling the Concept with Data: Integrating Data from Different In Vitro and In Silico Assays on Skin Sensitizers to Explore the Battery Approach for Animal-Free Skin Sensitization Testing (Kavramın Verilerle Doldurulması: Hayvan Dışı Cilt Hassasiyeti Testleri için Seri Yaklaşımını Araştırmak Üzere Cilt Hassaslaştırıcılarda Farklı İn Vitro ve İn Silico Testlerden Verilerin Birleştirilmesi). *Toxicological Sciences* 107(1):106–121.
- Natsch A, Emter R, Gfeller H, Haupt T ve Ellis G (2015). Predicting skin sensitizer potency based on in vitro data from KeratinoSens and kinetic peptide binding: global versus domain-based assessment (KeratinoSens ve kinetik peptit bağlanmasından in vitro verilere dayalı cilt hassaslaştırıcı etki gücünün tahmini: global ve alan bazlı değerlendirme). *Toxicological Sciences* 143(2):319–32.

Nukada Y, Ito Y, Miyazawa M, Kosaka N, Sakaguchi H ve Nishiyama N (2011). The relationship between CD86/CD54 expression and cytotoxicity in THP-1 cells stimulated with contact allergens (Temas alerjenleriyle uyarılan THP-1 hücrelerinde CD86/CD54 ifadesi ve sitotoksitate arasındaki ilişki). *Toxicology Letters* 36(3):313–324.

Nukada Y, Ashikaga T, Miyazawa M, Hirota M, Sakaguchi H, Sasa H ve Nishiyama N (2012). Prediction of skin sensitization potency of chemicals by human Cell Line Activation Test (h-CLAT) and an attempt at classifying skin sensitization potency (İnsan Hücre Hattı Aktivasyon Testi (h-CLAT) ile kimyasalların cilt hassaslaştırıcı etki gücünün tahmini ve cilt hassaslaştırıcı etki gücünü sınıflandırma girişimi). *Toxicology in Vitro* 26(7):1150– 1160.

Nukada Y, Miyazawa M, Kazutoshi S, Sakaguchi H ve Nishiyama N (2013). Data integration of non-animal tests for the development of a test battery to predict the skin sensitizing potential and potency of chemicals (Kimyasalların cildi hassaslaştırıcı potansiyelini ve etki gücünü tahmin etmek üzere bir test serisinin geliştirilmesi için hayvan dışı testlerden verilerin bütünleştirilmesi). *Toxicology in Vitro* 27(2):609–18.

Piroird C, Ovigne J-M, Rousset F, Martinozzi-Teissier S, Gomes C, Cotovio J ve Alépée N (2015). The Myeloid U937 Skin Sensitization Test (U-SENS) addresses the activation of dendritic cell event in the adverse outcome pathway for skin sensitization (Myeloid U937 Cilt Hassaslaştırıcı Testiyle (U-SENS) cilt hassasiyeti için olumsuz etki oluşum yolunda dendritik hücre olayının aktivasyonunun ele alınması). *Toxicology in Vitro* 29(5):901– 916.

Python F, Goebel C ve Aeby P (2007). Assessment of the U937 cell line for the detection of contact allergens (Temas alerjenlerinin tespiti için U937 hücre hattının değerlendirilmesi). *Toxicology and Applied Pharmacology* 220(2):113–24.

Ramirez T, Mehling A, Kolle S N, Wruck C J, Teubner W, Eltze T, Aumann A, Urbisch D, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2014). LuSens: a keratinocyte based ARE reporter gene assay for use in integrated testing strategies for skin sensitization hazard identification (LuSens: cilt hassaslaştırıcı zararlılığın tanımlanması amacıyla bütünleşik test stratejilerinde kullanım için keratinosit bazlı bir ARE haberci gen analizi). *Toxicology in Vitro* 28(8):1482–97.

Roggen, E.L, Weltzien, H.U, Helma, H (2011) Progress Towards Novel Testing Strategies for in Vitro Assessment of Allergens (Alerjenlerin İn Vitro Değerlendirmesi için Yeni Test Stratejilerine Doğru İlerleme). Transworld Research Network, Kerala, Hindistan, s. 145–166.

Takenouchi O, Fukui S, Okamoto K, Kurotani S, Imai N, Fujishiro M, Kyotani D, Kato Y, Kasahara T, Fujita M, Toyoda A, Sekiya D, Watanabe S, Seto H, Hirota M, Ashikaga T ve Miyazawa M (2015). Test battery with the human cell line activation test, direct peptide reactivity assay and DEREK based on a 139 chemical data set for predicting skin sensitizing potential and potency of chemicals (Kimyasalların cilt hassaslaştırıcı potansiyelini ve etki gücünü tahmin etmek için insan hücre hattı aktivasyon testi, direkt peptid reaktivite testi ve 139 kimyasallı veri setine dayalı DEREK ile test serisi). *Journal of Applied Toxicology* 35(11):1318–1332.

Teunis M A T (2014). International ring trial of the epidermal equivalent sensitizer potency assay: reproducibility and predictive capacity (Epidermal eşdeğer hassaslaştırıcı etki gücü testinin uluslararası halka araştırması: tekrarlanabilirlik ve tahmin kapasitesi). *ALTEX* 31(3):251–268.

Thierse, H.J, Budde, P, Dietz, L., Ohnesorge, S, Eikelmeier, S, Conde, M, Zucht, H.D, Schulz-Knappe, P (2011) Proteomic identification of allergen-regulated proteins and allergen-protein interaction networks in assisting biomarker and assay development (Biyobelirteç ve test gelişimine destek için alerjenle düzenlenen proteinlerin ve alerjen-protein etkileşim ağlarının proteomik tanımlanması). Transworld Research Network, Kerala, Hindistan.

Tsujita-Inoue K, Hirota M, Ashikaga T, Atobe T, Kouzuki H ve Aiba S (2014). Skin sensitization risk assessment model using artificial neural network analysis of data from multiple in vitro assays (Çoklu in vitro testlerden elde edilen verilerin yapay sinir ağı analizini kullanan cilt hassasiyeti risk değerlendirme modeli). *Toxicology in Vitro* 28(4):626–639.

Urbisch D, Mehling A, Guth K, Ramirez T, Honarvar N, Kolle S, Landsiedel R, Jaworska J, Kern P S, Gerberick F, Natsch A, Emter R, Ashikaga T, Miyazawa M ve Sakaguchi H (2015). Assessing skin sensitization hazard in mice and men using non-animal test methods (Hayvan dışı test yöntemleri kullanılarak farelerde ve erkeklerde cilt hassasiyeti zararlılığının değerlendirilmesi). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 71(2):337–351.

R.7.4 Akut toksisite

R.7.4.1 Giriş

Bir maddenin akut toksik potansiyelinin değerlendirilmesi, kazara veya kasıtlı olarak kısa süreli maruz kalmanın ardından meydana gelebilecek olumsuz sağlık etkilerini belirlemek için gereklidir. Akut toksik etkilerin doğası ve ciddiyeti, maddenin toksisite mekanizması ve biyoyararlanımı, maruz kalma yolu ve kişinin veya hayvanın maruz kaldığı toplam madde miktarı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

R.7.4.1.1 Akut toksisite tanımı

Akut toksisite terimi, bir maddenin tek bir dozunun veya 24 saat içinde verilen çoklu dozlarının ağız veya cilt yoluyla uygulanmasının veya 4 saat boyunca soluma yoluyla maruz kalmanın ardından meydana gelen olumsuz etkileri tanımlamak için kullanılır (bkz. SEA Yönetmeliği Ek I, Bölüm 3.1.1.1).

Olumsuz etkiler ölüm oranı, klinik toksisite belirtileri (hayvanlar için bkz. OECD Rehber Dokümanı 19 (OECD, 2000)), anormal vücut ağırlığı değişiklikleri ve/veya organ ve dokulardaki patolojik değişiklikler olarak görülebilir. Akut sistemik etkilere ek olarak, bazı maddeler tek bir maruz kalmanın ardından mide-bağırsak yolunda, ciltte veya solunum yolunda lokal tahrişe veya aşınmaya neden olma potansiyeline sahip olabilir. Maddenin maruz kalan doku üzerindeki doğrudan etkisinden kaynaklanan akut tahriş edici veya aşındırıcı etkiler, bu belgede özel olarak kapsamamaktadır, ancak bunların ortaya çıkması maddenin akut toksisitesine katkıda bulunabilir ve bildirilmelidir. Cilt aşınması/tahrişi, ciddi göz hasarı/göz tahrişi ve solunum yolu aşınması/tahrişi sonlanma noktaları bu Rehberde Bölüm [R.7.2](#) içerisinde ele alınmaktadır.

Hücresel düzeyde akut toksisite, üç ana toksik etki türü ile ilişkili olabilir, bunlar (i) genel bazal sitotoksikite, (ii) seçici sitotoksikite ve (iii) hücreye özgü fonksiyon toksisitesidir. Akut toksisite, hücre dışı süreçlere girişimde bulunan maddelerden de kaynaklanabilir (Seibert, 1996). Tüm organizmaya olan toksisite, organizmanın etki gören özel işlevine olan bağımlılık derecesine de bağlıdır.

R.7.4.1.2 Akut toksisite hakkında rehberin amacı

Bir madde sistemik ve/veya lokal etkilere neden olabilir. Bu belge, akut maruz kalmanın ardından sistemik etkilerin değerlendirilmesi ile ilgilidir.

Bir akut toksisite çalışmasının amaçları aşağıdakileri oluşturmaktır:

- ilgili maddeye tek bir maruz kalma (veya 24 saat içinde çoklu maruz kalma) (2000 mg/kg vücut ağırlığı (ağız veya cilt yolu) sınır doza kadar veya eşdeğer konsantrasyonda (solunum yolu) uygulandığında) insan sağlığına olumsuz etkilerle ilişkilendirilebilir olup olmaması; ve/veya
- hangi tür toksik etkilerin tetiklendiği, başlama zamanları, süresi ve şiddeti (tümü dozla ilgili olacaktır); ve/veya
- Akut Toksikite Tahmini ATE⁷⁴ veya (LD₅₀, LC₅₀), ayırt edici doz veya akut toksisite kategorisini belirlemek için doz-cevap ilişkisi; ve/veya
- mümkün olduğunda, doz-cevap eğrisinin eğimi; ve/veya

⁷⁴ Bkz. SEA Yönetmeliği Ek I Tablo 3.1.1.

- mümkün olduğunda, maddeye cevap olarak belirgin cinsiyet farklılıkları olup olmadığı.

Sonuç olarak, bu bilgi, maddenin akut toksisite için sınıflandırmasına ve etiketlenmesine doğru bir şekilde karar vermeyi sağlar.

LD₅₀ ve LC₅₀ endeksleri, uygulama yapılan hayvanların %50'sinde ölüme neden olması beklenen dozla ilgili türetilmiş değerlerdir. Bu indeksler, akut toksisitenin tüm yönleri hakkında bilgi sağlamaz. Diğer parametreler ve gözlemler ve bunların doz-cevap türleri değerli bilgiler verebilir.

Ayrıca KKDİK Yönetmeliği Madde 14(1) ve Madde 26(1) 'e göre, "*hayvanlar üzerinde test yapılmasından kaçınmak için, [KKDİK] amacıyla omurgalı hayvanlar üzerinde testler yalnızca son çare olarak gerçekleştirilecektir. Ayrıca diğer testlerin tekrarlanmasını sınırlayan önlemler almak da gereklidir.*"

Sonuç olarak, bu Rehberin amaçları akut toksisite testiyle ilgili KKDİK bilgi gerekliliklerini ele almak ve ayrıca hayvan testlerine alternatifler hakkında kayıt ettirenleri bilgilendirmektir.

Akut toksisite testinden kaçınma potansiyeli, çapraz okuma veya diğer test dışı araçların uygulanmasıyla dikkatle kullanılmalıdır.

Bu amaçla, bir akut oral toksisite çalışması için standart bilgi gerekliliğinin *Kanıt Ağırlığı* uyarlamasına ilişkin [Ek R.7.4-1](#) dikkate alınmalıdır, çünkü bu şekilde, kayıt ettirenin herhangi bir hayvan dışı veya test dışı yaklaşımın *in vivo* testler yerine kullanılabilir olması belirlemesine yardımcı olabilir. Önerilen Kanıt Ağırlığı uyarlaması öncelikle düşük toksisiteli maddeler için geçerlidir.

Bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımının nasıl geliştirildiğine dair temel bilgiler [Ek R.7.4-2](#)'de sağlanmıştır.

[Ek R.7.4-1](#) 'de açıkça belirtilmeyen diğer yaklaşımlar da uygun olabilir. Çoğunlukla çapraz okuma ve fiziko-kimyasal özelliklere atıfta bulunan bazı genel alternatif yaklaşımlar, OECD taslağı "Akut Memeli Toksikite Çalışmalarından Bağlantı Kurma veya Feragat Etme Rehberi" içerisinde de bulunabilir (OECD, 2016). Ancak, bu alternatif yaklaşımların hepsinin KKDİK Yönetmeliği bağlamında uygulanamayabileceği unutulmamalıdır.

Risk değerlendirmesi için, toksik etkilerin doğası ve geri döndürülebilirliği hakkında daha fazla değerlendirme gereklidir.

R.7.4.2 Akut toksisite üzerine bilgi gereklilikleri

KKDİK Yönetmeliği kapsamında akut toksisite için standart bilgi gereklilikleri aşağıda belirtilmiştir:

Ek 7 (≥ 1 ton/yıl): oral maruz kalma yoluyla akut toksisite çalışması/çalışmaları gereklidir (Bölüm 8.5.1);

Ek 7 Bölüm 8.5, Sütun 2, bilgi gerekliliğinin uyarlanması için özel kuralları detaylandırır; özellikle maddenin cildi aşındırıcı olması veya solunum yoluyla akut toksisite üzerine bir çalışmanın mevcut olması durumunda akut oral toksisite testinden feragat etmeye olanak tanır.

Ek 8-10 (≥ 10 ton/yıl): ağız ve cilt veya solunum yoluyla maruz kalma gerçekleşen akut toksisite çalışması/çalışmaları gereklidir (Bölüm 8.5.2 ve 8.5.3).

Ek 8 Bölüm 8.5, Sütun 2, özellikle maddenin yapısına ve insan maruz kalmasının muhtemel yoluna bağlı olarak en az bir başka maruz kalma yolu hakkında bilgi gerektiren, uyarlama için özel kuralları detaylandırmaktadır.

Ek olarak, maddenin cildi aşındırıcı olması durumunda akut toksisite testinden feragat edilmesine izin verir.

Ek 8 Bölüm 8.5.3 Sütun 2, ayrıca (i) madde oral yoldan akut toksisite veya BHOT Tek Mrz. için sınıflandırma kriterlerini karşılamıyorsa ve (ii) cilt yoluyla maruz kalma (örn. cilt tahrişi, cilt hassaslaşması) bulunan *in vivo* çalışmalarda sistemik etki gözlenmemişse veya oral yoldan *in vivo* çalışma bulunmaması durumunda, test dışı yaklaşımlar örn. çapraz okuma, QSAR çalışmaları) temelinde cilt yoluyla maruz kalmadan sonra hiçbir sistemik etki öngörülmemişse akut dermal toksisite testinden feragat edilmesine izin verir.

R.7.4.3 Akut toksisite üzerine bilgi kaynakları

Aşağıda ayrıntıları sağlanan şekilde akut toksisite ile ilgili bilgiler, yayınlanmamış çalışmalar, veri tabanları ve kitaplar, bilimsel dergiler, kriter belgeleri, monograflar ve diğer yayınlar gibi yayınlar dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan elde edilebilir (daha fazla genel rehberlik için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.3).

R.7.4.3.1 Akut toksisite üzerine insan dışı veriler

R.7.4.3.1.1 Akut toksisite üzerine test dışı veriler

Test dışı veriler aşağıdaki yaklaşımlarla sağlanabilir:

- topluca (Q)SAR olarak adlandırılan yapı-aktivite ilişkileri (SAR) ve nicel yapı-aktivite ilişkileri (QSAR) ve uzman sistemler;
- çapraz okuma ve gruplama.

Kayıt ettirenler tarafından başka veri türlerinin de önerilebileceği unutulmamalıdır.

(Q)SAR modelleri

Diğer bazı sonlanma noktaları ile karşılaştırıldığında, akut toksisiteyi tahmin edebilen nispeten az (Q)SAR modeli ve uzman sistemleri⁷⁵ mevcuttur. Literatürde mevcut yaklaşımlar gözden geçirilmiştir (Cronin ve ark., 1995, 2003; Lessigiarska ve ark., 2005; Lapenna ve ark., 2010; Fuat Gatnik ve Worth, 2010; Diaza ve ark., 2015; Kleandrova ve ark., 2015).

Akut toksisite tahmini için modeller içeren (Q)SAR yazılım paketleri (ücretsiz ve ticari) şunları içerir: OECD QSAR Araç Kutusu, HazardExpert, Topkat, CASE Ultra, T.E.S.T, Derek Nexus ve ACD/Percepta. Bilimsel literatürde bulunan bazı modeller ve yukarıda bahsedilen yazılım, [Ek R.7.4-3](#)'te ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Bu incelemelere dayanarak aşağıdaki sonuçlara varılabilir:

- in vivo* toksisite için nispeten az sayıdaki model, sonlanma noktasının doğası ile ilgilidir - akut toksisite ölçümleri genellikle tüm vücut olgusu ile ilgilidir ve bu nedenle çok karmaşıktır.

⁷⁵ Bu bağlamda, kimyasal maddelerin yapısını veya özelliklerini belirli bir özellik ile ilişkilendiren küresel veya yerel "(Q)SAR" modelleri, bu durumda genellikle oral yolla maruz kalmadan sonra sıçandaki 48 saat LD₅₀ kastedilmektedir. Uzman sistemler, birkaç yerel (Q)SAR modelinin gruplarını veya paketlerini içerir ve daha sonra hangisinin bir tahmin oluşturmak için en uygun olduğuna (varsa) karar vermek için bir miktar muhakeme (uzman bilgisine dayalı) uygular.

İlgili mekanizmaların karmaşıklığı, QSAR modelleme sürecinde zorluklara yol açar;

ii) Çoğu QSAR modeli hidrofobikliği, modellenen toksisite için yüksek öneme sahip bir parametre olarak tanımlar. Ek olarak, birçok model elektronik ve sterik etkilerin rolünü gösterir;

iii) literatüre dayalı modellerin çoğu fenoller, alkoller, anilinler gibi tek madde sınıflarıyla sınırlıdır. Daha heterojen veri setlerine dayalı modeller, uzman sistemlere dahil edilen modellerdir.

Çapraz okuma ve gruplama

Çapraz okuma/kimyasal kategoriler, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6 Bölüm R.6.1 ve R.6.2 içerisinde açıklanmıştır. Gruplama argümanları ve çapraz okuma vakaları oluşturmanın bilimsel temeli, Kimyasalların gruplandırılmasına ilişkin OECD Rehberinin ikinci versiyonunda yeniden ele alınmıştır (OECD, 2014).

Çapraz okuma değerlendirmesine ilişkin daha detaylı öneriler, ECHA Çapraz Okuma Değerlendirme Çerçevesi (RAAF) içerisinde bulunabilir (bkz. <http://echa.europa.eu/en/support/grouping-of-substances-and-read-across>). OECD QSAR Araç Kutusu gibi yazılımlar, analoglar için veri bulmak ve çapraz okuma durumlarını desteklemek için kullanılabilir. OECD eChemPortali (http://www.echemportal.org/echemportal/index?pageID=0&request_locale=en), uygun analoglar hakkında daha fazla veri toplamak için kullanılabilir.

R.7.4.3.1.2 Akut toksisite üzerine test verileri

İn vitro veriler

Şu anda akut toksisitenin (düzenleyici) değerlendirmesi için AB veya OECD tarafından resmi olarak kabul edilmiş hiçbir *in vitro* test bulunmamaktadır.

- *In vitro* Nötr Kırmızısı Alım (NRU) Sitotoksosite Testi

In vitro NRU sitotoksosite testinin akut oral toksisite için sınıflandırma gerektirmeyen maddeleri tahmin kapasitesini değerlendirmek için yapılan doğrulama çalışmasına dayalı olarak (DB-ALM Protokol no 139, bkz. <http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/beta/>), EURL ECVAM bu *in vitro* testin geçerliliği ve sınırlamaları ile ilgili bir tavsiye yayınlamıştır (EURL ECVAM, 2013). Bu tavsiye, EURL ECVAM Bilimsel Danışma Komitesi (ESAC) tarafından ifade edilen görüşlere dayanmaktadır (bkz. <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/eurl-ecvam-recommendations/3t3-nru-recommendation>).

Doğrulama çalışmasına göre, *in vitro* NRU sitotoksosite testi, potansiyel olarak toksik karşısında toksik olmayan (yani sınıflandırılmış karşısında sınıflandırılmamış) maddeleri ayırt etmek için bir tahmin modeli ile birlikte kullanıldığında yüksek bir hassasiyet (yaklaşık %95) ve sonuç olarak düşük bir yanlış negatif oran (yaklaşık %5) gösterir. Bununla birlikte, yalnızca belirli hücre tiplerine veya dokulara özgü mekanizmalarla akut toksisiteye neden olan veya metabolik aktivasyon gerektiren maddeler doğru şekilde tahmin edilemeyebilir. Ayrıca, *in vitro* NRU sitotoksosite testi yüksek bir yanlış pozitif oranına sahiptir ve bu nedenle pozitif sonuçlar, akut toksik maddelerin karakterize edilmesinde anlamlı bir şekilde hemen kullanılamaz.

KKDİK Yönetmeliğinin hükümlerine ve özellikle Ek 11'de yer alan hükümlere uygun olarak, *in vitro* NRU sitotoksosite testinden elde edilen veriler, akut oral toksisite için standart bilgi gerekliliklerini uyarlamak üzere bir *Kanıt Ağırılığı* yaklaşımı içinde kullanılabilir, ancak bu test bağımsız bir test olarak kullanılamaz.

In vitro NRU sitotoksisite testinin önerilen bir uygulaması ve sınırlamaları [Ek R.7.4-1](#)'de açıklanmaktadır.

Hayvan verileri

Kayıtlı bir maddenin akut toksisitesi hakkında çeşitli dolaylı veya doğrudan bilgiler veren, çok çeşitli hayvan test rehberi çalışmalarından üretilen, özellikle faz içi maddeler için veriler mevcut olabilir, örneğin:

- B.1/OECD Test Rehberi 401 "Akut Oral Toksikite" (kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberlerinden ve SAE Yönetmeliği⁷⁶ Ek 5'den silinmiş yöntem);
- B.1 bis/OECD Test Rehberi 420 "Akut oral toksisite - Sabit doz prosedürü";
- B.1 tris/OECD Test Rehberi 423 "Akut oral toksisite - Akut toksik sınıf yöntemi";
- OECD Test Rehberi 425 "Akut oral toksisite - Yukarı ve aşağı prosedür" (2008'de güncellenmiştir);
- B.3/OECD Test Rehberi 402 "Akut dermal toksisite";
- B.2/OECD Test Rehberi 403 "Akut solunum toksisitesi" (2009'da güncellenmiştir);
- Taslak OECD Test Rehberi 433 "Akut Solunum Toksikitesi, Sabit Doz Prosedürü" (taslak hazırlanıyor);
- B.52/OECD Test Rehberi 436 "Akut Solunum Toksikitesi, Akut Toksik Sınıf Yöntemi" (2009'da kabul edilmiştir);
- Taslak OECD Test Rehberi 434 "Akut Dermal Toksikite, Sabit Doz Prosedürü" (taslak hazırlanıyor);
- ICH uyumlu çalışmalar;
- Mekanik ve toksikokinetik çalışmalar;
- Kemirgen olmayan türlerde çalışmalar.

Bazı tekrarlı doz toksisitesi (RDT) çalışmaları da faydalı bilgiler verebilir. Sub-akut oral toksisite çalışmasından elde edilen bilgilerin nasıl kullanılacağına dair rehber [Ek R.7.4-1](#)'de verilmektedir.

Geleneksel olarak, omurgalı hayvanlar üzerindeki akut toksisite testleri, genellikle LD₅₀ veya LC₅₀ değerlerini belirlemek için ana gözlemsel sonlanma noktası olarak mortaliteyi kullanmıştır. Bu değerler, zararlılık değerlendirmesi için anahtar bilgiler ve risk değerlendirmesi için destekleyici bilgiler olarak kabul edilmiştir.

Bununla birlikte, kesin bir LD₅₀ veya LC₅₀ değerinin türetilmesi artık gerekli görülmemektedir. Aslında, sabit doz prosedürleri (B.1 bis/OECD Test Rehberi 420 ve taslak OECD Test Rehberi 433) gibi mevcut standart akut toksisite test rehberlerinden bazıları, öldürücü olmayan toksisite belirtilerini kullanır. Bu test yöntemleri, hayvan refahı açısından diğer rehberlere göre avantajlar sunduğundan tercih edilmelidir.

"Belirgin toksisite"nin genel tanımları ve "öngörülebilir ölüm" göstergesi olan klinik belirtiler, B.1 bis/OECD Test Rehberi 420 Ek 1'de bulunabilir.

Yayınlanmış ve yayınlanmamış toksikolojik veya genel veriler

Mevcut düzenleyici *in vivo* yöntemlere ek olarak, bir literatür taraması yapılarak ve mevcut tüm yayınlanmış ve yayınlanmamış toksikolojik veya genel veriler ve resmi/mevcut akut toksikolojik referans değerleri gözden geçirilerek hayvanlarla ilgili akut toksisite verileri elde edilebilir. [Tablo R.7.4-1](#), akut toksisite verilerinin alınabileceği bir dizi veritabanını listeler. Daha kapsamlı genel rehberlik için [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım 3 Bölüm R.3.1 incelenmelidir.

Yukarıdakiler gibi kaynaklardan elde edilen tüm mevcut bilgilere dayanarak, mevcut verilerin kullanımını en üst düzeye çıkarmak ve yeni *in vivo* testlerin devreye alınmasını en aza indirmek için bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı uygulanmalıdır.

⁷⁶ Mevcut B.1/OECD Test Rehberi 401 verileri normalde kabul edilebilir, ancak bu silinmiş yöntem kullanılarak artık test gerçekleştirilmemelidir.

Düşük akut oral toksisiteye sahip maddelere özgü bir Kanıt Ağırlığı uyarlaması [Ek R.7.4-1](#).'de açıklanmıştır (ve talimat sağlanmıştır).

Tablo R.7.4-1 Akut toksisite ile ilgili verileri içeren veri tabanlarının listesi (Lapenna ve ark., 2010⁷⁷ çalışmasından uyarlanmış ve genişletilmiştir).

Veritabanı ⁷⁸	Mevcudiyet	Bilgi
ChemIDplus, ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi (NLM) tarafından geliştirilmiştir http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/	Ücretsiz (internet üzerinde)	HSDB'yi (Zararlı Maddeler Veri Bankası) içeren TOXNET'ten (TOXicology Data Network; http://toxnet.nlm.nih.gov) alınan 139.000'den fazla kayıt için toksisite verileri. HSDB, RTECS veritabanının daha eski bir alt kümesidir. Sıçan ve fare oral LD ₅₀ değerleri için yapılan bir araştırmada sırasıyla 13,548 ve 28,033 kayıt bulunmuştur.
ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından geliştirilen Biyolojik Sistemlerde Kimyasal Etkiler (CEBS) http://www.niehs.nih.gov/research/resources/databases/cebs/index.cfm	Ücretsiz (internet üzerinde)	<i>İn vivo</i> çalışma verileri ve sıçanlar için bilinen az sayıda hepatotoksik maddenin akut dozu.
Kimyasal Maddelerin Toksik Etki Kaydı (RTECS), orijinal olarak ABD NIOSH tarafından derlenmiş ve muhafaza edilmiştir (2001 yılına kadar) ve şu anda Symyx Technologies tarafından muhafaza edilmektedir. Yapı Symyx Toksikite Veritabanı aracılığıyla aranabilir: http://www.symyx.com/products/databases/bioactivity/rtecs/index.jsp Leadscope Toksikite Veritabanı aracılığıyla da aranabilir (http://www.leadscope.com/databases/)	Ticari	Yaklaşık 4.000 organik bileşik dahil olmak üzere yaklaşık 7.000 bileşik (organik, inorganik ve karışımlar) için açık bilimsel literatürden derlenen sıçan akut oral toksisite (LD ₅₀) ve akut soluma toksisitesi (LC ₅₀) verileri.
TerraBase veritabanları http://www.terrabase-inc.com/	Ticari	Farklı ürün türleri (doğal bileşikler, ilaçlar, pestisitler) için sıçan ve fare LD ₅₀ değerlerini içeren çeşitli veritabanları.
BfR ZEBET tarafından derlenen ZEBET; http://www.dimdi.de	DIMDI web sitesi aracılığıyla ücretsiz aranabilir	Açık literatürden derlenen 347 bileşik için sıçan veya fare LD ₅₀ değerlerini (RTECS veri tabanından) ve sitotoksikite (IC ₅₀) verilerini içerir.

⁷⁷ http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC61930/eur_24639_en.pdf

⁷⁸ Tablodaki veri tabanları yalnızca bilgi amaçlı olarak belirtilmiştir ve tabloya dahil edilmeleri, verilerin kalitesi veya yeterliliği konusunda ÇŞB tarafından herhangi bir onay anlamına gelmez. Nihayetinde, bu kaynaklarda bulunan verilerin KKDİK amaçlarına uygun olup olmadığına karar vermek kayıt ettirene bağlıdır.

<p>ACToR http://actor.epa.gov/actor/faces/ACToRHome.jsp</p>	<p>Ücretsiz (internet üzerinde)</p>	<p>EPA Birleşik Bilgisayar Hesaplamalı Toksikoloji Kaynağı (ACToR), Entegre Risk Bilgi Sistemi (IRIS), Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) Özet raporları ve Toksik Maddeler ve Hastalıklar Ajansı Kayıt belgelerinden derlenen akut toksisite verilerini içerir.</p>
<p>Zararlı Maddeler Veri Bankası (HSDB) http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB</p>	<p>Ücretsiz (internet üzerinde)</p>	<p>Ulusal Tıp Kütüphanesi (NLM), Zararlı Maddeler Veri Bankası'nda (HSDB) bulunan akut toksisite bilgilerinin aranmasını mümkün kılan TOXNET® adlı bir veri tabanları ağını yönetir.</p>
<p>Gıda Katkı Maddelerinin Öncelik Tabanlı Değerlendirmesi (PAFA) Leadscope içerisinde mevcuttur http://www.leadscope.com/toxicity_databases/</p>	<p>Ticari</p>	<p>Leadscope, Inc., yaklaşık 180.000 kimyasal yapı ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi Gıda Katkı Maddelerinin Öncelikli Değerlendirmesi (PAFA) Veritabanı, Ulusal Toksikoloji Programı Kronik Veritabanı, Kimyasal Maddelerin Toksik Etki Kaydı (RTECS) ve DSSTox Kanserojenite Potansiyeli Veritabanından (CPDB) derlenen 400,000 üzerinde toksisite çalışması sonucu içeren bir toksisite veritabanı pazarlamaktadır (Leadscope 2012). Çoklu maruz kalma yollarıyla ilgili akut toksisite verileri PAFA veri tabanında ve RTECS içerisinde mevcuttur.</p>
<p>eChem Portal http://www.echemportal.org/echemportal/substancesearch/substancesearchlink.action</p>	<p>Ücretsiz (internet üzerinde)</p>	<p>eChemPortal, çeşitli kimyasal tanımlayıcılar kullanılarak aranabilen, kamuya açık ücretsiz bir akut toksisite veritabanıdır.</p>
<p>ECHA dağıtımı http://echa.europa.eu/ OECD QSAR Araç Kutusu içerisinde mevcuttur http://www.qsartoolbox.org/</p>	<p>Ücretsiz (internet üzerinde)</p>	<p>Veritabanı REACH kayıt dosyalarından sonlanma noktası çalışma kayıtlarını içerir.</p>
<p>Toxicity Japan MHLW veritabanı http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPageENG.jsp and Rodent Inhalation Toxicity Database http://www.qsari.org/index.php/databases İkisi de OECD QSAR Araç Kutusu içerisinde mevcuttur</p>	<p>Ücretsiz (internet üzerinde)</p>	<p>Toxicity Japan Japonya Sağlık, Çalışma ve Sosyal Yardım Bakanlığı (MHLW) veritabanı, Japonya'nın Mevcut Kimyasallar Programı kapsamında gerçekleştirilen tek doz toksisite testi ve mutajenite testi sonuçlarının deneysel sonuçlarını içerir. Kemirgen Solunum Toksikitesi Veritabanı, literatürde bildirilen sıçan solunum çalışmalarından elde edilen yüksek kaliteli verilerin bir derlemesidir. Derleme çalışması, kapsamlı inceleme için yaklaşık 500 bilimsel makale ve rapordan oluşan birincil bir dosyaya odaklanmıştır. 500 bilimsel makaleden yalnızca 79 makale, makalenin test için birincil referans olduğunun doğrulanmasına, makalenin güvenilir gözlemler üretecek deneysel yöntemler kullandığının doğrulanmasına ve toksisite sonlanma noktalarının raporlanmasının kesin olduğunun doğrulanmasına dayanan minimum kalite güvence incelemelerini geçmiştir.</p>

R.7.4.3.2 Akut toksisite üzerine insan verileri

İnsanlara ilişkin akut toksisite verileri aşağıdaki kaynaklardan edinilebilir:

- Zararlı özellikleri ve doz-cevap ilişkilerini tanımlayan epidemiyolojik veriler;
- Rutin veri toplama, zehir verileri, olumsuz olay bildirim şemaları, adli tabip raporları;
- Biyolojik izleme/kişisel örnekleme;
- İnsan kinetik çalışmaları - gözlemsel klinik çalışmalar;
- Örn. endüstri, iş güvenliği yetkilileri, akademiden yayınlanmış ve yayınlanmamış çalışmalar;
- Ulusal zehir merkezleri.

İnsan verilerinin kullanımının önündeki ana engeller, sınırlı erişilebilirlik ve genellikle maruz kalma seviyelerine ilişkin sınırlı bilgilerdir (ECETOC, 2004).

Daha fazla bilgi için [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.1 incelenmelidir.

R.7.4.3.3 Akut toksisite için maruz kalma hususları

Akut toksisite ile ilgili olarak, maruz kalma değerlendirmeleri KKDİK Yönetmeliği Ek 8'in 2. sütununda detaylandırılmıştır, ancak Ek 11'de verilmemiştir.

İnsan maruz kalma potansiyelinin mevcut olduğu durumlarda, bu uygulama yolu /yolları ile akut toksisite potansiyelinin değerlendirilebilmesi için en olası maruz kalma yolu/yolları belirlenmelidir. Gösterilen yalnızca bir maruz kalma yolu varsa, bu yolla akut toksisite ele alınmalıdır. En olası maruz kalma yolunun belirlenmesi, maruz kalmayı sınırlandırmak için uygulanan mühendislik kontrolleri dahil, yalnızca maddenin nasıl imal edildiğini ve işlendiğini değil, aynı zamanda maddenin fiziko-kimyasal özelliklerini de dikkate alınmalıdır (örn. maddenin katı veya sıvı olması, tanecik boyutu ve solunabilir ve içe çekilebilir taneciklerin oranı, buhar basıncı ve log K_{ow}).

R.7.4.4 Akut toksisite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

[BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.4 içerisinde, yeterlilik (güvenilirlik ve ilgi düzeyi), eksiksizlik ve kalan belirsizlik açısından mevcut verilerin değerlendirilmesi ve derecelendirilmesi sürecine ilişkin ayrıntılı genel rehberlik, akut toksisite hakkındaki bilgilerle ilgilidir.

R.7.4.4.1 Akut toksisite üzerine insan dışı veriler

R.7.4.4.1.1 Akut toksisite üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal özellikler⁷⁹

Bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerinden, belirli bir yolla maruz kaldıktan sonra aşındırıcı olup olmadığını veya emilip emilmediğini anlamak mümkün olabilir; bunlar, akut toksisite testi için uygulama yoluna karar verirken hesaba katılmalıdır.

⁷⁹ [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7c, Bölüm R.7.12 içerisindeki [Ek R.7.4-1](#) ve Tablo R.7.12-1 ile R.7.12-6 da incelenmelidir.

Fiziko-kimyasal özellikler, soluma yoluyla maruz kalma durumunda önemli olabilir (buhar basıncı, ortalama kütle aerodinamik çapı (MMAD)⁸⁰, log K_{ow}), yalnızca bu yolun ilgili olup olmadığını belirlemek için değil, aynı zamanda testlerin teknik uygulanabilirliğini ve özellikle lokal etkili maddeler için solunum yollarında maddenin dağılımı üzerine etki belirlemek için de önemli olabilir. Aslında, madde veya karışımın bazı fiziko-kimyasal özellikleri, testten feragat etmek için temel oluşturabilir. Özellikle, iç ortam kullanımları için <math> < 1 \times 10^{-5}</math> kPa (7.5 x 10⁻⁵ mmHg) ve dış ortam kullanımları için <math> < 1 \times 10^{-4}</math> kPa (7.5 x 10⁻⁴ mmHg) buhar basıncına sahip olarak tanımlanan düşük uçuculuktaki maddeler için feragat düşünülmelidir. Ayrıca, solunabilir tanecikler burun ve/veya ağız yoluyla solunum sistemine girebilir ve genellikle çapları 100 µm'den küçüktür. 100 µm'den büyük taneciklerin solunması daha az olasıdır. Bu nedenle, aerosol tanecik boyutu belirleme sonuçlarına özel dikkat gösterilmelidir.

Özellikle, toz halindeki maddeler için, malzemenin tanecik boyutu, solunum yolundaki birikim davranışını ve potansiyel toksik etkileri kesin bir şekilde etkiler. Sis için tanecik boyutu daha az belirleyicidir çünkü madde veya çözücü sis oluşumundan sonra buharlaşabilir ve bu da daha küçük taneciklerin solunum sistemine ulaşma olasılığının daha yüksek olmasına neden olur. Tanecik boyutu değerlendirmeleri (örneğin granülometri testi, OECD Test Rehberi 110 ile belirlenir) aşağıdakiler için yararlı olabilir:

- akut soluma toksisitesi testi için temsili bir numunenin seçilmesi;
- solunabilir ve içe çekilebilir fraksiyonların, tercihen aerodinamik partikül boyutuna dayalı olarak değerlendirilmesi;
- Örneğin çapraz okuma (veya kimyasal gruplama yaklaşımı) verilerinin tanecik boyutu dağılımı analizlerinden elde edilen sonuçlarla ilişkilendirilebildiği durumlarda testten kaynaklanan istisnaların gerekçelendirilmesi (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6 Bölüm R.6.2).

Fiziko-kimyasal özellikler, (örn. log K_{ow}, moleküler ağırlık ve hacim, molar kırılma, hidrojen bağlanma derecesi, erime noktası) cilt yoluyla maruz kalma potansiyelinin belirlenmesi için de önemlidir (Hostýnek, 1998). Deri yoluyla emilim hakkında daha fazla bilgi OECD (2011) ve EFSA (2012) rehber dokümanlarında bulunabilir.

(Q)SAR

Örneğin cilde nüfuz veya metabolik yollar hakkında tahminlerde bulunmak için kullanılacak birkaç (Q)SAR sistemi mevcuttur. Bununla birlikte, bu sistemler uygun deneysel verilere göre kapsamlı bir şekilde doğrulanmamıştır ve sonuçların *in vivo* durumu gerçekten yansıtmadığı henüz doğrulanmamıştır. Bu nedenle, modellenen veriler zararlılık tanımlama ve risk değerlendirme amacıyla yalnızca bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir bölümü olarak kullanılabilir.

Bu yaklaşımlar, ilgili madde için ilgili ve güvenilir (yeterli) veriler sağladıkları takdirde akut toksisiteyi değerlendirmek için kullanılabilir. Nicel yapı aktivite ilişkileri, akut toksisite tahminlerinin tanımlanması için çok bileşenli maddelerin veya UVCB maddelerin tekli bileşenleri hakkında yeterli veri sağlamak üzere de kullanılabilir.

Test dışı verilerin uygunluğunun ve güvenilirliğinin nasıl değerlendirileceğine dair rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.6.1'deki nicel yapı aktivite ilişkilerine ilişkin genel rehberde ve Kısım R.6 Bölüm R.6.2 içerisindeki gruplama yaklaşımlarında verilmiştir. Test dışı yöntemler, uygun raporlama formatlarına göre belgelendirilmelidir (bkz. Bölüm R.6.1.9 ve R.6.2.6). (Q)SAR ve uzman sistemler söz konusu olduğunda, mevcut modellerin ayrıntılı bir açıklaması JRC QSAR Model Veritabanında (<http://qsardb.jrc.it/>) sağlanmıştır.

Akut toksisite sonlanma noktasının karmaşıklığı (birden fazla mekanizma olasılığı), bu sonlanma noktası için QSAR modellerinin sınırlı mevcudiyetinin ve tahmin gücünün nedenlerinden biridir.

⁸⁰ Madde veya karışımın piyasaya sürüldüğü ve makul olarak kullanılmasının beklenebileceği formlar veya fiziksel haller, sınıflandırma için dikkate alınmalıdır.

Tam doğrulama bilgisinin yokluğunda, mevcut modeller, modelden türetilen bilgilerin hassas bir şekilde değerlendirilmesinden sonra zararlılık tanımlama ve risk değerlendirme amacıyla Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak kullanılabilir.

Yöntemin geçerliliğinin değerlendirilmesi

OECD ilkelerine göre model geçerliliğinin bir değerlendirmesi, [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de açıklandığı gibi QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) kullanılarak mevcut olmalıdır.

Tahminin güvenilirliğinin değerlendirilmesi

(Q)SAR tahminlerinin güvenilirliği, QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF) kullanılarak [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de açıklandığı gibi değerlendirilmelidir.

Çapraz okuma ve gruplama

Gruplama yaklaşımlarının uygulanmasına ilişkin genel rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6, Bölüm R.6.2'de ve RAAF belgesinde verilmektedir. RAAF belgesi, çapraz okuma savunması oluşturmak üzere altı olası senaryoyu birbirinden ayıran analogların uygunluğunun değerlendirmesini açıklar (bkz. <http://echa.europa.eu/en/support/grouping-of-substances-and-read-across>).

R.7.4.4.1.2 Akut toksisite üzerine test verileri

İn vitro veriler

NRU sitotoksosite testi (bkz. Bölüm [R.7.4.3.1.2](#)), örneğin *in vivo* çalışmalar için başlangıç dozlarını belirlemek (OECD, 2010; Schrage ve ark., 2011) ve hayvan çalışmalarından elde edilen verilerin değerlendirilmesine yardımcı olmak için kullanılabilir. NRU sitotoksosite testi, hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek testlerin yerini tamamen alamaz ve daha çok Kanıt Ağırlığı bağlamında kullanılmalıdır.

Çeşitli çalışma yöntemlerinin sonuçlarının uygulanabilirliği ve geçerliliğini değerlendirmek, bir çalışmanın yürütülmesinin kalitesini değerlendirmek (maddenin yöntemin uygulanabilirlik alanına girip girmediğinin ve bu alanın doğrulama durumunun nasıl belirleneceği dahil) ve taşıyıcı, kopya sayısı, maruz kalma/inkübasyon süresi, İLU uyumluluğu veya karşılaştırılabilir kalite açıklaması gibi hususların değerlendirilmesi için [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.4 içerisinde genel rehberlik verilmektedir.

Hayvan verileri

Sabit doz prosedürü (B.1 bis/OECD Test Rehberi 420) gibi mevcut standart protokollerin mortalite yerine belirgin toksisite işaretlerini kullanmasına rağmen, hayvanlar üzerindeki akut toksisite testleri genellikle LD₅₀ veya LC₅₀ değerlerini belirlemek için ana gözlemsel sonlanma noktası olarak temelde mortaliteyi kullanmıştır. Çoğu durumda, ölüm nedeni veya toksisitenin altında yatan mekanizma hakkında hiçbir bilgi mevcut değildir ve yalnızca belirli dokulardaki patolojik değişiklikler veya davranış veya aktivite değişiklikleri gibi klinik belirtiler hakkında sınırlı bilgi bulunur.

Düşük toksisiteye sahip maddeler üzerinde birçok akut toksisite çalışması, sınır testler olarak gerçekleştirilir. Daha zararlı maddeler için, optimum bir başlangıç dozunun seçimi, hayvanların kullanımını en aza indirecektir. Çoklu doz seviyeleri değerlendirildiğinde doz-cevap ilişkisinin karakterizasyonu mümkün olabilir ve daha düşük doz seviyelerinde tanımlanan toksisite belirtileri, akut toksisite için LOAEL veya NOAEL değerlerinin tahmin edilmesinde faydalı olabilir.

Akut oral toksisitenin karakterizasyonu için sub-akut oral toksisite çalışmalarının kullanımı [Ek R.7.4-1](#)'de açıklanmaktadır. Lokal etkili maddeler için, solumadan sonra solunum yolundaki doku hasarına bağlı olarak ölüm meydana gelebilir. Bu durumlarda, lokal etkilerin şiddeti doz veya konsantrasyon seviyesiyle ilişkili olabilir ve bu nedenle bir LOAEL veya NOAEL belirlemek mümkün olabilir. Sistemik toksisite için, hedef organ toksisitesine dair bazı kanıtlar (patolojik bulgular belgelenmelidir) veya klinik gözlemlere dayalı toksisite belirtileri olabilir.

Akut toksisite belirlenmesinde hangi yaklaşım kullanılırsa kullanılsın, kritik bilgiler risk değerlendirmesinde kullanılacak verilerden türetilmelidir. Toksikite belirtileri üreten bu doz seviyelerinin, ve bunların ciddiyetinin dozla ilişkisinin ve toksisitenin gözlenmediği seviyenin (yani akut NOAEL) belirlenmesi önemlidir.

Halihazırda mevcut olan OECD veya AB test yöntemlerine ek olarak (bkz. Bölüm [R.7.4.3](#)), akut cilt ve soluma toksisitesini değerlendirmek için alternatif *in vivo* test yöntemleri kabul veya revizyon ve düzenleyici amaçlar için kullanım sürecindedir. Hayvanlarda akut toksisiteyi değerlendirmek için hangi test kullanılırsa kullanılsın, çalışmaların değerlendirilmesi Klimisch ve ark. (1997) yaklaşımına göre güvenilirlik (standartlaştırılmış yöntemler, İLU, yayının ayrıntılı açıklaması), akut maruz kalmadan kaynaklanan zararlılığı değerlendirmek amacıyla verilerin uygunluğu ve yeterliliğini dikkate alır (daha fazla rehberlik için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.4.2). Tercih edilen çalışmalar, toksik etkinin mekanizması ve tersinirliğinin, deneklerin sayısının, cinsiyetinin, gözlenen etkilerden etkilenen hayvanların sayısının ve maruz kalma koşullarının (soluma için atmosfer oluşumu, süre ve konsantrasyon veya doz) kesin bir tanımını verenlerdir. Verilerin ilgi seviyesi, ölçülen veya tahmin edilen öldürücü veya öldürücü olmayan sonlanma noktasını açıklarken belirlenmelidir.

İlave olarak, bir madde için birkaç çalışma sonucu mevcut olduğunda en ilgili olanı seçilmelidir; değerlendirilen diğer çalışmalardan elde edilen veriler, maddenin tam değerlendirmesi için destekleyici veriler olarak düşünülmelidir.

Akut soluma toksisitesi için sınıflandırma kriterleri, 4 saatlik deneysel maruz kalma süresi ile ilgilidir. 4 saatlik bir süreye ait veriler mevcut değilse, sonuçların 4 saate ekstrapolasyonu genellikle Haber Yasası ($C \times t = k$) kullanılarak elde edilir. Bununla birlikte, bu tür ekstrapolasyonların geçerliliğinin sınırları vardır ve S&E amacıyla 4 saatlik LC₅₀ değerini belirlemek için Haber Yasası yaklaşımının 30 dakikadan az veya 8 saatten uzun deneysel maruz kalma sürelerine uygulanmaması önerilir. SEA kriterleri aynı zamanda 1 saatlik maruz kalma kullanılarak oluşturulan mevcut soluma toksisitesi verilerinin dönüştürülmesine yönelik kriterleri de içerir (daha fazla ayrıntı için bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Tablo 3.1.1'deki dipnot c ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.1.2.2).

Günümüzde Haber Yasasında bir değişiklik kullanılmaktadır ($C^n \times t = k$), çünkü birçok maddede bireysel maddeye özgü n değerinin 1'e eşit olmadığı (Haber Yasası) gösterilmiştir. Maruz kalma süresinin ekstrapolasyonunun gerekli olması durumunda, n değeri dikkate alınmalıdır. Bu n değeri literatürde mevcut değilse, varsayılan bir değer kullanılabilir. Yaklaşık 30 dakika ila 8 saat aralığı hesaba katılarak, ekstrapolasyon için LC₅₀ veya EC₅₀ 'nin gözlemlendiği süreden daha kısa bir süreye $n = 3$ olarak ayarlanması ve ekstrapolasyon için daha uzun süreye $n = 1$ olarak ayarlanması (ACUTEX projesi, 2006) önerilir.

Deneysel olarak, belirli amaçlar için konsantrasyon-cevap verilerine ihtiyaç duyulduğunda, B.2/OECD Test Rehberi 403 dikkate alınabilir.

B.2/OECD Test Rehberi 403, tek bir maruz kalma süresinde bir konsantrasyon-cevap eğrisi ile sonuçlanacaktır, $C \times t$ yaklaşımı, farklı maruz kalma süreleri hesaba katılarak bir konsantrasyon-zaman-cevap eğrisi ile sonuçlanacaktır. $C \times t$ yaklaşımı, $C \times t$ kombinasyonu başına iki hayvan kullanır ve maruz kalma süreleri yaklaşık 15 dakika ila yaklaşık 6 saat arasında değişebilir. Bu yaklaşım, özellikle risk değerlendirmesi ve NOAEC/LOAEC belirlenmesi için yararlı olan konsantrasyon-zaman-cevap ilişkisi hakkında ayrıntılı bilgi sağlayabilir.

R.7.4.4.2 Akut toksisite üzerine insan verileri

Mevcut olduğunda, epidemiyolojik çalışmalar, zehirlenme vakası raporları veya mesleki gözetimden elde edilen bilgiler akut toksisite için çok önemli olabilir ve hayvan çalışmalarında tespit edilemeyen etkilere dair kanıt sağlayabilir (örn. mide bulantısı veya baş ağrısı gibi semptomlar). Bununla birlikte, KKDİK ve SEA Yönetmeliklerinin amaçları doğrultusunda insan çalışmalarının yürütülmesine izin verilmemektedir.

Bu tür insan verileri, yeni doğmuş bebekler, çocuklar, hastalıkları olan bireyler (özellikle kronik solunum hastalıkları, örn. astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)) gibi belirli hassas alt popülasyonları tanımlamak için de yararlı olabilir.

İnsan verilerinin güvenilirliği ve uygunluğu hakkında ek rehberlik sağlanır çünkü bu tür çalışmalar için standartlaştırılmış rehberler yoktur (koku eşiği belirleme dışında) ve bunlar genellikle İyi Laboratuvar Uygulamalarına göre yürütülmez. Bu konuda rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.4 Bölüm R.4.3.3 içerisinde verilmektedir.

R.7.4.4.3 Akut toksisite için maruz kalma hususları

Uygun test stratejisini seçmek için insanlarda potansiyel maruz kalma yollarına özel dikkat gösterilmelidir. Oral yol, pratik değerlendirmelere dayalı olarak tercih edilen birincil yoldur (örn. çoğu durumda test maddesinin maksimum sistemik alımına ulaşma olasılığı).

R.7.4.4.4 Akut toksisite için kalan belirsizlik

Çoğu durumda, geçerli insan akut toksisite verilerinin bulunmaması nedeniyle kalan belirsizlikler olacaktır ve bu nedenle uygun değerlendirme faktörleri uygulanmalıdır. Toksikokinetik veriler, maddeye özgü türler arası değerlendirme faktörlerinin türetilmesine yardımcı olabilir. Akut toksisite testi genellikle klinik kimya, hematoloji ve detaylı histopatoloji ve fonksiyonel gözlemleri içermediğinden, DNEL değerleri türetmek için bu çalışmalardan bir NOAEL veya LOAEL değeri kullanıldığında ilave bir değerlendirme faktörünün uygulanması gerekebilir (akut toksisite için DNEL değerlerinin ayarlanması hakkında daha fazla rehberlik için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8, Ek R.8-8).

R.7.4.5 Akut toksisite üzerine varılan sonuçlar

R.7.4.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç

Akut toksisite için doğru sınıflandırma ve etiketlemeyi belirlemek üzere, SEA Yönetmeliğinde (Ek 1, bölüm 3.1) belirtilen kriterler uygulanmalıdır. Sınıflandırma kriterleri, LD₅₀ veya LC₅₀ değerlerine dayalı olarak belirli "eşik değerlerine" (akut toksisite tahminleri) dayanmaktadır (Daha fazla ayrıntı için, bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.1).

Akut toksisite testlerinden elde edilen bilgiler, tek maruz kalma (BHOT Tek Mrz.) sonrasında belirli hedef organ toksisitesini değerlendirmek için de kullanılabilir, çünkü diğer (öldürücü olmayan) etkiler Kat 1, 2 veya 3 BHOT Tek Mrz. sınıflandırması için (narkotik etkilerle ilgili olarak) ilgili olabilir (bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 bölüm 3.8.2.1.5 ve 3.8.2.1.7.3 ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.8.2.1.2).

İdeal olarak, sınıflandırma ve etiketleme, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğe⁸¹ veya OECD Test Rehberlerine dahil edilen resmi olarak kabul görmüş test yöntemlerine uygun yürütülen çalışmalardan elde edilen veriler kullanılarak gerçekleştirilmelidir. Bu tür çalışmalar, LD₅₀, LC₅₀, ayırt edici dozun (sabit doz prosedürleri) veya öldürücülük ve/veya şiddetli toksisitenin beklendiği bir dizi maruz kalmanın (akut toksik sınıf yöntemleri) tanımlanmasına izin verecektir. Beklenen toksisitenin düşük olduğu (üst doz sınırında ölüm beklenmeyen) maddeler için, test, bu doz seviyesi (sınır testi) ile sınırlandırılabilir ve ölüm olmadığı doğrulanırsa, maddenin akut toksisiteye göre sınıflandırılmasına gerek yoktur. Bu seçenek/yaklaşım, [Ek R.7.4-1](#)'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Hayvanların sıralı olarak dozlandığı Yukarı-Aşağı Prosedüründe (OECD Test Rehberi 425), bir güven aralığı ile oral LD₅₀ tahmini mümkündür ve bu, sınıflandırma amacıyla kullanılabilir. Sabit doz/konsantrasyon prosedürlerinde (B.1 bis/OECD Test Rehberi 420, taslak OECD Test Rehberi 433 (taslak halinde) ve taslak OECD Test Rehberi 434 (taslak halinde)) ve akut toksik sınıf yöntemlerinde (B.1 tris/OECD Test Rehberi 423 ve B.52/Test Rehberi 436) oluşturulan veriler, sınıflandırma amaçları için eşit derecede yeterlidir. Sabit doz/konsantrasyon prosedürlerinde, ayırt edici doz, belirgin toksisiteye neden olan ancak ölüme neden olmayan doz olarak tanımlanır ve test yönteminde belirtilen dört doz seviyesinden biri olmalıdır. Belirgin toksisite, çoğu hayvanda bir sonraki en yüksek doz seviyesinde şiddetli ağrı ve kalıcı şiddetli sıkıntı belirtileri, can çekişme durumu veya olası ölüm beklenebilecek şekilde açık toksisite belirtilerini tanımlayan genel bir terimdir. Akut toksik sınıf yöntemlerinde, ölümün beklendiği maruz kalma aralığı, dört sabit dozdan bir veya daha fazlasında test edilerek belirlenir. Sabit doz prosedürü ve akut toksik sınıf yöntemleri için OECD ve AB rehberleri, GHS sınıflandırmasına göre sonuçların çıkarılmasına olanak tanıyan akış şemalarını içerir. İlave olarak, akut toksik sınıf yöntemlerindeki akış şemaları, LD₅₀ veya LC₅₀ eşiklerinin tanımlanmasına izin verir. OECD veya AB yöntemlerine göre oluşturulan İyi Laboratuvar Uygulamalarına uyumlu verilerin yokluğunda, diğer tüm mevcut bilgiler dikkate alınmalıdır. Her bir bireysel veri seti (örneğin, İLU dışı bir çalışma), Bölüm [R.7.4.4](#)'te belirtildiği gibi güvenilirlik ve uygunluk açısından değerlendirilmeli ve uygun olmayan veriler (yani, güvenilir veya ilgili olmadığı kabul edilen) göz ardı edilmelidir. Birkaç hayvan türünde akut toksisite için deneysel veriler mevcut olduğunda, geçerli, iyi yapılmış testler arasında en uygun verilerin seçilmesinde bilimsel yargı kullanılmalıdır. Birkaç türden eşit derecede güvenilir veriler mevcut olduğunda, bu türün insanlar için uygun bir model olmadığına inanmak için nedenler olmadıkça, en hassas türlerle ilgili verilere öncelik verilmelidir (akut toksisitenin değerlendirilmesi için tercih edilen test türleri hakkında daha fazla ayrıntı için bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.1.2.2.1 ve *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi* [Bölüm 3.1.2.1.2 ve 3.1.2.3.2](#)). Herhangi bir kaynaktan kesin sınıflandırma ve etiketleme yapılamıyorsa, ancak birden fazla veri setinin tümü aynı sonuca götürüyorsa, o zaman, Kanıt Ağırlığı yaklaşımı sınıflandırmak için yeterli olabilir ve bunu detaylandıran kapsamlı bir teklif ortaya konmalıdır (bkz. [Ek R.7.4-1](#)).

Hem insanlardan hem de hayvanlardan kanıt elde edildiğinde ve bulgular arasında bir çelişki olduğunda, sınıflandırma sorununu çözmek için her iki kaynaktan gelen kanıtların kalitesi ve güvenilirliği değerlendirilmelidir. Genel olarak, insanlarda iyi kalite ve güvenilirliğe sahip veriler, diğer verilere göre öncelikli olmalıdır. Bununla birlikte, iyi tasarlanmış ve yürütülmüş epidemiyolojik çalışmalarda bile, nispeten nadir fakat yine de önemli etkileri tespit etmek için yeterli sayıda denek olmayabilir. Ayrıca, birçok çalışmanın yorumlanması, karıştırıcı faktörlerin belirlenmesi ve dikkate alınmasındaki zorluklar nedeniyle engellenmektedir. İyi yürütülen hayvan çalışmalarından elde edilen pozitif sonuçlar, olumlu insan deneyiminin olmaması nedeniyle olumsuz hale dönüşmez, ancak hem insan hem de hayvan verilerinin kapsamlılığının ve kalitesinin değerlendirilmesini gerektirir.

⁸¹ Test Yöntemleri Yönetmeliğinin referans aldığı AB'nin 440/2008 sayılı Test Yöntemleri Tüzüğü, yeni OECD Test Rehberlerinin onayını takip etmek için düzenli olarak güncellenir ve en son Eylül 2019'da (AB) 2019/1390 sayılı Komisyon Tüzüğü ile değiştirilmiştir. AB veya OECD tarafından yayınlanıp yayınlanmadığından bağımsız olarak, yeni veri oluştururken kabul görmüş bir test rehberinin her zaman en son sürümünün kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

Maddenin uygun şekilde sınıflandırmasını ve etiketlemesini güvenilir bir şekilde belirlemek için mevcut veriler çelişkiliyse, uyumlu değilse veya yetersizse, herhangi bir OECD veya AB uyumlu *in vivo* çalışma gerçekleştirilmeden önce ek *in vitro* çalışmalar, QSAR ve çapraz okuma dikkate alınmalıdır. Bu şekilde, bu tür hayvan dışı veriler çapraz okuma veya kimyasal gruplama yaklaşımında destekleyici bir role sahip olabilir. Doz-cevap ilişkisinin değerlendirilmesine izin veren çalışma verileri, risk değerlendirmesi, sınıflandırma ve etiketleme için dikkate alınmalıdır.

SEA Yönetmeliği Ek 1 Bölüm 3.1.2.3.2'ye göre, soluma toksisitesinin sınıflandırılmasında özellikle önemli olan, toz ve sis için yüksek toksisite kategorilerinde iyi ifade edilmiş değerlerin kullanılmasıdır. 1 ile 4 mikron arasında kütle medyan aerodinamik çapa sahip solunan parçacıklar, sıçan solunum yolunun tüm bölgelerinde birikecektir. Hayvan deneylerinin insan maruz kalmaya uygulanabilirliğini sağlamak için, toz ve sis ideal olarak sıçanlarda bu aralıkta test edilecektir. SEA Yönetmeliği Ek 1 Tablo 3.1.1'de toz ve sis için belirtilen eşik değerleri, çeşitli test koşulları altında ölçülen çok çeşitli toksisitelere sahip malzemeler için net ayrımların yapılmasına izin verir.

R.7.4.5.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için standart AB test yöntemi/OECD Test Rehberi verileri ve hem güvenilir hem de uygun olduğu düşünülen tüm uygulanabilir veriler kullanılmalıdır. Mevcut verilere ve maddenin kullanım modeli/yaşam döngüsü sırasında maddeye potansiyel maruz kalmaya dayanılarak, akut toksisite ile ilgili olarak bir maddenin oluşturduğu riske ilişkin sonuca varmak için nitel değil nicel bir değerlendirme tercih edilir. Nicel veriler mevcut değilse, belirli akut toksik etkilerin yapısı ve ciddiyeti, maddenin işlenmesi ve kullanımına ilişkin özel tavsiyelerde bulunmak için kullanılabilir.

Akut toksisite ile ilgili bilgiler normalde bir LD₅₀ veya LC₅₀ değerinin bulunması ile sınırlı değildir. Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için önemli olan ilave bilgiler hem nitel hem de nicel olacaktır ve klinik toksisite belirtilerinin doğası ve ciddiyeti, lokal aşındırıcı veya tahriş edici etkiler, başlangıç zamanı ve toksik etkilerin geri döndürülebilirliği, gecikmiş toksisite belirtilerinin ortaya çıkması, vücut ağırlığı etkileri, doz-cevap ilişkileri (doz-cevap eğrisinin eğimi), cinsiyetle ilgili etkiler, etkilenen belirli organlar ve dokular, en yüksek toksik olmayan ve en düşük öldürücü doz gibi parametreleri içerecektir (ECETOC Monograf No. 6, 1985 kaynağından uyarlanmıştır).

Akut toksisite ile ilgili insan verileri mevcutsa, bunların dikkatlice kontrol edilen çalışmalardan veya önemli sayıda kişiden elde edilmesi pek mümkün değildir. Bu durumda, yalnızca bu verilerden bir DNEL değeri belirlemek uygun olmayabilir, ancak bilgiler kesinlikle bir Kanıt Ağırlığı değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır ve hayvan verilerinin geçerliliğini doğrulamak için kullanılabilir. İlave olarak, yeni doğanlar, çocuklar veya hastalıkları olan bireyler gibi özellikle hassas olan alt popülasyonlar için DNEL değeri/değerleri belirlemek amaçlı risk değerlendirme sürecinde insan verileri kullanılmalıdır.

Akut toksisite için DNEL değerlerinin ayarlanması hakkında daha kapsamlı rehberlik için [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8 Ek R.8-8 incelenmelidir.

Maddenin akut toksisite profiline ilişkin fiziko-kimyasal özelliklerinden ve biyoyararlanım verilerinden beklenen etkiler de Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır.

R.7.4.5.3 Bilgilerin yeterli olmaması

Tonajla tetiklenen KKDİK Yönetmeliği bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir.

Onaylı test rehberleri veya eşdeğer yöntemler kullanılarak elde edilen verilerin yokluğunda, diğer sonlanma noktalarından veriler akut toksisite potansiyelinin belirlenmesi için yardımcı olabilir. Örneğin, subkronik toksisite veya nörotoksisite çalışmaları ile veri sağlanabilir, çünkü genel olarak bu çalışmaların tasarımı, ana test için bir hareket dozu belirlemek üzere bir pilot çalışma içerir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi benimsenebilir.

R.7.4.6 Akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisi

R.7.4.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu test ve değerlendirme stratejisinin temel amacı, akut toksisite için KKDİK Ek 7 ve 8 bilgi gerekliliklerinin en insani yöntemler kullanılarak nasıl karşılanabileceğine dair tavsiyelerde bulunmaktır. Strateji izlenirse, üretilen bilgi akut toksisite zararlılığına ilişkin bir sınıflandırma kararı vermek için yeterli olacaktır ve risk değerlendirmesi ve DNEL türetme için veri sağlayabilir. İlave olarak, akut toksisite değerlendirmesi, tekrarlı doz toksisite çalışmalarının yürütülmesi için hedef organ toksisitesinin belirlenmesi ve doz seçimi gibi değerli bilgiler sağlayabilir.

Önceki bölümlerde özetlenen kriterlere bağlı kalarak, hedefleri kapsamak için yeterli verinin mevcut olup olmadığı veya daha fazla testin gerekli olup olmadığı konusunda bilinçli kararlar alınabilir.

Daha fazla testin gerekli görülmesi halinde, *tüm gerekliliklere uyan tek bir çalışma* yaklaşımı yerine KKDİK Yönetmeliğine göre en uygun çalışmanın kullanılması kabul edilir. Kapsamlı bir ilke, tüm veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanması ve böylelikle mümkün oldukça hayvan kullanımının önlenmesi veya en aza indirilmesi ve maliyetlerin en aza indirgenmesidir.

R.7.4.6.2 Ön hususlar

KKDİK Yönetmeliği kapsamında akut toksisite için standart bilgi gereklilikleri Bölüm [R.7.4.2](#)'de verilmiştir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ve 8 Bölüm 8.5'in 2. sütununa göre, akut toksisite çalışmaları için bilgi gereklilikleri, madde cilt için aşındırıcı olarak sınıflandırılmışsa, gereksiz testlerden ve hayvanların acı çekmesinden kaçınmak için uyarlanabilir. Bununla birlikte, aşındırıcı olmayan konsantrasyonlara maruz kalma ile ilgili sağlığa ilişkin kaygılar, yani sistemik toksisite şüphesi varsa (örn. maddenin hem aşındırıcılık hem de sistemik toksisite sergilediğini gösteren yapısal uyarılardan), akut toksisite değerlendirmesinin uygun olduğu düşünülebilir. Bu gibi durumlarda, standart LC₅₀ olarak özel bir protokol geliştirilmelidir veya başka herhangi bir *in vivo* akut toksisite testi gerçekleştirilemez. Örneğin, bazal sitotoksisite ile ilgili *in vitro* veriler, test edilecek en uygun konsantrasyon aralığını oluşturmak için kullanılabilir.

Tonaj seviyesinden bağımsız olarak, herhangi bir test başlatılmadan önce, stratejinin temel hedeflerine ulaşıp ulaşılmadığını tespit etmek için mevcut toksikolojik verilerin ve mevcut risk yönetimi prosedürlerinin dikkatlice değerlendirilmesi tavsiye edilir. Bu değerlendirme, 793/93 sayılı Mevcut Maddeler Tüzüğü (EEC) ve AB zararlılık sınıflandırması şeması gibi daha eski yasal şemalar dahil olmak üzere SEA, BPR gibi diğer yasal şemalar altında gerçekleşen tartışmaları dikkate almalıdır. Daha fazla testin gerekli olduğu sonucuna varılırsa, uygun bir test programının kapsamını şekillendirmeye yardımcı olmak için bir dizi karar noktası tanımlanır.

Net karar verme için aşağıdaki dört aşamalı süreç geliştirilmiştir:

- **1. Aşama:** Ek 6'ya göre mevcut bilgiler toplanır;
- **2. Aşama:** Bilgi ihtiyaçları ilgili Ek 7 ile 10'a göre değerlendirilir;
- **3. Aşama:** veri boşlukları belirlenir (ve sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için mevcut tüm verilerin yeterliliği veya KKDİK bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için kriterleri yerine getirme);
- **4. Aşama:** yeni veri oluşturulur.

R.7.4.6.3 Akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisi (bkz. [Sekil R.7.4-1](#))

1. Aşama. Mevcut bilgilerin toplanması

Stratejinin başlangıç noktası, mevcut verilerin (örn. insan veya hayvan verileri, fiziko-kimyasal özellikler, (Q)SAR, *in vitro* test verileri, çapraz okuma) gözden geçirilmesidir. Aşındırıcı olmayan maddeler için, cilt ve göz tahrişi ve cilt hassaslaştırıcılığı çalışmalarının sonuçları (Ek 7), sistemik toksisite potansiyeli hakkında faydalı bilgiler sağlayabilir. Ancak, bu sonlanma noktaları üzerindeki yeni *in vivo* testler, **yalnızca** bir maddenin akut toksisite potansiyeli hakkında bilgi elde etmek amacıyla gerçekleştirilmemelidir.

Tüm mevcut insan verileri ve test verileri (örn. klinik raporlar, zehirlenme vakaları, hayvan çalışmaları, aşındırma, fiziko-kimyasal özellikler) dikkate alınmalıdır. Mevcut verilerden bazı bilgiler, örneğin *in vitro* çalışmalar (*de novo in vitro* bazal sitotoksosite ve cilde nüfuz çalışmaları), diğer çalışmalarda gözlenen sistemik etkiler, insan maruz kalma yolu, fiziko-kimyasal özellikler, yapısal olarak ilgili maddelerin cilt veya solunum toksisitesi, akut *in vivo* soluma testinin ya da akut *in vivo* cilt testinin seçilmesi için öncelikli olarak kullanılabilir.

Bölüm [R.7.4.3](#), akut toksisitenin değerlendirilmesi için ilgili bilgileri sağlayabilecek kaynakların ayrıntılı bir tartışmasını sunmaktadır.

2. Aşama. Bilgi gereklilikleri ile ilgili hususlar

1. Aşamada derlenen mevcut bilgilerin ayrıntılı bir değerlendirmesi, KKDİK gerekliliklerini yerine getirmek için test ihtiyaçları hakkında bilinçli bir karar vermek için yapılır. Bu gereklilikleri karşılamak için mevcut verilerin uygun ve güvenilir olmasını sağlamak önemlidir.

Bir maddenin aşındırıcı olduğu tahmin ediliyorsa, akut bir testin gerçekleştirilip gerçekleştirilemeyeceğine (özellikle hayvan refahı ile ilgili olarak) daha fazla önem verilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Hayvan kullanımını en aza indirmek için bir çalışmanın yürütülme gerekçeleri sunulmalıdır. Maddenin aşındırıcı olduğu düşünülürse, normalde akut toksisite testi yapılmamalıdır (bkz. Bölüm [R.7.4.6.2](#)). Aşındırıcılık hakkında bilgi bulunmadığında, önce *in vitro* aşındırıcılık testleri yapılmalıdır.

KKDİK Yönetmeliği kapsamında akut toksisite için standart bilgi gereklilikleri Bölüm [R.7.4.2](#)'de verilmiştir.

İkinci bir uygulama yolundan akut toksisite gerekli olduğunda (yani Ek 8 ve yukarısında), ikinci yolun (cilt veya soluma) seçimi, maddenin yapısına ve insan maruz kalmasının olası yoluna bağlıdır. Ancak, yalnızca bir maruz kalma yoluna ilişkin bilgiler yeterli olabilir ve fiziko-kimyasal, toksikokinetik verilere veya insan verilerine ve tüm olası maruz kalma senaryolarının gözden geçirilmesine dayalı olarak gerçekleştirilebilir. Örneğin, gazlar söz konusu olduğunda yalnızca soluma yolu değerlendirilebilir çünkü ağız veya cilt yoluyla ilgili insan maruz kalması meydana gelmeyebilir. Yüksek viskoziteli sıvı maddeler için soluma yoluyla hiçbir test yapılmamalıdır.

Soluma yoluyla insan maruz kalması mümkünse veya fiziko-kimyasal özellikler böyle bir maruz kalmanın meydana gelebileceğini gösteriyorsa, bu yolla akut toksisite testi yapılmalıdır. Cilt/göz tahrişi, cilt hassasiyeti ve akut oral toksisiteden elde edilen veriler, soluma yoluyla teste yardımcı olacak göstergeler olarak kullanılmalıdır (örneğin, mümkün olduğunda, maruz kalma konsantrasyonları, solunum tahrişinden kaçınılacak şekilde seçilmelidir). Akut oral test sırasında herhangi bir sistemik etki gösterilmezse, soluma testi yapma gerekliliği vaka bazında değerlendirilmelidir.

Soluma yolu uygun görülmezse ve akut dermal toksisite testinden feragat etmek için Ek 8 Bölüm 8.5.3 Sütun 2'de açıklanan koşullar karşılanmıyorsa, akut dermal toksisitenin değerlendirilmesi ihtiyacı dikkate alınmalıdır. Bazı durumlarda, akut oral toksisite ve/veya dermal emilim çalışmalarından elde edilen verilere dayanarak, ilave test yapılmadan akut dermal toksisite potansiyeli hakkında sonuçlara varmak mümkün olabilir. Yüksek dermal emilim potansiyeli için kanıtlar, fiziko-kimyasal özellikler (örn. Log K_{ow} , suda çözünürlük, molekül ağırlığı ve maddenin erime noktası) dikkate alınarak vaka bazında değerlendirilmelidir. Akut dermal toksisite testi şu durumlarda belirtilir:

- Cilt/göz tahrişi ve/veya cilt hassasiyeti çalışmalarında sistemik toksisite gözlenir;
- Akut oral toksisite testinde ölüm gözlenir ve deri yoluyla emilim potansiyeli vardır;
- Akut oral toksisite testinde sistemik toksisite gözlenir ve yüksek dermal emilim potansiyeli vardır (örn. B.45/OECD Test Rehberi 428'e göre belirlenir);
- Yüksek dermal maruz kalma potansiyeli vardır (duruma göre).

Tersine, akut dermal toksisite testi aşağıdaki durumlarda yapılmamalıdır:

- Madde, oral yoldan akut toksisite veya BHOT Tek Mrz. için sınıflandırma kriterlerini karşılamıyorsa ve
- Cilt yoluyla maruz kalmayla (örn. cilt tahrişi, cilt hassasiyeti) yapılan *in vivo* çalışmalarda sistemik toksisite gözlenmemişse veya oral yolla *in vivo* çalışma mevcut değilse, test dışı yaklaşımlar temelinde dermal maruz kalmadan sonra hiçbir sistemik etki tahmin edilmemiş ise.

3. Aşama. Veri boşluklarının/verilerin yeterliliğinin belirlenmesi

Bu adımın amacı, maddeyi sınıflandırmak ve bir risk değerlendirmesi gerçekleştirmek için hangi ilave bilgilerin gerekli olduğunu belirlemektir. Mevcut verilerin düşük toksisite önerdiği maddeler için [Ek R.7.4-1](#)'de açıklanan Kanıt Ağırlığı dayanaklı uyarılma dikkate alınmalıdır.

Mevcut bilgiler, standart düzenleyici test yöntemlerinden farklı olan çalışma protokollerini kullanarak oluşturulan verileri içerebilir. Değerlendirme, mevcut bilgilerin standart düzenleyici çalışma protokollerinden gelen veri gerekliliklerini karşılayıp karşılamadığını veya bunları aşmış olduğunu içermelidir. Bu nedenle, tonaj kaynaklı minimum bilgi ihtiyaçlarının çeşitli kaynaklardan elde edilen birleşik verilerle karşılanması mümkün olabilir.

Bu aşamada, mevcut bilgilerin zararlılık karakterizasyonu için yeterli olup olmadığını doğrulamak da gereklidir. Bu süreç için, tüm ilgili bilgiler bir Kanıt Ağırlığı değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır. Kritik toksikolojik etkiler ve/veya LC₅₀/LD₅₀ değerlerinin veya Ayırıcı Dozun tahminleri için doz-cevap ilişkisine ilişkin nicel veriler, zararlılık sınıflandırmasının değerlendirilmesi için önemli olacaktır ve risk değerlendirmesinde kullanılabilir.

Diğer toksikolojik sonlanma noktaları (örn. tekrarlı doz toksisitesi) için yapılan testlerden elde edilen bilgiler de risk değerlendirmesi için faydalı olabilir (ayrıca bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8 Ek R.8-8). İlave *in vivo* veriler oluşturmaya alternatif olarak, bir maruz kalma eşik düzeyini tahmin etmek için matematiksel modelleme dikkate alınmalıdır (örn. kıyaslama dozu).

Soluma yolu için standart protokoller 4 saatlik bir maruz kalma içerir. Diğer zaman dönemleri için veriler mevcutsa (örn. 30 dakika ila 8 saat arasında), Haber Yasasının ($C_n \times t = k$) bir değişimi kullanılarak 4 saatlik bir maruz kalma süresine ekstrapolasyon yapılabilir. Bu n değeri literatürde mevcut değilse, varsayılan bir değer kullanılabilir; ekstrapolasyon için LC_{50} veya EC_{50} gözlemlenen süreden daha kısa süreye $n = 3$ ayarlanması ve daha uzun süreye ekstrapolasyon için $n = 1$ ayarlanması önerilir (ACUTEX projesi, 2006). Deneysel olarak, n değeri $C \times t$ yaklaşımı (OECD Test Rehberi 403) kullanılarak belirlenebilir.

SEA kriterleri aynı zamanda 1 saatlik maruz kalma kullanılarak oluşturulan mevcut soluma toksisitesi verilerinin dönüştürülmesine yönelik kriterleri de içerir (daha fazla ayrıntı için bkz. SEA Yönetmeliği Ek 1 Tablo 3.1.1'de Not c ve *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi* Bölüm 3.1.2.2).

Veriler ve sonraki kararlar, yeterli bir zararlılık karakterizasyonu ile tutarlı kabul edilirse ve maddeyi sınıflandırmak veya bir risk değerlendirmesi yapmak için yeterliyse, akut toksisite için başka testlere gerek yoktur.

Bazı durumlarda, bilimsel olarak gerekli görünmüyorsa madde akut toksisite testinden hariç tutulabilir. Bu, örneğin aşağıdaki durumlarda geçerli olabilir:

- Bir Kanıt Ağırlığı analizi, mevcut bilgilerin yeterli bir zararlılık karakterizasyonu için yeterli olduğunu ve maddeye maruz kalmanın yeterince kontrol edildiğini gösterir;
- Madde, belirli bir yolla biyoyararlanım göstermez ve maddenin olası lokal etkileri yeterince karakterize edilmiştir (örneğin, dermal yolla dermal emilim yoktur);
- Soluma yolu için, test için uygun bir atmosfer oluşturmak teknik olarak mümkün değilse test gerekli değildir (örn. buhar basıncı çok düşükse).

Son olarak, veriler toksik etkiler için sınıflandırma gerekliliklerini karşıladığında veya madde zaten akut toksik etkiler için sınıflandırılmışsa, başka bir testin gerekmediği sonucuna varılabilir.

Hem mevcut insan verilerinden hem de hayvan testlerinden kanıt elde edildiğinde ve bulgular arasında bir çelişki olduğunda, bu farklı bulguların toksikolojik temelini anlamak için kanıtlar değerlendirilmelidir. Verilerin kalitesi ve güvenilirliği ile ilgili sorunlar da dikkate alınmalıdır. Genel olarak, insanlarda iyi kalite ve güvenilirliğe sahip veriler, diğer verilere göre öncelikli olmalıdır. Bununla birlikte, iyi tasarlanmış ve yürütülen epidemiyolojik çalışmalarda, nispeten nadir ancak yine de önemli etkileri tespit etmek veya potansiyel olarak karıştırıcı faktörleri değerlendirmek için yeterli sayıda denek olmayabilir. İyi yürütülen hayvan çalışmalarından elde edilen pozitif sonuçlar, olumlu insan deneyiminin olmaması nedeniyle olumsuz hale dönüşmez, ancak hem insan hem de hayvan verilerinin kapsamlılığının ve kalitesinin değerlendirilmesini gerektirir.

4. Aşama. Yeni verilerin oluşturulması

3. aşamada ele alınan veriler çelişkiyorsa, uyumlu değilse veya maddenin uygun sınıflandırmasını ve etiketlemesini güvenilir bir şekilde belirlemek için yetersizse, OECD ile uyumlu herhangi bir *in vivo* çalışma yürütmeden önce ilave *in vitro* çalışmalar, QSAR ve/veya çapraz okuma dikkate alınmalıdır. Doz-cevap ilişkisinin değerlendirilmesine izin veren çalışma verileri, risk değerlendirme amaçları için özellikle değerli kabul edilmelidir.

Veri boşluklarının hala doldurulması gerekiyorsa, yeni veriler oluşturulmalıdır (KKDİK Yönetmeliği Ek 7 ve 8). Hayvan refahı nedeniyle, hayvanlar üzerinde yeni testler ancak son çare olarak, diğer tüm bilgi kaynakları tükendiğinde yapılmalıdır.

Akut toksisite için uluslararası olarak kabul edilen test yöntemleri, Test Yöntemleri Yönetmeliği'nde, AB Test Yöntemleri Yönetmeliği Ekinde (Konsey Tüzüğü (EC) No 440/2008)⁸² ve OECD Test Rehberlerinde (erişim adresi: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforhetestingofchemicals.htm>) tanımlanmaktadır. Bu standart rehberler, insan sağlığını koruma ihtiyacını hayvan refahı endişeleriyle dengeleyecek şekilde akut toksisite zararlılığı hakkında gerekli bilgileri sağladıkları için normalde kullanılmalıdır (bkz. Bölüm [R.7.4.3](#) ve yukarıda Aşama 3 için rehberlik).

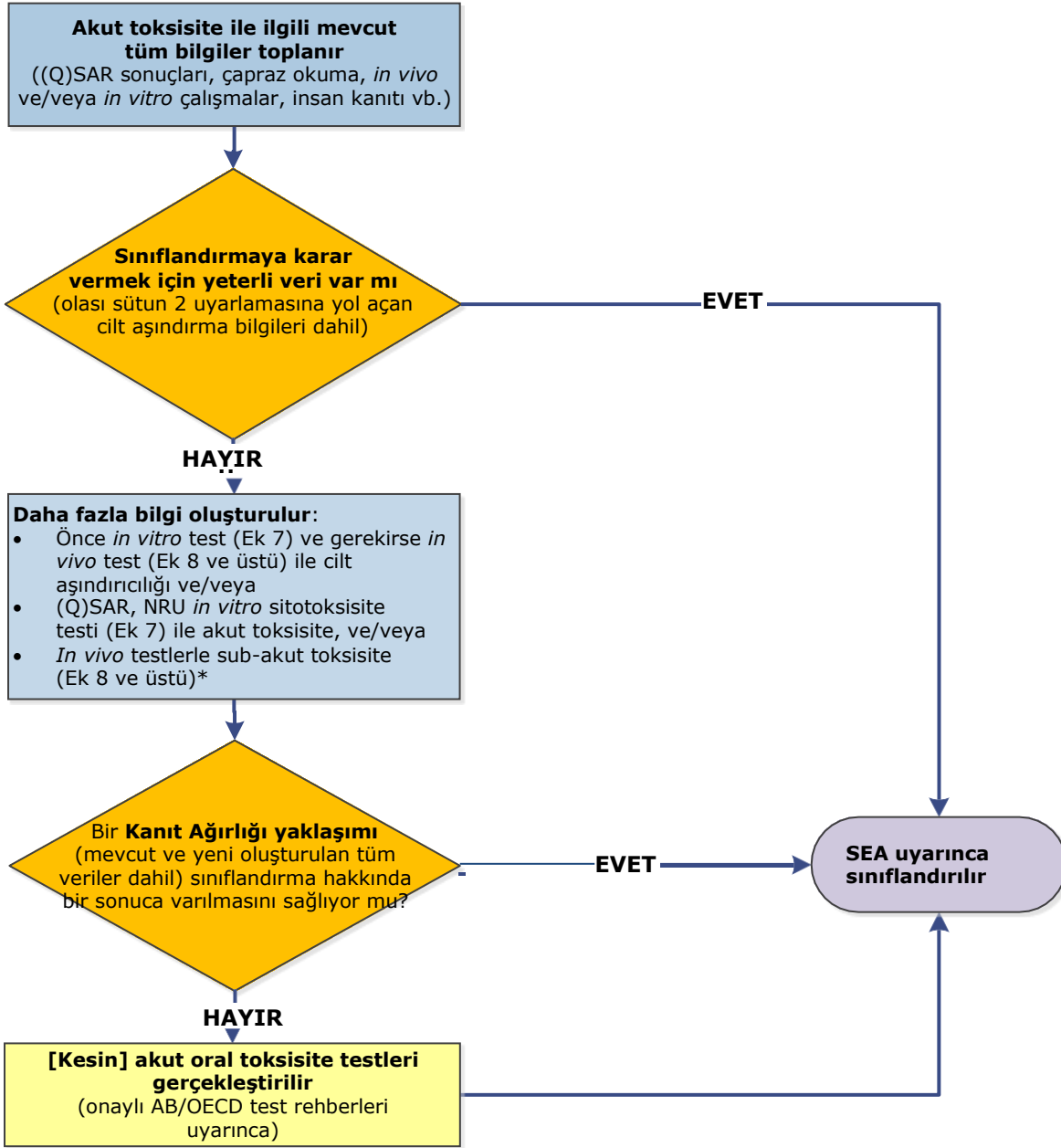
Akut toksisite değerlendirmesi için kullanılacak maruz kalma yolu/yolları, maddenin yapısına (örn. gaz olup olmaması, moleküler ağırlık, log K_{ow}) ve kullanımına bağlıdır ve insanların maruz kalmasının en olası olduğu yolu/yolları yansıtmalıdır. Herhangi bir özel insan maruz kalması tespit edilebiliyorsa, KKDİK Yönetmeliği Ek 8, Bölüm 8.5'te önerildiği gibi risk değerlendirmesi için daha ileri testler düşünülmelidir. Solunum yoluyla maruz kalma olasılığı varsa, soluma yoluyla test stratejisi önerilmelidir ([Şekil R.7.4-2](#)).

İlk hususlar, maddenin akut toksisite potansiyelini tanımlamayı amaçlamalıdır. Bu bağlamda, SAR, QSAR, kimyasal kategori yaklaşımlarından mevcut verilerle ve mevcut *in vitro* ve *in vivo* verilerle bilgi sağlanabilir. Akut toksisite potansiyeli gösterilmezse, başka testlere gerek yoktur ve sınıflandırma hakkında bir karar alınabilir. Bu tür bilgiler ayrıca risk değerlendirme hususları için ilgili bilgiler sağlayabilir. Düşük akut oral toksisite/akut oral toksisite olmaması kanıtına dayanan bu yaklaşım (KKDİK Yönetmeliği Ek 7, 8.5'e göre ilgili *in vivo* testi gerçekleştirilmeden), [Ek R.7.4-1](#)'de açıklanan şekilde bir Kanıt Ağırlığı analizinde belgelenmelidir. Bu özel Kanıt Ağırlığı durumu için subakut oral toksisite çalışması çok önemlidir ve kesin bir sonuca varmak için genellikle mevcut olmalıdır.

Genel test stratejisi izlenerek, sadece bir sınır testi yapma kararı da dahil olmak üzere doz seçimi, en uygun başlangıç noktasını seçmek için önemli bir husus gibi görünmektedir. Doğrulanmış *in vitro* testlerin mevcut olması, ilgili sonuçları sağlayabilir ve oral yoldan test için doz seçiminde yardımcı olabilir (bkz. Bölüm [R.7.4.4.1](#)).

≥ 10 ton/yıl tonaj bandındaki maddeler için, (i) insan maruz kalması tespit edilirse, (ii) fiziko-kimyasal özelliklerden ve özellikle cilt tahrişi/hassasiyeti testlerinden sonuçlar herhangi bir dermal emilim veya herhangi bir sistemik toksisite gösterirse ve (iii) akut dermal toksisite testinden feragat etmek için Ek 8 Bölüm 8.5.3 Sütun 2'de açıklanan koşullar karşılanmamışsa dermal yoldan test düşünülebilir. Bu tür bilgilere dayanılarak, standart protokollere uygun şekilde dermal testler gerçekleştirilmelidir veya gerçekleştirilmemelidir (bkz. Bölüm [R.7.4.3](#)).

⁸² Test Yöntemleri Yönetmeliğinin referans aldığı AB'nin 440/2008 sayılı Test Yöntemleri Tüzüğü, yeni OECD Test Rehberlerinin onayını takip etmek için düzenli olarak güncellenir ve en son Eylül 2019'da (AB) 2019/1390 sayılı Komisyon Tüzüğü ile değiştirilmiştir. AB veya OECD tarafından yayınlanıp yayınlanmadığından bağımsız olarak, yeni veri oluştururken kabul görmüş bir test rehberinin her zaman en son sürümünün kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.



* Sub-akut toksisite çalışması yalnızca KKDİK Ek 8 ve yukarısında gereklidir. Daha fazla bilginin oluşturulması bir gereklilik değildir, ancak kayıt ettirenin bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı kullanmaya karar vermesi durumunda gönüllülük esasına göre yapılabilir.

Şekil R.7.4–1 Akut oral toksisite için test ve değerlendirme stratejisi (KKDİK Ek 7 ve 8)

KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1, akut oral toksisite çalışması için standart bilgi gerekliliğinin önerilen uyarlamaları için temel oluşturur ve bu stratejinin farklı adımlarına genel uyarlama kurallarının uygulanma koşulları hakkında daha fazla ayrıntı için başvurulmalıdır.

Akut toksisite testi için **ek maruz kalma yollarının seçimine** ilişkin özel bir test ve değerlendirme stratejisi önerilmiştir ([Şekil R.7.4-2](#)).

Soluma yolu ile ilgili olarak, birincil hususlar, maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine (örneğin, düşük uçuculuk, katı, tanecik boyutu > 100 m (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.4.4.1](#))) dayanılarak uygun bir test atmosferi oluşturma kapasitesi olup olmamasına dayanmalıdır Solunabilir bir test atmosferinin oluşturulamaması durumunda, insan maruz kalması tanımlanamaz ve daha fazla test gerekmez.

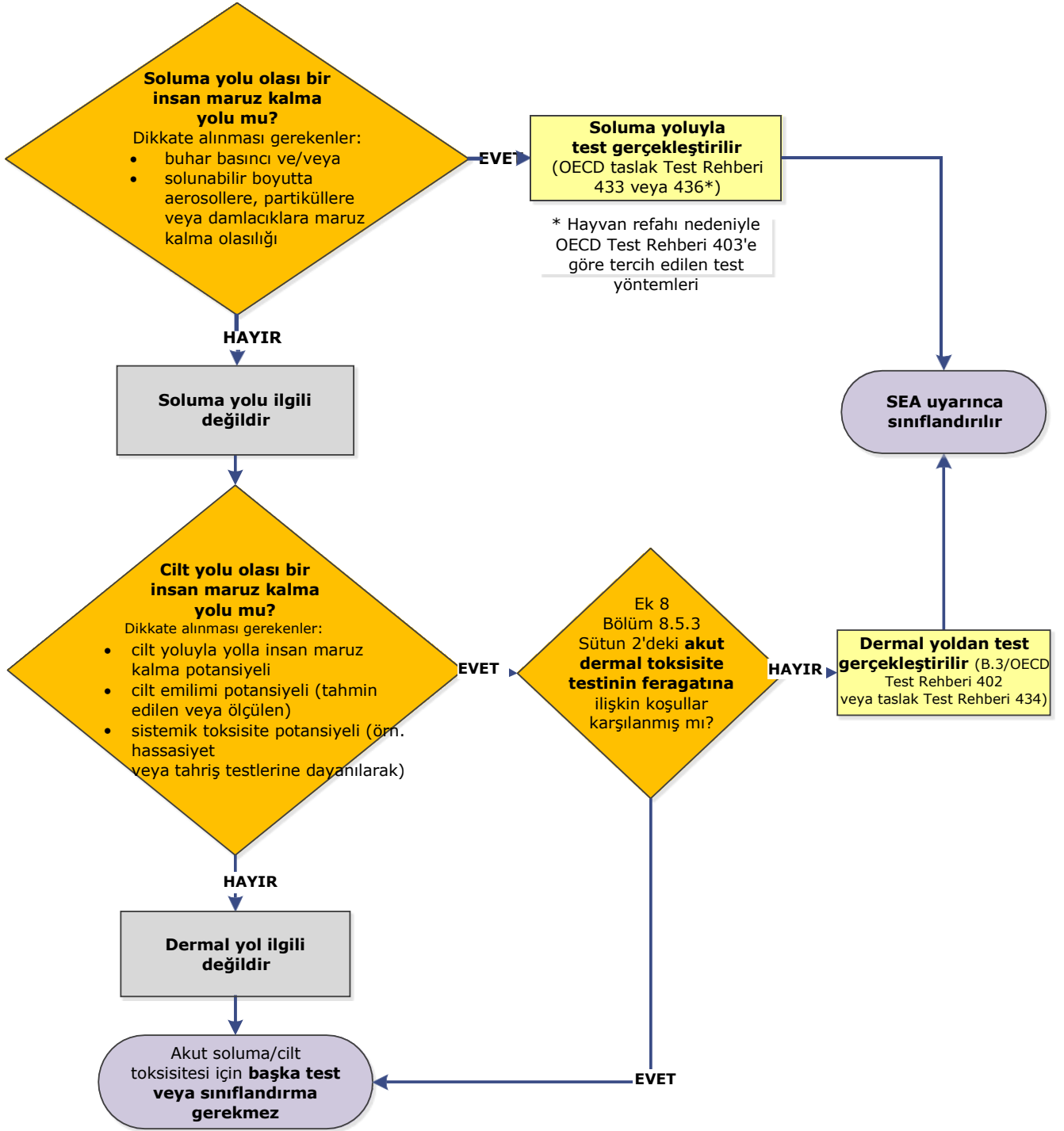
B.2/OECD Test Rehberi 403'ten daha az hayvan kullanmak üzere tasarlandıkları için, mümkün olan her yerde, akut soluma toksisitesinin değerlendirilmesi OECD Test Rehberi 433 (taslak halinde) ve B.52/Test Rehberi 436 taslağına göre yapılmalıdır. İlave olarak, OECD Test Rehberi 433 taslağı sonlanma noktası olarak ölüm oranı gerektirmez. Bununla birlikte, bazı durumlarda, yani risk değerlendirme amaçları için bir doz-cevap eğrisine ihtiyaç duyulursa, B.2/OECD Test Rehberi 403'e göre test yapılması uygun kabul edilebilir (ayrıca bkz. OECD Rehber Doküman 39 (OECD, 2009)).

Dermal yol ile ilgili olarak, soluma yolunun ilgili olduğu düşünülüyorsa, insan cildinin maruz kalması muhtemelse ve bu yolla cilt emilimi veya sistemik toksisite tahmin edilebilir veya gösterilebiliyorsa, bu yolla akut toksisite değerlendirilmelidir.

Mümkün olan her yerde, akut dermal toksisite değerlendirmesi B.3/OECD Test Rehberi 402'ye göre yapılmalıdır. Bununla birlikte, herhangi bir *in vivo* çalışma öngörülmeden önce, kayıt ettiren, akut dermal toksisite testinden feragat etmek için Ek 8 Bölüm 8.5.3 Sütun 2'de açıklanan koşulların karşılanıp karşılanmadığını kontrol etmelidir, yani aşağıdaki durumlarda bir sütun 2 uyarlaması gerekçelendirilebilir:

- Madde, oral yoldan akut toksisite veya BHOT Tek Mrz. için sınıflandırma kriterlerini karşılamıyorsa ve
- Cilt yoluyla maruz kalma ile yapılan *in vivo* çalışmalarda sistemik etkiler gözlenmemişse veya oral yolla *in vivo* çalışma mevcut değilse, test dışı yaklaşımlar temelinde dermal maruz kalmadan sonra hiçbir sistemik etki tahmin edilmemiş ise.

Yukarıdakilere dayanılarak dermal yolun ilgili olmadığı düşünülüyorsa veya akut dermal toksisite çalışmasından feragat edilebiliyorsa, akut dermal toksisite için daha fazla test veya sınıflandırma gerekmez.



Şekil R.7.4-2 Akut toksisite testleri (KKDİK Ek 8) için ilave maruz kalma yolunun/yollarının seçimi (ayrıca bkz. OECD Rehberi 39 (OECD, 2009))

Taslak test rehberlerinin de bu şekilde dahil edildiği unutulmamalıdır (bu taslak test rehberlerinin geliştirilme durumu hakkında daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm [R.7.4.3.1.2](#) "Akut toksisite ile ilgili test verileri").

R.7.4.7 Akut toksisite için referanslar

ACUTEX projesi (2006) AETL geliştirilmesi için teknik rehber doküman (TGD) metodolojisi. Erişim adresi: http://www.ineris.fr/centredoc/TGD_06DR055.pdf

Cronin MTD, Dearden JC (1995) QSAR in toxicology (Toksikolojide QSAR). 2. Prediction of acute mammalian toxicity and interspecies correlations (Akut memeli toksisitesi ve türler arası korelasyonların tahmini). Quant Struct-Act Relat 14:117-20.

Cronin MTD, Dearden JC, Walker JD ve Worth AP (2003) Quantitative structure-activity relationships for human health effects: commonalities with other endpoints (İnsan sağlığı etkileri için nicel yapı-aktivite ilişkileri: diğer sonlanma noktaları ile ortaklıklar). Environ Toxicol Chem 22:1829-43.

Diaza RG, Manganelli S, Esposito A, Roncaglioni A, Manganaro A ve Benfenati E (2015) Comparison of *in silico* tools for evaluating rat oral acute toxicity (Sıçanlarda oral akut toksisiteyi değerlendirmek için *in silico* araçların karşılaştırılması). SAR QSAR Environ Res 26:1- 27.

ECETOC (1985) Monograf No. 6: Akut toksisite Testleri, LD₅₀ (LC₅₀) Belirlemeleri ve Alternatifler. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/publications>

ECETOC (2004) Çalıştay Rapor No.3: Risk değerlendirmesinde insan verilerinin kullanımına ilişkin çalıştay. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/workshop-reports>

EFSA (2012) Bitki Koruma Ürünleri ve Kalıntıları (PPR) Paneli. Dermal Emilim Rehberi. EFSA Journal 10:2665 [30 s.]. Erişim adresi: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2665.pdf>

Frantik E, Hornychova M ve Horvath M (1994) Relative acute neurotoxicity of solvents: isoeffective air concentrations of 48 compounds evaluated in rats and mice (Çözücülerin bağlı akut nörotoksitesini: sıçanlarda ve farelerde değerlendirilen 48 bileşiğin izoetkin hava konsantrasyonları). Environ Res 66:173-85.

Hostýnek JJ (1998) Structure-Activity Relationships in Percutaneous Absorption (Perkütan Emilimde Yapı-Aktivite İlişkileri). *Kaynak: Dermatotoxicology Methods: The Laboratory Worker's Vade Mecum (Dermatotoksikoloji Yöntemleri: Laboratuvar Çalışanları için Vade Mecum)* (Marzulli FN ve Maibach HI Ed.) Taylor & Francis, Washington DC, ABD, s. 1-6.

Kleandrova VV, Luan F, Speck-Planche A ve Cordeiro MN (2015) *In silico assessment of the acute toxicity of chemicals: recent advances and new model for multitasking prediction of toxic effect (Kimyasalların akut toksisitesinin in silico olarak değerlendirilmesi: toksik etkiye ilişkin çoklu görev tahmini için son gelişmeler ve yeni model)*. Mini Rev Med Chem 15:677-86.

Klimisch HJ, Andreae M ve Tillmann U (1997) A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. (Deneysel toksikolojik ve ekotoksikolojik verilerin kalitesini değerlendirmek için sistematik bir yaklaşım). Regul Toxicol Pharmacol 25:1- 5.

Lapenna S, Fuart-Gatnik M ve Worth A (2010) Review of QSAR models and software tools for predicting acute and chronic systemic toxicity (Akut ve kronik sistemik toksisiteyi tahmin etmek için QSAR modellerinin ve yazılım araçlarının gözden geçirilmesi). JRC raporu EUR 24639 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC61930>

Lessigiarska I, Worth AP ve Netzeva TI (2005) Akut toksisite için nicel yapı aktivite ilişkilerinin karşılaştırmalı incelemesi. Avrupa Komisyonu Raporu EUR 21559 EN, Ispra, İtalya. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC31518/EUR%2021559%20EN.pdf>

OECD (2000) Güvenlik Değerlendirmesinde Kullanılan Deney Hayvanları İçin İnsancıl Sağlık Sonlanma Noktaları Olarak Klinik Belirtilerin Tanınması, Değerlendirilmesi ve Kullanılması Hakkında Rehber Doküman no. 19.

Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 19 (ENV/JM/MONO(2000)7). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2000\)7 &doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2000)7 &doclanguage=en)

OECD (2009) Akut Soluma Toksikitesi Testi Hakkında Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 39 (ENV/JM/MONO(2009)28). Erişim adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2009\)28&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2009)28&doclanguage=en)

OECD (2010) Akut Oral Sistemik Toksikite Çalışmaları için Başlangıç Dozlarını Tahmin Etmek Üzere Sitotoksikite Testinin Kullanılmasına İlişkin Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 129 (ENV/JM/MONO(2010)20). Erişim adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2010\)20&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2010)20&doclanguage=en)

OECD (2011) Dermal Emilim Üzerine Rehber Notları. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 156 (ENV/JM/MONO(2011)36). Erişim adresi:

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testingofchemicals/48532204.pdf>

OECD (2014) Kimyasalların Gruplandırılmasına ilişkin Rehber, İkinci Baskı. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 194 (ENV/JM/MONO(2014)4).

Erişim

adresi:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en)

OECD (2016) [Akut Memeli Toksikitesi Çalışmalarından Feragat veya Bağlantı Kurma için Taslak Rehber Doküman](#), Test ve Değerlendirme Serisi No. XXX Erişim adresi:

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/draftguidanceandreviewdocumentsmonographs.htm>

Schrage A, Hempel K, Schulz M, Kolle SN, van Ravenzwaay B ve Landsiedel R (2011) Refinement and reduction of acute oral toxicity testing: a critical review of the use of cytotoxicity data (Akut oral toksikite testinin geliştirilmesi ve azaltılması: sitotoksikite verilerinin kullanımına ilişkin kritik bir inceleme). Altern Lab Anim 39:273-95.

Seibert H, Balls M, Fentem JH, Bianchi V, Clothier RH, Dierickx PJ, Ekwall B, Garle MJ, Gómez-Lechón MJ, Gribaldo L, Gulden M, Liebsch M, Rasmussen E, Roguet R, Shrivastava R ve Walum E (1996) Acute toxicity testing *in vitro* and the classification and labelling of chemicals. The report and recommendations of ECVAM Workshop 16 (*In vitro* akut toksikite testi ve kimyasalların sınıflandırılması ve etiketlenmesi. ECVAM Çalıştay 16 Rapor ve Önerileri). Altern Lab Anim 24:499-510.

Tsakovska I, Lessigiarska I, Netzeva T ve Worth A (2006) Memeli toksikitesi için QSAR incelemesi. Avrupa Komisyonu Raporu EUR 22486 EN, Ispra, İtalya. Erişim adresi:

https://eurl-research/predictive toxicology/doc/QSAR_Review_Mammalian_Toxicity.pdf

Bölüm R.7.4 için Ek R.7.4-1 ila 2

Ek R.7.4–1 Akut oral toksisite çalışması için standart bilgi gerekliliğine Kanıt Ağırlığına dayalı uyarılama

Bu Ek'in amacı, kayıt ettirenlere yalnızca son çare olarak *in vivo* akut toksisite çalışmasını nasıl gerçekleştirebilecekleri konusunda tavsiyelerde bulunmaktır. Kayıt ettirenin, Kanıt Ağırlığı yaklaşımında kullanılan ilgili verilere sahip olması durumunda, *in vivo* akut oral toksisite çalışmasından potansiyel olarak kaçınılabılır. Kanıt Ağırlığı uyarlamasının düşük/beklenmeyen akut oral toksisite (> 2000 mg/kg vücut ağırlığı/gün) varsayımına yol açtığı durumlarda, kayıt ettiren KKDİK Yönetmeliği Madde 14(1) ve 26(1) uyarınca gereksiz hayvan testlerinden kaçınılabılır. Kanıt Ağırlığı vakasına dahil edilebilecek "kanıt unsurlarının" açıklaması, bu Ek'in ana kapsamıdır.

Aşağıda açıklanan Kanıt Ağırlığı yaklaşımını kullanmak için kayıt ettiren, akut toksisite testinden **önce** bir sub-akut toksisite çalışması yapmalıdır ve test maddesinin düşük toksisiteye sahip olduğunun gösterilmesi durumunda, akut oral toksisite çalışmasından feragat etmek için , 28 günlük çalışmanın sonuçlarını kullanmalıdır.

1. Kanıt Ağırlığı uyarlamasının kapsamı

Akut oral toksisite, Ek 7-10 içerisindeki standart bilgi gerekliliklerinden biridir. Akut oral *in vivo* akut toksisite testini gerçekleştirmenin bir alternatifi bu Ek içerisinde özetlenmiştir.

Amacı, KKDİK Yönetmeliği Ek 11, bölüm 1.2'ye göre bir Kanıt Ağırlığı uyarlaması önererek gerekli hayvan çalışmaları sayısını ve test maliyetini azaltmaktır.

Ayrıca, tekrarlı doz toksisitesi (RDT) ile ilgili bilgiler, örn. tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının 0-3. günleri arasında ölüm olmaması, akut toksisite ile ilgili olabilir ve akut sistemik toksisite için sınıflandırma ve etiketlemeyi desteklemede faydalı olabilir (bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm R.9.2.5.2) .

Aşağıda ana hatları verilen şekilde Kanıt Ağırlığı tabanlı uyarılamanın kapsamı şu şekildedir:

- Kanıt Ağırlığı yaklaşımı esas olarak **Ek 8** tonaj seviyesinde ve üzerinde (yani > 10 ton/yıl miktarında kayıtlar) kaydedilecek maddeler içindir; bunun için bir oral sub-akut toksisite çalışması (OECD Test Rehberi 407) veya üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birlikte tekrarlı doz toksisitesi çalışması (OECD Test Rehberi 422) gereklidir;
- Aşağıda açıklanan uyarılama türü, bir sub-akut toksisite çalışmasının mevcut olması durumunda, tonaj bandından bağımsız olarak kullanılabilir;
- Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, düşük akut toksisiteye sahip maddeler, yani LD₅₀, oral değeri 2000 mg/kg vücut ağırlığından yüksek olması beklenen maddeler veya mevcut olabilecek diğer verilerin düşük toksisiteye işaret ettiği durumlar için tasarlanmıştır.

Bu ve diğer sınırlamalar, bu Ek'in belirli bölümlerinde daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır.

Akut oral toksisite çalışması için Kanıt Ağırlığı tabanlı bir uyarlamaya ilişkin bu rehberin temeli ve mantığı [Ek R.7.4–2](#)'de sağlanmaktadır.

Bir maddenin akut oral toksisitesinin karakterizasyonunda kullanılacak birkaç tür çalışma ve bilgi vardır. Akut oral toksisitenin tahmininde yüksek değere sahip olduğu düşünülen bilgi türleri bu Ek'e dahil edilmiştir.

Aşağıda ana hatları verilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, KKDİK kapsamında kayıt ettirenler için mevcut olan birçok uyarılama olasılığından biridir.

Bu yaklaşım kullanılırsa, aşağıdaki kanıt unsurlarından birden fazlasını içermelidir⁸³ ve önerilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımının en değerli ve temel parçası olarak⁸⁴ her durumda 28 günlük bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasını içermelidir:

1. Oral yoldan 28 günlük bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının sonuçları (yani bir sub-akut çalışma)⁸⁴; ve
2. Doz uygulamasının ilk gününde ilgili klinik gözlemlerle desteklenebilecek ve değerli bilgiler sağlayacak doz aralığı bulma (DRF) çalışmasının/çalışmalarının sonuçları; veya
3. ECVAM önerilerine göre (EURL ECVAM, 2013) sitotoksosite için bir NRU (Nötr Kırmızı Alım) *in vitro* çalışmasından elde edilen veriler (veya eşdeğeri). NRU sitotoksosite testi, düşük akut oral toksisiteye sahip (yani akut toksisite için sınıflandırılmamış) maddeleri iyi öngörür; veya
4. Akut oral toksisite hakkında bilgi sağlayabilecek (Q)SAR sonuçları; veya
5. Maddenin biyoyararlanımı veya reaktivitesi hakkında bilgi veren ve/veya değerlendirme şemasına ve/veya gruplama yaklaşımına katkıda bulunabilecek maddenin bu tür fiziko-kimyasal özelliklerine ilişkin veriler; veya
6. Gerekçeli çapraz okuma bilgileri gibi diğer destekleyici kanıtlar, mekanik ve/veya doku temelli *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlar (örn. nörotoksosite veya insan verilerini ele alan).

Sonraki bölümlerde ayrıntılı olarak ele alınan bu kanıt unsurları, kayıt ettirenler tarafından maddeleri için oral *in vivo* akut toksisite testi için standart bilgi gerekliliğini uyarlamak üzere incelenebilir ve değerlendirilebilir.

Bu Ek, ayrıca, bu farklı kanıt unsurlarının nasıl elde edileceği ve değerlendirileceği konusunda rehberlik sağlar.

Son olarak, bu Ek içerisinde [Şekil R.7.4-3](#) ve [Şekil R.7.4-4](#)'te farklı başlangıç unsurları ile Kanıt Ağırlığı değerlendirmesi için iki "karar ağacı" özetlenmiştir.

2. Sub-akut oral toksisite çalışmasının sonuçlarına göre akut oral toksisite tahmini

2.1. Giriş

Tonajı > 10 yıl/tonolan Ek 8 maddeleri için Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, oral subakut toksisite ile ilgili verileri içermelidir. JRC (Graepel ve ark., 2016) tarafından başlatılan ve daha sonra ECHA tarafından devam ettirilen bir analiz (bkz. Ek R.7.4-2), **düşük toksisiteye sahip maddeler için akut oral toksisite** sınıflandırmasının tahmininin çoğu durumda oral **sub-akut çalışmalardan** verilere dayalı olabileceğini göstermiştir. Özellikle, oral akut toksisite için sınıflandırmama (LD₅₀ 2000 mg/kg vücut ağırlığı üzerinde ise madde sınıflandırılmayacaktır) NOAEL⁸⁵ 1000 mg/kg vücut ağırlığı veya üzerinde olduğunda oral sub-akut çalışmaların sonuçlarına dayanılarak doğru bir şekilde tahmin edilebilir.

⁸³ Kanıt Ağırlığı içinde birden fazla kanıt elde etme ve raporlama gerekliliği, KKDiK Ek 11, 1.2 hükümlerinden kaynaklanmaktadır.

⁸⁴ Ayrıca, 1000 mg/kg vücut ağırlığı veya üzerinde bir NOAEL sağladığında, 90 günlük bir çalışma, Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir unsuru olarak kullanılabilir.

Bu ekte, "düşük toksisite" terimi, en az 28 gün süreli bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından türetilen, 2000 mg/kg ve üzerinde bir LD50_{akut,oral} ve 1000 mg/kg ve veya üzeri NOAEL_{sub-akut,oral} değerine sahip maddeler için kullanılmaktadır.

Akut oral toksisite ile subakut oral toksisite arasındaki tüm toksisite aralığı boyunca (yani düşük toksikten şiddetli toksik maddelere kadar) nicel bir korelasyon da incelenmiştir, ancak sonuçlar umut verici olmamıştır.

Bu nedenle, mevcut Kanıt Ağırlığı yaklaşımının kapsamı açıkça **düşük toksisiteye** sahip maddeler içindir ve tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için bir "limit test" dozuna (yani NOAEL \geq 1000 mg/kg vücut ağırlığı) ve AB içerisinde akut oral toksisite için uygulanan sınıflandırma eşliğine (yani > 2000 mg/kg vücut ağırlığı) dayanır.

2.2. Akut oral toksisite çalışması gerekliliğini uyarlamak için mevcut bir sub-akut oral toksisite çalışmasının kullanımına ilişkin sonuç

Kayıt ettirenler sonuçları maddenin bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımının kapsamına girdiğini gösteren mevcut bir sub-akut oral toksisite çalışmasına sahip olduğunda, akut oral toksisite potansiyelinin tahmini, Kanıt Ağırlığı uyarlamasının bir unsuru olarak kullanılabilir (KKDİK Ek 11, 1.2 uyarınca). Bu yaklaşım, KKDİK Madde 14(1) kapsamındaki yükümlülüklerini yerine getirmede kayıt ettirenleri destekler.

Bu tahmine ve diğer kanıtlara dayanarak, kayıt ettirenler ayrıca akut toksisite için sınıflandırma ve etiketlemenin gerekli olmadığı sonucuna varabilir.

Bu tahmin düşük toksisiteye sahip maddelere odaklandığından, aşağıdaki sınırlamalara dikkat etmek önemlidir:

- Kanıt Ağırlığı, subakut oral toksisite çalışmasının sonuçlarının NOAEL değerinin 1000 mg/kg va'nın altında olduğu herhangi bir madde için kullanılamaz. JRC tarafından yapılan nicel bir analiz, NOAEL ve LD₅₀ değerlerinin tüm aralığı boyunca sub-akut ve akut toksisite arasındaki korelasyonun zayıf olduğunu göstermiştir (Bulgheroni ve ark, 2009).
- Sub-akut oral toksisite çalışması (OECD Test Rehberi 407 veya Test Rehberi 422) yapılmadıysa Kanıt Ağırlığı yaklaşımı önerilemez.
- Kanıt Ağırlığı, "akut toksisite kategori 5"⁸⁶ olarak GHS sınıflandırmasını gerektiren herhangi bir madde için kullanılamaz (LD50_{akut,oral} 2000 mg/kg vücut ağırlığından yüksek ve 5000 mg/kg vücut ağırlığından daha düşük olduğunda).

⁸⁵ Prensipite, Maksimum Tolere Edilir Doz (MTD) da bir toksisite ölçüsü olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, KKDİK kayıt dosyasında sub-akut toksisite çalışmaları için düzenli olarak MTD sağlanmamaktadır, ancak NOAEL sağlanmaktadır. Mevcut Kanıt Ağırlığı yaklaşımının NOAEL değerleri kullanılarak geliştirildiği unutulmamalıdır (bkz. [Ek R.7.4-2](#)). Bu nedenle, bu Ek içerisinde açıklanan tahmin modeli NOAEL kullanımına dayanmaktadır.

⁸⁶ GHS "Akut toksisite kategori 5" sınıflandırması, AB ve Türkiye dışındaki bazı ülkeler için gerekli olabilir.

Türkiye ve AB içerisinde kategori 5 sınıflandırması gerekli değildir.

2.3. Yeni bir doz aralığı bulma çalışmasının ve yeni bir sub-akut toksisite çalışmasının kullanımı

Kayıt ettirenlerin, > 10 ton/yıltonajda imal veya ithal edilen maddeler için (geçerli) bir sub-akut oral toksisite çalışması bulunmadığında, Ek 8'deki (Bölüm 8.6.1) yasal gereklilikleri yerine getirmek için yeni bir çalışma yapmaları gerekecektir.

2.3.1. Doz aralığı bulma (DRF) çalışmaları

Yeni bir sub-akut oral toksisite çalışması (OECD Test Rehberi 407 veya OECD Test Rehberi 422) yapılmadan önce, uygun dozlar belirlenmelidir. Bu amaçla, kayıt ettiren mevcut verileri (örn. tarama çalışmaları, akut toksisite çalışmaları, literatür verileri) ve doğrulanmış *in vitro* testlerden elde edilen ilgili sonuçları kullanılmalıdır ve yalnızca tüm bu veriler yetersizse, bir veya daha fazla doz aralığı bulma çalışması/çalışmaları (DRF) gerçekleştirmesi gerekecektir. OECD Test Rehberi 407, "Dozaj" bölümü altında "*Uygun veri yoksa, kullanılacak dozların belirlenmesine yardımcı olmak için bir aralık bulma çalışması (aynı suş ve kaynaktan hayvanlar) gerçekleştirilebilir.*" diye belirtmektedir. Ayrıca, doz aralığı bulma çalışmaları, sözleşmeli araştırma kuruluşları (CRO) tarafından takip edilen standart bir uygulamadır.

DRF1

Madde hakkında hemen hemen hiçbir şey bilinmiyorsa, doz aralığı bulma çalışmasının (pilot çalışma) ilk bölümü, tek bir dozun 2 hayvana (1 erkek ve 1 dişi) uygulanmasından ve ardından hayvanların tepkisine bağlı olarak, ilave hayvanlara tek seferde daha düşük veya daha yüksek dozların uygulanmasından oluşabilir. Böylece, maddenin akut toksisitesi hakkında bazı ön bilgiler elde edilir.⁸⁷

Araştırmalar normalde, hedef organları belirleme girişiminde toksisite belirtileri için kafes yanından gözlemlerle ve genel nekropsi ile sınırlıdır. Normalde, gözlemlerin sıklığı ilk gün birkaç kez, daha sonra günde bir veya iki kezdir. Gözlem süresi tipik olarak uygulamadan sonraki 7 gün ile sınırlıdır.

DRF2

Test maddesinin tekrarlı uygulanmasının ardından büyük olasılıkla hayvanların ölümüne yol açmayacak en yüksek dozu bulduktan sonra, ikinci bir DRF çalışması genellikle 3 veya 4 farklı dozun cinsiyet başına 3-5 hayvanlık gruplara bir hafta boyunca (7 gün) günde bir kez uygulanmasıyla gerçekleştirilir. Araştırmalar vücut ağırlığı gelişimini, kafesin yanından gözlemleri ve muhtemelen klinik gözlemleri içerir. Kafesin yanından gözlemlerin sıklığı normalde ilk gün iki ila dört kez, ardından 7 gün boyunca günde iki kezdir. Uygulama süresinin sonunda, genel nekropsi gerçekleştirilir, ancak histopatoloji veya klinik kimya veya hematoloji yapılmaz.

Bu bulgulara dayanarak, ana çalışma için dozlar seçilir.

DRF2'de oluşturulan verilerin, geliştirilmiş bir DRF1'in sonuçları kadar değerli kabul edilmediği ve bu nedenle DRF2'nin bu Ek içerisinde açıklanan Kanıt Ağırlığında önerilen bir öge olmadığı unutulmamalıdır.

⁸⁷ Bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, esas olarak akut toksisite çalışmasının veya tekrarlanan doz toksisite (28 günlük) çalışmasının mevcut olmadığı durumlar içindir. Bu durumlarda, olası bir başlangıç noktası, maddenin düşük toksisiteye sahip olup olmadığını bulmak ve 28 günlük çalışma için uygun dozları belirlemek için "gelişmiş" bir DRF1 gerçekleştirmektir. Akut toksisite çalışmasının 28 günlük çalışmada kullanılacak uygun doz aralığı için bir gösterge olabileceği durumlar olabilir. Bu vakaların çok olmayacağı tahmin edilmektedir, çünkü doz aralığı bulma çalışmaları normalde akut oral çalışmadan daha uzun bir maruz kalma süresine sahiptir ve bu nedenle genellikle LD₅₀, doz aralığı bulma çalışmasının yerini alamaz. Ayrıca, doz aralığı bulma çalışmasında NOAEL 1000 mg/kg vücut ağırlığı değerinin altında ise, maddenin önerilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımı kapsamına girmediği kabul edilir. Sonuç olarak, maddenin akut olarak toksik olması muhtemeldir. Bu nedenle, çoğu durumda, DRF1 kullanılması, geleneksel test yöntemine (yani, önce LD₅₀, sonra gerektiği gibi doz aralığı bulma çalışmaları ve son olarak 28 günlük çalışma) kıyasla daha fazla hayvan kullanılmasına yol açmayacaktır.

Doz aralığı bulma çalışmalarının Kanıt Ağırlığına katkısı

Bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımında **DRF1**'in bir öge olarak kullanmanın avantajları, (i) yalnızca az sayıda test hayvanına ihtiyaç duyulması ve (ii) 2000 mg/kg vücut ağırlığına kadar yüksek dozların uygulanabilmesidir (çoğu AB üye devletinde). Ayrıca, 2000 mg/kg vücut ağırlığı dozu verilen hayvanların toksisite belirtileri göstermeden hayatta kalıp kalmayacağına dair değerli bilgiler elde etmek için toksisite belirtilerinin daha sık gözlemleri nispeten kolaylıkla düzenlenebilir.

DRF2 ise tekrarlı maruz kalmadan sonra toksisite hakkında veri sağlar. Dozlar ana çalışmadakinden daha yüksek olabileceğinden, akut toksisite hakkında bazı ek bilgiler elde edilebilir.

Bilgiler, en çok 2000 mg/kg vücut ağırlığına kadar dozlanan hayvanlar toksisite belirtileri göstermeden hayatta kalırsa en değerli olacaktır. Bununla birlikte, 7 günlük toksisite çalışmasından (DRF2) türetilen NOAEL değerinin subakut oral toksisite gerekliliği için tek başına kullanılmayacağı unutulmamalıdır.

2.3.2. Gelişmiş DRF1

DRF1 testleri tarafından sağlanan bilgileri geliştirmek için, klinik gözlem sıklığının DRF1'in ilk günü için akut oral toksisite test rehberlerinin düzenlemesine göre ayarlanması gerekir.

Gözlem süresi, test maddesinin uygulanmasından sonra toplam 14 güne kadar uzatılabilir, böylelikle "hayvanlar, ilk 30 dakika boyunca en az bir kez dozlamadan sonra ayrı ayrı, ilk 24 saat boyunca periyodik olarak, ilk 4 saat özellikle dikkat gösterilerek ve daha sonra toplam 14 gün boyunca günlük olarak gözlemlenir." (B.1 bis/OECD Test Rehberi 420, Akut Oral Toksikite - Sabit Doz Prosedürü, 2001'de kabul edilmiştir).

Gelişmiş DRF1 sırasındaki klinik gözlemler (detayların tipi ve seviyesi) OECD akut oral toksisite testi rehberlerinde belirtilenleri takip etmelidir ([Tablo R.7.4-2](#)).

Not: Kayıt ettirenlere, DRF1 gözlemlerinin (çoğunlukla ilk günden), KKS dosyasında (bölüm 7.2.1) Akut Toksikite Sonlanma Noktası altında bir sonlanma noktası çalışma kaydı olarak ayrı şekilde rapor edilmesi gerektiği hatırlatılır. Geliştirilmiş DRF1'de yapılan gözlemler ve bulgular, Kanıt Ağırlığı belgelerinin bir parçası olarak kayıt dosyasıyla birlikte sunulmalıdır.

Bazı Sözleşmeli Araştırma Kuruluşlarında (Contracted Research Agency-CRO), DRF1 uygulamasının bu ekte tavsiye edilenden farklı olabileceği kabul edilmektedir. Ayrıca, bazı AB Üye Devletlerinde, hayvan refahı dikkate alınarak, 1000 mg/kg vücut ağırlığı dozu aşamaz. DRF1'de kısa bir gözlem süresi (14 günlük iyileşme süresi hariç) ve düşük doz limiti (yani 1000 mg/kg vücut ağırlığı) kullanılırsa, ondan elde edilen bilgiler burada sunulan Kanıt Ağırlığı uyarlaması bağlamında daha az değerli olacaktır. Kayıt ettirenin aşağıda verilen önerileri izleyerek DRF1'i gerçekleştirmeyi seçebileceği durumlarda, elde edilen sonuçlar Kanıt Ağırlığı analizinde daha yüksek değerdedir. [Şekil R.7.4-4](#) 'ün, geliştirilmiş olmayan bir DRF1 mevcut olduğunda da uygulanabileceği unutulmamalıdır. Bu durumda DRF1, "Kanıt Ağırlığı içindeki ek kanıt unsurlarından" biridir.

Ek adımların maliyeti

ECHA, CRO uzmanları ile birlikte, tipik bir DRF1 çalışmasına kıyasla, (i) gözlemler ve kayıtlar için yaklaşık 1-3 saatlik ekstra zamandan ve (ii) hayvanların uygulamadan sonra 14 gün boyunca (7 günün aksine) barındırılmasından ek maliyetlerin oluşacağını öngörmüştür. Bu nedenle, geliştirilmiş DRF1 çalışmasının maliyet artışının sınırlı olacağı tahmin edilmektedir.

2.3.3. Ana çalışma: sub-akut oral toksisite çalışması

Ana çalışma, yani sub-akut oral toksisite çalışması ve tarama çalışmaları (bkz. aşağıda [Tablo R.7.4-2](#)), tekrarlı maruz kalmadan sonra toksisite hakkında veri sağlar. Bununla birlikte, akut oral toksisite ile ilgili bilgiler de bu çalışmadan elde edilebilir.

Ana çalışmanın bariz avantajı, NOAEL değerinin 1000 mg/kg vücut ağırlığı/gün veya üzerinde olması durumunda sonuçlarının Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için değerli olacaktır (bkz. bu Ek içerisinde Bölüm 1).⁸⁸

Akut ve subakut oral toksisite çalışmalarındaki gözlemlerin programı ve klinik gözlemlerin kapsamı, ilgili OECD test rehberlerinin ilgili paragraflarına göre [Tablo R.7.4-2](#)'de özetlenmiştir.

⁸⁸ 1000 mg/kg vücut ağırlığı dozunun, 28 günlük tekrarlı doz çalışması için kesin üst eşik olmaması ve yararlı görülmesi halinde daha yüksek dozların, örn. DNEL türetmek için uygulanabilecek olması önemlidir. Ana çalışmanın (sub-akut oral toksisite çalışması), testin OECD Test Rehberi 407 veya OECD Test Rehberi 422 altında gerçekleştirilmesinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bir OECD Test Rehberi 422 çalışmasının sonuçlarıyla ilgili olarak, kullanılan NOAEL değerinin gelişimsel etkiler için NOEL değerini değil, maternal/paternal toksisiteyi ifade ettiğinin not edilmesi önemlidir.

Tablo R.7.4-2 Akut oral toksisite ve subakut oral toksisite için OECD test rehberlerinin gerektirdiği şekilde genel klinik gözlemlerin ve gelişmiş DRF1 çalışmasında önerilen gözlem düzenlemesinin karşılaştırılması.

OECD Test Rehberi	1. Gün		2-14. Günler (akut ve gelişmiş DRF1) 2-28. Günler (RDT) 2-7. Günler (DRF2)
	30 dakikada	4 saatte + periyodik olarak 24 saate kadar	Günlük
Test Rehberi 420 (Sabit Doz Prosedürü), Test Rehberi 423 (Akut Toksik Sınıf yöntemi), Test Rehberi 425 (Yukarı-ve-Aşağı Prosedür)	Hayvanlar bireysel olarak gözlemlenir (en az bir kez)	Hayvanlar bireysel olarak ilk 4 saat sırasında özel dikkat gösterilerek gözlemlenir	Hayvanlar bireysel olarak gözlemlenir
	Hayvanlar toksisite belirtileri göstermeye devam ederse ek gözlemler* gereklidir		
Gelişmiş DRF1 (Test Rehberi 407 için)⁸⁹	Hayvanlar bireysel olarak gözlemlenir (en az bir kez)	Hayvanlar bireysel olarak ilk 4 saat sırasında özel dikkat gösterilerek gözlemlenir	Hayvanlar bireysel olarak gözlemlenir
Test Rehberi 407 veya Test Rehberi 422 (Tekrarlı doz oral toksisite çalışması)⁹⁰	<ul style="list-style-type: none"> Günde en az bir kez genel klinik gözlemler Morbidite/mortalite günde en az iki kez 		
Test Rehberi 407 için DRF2	<ul style="list-style-type: none"> Günde en az bir kez genel klinik gözlemler Morbidite/mortalite günde en az iki kez 		<ul style="list-style-type: none"> Günde en az bir kez genel klinik gözlemler Morbidite/mortalite günde en az iki kez

* (En azından) deri ve kürkte değişiklikler, gözler ve mukoza zarları ve ayrıca solunum, dolaşım, otonom ve merkezi sinir sistemleri ve somatomotor aktivite ve davranış modeli. Titreme, konvülsiyon, tükürük salgılama, ishal, uyuşukluk, uyku ve koma gözlemlerine dikkat edilmelidir.

⁸⁹ DRF1'in geliştirilmesi, gözlem programının akut toksisite testiyle aynı olduğu ve gözlemin 14 gün sürdüğü anlamına gelir.

⁹⁰ Hem sub-akut hem de akut toksisite testlerinde ortak olan parametreler/gözlemler vardır (örn. toksisite belirtileri, vücut ağırlığı/vücut ağırlığı değişiklikleri, otopsi). Bununla birlikte, bir subakut toksisite testinde rutin olarak kaydedilen ancak klinik biyokimya ve hematoloji gibi akut toksisite testinde kaydedilmeyen başka parametreler/gözlemler vardır. Bazı durumlarda, bir maddenin bu "yaygın" parametreler/gözlemler üzerindeki etkisi/etkileri NOAEL belirlemek için kullanılabilirken, "yaygın olmayan" parametreler/gözlemler daha yüksek bir doz seviyesinde etkilenebilir. Bu durumlarda, 1000 mg/kg vücut ağırlığından daha düşük bir NOAEL değeri akut toksisite tahminine izin verebilir (mevcut Kanıt Ağırlığı yaklaşımını geliştirmek için kullanılan mevcut KKS tabanlı analizde buna bakılmamış olmasına rağmen). Bununla birlikte, bu vakaların sadece az sayıda olması muhtemeldir, çünkü sadece bir subakut toksisite çalışmasında kaydedilen parametreler/gözlemler genellikle "yaygın" parametrelerden daha hassastır, yani 1000 mg/kg vücut ağırlığından daha düşük doz seviyelerinde etkilenebilir. Ayrıca, sub-akut toksisite çalışmasının NOAEL değerine dayanan bir tahmin modelinin uygulanması, kayıt ettirenlerin her bir doz seviyesinde tüm parametreleri/gözlemleri dikkate almasını ve akut toksisite tahminlerini bunlara dayalı yapmasını gerektiren/tavsiye eden bir modelden daha basittir.

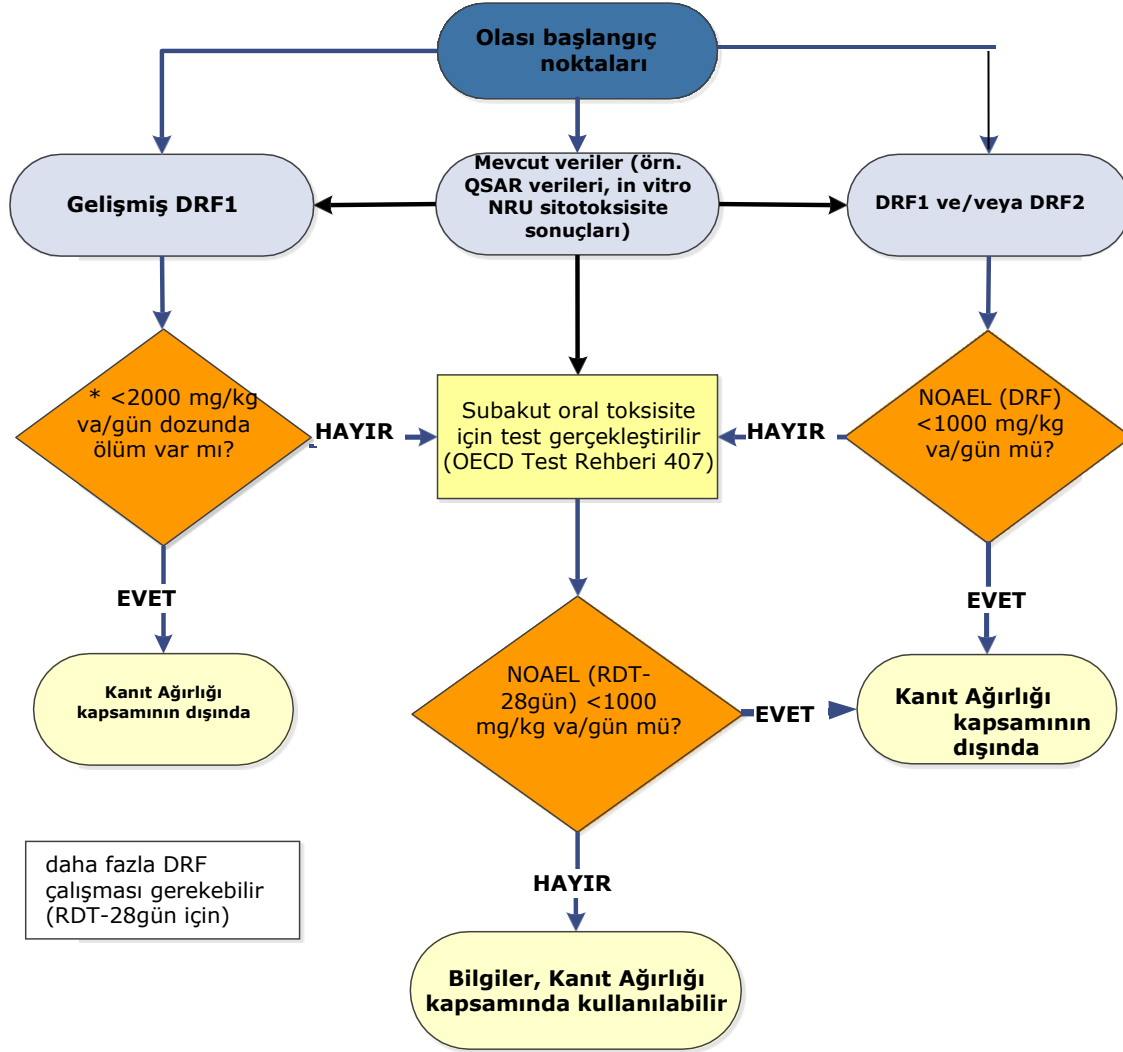
OECD Test Rehberleri 420, 423, 425 ve geliştirilmiş DRF1'in bir parçası olarak (yani genel klinik gözlemler sırasında) aşağıdaki ifadeler mevcuttur: "gözlem süresi katı bir şekilde sabitlenmemelidir. Toksik reaksiyonlar, başlangıç zamanı ve iyileşme süresinin uzunluğu ile belirlenmelidir ve böylelikle gerekli görüldüğünde uzatılabilir "[...]" Özellikle toksik belirtilerin geciktirilmesi için bir eğilim varsa, toksisite belirtilerinin ortaya çıktığı ve kaybolduğu zamanlar önemlidir. [...]. Tüm gözlemler sistematik olarak kaydedilir ve her hayvan için ayrı kayıtlar tutulur. " İlave olarak "İnsani Sonlanma Noktaları Rehber Dokümanında özetlenen ilkeler ve kriterler dikkate alınmalıdır [...]. Ölmek üzere olan bir durumda bulunan hayvanlar ve şiddetli ağrı veya şiddetli sıkıntı belirtileri gösteren hayvanlar insani bir şekilde öldürülmelidir. Hayvanlar insani nedenlerle öldürüldüğünde veya ölü bulunduğu anda, ölüm zamanı olabildiğince kesin bir şekilde kaydedilmelidir." (OECD Test Rehberi 420: Akut oral toksisite çalışması, Sabit Doz prosedürü, 27 ve 28. paragraflardan alınmıştır, OECD Test Rehberleri 420, 423 ve 425 için bir örnek olarak).

Dahili maruz kalma bilgisi mevcut olduğunda (yani ADME çalışmaları), klinik gözlemler için doz ve aralıkların belirlenmesinde kinetik parametreler (C_{maks} , T_{maks} , AUC_{0-t} , doğrusal olmayan aralıklar vb. gibi) dikkate alınabilir.

2.4. Akut oral toksisite gerekliliğini uyarlamak için yeni doz aralığı bulma çalışmalarının ve sub-akut oral toksisite çalışmasının kullanımına ilişkin sonuç

Sub-akut oral toksisite çalışması mevcut olmadığında ve kayıt ettiren yeni bir çalışma oluşturduğunda, kayıt ettirenin [Tablo R.7.4-2](#)'de önerildiği gibi gelişmiş bir DRF1 çalışması yapması önerilir. Gelişmiş DRF1'de herhangi bir toksisite belirtisi görülmezse ve ana subakut toksisite çalışması bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımının kapsamına girerse (yani $NOAEL \geq 1000$ mg/kg va), bu tahmin, yeni bir akut oral toksisite testinin gerçekleştirilmesinin bilimsel olarak gerekli olmadığını gerekçelendirilmesi için kullanılabilir (KKDİK Yönetmeliği Ek 11, 1.2 uyarınca). Bu durumda, Kanıt Ağırlığının iki ana unsuru, geliştirilmiş DRF1 ve ana sub-akut toksisite çalışmasıdır.

Sonuç olarak, kayıt ettiren, kayıtlı maddeyi akut oral toksisite için sınıflandırmamayı önerebilir ([Şekil R.7.4-3](#)). Bu yaklaşım ayrıca Madde 14 (1) kapsamındaki yükümlülüklerini yerine getirmelerini için kayıt ettirenleri destekler.



Şekil R.7.4-3 Kayıt ettirenin yeni bir tekrarlı doz sub-akut oral toksisite çalışması oluşturması gerektiğinde, *in vivo* akut toksisite testinin gerekli olup olmadığını değerlendirmek için karar ağacı

[Şekil R.7.4-3](#) DRF çalışmalarından ve bir sub-akut oral çalışmadan elde edilen verilerin mevcut olduğu ve bu verilerin maddenin düşük akut oral toksisiteye sahip olduğunu doğruladığı durumları göstermektedir. Şekil ayrıca, kayıtlı maddenin bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için tanımlanan kapsamın dışında kaldığı ve bu nedenle bir *in vivo* akut oral toksisite testinin gerekli olacağı durumları da göstermektedir.

Kayıt ettirenlerin, DRF1 çalışmasından elde edilen veriler, 2000 mg/kg vücut ağırlığından daha yüksek tek dozların veya birkaç gün boyunca 1000 mg/kg vücut ağırlığından daha yüksek dozların uygulandığı sıçanlarda yapılan diğer *in vivo* çalışmalardan veriler, bir NRU sitotoksosite testi (şu anda doğrulanmış tek *in vitro* sitotoksosite testi), bir QSAR modeli veya 28 günlük bir sub-akut çalışmadan elde edilenle tutarlı bir sonuç sağlayan insan kanıtlarından elde edilen veriler gibi başka verilere sahip olabileceği kabul edilmektedir. Kayıt ettirenler, sonrasında, Kanıt Ağırlığı yaklaşımlarında gelişmiş DRF1 kullanmak yerine, bu kanıt unsurlarını 28 günlük sub-akut çalışma ile birlikte kullanabilir (bakınız [Şekil R.7.4-4](#)).

Şu anda DRF çalışmalarında yapılan gözlemlerin standartlaştırılmamış olması ve bu nedenle ÇŞB'nin Tablo 1'de ilgili talimatları sağlamış olması önemlidir. Ayrıca, akut oral toksisite testine dahil edilen 14 günlük gözlem süresi, sub-akut oral toksisite çalışması için yapılan bir doz aralığı bulma çalışmasında genellikle takip edilmez. Bu, gözlem süresinin uzatıldığı "Gelişmiş DRF1" oluşturma ihtiyacıyla uyumludur.

2.5. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için DRF çalışmalarının düzenleyici kullanımına ilişkin sonuç

Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak gelişmiş DRF1 çalışması (sınırlı sayıda hayvanla, tipik olarak 2) kullanılırsa, uygulanan dozlardan en az biri 2000 mg/kg vücut ağırlığına (veya eski çalışmalarda daha yüksek) kadar olmalıdır. Gözlemler, [Tablo R.7.4-2](#)'de belirtilen düzene göre yapılmalıdır. Gelişmiş DRF1, akut oral toksisite için bir OECD test rehberinden elde edilene benzeyen, ancak test rehberinde önerilenden daha az hayvanla elde edilen bilgileri sağlar. Bu nedenle, bir OECD rehberi çalışmasının yerini alamaz, ancak Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir parçası olabilir. (Gelişmiş) DRF1, kayıt dosyasında, bu bilginin diğer Kanıt Ağırlığı öğeleriyle birlikte alındığında, belirtilen KKDİK bilgi gerekliliğini nasıl karşıladığına dair yeterli gerekçeyle kullanılmalıdır.

Kanıt Ağırlığı içinde (gelişmiş) bir DRF1 çalışması kullanıldığında, iki senaryo ortaya çıkabilir:

1. 2000 mg/kg vücut ağırlığına (veya üzerine) kadar olan bir doz seviyesinde toksisite belirtileri **yoktur veya sadece geçici** belirtiler vardır. Bu kanıt, akut toksisiteyi ele alan Kanıt Ağırlığının bir öğesi olarak düşünülebilir.

2. DRF1 içerisinde 2000 mg/kg vücut ağırlığında test hayvanlarının ara ölümlerine yol açan **ölüm veya ciddi toksisite belirtileri** vardır. Bu nedenle, maddenin LD_{50, oral} değeri büyük olasılıkla 2000 mg/kg va değerinin altındadır ve madde bu uyarılma kapsamına girmez.

En yüksek doz 1000 mg/kg va veya daha yüksekse ve insani nedenlerden ötürü test hayvanlarının ara ölümlerine yol açan herhangi bir ölüm veya ciddi toksisite belirtisi gözlenmezse, DRF2 (tipik olarak doz başına 3-5 erkek ve 3-5 dişi hayvan kullanımı ve 7 günlük bir uygulama süresi) de Kanıt Ağırlığı yaklaşımının değerli bir öğesi olarak kullanılabilir. Yalnızca 7 günlük uygulamadan sonra, Akut LD_{50, oral} > 2000 mg/kg ağırlığı ile NOAEL_{oral} ≥1000 mg/kg vücut ağırlığı değerleri arasındaki ilişkiyi doğrulayacak veri bulunmamaktadır. Bu nedenle, yukarıda açıklandığı gibi, DRF2, Kanıt Ağırlığı yaklaşımında yalnızca bir kanıt unsuru olarak kullanılabilir.

Özetle, DRF çalışmaları, özellikle DRF1, Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için çok değerli kanıt unsurları sağlayacaktır. Ayrıca, hem DRF1 hem de DRF2 genellikle 28 günlük çalışmadan önce gerçekleştirildiğinden, maliyetle ilgili çıkarımlar yoktur veya sınırlı olacaktır.

Gelişmiş DRF1, KKS'de akut oral toksisite bölümü 7.2.1 altında ayrı bir çalışma kaydı olarak bildirilmelidir.

3. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde bir *in vitro* sitotoksosite testinin (Nötr Kırmızısı Alım) kullanımı

3.1 Giriş

Bakanlık, *in vitro* çalışmaları, yalnızca onaylanmış ve uluslararası kabul görmüş metodolojilere uygun olarak yürütülmesi halinde bağımsız anahtar çalışmalar olarak kabul edebilir. Doğrulanmamış *in vitro* yöntemler, KKDİK Ek 11'de açıklanan uyarılma olasılıklarına göre hala kullanılabilir. Bu Ek'in taslağının hazırlandığı tarihte, yalnızca *in vitro* NRU sitotoksosite testi önerilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak kabul edilebilir.

In vitro NRU bazal sitotoksosite testi, canlı hücrelerin bir supravital boya olan nötr kırmızısını (NR) dahil etme ve bağlama kapasitesine dayanmaktadır (Borenfreund ve Puerner, 1985). NR, plazma membranından kolayca yayılan ve anyonik lizozomal matrise elektrostatik olarak bağlandığı lizozomlarda yoğunlaşan zayıf bir katyonik boyadır (OECD, 2010).

Toksik maddeler, hücre yüzeyini veya lizozomal membranı değiştirerek lizozomal kırılabilirliğe ve yavaş yavaş geri döndürülemez hale gelen diğer olumsuz değişikliklere neden olabilir. Bu tür olumsuz değişiklikler, hücre ölümüne ve/veya hücre çoğalmasının inhibisyonuna neden olur, bu da daha sonra kültür tarafından tutulan NR miktarını azaltır. Kültürlenmiş hücrelerden yüzeye tutunan NR boyasının konsantrasyonu canlı hücrelerin sayısı ile doğru orantılı olduğundan, sitotoksosite, test maddesine maruz kaldıktan sonra NR alımında konsantrasyona bağlı bir azalma olarak ifade edilir. Hücrelerdeki NR miktarı (fibroblast hücre hattı, BALB/c 3T3) bir spektrofotometre ile ölçülür.

NRU sitotoksosite testinin akut oral toksisite için sınıflandırma gerektirmeyen maddeleri tahmin kapasitesini değerlendirmek için EURL ECVAM doğrulama çalışmasına dayalı olarak (Prieto ve ark., 2013), EURL ECVAM bu *in vitro* geçerliliği ve sınırlamaları ile ilgili öneriler yayınlamıştır (EURL ECVAM, 2013). Bu doğrulama çalışmasının sonuçları göz önüne alındığında, NRU sitotoksosite testi, toksik olmayan maddeler karşısında potansiyel olarak toksik (sınıflandırılmamış karşısında sınıflandırılmış) maddeleri ayırt etmek için bir tahmin modeli ile birlikte kullanıldığında yüksek bir hassasiyet (yaklaşık %95) ve sonuç olarak düşük bir yanlış negatif sonuç oranı (yaklaşık %5) gösterir.

Doğrulanmış NRU sitotoksosite testi, özel biyolojik hedeflere göre hareket etmek üzere tasarlanmadıkları ve genel olarak akut olarak çok toksik olma eğiliminde olmadıkları için endüstriyel maddelerin değerlendirilmesi amacıyla özellikle uygun görünmektedir. KKDİK Yönetmeliğinin hükümleri ve özellikle Ek 11 izlenerek, NRU sitotoksosite testinden elde edilen veriler, standart bilgi gerekliliklerini uyarlamak için bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde kullanılabilir.

3.2. Sınırlamalar

NRU sitotoksosite testi, çoğu hücre tipinde ortak olan ve genellikle "bazal sitotoksosite" olarak adlandırılan genel toksisite mekanizmaları yoluyla etki gösteren zararlı maddelere karşı hassastır. Sonuç olarak, önemli sitotoksosite göstermeyen ancak şu yollarla etki eden maddeler:

- (i) **sadece belirli hücre tiplerine ve dokulara** (örneğin, kalp veya merkezi sinir sistemi) **özü mekanizmalar**, bu yöntemle potansiyel olarak akut toksik olarak tanımlanamayabilir;
- (ii) hücre modeli önemli metabolik kapasiteye sahip olmadığı için, toksisiteyi tetiklemek üzere **metabolik aktivasyon** saptanamayabilir.

Bu nedenle, bu testten elde edilen negatif sonuçların yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.

NRU sitotoksosite testi, yüksek bir yanlış pozitif orana sahiptir. Bu nedenle, pozitif sonuçlar akut toksik maddelerin karakterize edilmesinde (yani akut toksisite sınıflandırmaları Kat. 1 – Kat. 4) anlamlı bir şekilde hemen kullanılamaz. Muhtemel bir neden, test yönteminin emilim, dağıtım, metabolizma ve boşaltım gibi önemli biyokinetik süreçleri yakalayamamasıdır. Bu nedenle, bazı maddeler, sitotoksik potansiyele sahip olmalarına rağmen, oral yoldan gerçekten akut toksik olmayabilir.

3.3. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde *in vitro* NRU sitotoksosite testinin düzenleyici kullanımı

Yukarıdaki sınırlamalar göz önüne alındığında, NRU sitotoksosite testinden elde edilen sonuçlar, akut oral toksisite için bir maddeyi sınıflandırmama kararında güven oluşturmak üzere **her zaman diğer bilgi kaynaklarıyla** (bir sub-akut çalışmadan elde edilen verilerle) birlikte kullanılmalıdır. Bir sub-akut toksisite çalışmasını tamamlayıcı olası bilgi kaynakları, fiziko-kimyasal özellikleri ve QSAR modellemesinin sonuçlarını (yapısal uyarılar, yapı-aktivite ilişkileri) içerir. Bu nedenle, *in vitro* NRU sitotoksosite testi, bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımında veya bir test ve değerlendirme stratejisinin bir bileşeni olarak uyumludur (örn. Norlén ve ark., 2012).

NRU sitotoksosite testinden ve QSAR modellerinden elde edilen bilgilerin mevcut olduğu durumlarda bile, sınıflandırma gerekliliklerinin karşılanması gerektiği için Kanıt Ağırlığı ayrıca bu uyarılama (yani NOAEL \geq 1000 mg/kg va) kapsamına uyan bir sub-akut oral çalışma ([Tablo R.7.4-3](#)) içermelidir.

DeneySEL ve DiğER Bilimsel Amaçlar İÇin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair YönetmeliğİN hükümlerine ve KKDİK YönetmeliğİNİN 14. Maddesi ve Ek 11, 1.2 hükümlerine uygun olarak, *in vitro* NRU sitotoksisite testi diğER verilerle, özellikle bir sub-akut oral toksisite testinin sonuçlarıyla birlikte kullanılmalıdır. Sınırlamaları nedeniyle, *in vitro* NRU sitotoksisite testi, öncelikle düşük toksisiteye sahip maddeleri doğru şekilde tanımlamak ve sınıflandırmak için kullanılmalıdır. *İn vitro* NRU sitotoksisite testi, maddelerin sınıflandırılmaması için eşik değER olarak BM GHS Kategori 4'ün üst eşiğİNİ uygulayan SEA Yönetmeliğİ ile uyumlu olarak zararlılık tanımlamasını ve güvenlik değERlendirmesini desteklemek üzere Kanıt Ağırlığı yaklaşımının değERli bir bileşeni olabilir.

İn vitro NRU sitotoksisite testi, esas olarak subakut oral testin veya DRF çalışmalarının sonuçlarına dayanan Kanıt Ağırlığı yaklaşımındaki tek doğrulayıcı unsur olarak kabul edilmemektedir. Sub-akut oral toksisite çalışmalarını, *in vitro* NRU sitotoksisite testine göre daha yüksek biyolojik ilgiye ve daha iyi öngörüye sahiptir. Bu nedenle, *in vitro* NRU sitotoksisite testi, Kanıt Ağırlığı yaklaşımının yararlı bir unsuru olarak görülürken, zorunlu bir unsur olarak görülmemektedir. Biyoyararlanıma ilişkin ikna edici veriler veya iyi belgelenmiş (Q)SAR modellemesinden elde edilen veriler gibi diğER bilgi türleri de, bu Ek'in 4, 5 ve 6. Bölümlerinde açıklandığı gibi tahmine güven oluşturmak için kullanılabilir.

4. (Q)SAR sonuçlarına göre akut oral toksisite tahmini

Akut oral toksisite için bilgi sağlamak amacıyla (Q)SAR kullanımı ve kullanımının sınırlamaları Bölüm [R.7.4.3.1.1](#)'de açıklanmaktadır. Bazı fiziko-kimyasal parametreler akut toksisitenin olası tahmin göstergeleri olarak önerilmiştir ve (Q)SAR metodolojileri ile (örn. narkoza neden olan sistemik etki gösteren uçucu bileşikler üzerinde) ilgili bilgilerin üretilmesi mümkün olabilir (Weed, 2005; Veith ve ark., 2009). Ayrıca diğER metodolojiler (özellikle bu Ek'in 3. bölümünde açıklanan NRU sitotoksisite testi) belirli toksik mekanizmalara sahip maddelerin tanımlanması için uygun olmadığından, yapısal olarak ilgili maddelerin belirli bir mekanizma aracılığıyla hareket edip etmediğini bulmak için QSAR modellemesi uygulanmalıdır. Bir maddenin nörotoksik bir etki mekanizmasına sahip olabileceğine dair göstergeler varsa, yapısal olarak ilgili maddelerin nörotoksik olup olmadığını bulmak için QSAR modellemesi uygulanmalıdır. Bu gösterge, bilinen bir nörotoksik maddeyle yapısal benzerliğe (yeterli çapraz okuma gerekçesiyle desteklenir) veya mekanik *in vivo* veya *in vitro* çalışmalara dayanabilir. Durum böyleyse, nörotoksik maddeler genellikle yüksek akut toksisiteye sahip olduğundan, madde bu Kanıt Ağırlığı uyarlamasına uymaz.

Bu ekte ele alınan uyarlama olasılığı dahilinde, nicel yapı aktivite ilişkilerinin kullanımına ilişkin temel soru, KKDİK kapsamında kaydedilecek maddenin, açık bir eğitim seti dahil, iyi belgelenmiş bir (Q)SAR modeli alanına uyup uymadığıdır. Durum böyleyse, (Q)SAR modellemesi, Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde potansiyel bir unsurdur.

ECHA Uygulamalı Rehber 5 (Nicel yapı aktivite ilişkileri bildirilir)⁹¹, düzenleyici amaçlar için (Q)SAR modellerini kullanırken dikkate alınacak genel hususları gösterir. Tek başına (Q)SAR modelinin önerilen geçerliliği ile bir (Q)SAR tahmininin güvenilirliği ve yeterliliği (yani (Q)SAR modelinin belirli bir maddeye uygulanması) ve modeller ve tahminleriyle ilişkili belgelerin uygunluğu arasında ayırım yapmak önemlidir.

Uygun belgeler normalde, modelin bilimsel olarak geçerli olduğunu şeffaf bir şekilde belgeleyen bir QSAR Model Raporlama Formatından (QMRF) ve belirli bir madde için bir modelle oluşturulan tahminin güvenilir ve uygun olduğunu doğrulayan bir QSAR Tahmin Raporlama Formatından (QPRF) oluşur. OECD (Q)SAR doğrulama ilkelerine göre (Q)SAR'ların nasıl karakterize edileceğine dair rehberlik OECD Rehberi 69'da (OECD, 2007a) verilmektedir.

⁹¹ http://echa.europa.eu/documents/10162/13655/pg_report_qsars_en.pdf

Bir (Q)SAR tahmininin kabul edilip edilmeyeceğine dair karar, durum bazında alınacaktır.

(Q)SAR tahminleri (tahminlerin zaten oluşturulmuş ve belgelenmiş olduğu) veritabanlarından toplanabilir veya mevcut modeller aracılığıyla yeniden (*de novo*) üretilebilir. Gruplama yaklaşımlarıyla elde edilen veriler ayrıca yerel nicel yapı aktivite ilişkileri oluşturmak ve tahmini bir toksisite değeri elde etmek için kullanılabilir.

OECD QSAR Araç Kutusu⁹² gibi programlar bu amaca hizmet eder. Bu yazılım, veri boşluğuna sahip bir maddeye benzer bir toksikolojik profile sahip analog maddeleri bulmak için kullanılabilir; bu veri boşluğu, çapraz okuma veya eğilim analizi yoluyla oluşturulan ilgili sonlanma noktasının bir tahmini ile doldurulabilir. Ayrıca, yüksek akut toksisiteye işaret eden belirli yapılar, Araç Kutusu profil oluşturucuları⁹³ sayesinde tanımlanabilir.

Bu Kanıt Ağırlığı uyarlamasında, bilgi gerekliliğini karşılamak için QSAR tahmininin tek başına kullanılabileceği beklenmemektedir. Kanıt Ağırlığı varsayılan olarak birden fazla "veri ögesi" içermelidir. Bu nedenle, örneğin sub-akut çalışmadan ve uygunsa, DRF çalışması gibi diğer kanıt unsurlarından elde edilen düşük toksisite kanıtını desteklemesi veya onaylaması durumunda, QSAR modellemesi yararlı olabilir (bkz. [Sekil R.7.4-4](#)).

5. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde fiziko-kimyasal verilerin kullanımı

Belirli fiziko-kimyasal özellikler düşük biyoyararlanım ve düşük toksisite için gösterge olarak kabul edilir. Bununla birlikte, bu parametrelerin, akut oral toksisite çalışması da dahil olmak üzere bir sistemik toksisite testinin uyarlanmasını haklı çıkarmak için bağımsız kanıt olarak kullanılamayacağı dikkate değerdir. Bu nedenle, uyarlama amacıyla fiziko-kimyasal veriler sağlandığında, bunlara, aşağıda belirtildiği gibi, 1000 mg/kg vücut ağırlığı veya üzerinde bir NOAEL ile sub-akut oral toksisite çalışması da dahil olmak üzere ek kanıt türleri eşlik etmelidir.

5.1. Düşük reaktivite

Düşük reaktivite, kimyasal ve biyolojik açıdan inert olma veya çok düşük çözünürlük, genellikle maddenin biyoyararlanımının düşük olacağını düşündüren bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerinin örnekleridir. KKDİK kayıt dosyalarında, düşük biyoyararlanımla ilgili veriler, örneğin kristal yapıya ve girişken ortamda bile son derece düşük çözünürlüğe (mide bağırsak yolunu taklit eden hidrojen klorür çözeltisi) sahip bazı maddeler için sağlanmıştır. Kanıt Ağırlığına katkıda bulunmak için, bu tür verilerin normalde biyo-erişilebilirlik veya biyoelüsyon testlerinin sonucu olarak verilmesi gerekir. Bu testlerde ikna edici olması için mide sıvısı taklidi ve diğer ilgili biyolojik ortamların kullanılması gerekir. Biyoelüsyon yöntemi bir OECD Test Rehberi olarak kabul edilmemiş olsa da, Uluslararası Test Materyalleri Birliği Amerikan Bölümü (ASTM) D-5517⁹⁴ (ABD EPA, 2008) ve Avrupa Biyolojik Erişilebilirlik Araştırma Grubu (BARGE) olarak standart bir protokol mevcuttur.

Eurometaux inisiyatifiyle, bir OECD Test Rehberi projesi hedefleyen şekilde test yöntemi geliştirilmesi düşünülmektedir. Bazı çapraz okuma ve eğilim analizi vakalarında, biyoelüsyon çalışmaları KKDİK kapsamında faydalı bulunmuştur.

Düşük toksisitenin göstergeleri olarak "tepkisizlik" ve biyoyararlanım eksikliğinin gerekçesinden, Ek 9, 8.6.2 sütun 2 uyarlamasında, dördüncü girdide bahsedilmektedir:

⁹² www.qsartoolbox.org

⁹³ Örneğin kinonların, bir Michael ekleme reaksiyonu yoluyla proteinlerle kovalent bağ oluşturabildikleri bilinmektedir. Alifatik ikincil aminler, gelişmiş toksisite ile ilişkilidir. Piretroidlerin nörotoksisiteye neden olduğu bilinmektedir ve bu nedenle toksisitede artış beklenebilir.

⁹⁴ ASTM D-5517: Sanat malzemelerinden metallerin özütlenabilirliği (mide sıvısı)

"Sub-kronik toksisite çalışmasının (90 gün) şu durumlarda gerçekleştirilmesine gerek yoktur: [...] madde reaktif değilse, çözünür değilse ve solunabilir değilse ve 28 günlük 'sınır testinde' emilim kanıtı ve toksisite kanıtı yoksa, özellikle böyle bir model sınırlı insan maruz kalmasıyla birleştiğinde."

Çok yüksek moleküler ağırlığa sahip reaktif olmayan maddeler de ilgili maruz kalma yolları yoluyla düşük biyoyararlanıma sahip olabilir. Bununla birlikte, tek başına yüksek moleküler ağırlık, Rehberin bu bölümünde ele alınan Kanıt Ağırlığı yaklaşımında yararlı veri olarak görülmemektedir. *In vivo* metabolizmanın reaktiviteyi etkileyebileceği de dikkate alınmalıdır.

Kayıt ettiren, bir Kanıt Ağırlığı uyarlamasının bir unsuru olarak fiziko-kimyasal verileri kullanıyorsa, belirli bir fiziko-kimyasal özelliğin düşük toksisiteyi nasıl ve neden desteklediğinin gerekçesiyle birlikte güvenilir ve kaliteli veriler sağlanmalıdır.

6. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı içinde diğer bilgilerin kullanımı

Yukarıda açıklanan Kanıt Ağırlığı öğeleri, akut oral toksisite çalışmasının uyarlanması amacıyla en alakalı olanlardır. Veriler toplanırken ve oluşturulurken normalde dikkate alınmalıdırlar. Mekanik ve/veya doku temelli *in vitro* çalışmalarla ilgili bilgilerin (örn. nörotoksisitenin ele alınması) yanı sıra, aşağıda özetlenen başka yararlı bilgi kaynakları da vardır.

6.1. Çapraz okuma

Çapraz okuma yaklaşımını gerekçelendirmenin temel ön koşulu, çapraz okumanın kaynak ve hedef maddelerinin kimyasal ve yapısal olarak benzer olması ve bu nedenle benzer özellikler sergilemelerinin beklenmesidir. Hedef madde, potansiyel olarak özelliklerini veya reaktivitesini ve toksisitesini kaynak maddeninkinden farklı kılan böyle bir fonksiyonel veya kimyasal farklılığa sahip olmamalıdır. Ayrıca, kayıt ettirenin çapraz okuma savunması kullanmayı önermesi durumunda mekanik bir hipotez oluşturulmalıdır. Örneğin, düşük toksisite veya biyolojik ortamın normal bileşenlerine ayrışması/hidrolizi ile bağlantılı çok düşük biyoyararlanım veya reaktivite eksikliği, düşük akut toksisiteyi desteklemek için çapraz okuma ile bağlantılı olabilecek hipotezlerdir. Düzenleyici bağlam ile ilgili olması için, mekanik hipotezin güvenilir verilerle desteklenmesi gerekir. Ayrıca, toksisite çalışmalarında çapraz okumanın hem kaynak hem de hedef maddeleri için düşük toksisite ve düşük biyolojik aktivite gözlenirse, bu çapraz okuma gerekçesinde güven oluşturmak için kullanılabilir.

Ayrıca, kaynak madde ve hedef maddeye ilişkin mevcut veriler, akut toksisite potansiyelinin veya daha doğrusu eksikliğin tahmin edilmesini sağlamalıdır. Mevcut Kanıt Ağırlığı uyarlaması dahilinde, kayıt ettiren, çapraz okumanın hedef maddesinin LD₅₀ değerinin 2000 mg/kg vücut ağırlığının üzerinde olacağını yeterli kesinlik ve güvenle tahmin edebilmelidir. Yukarıdaki paragraf, bu belirli Kanıt Ağırlığı uyarlamasının amacı için uygulandığında çapraz okumanın bazı ilkelerini gösterirken, çapraz okumaya ilişkin daha ayrıntılı rehber [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6'da ve ECHA web sitesinde (<http://echa.europa.eu/support/grouping-of-substances-and-read-across>) bulunan açıklayıcı örneklerde bulunabilir.

Aynı hususlar bir sub-akut oral toksisite çalışması için de geçerlidir: uygun şekilde gerekçelendirildiğinde ve belgelendiğinde, Ek 11, bölüm 1.2'ye göre bir analog madde ile bir sub-akut oral toksisite çalışması önerilebilir ve daha sonra özel Kanıt Ağırlığı uyarlamasının bir unsuru olarak kullanılabilir.

Bir maddenin olası özelliklerine ilişkin sonuçlar, gruplandırma yöntemleri uygulanarak, bir veya daha fazla benzer maddenin özelliklerinin bilgisine de dayanabilir. İlgili OECD rehberi, kimyasalların gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımları hakkında bilgi sağlar (OECD, 2014).

6.2. Mevcut insan verileri

Belirli sağlık etkilerine ilişkin epidemiyolojik kanıtların gücü, diğerlerinin yanı sıra, analizlerin türüne ve cevabın boyutuna ve özgünlüğüne bağlıdır. İlgili insan verileri, örn. zehir kontrol merkezlerinin raporlarında veya yayınlanmış vaka çalışmalarından mevcut olabilir. Aynı etkene farklı koşullar altında maruz kalan popülasyonlar üzerinde birkaç bağımsız çalışmada karşılaştırılabilir sonuçlar elde edildiğinde bulgulara olan güven artar. Nedensel bir ilişkiyi destekleyen diğer özellikler, bir doz-cevap ilişkisinin varlığı, zaman içinde tutarlı bir ilişki ve (biyolojik) olasılık, yani Hill (1965) çalışmasındaki gibi epidemiyolojik kriterlerin kapsadığı hususlardır.

Risk değerlendirme amaçları için epidemiyolojik ve insan kanıtlarının değerlendirilmesi ve kullanımı hakkında kapsamlı bir rehber Kryzanowski ve ark. tarafından sağlanmıştır (DSÖ, 2000).

Yüksek kaliteli insan verileri aynı zamanda bireysel klinik veya harmanlanmış klinik verilerden ve/veya doz-cevap çalışmalarından elde edilebilir (Mowry ve ark., 2012; Dolgin ve ark., 2014; Cassidy ve ark., 2015). Yüksek kaliteli insan verileri, S&E kararının verilmesi için güçlü bir dayanak olarak düşünülebilir (ilgili düzenleyici programla ilgili etik hususlara bağlı olarak). SEA ve KKDİK amacıyla yeni insan çalışmalarına izin verilmediği, ancak mevcut verilerin kullanılabilmesi kabul edilmektedir.

Bu Kanıt Ağırlığı uyarlaması bağlamında insan verilerinin faydası, bu uyarlamanın kapsamının düşük toksisiteye sahip maddelerle sınırlı olması nedeniyle sınırlıdır, oysa en kesin insan verileri genellikle toksik maddeler hakkında mevcuttur.

7. Kanıt Ağırlığı analizi

Bu Ek'te önerilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımını uygularken, kayıt ettiren, düşük akut toksisiteye sahip maddeler için zararlılık tanımlama ve sınıflandırma amaçları için yeterli ve güvenilir verileri elde etmeyi hedeflemelidir. Kanıt Ağırlığı yaklaşımı dahilinde, akut oral toksisite için bilgi gerekliliğinin karşılanıp karşılanamayacağını veya daha fazla bilginin üretilmesi gerekir gerekmediğini bulmak için farklı veri türleri elde edilebilir ve değerlendirilebilir.

Bu Kanıt Ağırlığı yaklaşımının amacı, akut olarak toksik olmayan, yani LD₅₀ akut, oral değeri 2000 mg/kg vücut ağırlığından yüksek ve bu nedenle SEA Yönetmeliği kapsamında sınıflandırılması gerekmeyen maddeleri doğru bir şekilde tanımlamaktır.

7.1. Giriş

"Kanıt ağırlığı" terimi, risk değerlendirmesi bağlamında bilimsel yayınlarda ve devlet makamı rehberlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Terim, bir yorumlama yöntemine atıfta bulunulmadan belirli bir kanıta ilişkin olarak, ancak aynı zamanda metodolojik şekilde, nedensellikte güven gibi belirli amaçları ele alan belirlenmiş yöntemlerle kullanılmıştır (Weed, 2005).

Bir Kanıt Ağırlığı tespiti, zararlılığın belirlenmesiyle ilgili tüm mevcut ve bilimsel olarak gerekçelendirilmiş bilgilerin birlikte değerlendirildiği anlamına gelir. Akut oral toksisite durumunda bu, subakut oral toksisite hakkında hayvan verilerini (DRF çalışmaları dahil), fiziko-kimyasal parametreleri, kategori yaklaşımlarından bilgileri (örn. gruplandırma, çapraz okuma), (Q)SAR sonuçlarını, uygun *in vitro* testlerin (örn. doğrulanmış NRU sitotoksisite testi) sonuçlarını ve muhtemelen insan verilerini içerir. Mevcut bilgilerin her bir bölümü tartılırken verilerin kalitesi ve tutarlılığı dikkate alınmalıdır. Bu bağlamda, en yüksek ağırlık, [Tablo R.7.4-3](#)'te açıklandığı gibi subakut oral toksisite çalışmasına ve bununla ilgili DRF çalışmalarına verilmelidir.

Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, toplanan ve oluşturulan mevcut bilgilerin farklı bölümlerinin bağlı değerlerinin/ağırlıklarının değerlendirilmesini içerir.

Bu ağırlıklar/değerler, resmileştirilmiş bir prosedür uygulanarak (örneğin, Rorije ve ark., 2013 çalışmasında olduğu gibi Bayes mantığına dayalı olarak) daha yapılandırılmış (hatta nicel) bir şekilde veya uzman görüşü kullanılarak atanabilir. Mevcut kanıtlara verilen ağırlık, verilerin kalitesinden, sonuçların/verilerin tutarlılığından ve düzenleyici sonlanma noktası için bilginin uygunluğundan etkilenecektir. Kanıt Ağırlığı analizi için bir matris aşağıda verilmiştir (Tablo R.7.4-3).

Verilerin kalitesini değerlendirmek için mevcut araçların örnekleri arasında Klimisch puanı (Klimisch ve ark., 1997), epidemiyolojik verilerin değerlendirilmesi için Hill kriterleri (Hill, 1965) ve ayrıca *in vivo* ve *in vitro* verilerin puanlandırılması için JRC ToxRTool (Schneider ve ark., 2009) bulunur. ToxRTool⁹⁵, belirli bir çalışmayı değerlendiren kişinin uygun bir Klimisch puanı elde etmesine izin veren bir değerlendirme sistemi sağlar.

SEA Yönetmeliği Madde 11(3) uyarınca, sınıflandırma için belirli kriterler doğrudan uygulanmadığında bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı kullanılmalıdır. Bu hükme göre, bir sonlanma noktası için sınıflandırmanın belirlenmesine katkıda bulunabilecek mevcut tüm bilgiler birlikte değerlendirilir.

7.2. Akut oral toksisitenin değerlendirilmesinde Kanıt Ağırlığının rolü

Gerekli testler yapıldıktan ve test dışı veriler oluşturulduktan ve değerlendirildikten sonra, yasal olarak gerekli akut oral toksisite testi yapılmadan zararlılık karakterizasyonu ve sınıflandırmanın gerçekleştirilip gerçekleştirilemeyeceğini değerlendirmek için Kanıt Ağırlığı yaklaşımı uygulanır.

Yukarıda açıklandığı ve [Tablo R.7.4-3](#)'te tanımlandığı gibi, en ilgili *in vivo* test, sub-akut oral toksisite testi (OECD Test Rehberi 407 veya 422 tarama testi) ve sonrasında gelişmiş DRF1'dir, en yararlı *in vitro* test ise NRU sitotoksisite testidir.

Bununla birlikte, diğer ilgili ve kaliteli verilerin elde edilebilmesi durumunda (örn. açık literatürden ve/veya kayıt ettirenin kendi veritabanlarından) bir Kanıt Ağırlığı analizi gerçekten yapılabilir, ancak yeni *in vitro* veya *in vivo* testler gerçekleştirilmeden önce bile tamamlanması gerekli değildir. Bir Kanıt Ağırlığı analizinin mevcut verilere dayanması durumunda iki olası sonuç vardır: veriler yeterli kabul edilir ve kayıt dosyasında yeni test yapılmadan Kanıt Ağırlığı uyarlaması sunulur veya mevcut verilere dayalı Kanıt Ağırlığı yetersiz veya sonuçsuz kalır ve daha fazla verinin oluşturulması gereklidir.

İnsan kanıtı göz önüne alındığında, yeterli kalitede olması koşuluyla, birkaç tür mevcut bilgi kullanılabilir. Kanıt Ağırlığı analizinde, belirtilen veri türlerinin kullanılabilirliği kontrol edilmelidir. Bu verilerin kaynakları, klinik çalışma raporları, bilimsel yayınlar, zehir bilgi merkezlerinden gelen veriler, rehber testleri ve kimya endüstrisinden çalışan izleme verilerine kadar değişebilir.

7.4. Veri kalitesinin değerlendirilmesi

Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için elde edilen verilerin kalitesinin değerlendirilmesi gerekir, çünkü kalite her bir veri ögesinin ağırlığına katkıda bulunacaktır. Belirli bir çalışmanın kalitesinin uygun olmadığı düşünülüyorsa, bu veriler Kanıt Ağırlığına dahil edilmemelidir. Bunun yerine, yeterli kalitede olan diğer bilgi unsurlarına odaklanılması tavsiye edilir. Kalite uygunsuz olabilir, bunlara örnekler bir metodolojinin doğrulanmamış olması, ilgili test rehberi/yöntemiyle "uyumsuzluk", yeterli kontrollerin olmaması ve/veya veri raporlamasındaki eksiklikler vb. nedeniyle olabilir.

Toksikolojik çalışmaların kalitesi genellikle Klimisch skorları atanarak tanımlanır. Epidemiyolojik veriler Hill kriterleri kullanılarak değerlendirilebilir (Hill, 1965).

⁹⁵ <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/about-ecvam/.../toxrtool/ToxRTool.xls>

Mevcut birçok madde için, mevcut bilgilerin bir kısmının İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) gerekliliklerinden ve/veya standartlaştırılmış OECD test yöntemlerinin kabulünden önce oluşturulmuş olabileceği kabul edilmektedir⁹⁶. Bu tür bilgiler hala kullanılabilir olsa da, güvenilirliklerini belirlemek için hem veriler hem de kullanılan metodoloji değerlendirilmelidir. Böyle bir değerlendirme ideal olarak kanıta dayalı bir değerlendirmeyi, yani karar vermeden önce önceden tanımlanmış, şeffaf ve bağımsız olarak incelenmiş kriterleri izleyen sistematik ve tutarlı bir değerlendirme gerektirir. Bunlar, her zaman, kriterlere dayalı değerlendirme temelinde özel veri setlerinin kullanımına ilişkin gerekçeleri içermelidir.

7.5. Bilgilerin yeterliliği ve ilgi düzeyi

Bilginin "yeterliliği", zararlılık ve risk değerlendirmesi amacıyla bilginin yararlılığını, yani mevcut bilgilerin, maddenin düşük akut toksisiteye sahip olup olmadığına dair karar verme sürecine katkıda bulunup bulunmadığını ve maddeyi akut oral toksisite açısından sınıflandırmak gerekeceği sonucuna varılıp varılamayacağını tanımlar. Test sonuçlarının yeterliliğinin değerlendirilmesi ve istenen amaç için belgelendirme, bir dizi test sonucunun mevcut olduğu ancak testlerin bazıları (veya tümü) mevcut standartlara göre gerçekleştirilmemiş maddeler için özellikle önemlidir. Birden fazla çalışmanın olduğu durumlarda, en büyük ağırlık, en ilgili ve güvenilir olan (örneğin, onaylanmış ve/veya düzenleyici kabul görmüş) çalışmaya/çalışmalara verilir.

7.6. Verilerin tutarlılığının değerlendirilmesi

Çeşitli kaynaklardan gelen mevcut verilerin tutarlılığı çok önemlidir ve bu nedenle Kanıt Ağırlığı yaklaşımında kapsamlı bir şekilde değerlendirilmelidir.

Kanıt unsurlarının karşılaştırılabilir ağırlıkta olması ancak tutarsız kanıtlar sağlaması durumunda, genellikle Kanıt Ağırlığı analizi yeterince kesin olmayacaktır. Sonuç olarak, *in vivo* ve/veya *in vitro* testlerin dikkate alınması ve yürütülmesi gerekecektir. Bireysel kanıt parçalarının ağırlıklarının önemli ölçüde farklı olması durumunda (örn. *in vitro* ve/veya *in vivo* testlerden ve insan verilerinden elde edilen tutarsız sonuçlar), en yüksek ağırlığı taşıyan kanıta göre bir Kanıt Ağırlığı sonucu çıkarılabilir. Tutarsız verilerin nedenlerini (örn. *in vitro* yöntemlerden) ve metabolik kapasite eksikliğinin tahmini etkileyip etkilemeyeceğini değerlendirmek önemlidir. Tutarsızlığın bilimsel olarak açıklanamaması durumunda, Kanıt Ağırlığı analizi sonuçsuz kalır ve bu nedenle Kanıt Ağırlığı tabanlı uyarılma kayıt ettiren tarafından önerilmemelidir.

Aksine, Ek 11, Bölüm 1.2 uyarınca, çeşitli çalışmalar ve/veya kaynaklardan elde edilen tutarlı veriler düzenleyici amaçlar için yeterli kabul edilebilir.

7.7. Kanıt Ağırlığı analizinden sonuçlar

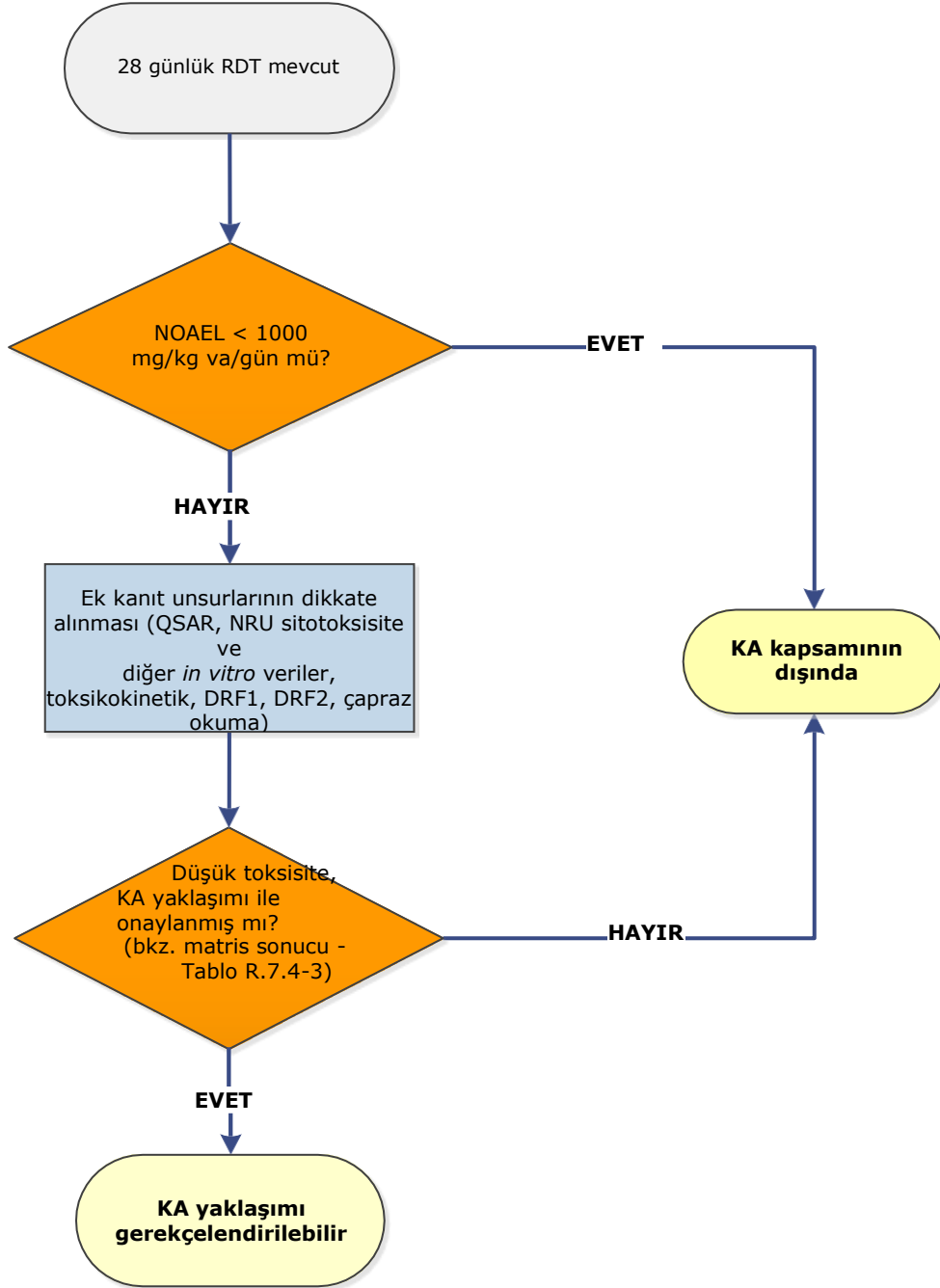
Yaklaşımı uygulamak için bir ön koşul olarak, bu Ek'te önerilen Kanıt Ağırlığı yaklaşımının temel unsuru, kayıtlı madde ile yapılan sub-akut oral toksisite çalışmasıdır. Uygun şekilde gerekçelendirildiğinde ve belgelendiğinde, Ek 11, bölüm 1.2'ye göre analog bir maddeyle sub-akut oral toksisite çalışması önerilebilir.

⁹⁶ OECD rehberi 401'e göre LD50 testi silinmiştir ve artık kullanımda değildir. Kayıt ettirenin **eski** bir OECD 401 çalışma kaydı sağlaması durumunda, bilimsel olarak ilgili olduğu için yine de yeterli kabul edilir.

İlave olarak, bir veya daha fazla başka Kanıt Ağırlığı unsuruna ihtiyaç vardır ve kayıt ettirenin (i) birleşimlerinin neden sonuca varmak için yeterli olduğunu ve (ii) Kanıt Ağırlığı yaklaşımıyla ilişkili belirsizliğin nasıl en aza indirildiğini gerekçelendirmesi gerekir.

Kanıt Ağırlığı yaklaşımının son analizinde, her bir kanıt unsuru kalitesi, uygunluğu, kapsamı ve diğer bilgilerle tutarlılığı açısından karakterize edilmelidir (bkz. "Kanıt Ağırlığı analizi için Matris", [Tablo R.7.4-3](#)).

"Nitelikli" kanıt unsurları arasında tutarlılık görüldüğünde, Kanıt Ağırlığı analizi, ilgili bilgi gerekliliğinin yeterince kapsanmış olduğu ve daha fazla *in vivo* testin gerekli olmadığı sonucuna varabilir. Bu durumda, maddenin akut toksisite için sınıflandırılmasına gerek olmadığı sonucuna varılabilir ([Şekil R.7.4-4](#)).



Şekil R.7.4-4 Kayıt ettirenin mevcut bir tekrarlı sub-akut oral toksisite çalışması olduğunda ve KA yaklaşımını kullandığında, *in vivo* akut toksisite testinin gerekli olup olmadığını değerlendirmek için karar ağacı

Mevcut çalışmanın analog bir madde üzerinde gerçekleştirilmesi durumunda, önerilen çapraz okuma yaklaşımını gerekçelendirmek kayıt ettirenin sorumluluğundadır. Kayıt ettirenin gerekçenin ÇŞB için kabul edilebilir olduğunu düşünmesi durumunda, çalışma Kanıt Ağırlığı analizinin bir parçası olarak kullanılabilir.

Öte yandan, "nitelikli olmayan" veriler reddedildikten sonra yetersiz bilgi kaldığında ve/veya kalan bilgiler tutarsız veya çelişkili olduğunda, Kanıt Ağırlığı analizi ilgili sonlanma noktasının veya bilgi gerekliliğinin yeterince kapsanmamış olduğu ve belirli yasal/düzenleyici çerçeveye göre daha fazla *in vivo* testin gerekli olduğu sonucuna varacaktır.

Kanıt Ağırlığı gerekçesinin kayıtlı maddeye özel olması ve ilgili bilgi gerekliliklerini karşılamak için kayıt ettiren tarafından kullanılan veri bilgileri setine özgü olması gerekir.

Verileri topladıktan ve değerlendirdikten sonra, kayıt ettirenlerin mevcut bilgileri kayıt veri setine nasıl dahil edeceklerine karar vermeleri gerekir. Kanıt Ağırlığının her bir kanıt unsurunun, kayıt dosyasına, KKS Bölüm 7.2'deki bireysel çalışma kaydı olarak dahil edilmesi tavsiye edilir. Ayrıca, Kanıt Ağırlığı analizi ve sonucu Bölüm 7.2'nin özetine dahil edilebilir. Aşağıda verilen matris, bu özeti hazırlanmasında kullanılabilir.

8. *In vivo* akut oral toksisite testi

Yukarıda açıklanan yöntemlerin ve bilgi türlerinin sınırlamaları nedeniyle akut oral toksisite çalışmasının gerekli olacağı durumlar vardır, bunlara örnekler aşağıda verilmiştir:

- doz aralığı bulma veya subakut toksisite çalışmasının sonuçlarına göre, $LD_{50akut,oral}$ 2000 mg/kg va (S&E sınırı) sınırından daha düşük veya bu sınıra eşittir (veya olması muhtemeldir) ve dolayısıyla madde bu Kanıt Ağırlığı uyarlamasının kapsamına girmemektedir, veya
- elde edilen bilgiler ve yapılan testlerin sonuçları tutarsızdır ve bu tutarsızlık bilimsel olarak açıklanamamaktadır, veya
- kayıt ettiren, akut toksisite kategori 5, yani $LD_{50akut,oral}$ değerinin 2000 ile 5000 mg/kg va arasında olduğu sonucuna varmıştır (örn. madde, yetkili makamın bu kategoriye uyguladığı bir ülkede piyasaya sürüldüğü için), veya
- kayıt ettiren, maddenin akut olarak toksik olabileceğini gösteren bazı mevcut bilgilere (örn. yapısal veriler) sahip olabilir ve kayıt ettiren, uygun risk yönetimi önlemleri düzeyini sağlamayı amaçlamaktadır.

Tüm bu durumlarda, kayıt ettirene, Kanıt Ağırlığı analizinde kullanılan verilerin neden bu bilgi gerekliliğini yerine getirmek için yeterli olmadığını belgelemesi tavsiye edilir ve sonuç olarak OECD/TR rehberlerine göre ilgili bir teste ihtiyaç duyulur (KKDİK Madde 14'e göre).

Tablo R.7.4-3 Kanıt Ağırlığı analizi için matris.

Verilerin mevcut olduğu veya oluşturulduğu modüllerin girişleri doldurulur. Sub-akut çalışmanın sonuçlarının her zaman Kanıt Ağırlığı analizine dahil edilmesi önerilir. İlave olarak, bir veya daha fazla başka kanıt unsurunun sağlanması gerekir. Diğer bilgilerin türü (mevcut veya üretilebilen) duruma göre değişiklik gösterecektir. Kalan girişler için, ilgili sütunda mevcut değildir yazılır.

Modül	Belgenin başlığı/tam referans veya veri mevcut değildir	Çalışma sonucu, elde edilen kanıt	Veri kalitesi, uygun olduğunda Klimisch puanına göre	Yeterlilik ve ilgi düzeyi, kısa açıklama	İlgili parametrelerin ve gözlemlerin kapsamı (a)	Diğer bilgilerle tutarlılık (b)	Nihai açıklama (c)
1. Sub-akut toksisite çalışması				En yüksek ilgi düzeyi (ön koşul)			
2. Gelişmiş DRF1				Yüksek ilgi düzeyi (genellikle)			
3. <i>In vitro</i> sitotoksisite testi (NRU)				Yalnızca negatif sonuçlar ilgilidir			
4. (Q)SAR modellemesi	QMRF	Tahmin edilen değer		Uygulanabilirlik alanının uygun olduğu düşünülüyorsa ilgili			
5. Fiziko-kimyasal özellikler				Mevcut olduğunda ilgili			
6. Diğer veriler (mevcut insan verileri, çapraz okuma)				Durum bazında			
Genel sonuç	1. Kanıt Ağırlığı, maddenin düşük akut toksisiteye sahip olduğu ve akut toksik olarak sınıflandırılmasına gerek olmadığı sonucuna varılmasını sağlar; Ek akut oral toksisite testi gerekli değildir veya 2. Kanıt Ağırlığı, maddenin düşük toksisiteye sahip olduğu sonucuna varılmasına izin vermez. Kayıt ettirenin, genellikle ilgili OECD test rehberine göre gerçekleştirilen akut oral toksisite testi olan en uygun ek testi dikkate alması gerekir.						

(a) Geçerli olduğunda, Kanıt Ağırlığının her bir ögesi için ilgili parametrelerin tanımı.

(b) Örneğin: "Bu kanıt unsuru (1 ve 2 dışındaki herhangi bir girdi) sub-akut toksisite çalışmasıyla tutarlıdır".

(c) Örneğin: "Mevcut insan verileri, maddenin akut toksik olmadığını gösteriyor. Bu verilerin kötü raporlanması ve maruz kalma bilgileri açısından düşük kaliteli olması nedeniyle, veriler yetersizdir ve nihai değerlendirmede düşük ağırlığa sahiptir. "

Referanslar

- Bulgheroni A, Kinsner-Ovaskainen A, Hoffmann S, Hartung T ve Prieto P (2009) Estimation of acute oral toxicity using the No Adverse Effect Level (NOAEL) from the 28-day repeated dose toxicity studies in rats (Sıçanlarda 28 günlük tekrarlı doz toksisite çalışmalarından Olumsuz Etki Gözlemlenmeyen Seviye (NOAEL) kullanılarak akut oral toksisite tahmini). Regul Toxicol Pharmacol 53:16-9.
- Cassidy NJ, Lee SK, Donegan CF ve Tracey JA (2008) Poisoning in Older Adults: The Experience of the National Poisons Information Centre (Yaşlı Yetişkinlerde Zehirlenme: Ulusal Zehir Bilgi Merkezi Deneyimi). Ir Med J 101:268-70.
- Dolgin J ve Derelanko MJ (2014) Human Clinical Toxicology (İnsan Klinik Toksikolojisi). *Kaynak: Handbook of Toxicology (Toksikoloji El Kitabı), Üçüncü Baskı (Derelanko MJ ve Auletta CS Ed.) CRC Press. Boca Raton, FL, ABD, s.659-80.*
- EURL ECVAM (2013) Akut Oral Toksikite için Sınıflandırma Gerektirmeyen Maddelerin Tanımlanmasını Desteklemeye Yönelik 3T3 NRU Testine ilişkin Öneri, Nisan 2013, Avrupa Komisyonu, Ortak Araştırma Merkezi, Rapor EUR 25946 EN.
- Frantik E, Hornychova M ve Horvath M (1994) Relative acute neurotoxicity of solvents: isoeffective air concentrations of 48 compounds evaluated in rats and mice (Çözücülerin bağlı akut nörotoksitesi: sıçanlarda ve farelerde değerlendirilen 48 bileşiğin izoetkin hava konsantrasyonları). Environ Res 66:173-185.
- Hill AB (1965) The environment and disease: Association or causation? (Çevre ve hastalık: İlişki mi yoksa nedensellik mi?) Proc R Soc Med 58:295-300.
- Klimisch HJ, Andreae M ve Tillmann U (1997) A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. (Deneyel toksikolojik ve ekotoksikolojik verilerin kalitesini değerlendirmek için sistematik bir yaklaşım). Regul Toxicol Pharmacol 25:1- 5.
- Mowry JB, Spyker DA, Cantilena LR Jr, Bailey JE ve Ford M (2013) 2012 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 30th Annual Report (2012 Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği Ulusal Zehir Veri Sistemi (NPDS) Yıllık Raporu: 30. Faaliyet Raporu). Clin Toxicol (Phila.) 51:949-1229.
- Norlén H, Berggren E, Whelan M ve Worth A (2012) Akut sistemik toksisite tahmini için hesaplamalı ve *in vitro* yöntemlerin kullanımına ilişkin bir araştırma. JRC raporu EUR 25473 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi, Lüksemburg. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC72736>.
- OECD (2010) Akut Oral Sistemik Toksikite Çalışmaları için Başlangıç Dozlarını Tahmin Etmek Üzere Sitotoksitenin Kullanımına İlişkin Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 129 (ENV/JM/MONO(2010)20). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2010\)20&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2010)20&doclanguage=en)
- Prieto P, Cole T, Curren R, Gibson RM, Liebsch M, Raabe H, Tuomainen AM, Whelan M ve Kinsner-Ovaskainen A (2013) Assessment of the predictive capacity of the 3T3 neutral red uptake cytotoxicity test method to identify substances not classified for acute oral toxicity (LD50 > 2000 mg/kg): results of an ECVAM validation study (Akut oral toksisite için sınıflandırılmayan maddeleri tanımlamak için 3T3 nötr kırmızısı alim sitotoksite testi yönteminin tahmin kapasitesinin değerlendirilmesi (LD50 > 2000 mg/kg): ECVAM doğrulama çalışmasının sonuçları) Regul Toxicol Pharmacol 65 (3): 344-65.
- Rorije E, Aldenberg T, Buist H, Kroese D ve Schüürmann G (2013) The OSIRIS weight of evidence approach: ITS for skin sensitization (OSIRIS kanıt ağırlığı yaklaşımı: Cilt hassasiyeti için BTS). Regul Toxicol Pharmacol 67, 146-56.

Schneider K, Schwarz M, Burkholder I, Kopp-Schneider A, Edler L, Kinsner-Ovaskainen A, Hartung T and Hoffmann S (2009) "ToxRTool", a new tool to assess the reliability of toxicological data ("ToxRTool", toksikolojik verilerin güvenilirliğinin değerlendirilmesi için yeni bir araç). Toxicol Lett 189:138-44.

BM, 2013: Alt bölüm 3.4.2.2: Kanıt ağırlığı yaklaşımı

ABD Çevre Koruma Ajansı. Topraktaki Kurşun için İn Vitro Biyoerişilebilirlik Testi için Standart Çalışma Prosedürü. EPA 9200.1-86 Kasım 2008

Veith GD, Petkova EP ve Wallace KB (2009) A baseline inhalation toxicity model for narcosis in mammals (Memelilerde narkoz için temel soluma toksisite modeli). SAR QSAR Env Res 20:5-6.

Weed D L (2005) Weight of evidence: a review of concept and methods (Kanıt ağırlığı: kavram ve yöntemlerin gözden geçirilmesi). Risk Analysis : An

Official Publication of the Society for Risk Analysis (Risk Analizi Derneği Resmi Yayını) 25:1545-57.

Ek R.7.4-2 Önerilen Kanıt Ağırlığı uyarlamasını destekleyen temel hususlar ve analiz

KKDİK Ek 11, örneğin kanıt ağırlığı (KA) (bölüm 1.2), QSAR (bölüm 1.3) ve *in vitro* testler (bölüm 1.4) ve çapraz okuma (bölüm 1.5) dahil olmak üzere uyarlama için çeşitli olasılıkları belirtmektedir.

Kayıt ettirenler, yeterince gerekçelendirildiğinde bu olasılıkları bağımsız uyarlamalar olarak kullanabilir. Ancak, akut oral toksisite için Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, [Ek R.7.4-1](#) 'de özetlendiği gibi, bu olasılıkların birleşimlerinden yararlandığı için tavsiye edilmektedir. ÇŞB analizlerine dayanmaktadır ve Ek 11, bölüm 1.2'ye göre kabul edilebilecek bir uyarlamayla sonuçlanması daha olasıdır.

Avrupa Birliği'nde REACH Tüzüğü kapsamında 2018 son kayıt tarihi için beklentiler

Analiz için önemli olan, kayıt ettirenlerin yükümlülüklerini yerine getirmeleri için gerekli olan *in vivo* akut toksisite çalışmalarının sayısının dikkate alınmasıdır.

Son tarihe kadar kayıt edilecek birçok maddenin halihazırda mevcut bir *in vivo* akut oral toksisite çalışmasına sahip olacağı tahmin edilmektedir (tahmin %65'tir):

Haziran 2014'te yayınlanan ikinci raporundan aşağıdaki çıkarımlara varılmaktadır ⁹⁷:

- Yaklaşık 5200 maddenin %35'inin (2018 tarihine kadar > 10 ton/yıl olarak kaydedilecek), yaklaşık 1825 çalışmayı temsil eden şekilde, mevcut bir akut oral toksisite çalışmasına sahip olmadığı tahmin edilmektedir.
- Ayrıca, bu maddelerin yaklaşık %30'unun düşük akut toksisiteye sahip olduğu (yani akut oral LD₅₀ değerinin 2000 mg/kg va/günden yüksek olduğu) varsayılmaktadır.

Sonuç olarak, birçok kayıt ettiren, akut toksisite bilgi gerekliliğini karşılamak için yeni bir çalışma yürütmek zorunda kalacak veya bu standart bilgi gerekliliğini uyarlaması gerekecektir. Bu nedenle, bir *in vivo* akut toksisite testi gerekliliğinin gerçekleştirilmesi yerine bir feragat olasılığının kullanılması yüksek bir etkiye sahip olabilir: bu kayıt ettirenler bu Ekte önerilen alternatif yaklaşımı izlerse, son kayıt tarihi için gerekli akut oral toksisite çalışmalarının sayısı azaltılabilir, yani ilgili *in vivo* akut oral toksisite testlerinden kaçınılabilir.

Destekleyici temel literatür

2014 yılında, Avrupa Komisyonu'nun Ortak Araştırma Merkezi'nin (JRC) bir parçası olan EURL ECVAM, akut sistemik toksisite testi için alternatif yaklaşımlar hakkında bir Strateji Belgesi yayınlamıştır (Prieto ve ark., 2014).

EURL ECVAM, gayretlerin Russell ve Burch 3Rs ilkesine (Yerine Geçme, Azaltma ve İyileştirme İlkelerine) göre (i) akut sistemik toksisite için hayvan testlerinin azaltılması ve yerini başkalarının alması ve (ii) *in vivo* çalışmaların geliştirilmesine yönelik olması gerektiğini düşünmüştür. Bu Ek'te önerilen yaklaşımı takip ederek, kayıt ettirenler bu gayretlere katkıda bulunacaklardır.

Bilindiği durumlarda, akut toksisitenin mekanik temeli ve bütünleşik tahmin modellerinin doğrulanması dikkate alınmalıdır. EURL ECVAM, mekanik olarak ilgili *in vitro* testler gibi mevcut alternatif yöntemlerin daha iyi kullanımı dahil olmak üzere, Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşımların (IATA) umut verici bileşenlerini değerlendirmeyi önermiştir.

⁹⁷ Erişim adresi:

http://echa.europa.eu/documents/10162/13639/alternatives_test_animals_2014_en.pdf

Ayrıca, EURL ECVAM'a göre, tekrarlı doz toksisitesi hakkındaki bilgiler, akut sistemik toksisite için sınıflandırma ve etiketlemeyi desteklemede faydalı olabilir.

Bilimsel literatürde akut toksisite testinin değeri tartışılmış ve *in vivo* akut toksisite çalışmalarının yerini alabilecek subakut toksisite verilerine veya *in vitro* sitotoksisite testlerine dayalı tahmin modelleri geliştirilmiştir (Creton ve ark., 2010; Chapman ve ark., 2010; Indans ve ark., 1998; Kinsner-Ovaskainen ve ark., 2013; Robinson ve ark., 2008; Siedle ve ark., 2011; Bulgheroni ve ark., 2009).

Akut oral toksisite çalışmasına ilişkin Kanıt Ağırlığı tabanlı uyarılma için bu rehberin temeli ve mantığı aşağıdakilere dayanmaktadır:

- Bilimsel topluluk tarafından yapılan ve akut oral toksisite ile ilgili bilgilerin *in vivo* test standardı uygulanmadan elde edilebileceğini öne süren çeşitli girişimler ve öneriler vardır.
- 2015 yılında, JRC, farklı alanlardan (ilaç, kimya endüstrisi vb.) uzmanlar arasında akut sistemik toksisite testi için feragat fırsatlarını araştırmayı amaçlayan bir anket başlatmıştır. Elde edilen cevaplardan, bazı şirketlerin aslında tekrarlı doz çalışmalarından akut etkileri tahmin etmeye çalıştıkları ortaya çıkmıştır (Graepel ve ark., 2016).
- Yüzlerce *in vivo* çalışmanın yerini, potansiyel olarak Kanıt Ağırlığı yaklaşımı alabilir.

REACH kapsamında 2010 ve 2013 yıllarında kayıt ettirenler tarafından sağlanan verilerin analizi

JRC (Graepel ve ark., 2016) tarafından başlatılan ve daha sonra ECHA tarafından devam ettirilen bir analiz, **düşük toksisiteye sahip maddeler** için **akut oral toksisite** sınıflandırmasının tahmininin, çoğu durumda oral **sub-akut çalışmalardan** elde edilen verilere dayanabileceğini göstermiştir.

Bu analiz için kullanılan veriler Mayıs 2015'te, IUCLID dosyalarının 7.2.1 (Akut toksisite: oral) ve 7.5.1 (Tekrarlı doz toksisitesi: oral) bölümlerinde bildirilen çalışmalardan, tüm REACH kayıt veritabanından ECHA tarafından çıkarılmıştır.

Adım 1: **İlgili** deneysel verileri seçmek için bir ön filtre seti kullanılmıştır:

- "Test malzemesi kimliği kayıtlı maddeyle aynı" = "evet";
- "Çalışma türü" = "deneysel sonuç" (yalnızca deneysel verileri seçmek ve çapraz okuma veya QSAR sonuçları gibi diğer çalışma türlerini hariç tutmak için);
- Güvenilirlik puanı = "1" veya "2".

Adım 2: Aşağıdaki AB/OECD rehberlerine göre gerçekleştirilen **ilgili çalışmaları** seçmek için ek bir filtre kullanılmıştır:

- akut toksisite için: AB Yöntemi B.1 (bis ve tris) veya OECD Test Rehberi 401, 420, 423 veya 425'ten LD₅₀ değerleri;
- tekrarlı doz toksisitesi için: OECD Test Rehberi 407 veya 422'den NOAEL veya NOEL, sadece ppm cinsinden ifade edilen sonuçlar hariç.

Adım 3: **7.2.1 ve 7.5.1 bölümlerinde ilgili çalışmaları** içeren dosyaları seçmek için başka bir filtre kullanılmıştır.

Sonuç olarak, 1256 kayıt dosyası seçilmiştir.

Kalan kayıt dosyalarında, akut ve/veya subakut toksisite testleri için diğer uygulama yolları (sıklıkla soluma) kullanılmış veya bu çalışmalardan biri, örneğin analog bir madde hakkındaki bilgiler kullanılarak (yani çapraz okuma verileri) uyarlanmıştır.

Bu nedenle RACH kayıt dosyasındaki bu çalışma kayıtları bu analiz için kullanılamamıştır.

Adım 4: Geliştirme; ECHA daha sonra veri setini aşağıdaki gibi geliştirmiştir:

- NOAEL < 1000 mg/kg vücut ağırlığı bildiren sub-akut çalışmalar hariç tutulmuştur;
- Tek bir çalışma için bir aralık verilmişse, en düşük değer seçilmiştir;
- Kayıt ettiren, sonlanma noktası başına birden fazla ilgili çalışma sunmuşsa, en düşük LD₅₀ değeri ve/veya en düşük NOAEL değeri ile sonuçlanan çalışma seçilmiştir;
- Ayrıca, kayıtlı maddeden başka bir maddenin test edilebileceği (yani "gizli" çapraz okuma)⁹⁸ durumları hariç tutmak için test malzemesinin kimliği hakkındaki bilgiler kontrol edilmiştir.

Özetle, nihai tahmin modeline dahil edilen veriler aşağıdakileri içeren dosyaları içerir:

- İlgili akut oral ve sub-akut oral toksisite/tarama çalışması testleri⁹⁹; ve
- 1000 mg/kg vücut ağırlığı veya üzerinde NOAEL ile sonuçlanan subakut oral toksisite çalışması.

Kayıt ettirenin tedarikçi sınıflandırmasının dikkate alınmadığı unutulmamalıdır.

415 dosyadaki maddeler yukarıdaki kriterleri karşılamaktadır. Ayrıca, dokuz dosya hariç tamamı, 2000 mg/kg vücut ağırlığından daha yüksek bir LD₅₀ ile akut oral toksisite çalışması vermiştir. Bu vakalar manuel olarak analiz edilmiş ve açıklamalar, örneğin akut ve tekrarlı doz çalışmaları arasında kullanılan birimlerdeki farklılıklar veya oral dozun farklı uygulama yollarını içermiştir.

Sonuç olarak, subakut toksisite verilerine dayanan bu "tahmin modeli" kullanılabilir ve Kanıt Ağırlığı yaklaşımının temel unsurunu oluşturur.

Referanslar

Bulgheroni A, Kinsner-Ovaskainen A, Hoffmann S, Hartung T ve Prieto P (2009) Estimation of acute oral toxicity using the No Adverse Effect Level (NOAEL) from the 28-day repeated dose toxicity studies in rats (Sıçanlarda 28 günlük tekrarlı doz toksisite çalışmalarından Olumsuz Etki Gözlemlenmeyen Seviye (NOAEL) kullanılarak akut oral toksisite tahmini). Regul Toxicol Pharmacol 53:16-9.

Chapman K, Creton S, Kupferschmidt H, Bond GR, Wilks MF ve Robinson S (2010) The value of acute toxicity studies to support the clinical management of overdose and poisoning: A cross-discipline consensus (Aşırı doz ve zehirlenmenin klinik yönetimini desteklemek için akut toksisite çalışmalarının değeri: Disiplinler arası bir fikir birliği). Regul Toxicol Pharmacol 58: 354–59.

Creton S, Dewhurst IC, Earl LK, Gehen SC, Guest RL, Hotchkiss JA, Indans I, Woolhiser MR, Billington R (2010) Acute toxicity testing of chemicals—opportunities to avoid redundant testing and use alternative approaches (Kimyasalların akut toksisite testi — gereksiz testlerden kaçınma ve alternatif yaklaşımları kullanma fırsatları). Critical Rev Toxicol 40:50–83.

⁹⁸ "Gizli çapraz okuma" terimi ile ECHA, "kayıtlı maddeyle aynı test malzemesinin kimliğinin" işaretlendiği "deneysel sonuçlar" olarak işaretlenmiş çalışmaları ifade eder, ancak test malzemesi tanımlayıcıları tablosunda sağlanan tanımlayıcılar, kayıtlı maddeden farklı bir madde ifade etmektedir.

⁹⁹ İlgili OECD rehberlerine göre, sıçanlar ve fareler tercih edilen türlerdir. Çok az istisna dışında, bu "tahmin modeli" için kullanılan çalışmalar bu türler ile yapılmıştır.

Graepel R, Asturiol D, Prieto P ve Worth A (2016) Exploring waiving opportunities for mammalian acute systemic toxicity tests (Memelilerde akut sistemik toksisite testleri için feragat fırsatlarının araştırılması). *Altern Lab Anim* 44:271-9.

Prieto P, Burton J, Graepel R, Price A, Whelan M ve Worth A (2014) Akut memeli sistemik toksisitesinin değerlendirilmesinde hayvanların kullanımını değiştirmek, azaltmak ve iyileştirmek için EURL ECVAM stratejisi. JRC Bilim ve Politika Raporları, Rapor EUR 26704 EN. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC90611>.

Indans I, Fry T ve Evans P (1998) Classification and labelling of new industrial chemicals for acute toxicity, skin and eye irritation (Akut toksisite, cilt ve göz tahrişi için yeni endüstriyel kimyasalların sınıflandırılması ve etiketlenmesi). *Human Exp Toxicol* 17:529.

Kinsner-Ovaskainen A, Prieto P, Stanzel S ve Kopp-Schneider A (2013) Selection of test methods to be included in a testing strategy to predict acute oral toxicity: an approach based on statistical analysis of data collected in phase 1 of the ACuteTox project (Akut oral toksisiteyi tahmin etmek için bir test stratejisine dahil edilecek test yöntemlerinin seçimi: ACuteTox projesinin 1. aşamasında toplanan verilerin istatistiksel analizine dayalı bir yaklaşım). *Toxicol In Vitro* 27:1377-94.

Robinson S, Delongas JL, Donald E, Dreher D, Festag M, Kervyn S, Lampo A, Nahas K, Nogue V, Ockert D, Quinn K, Old S, Pickersgill N, Somers K, Stark C, Stei P, Waterson L, Chapman K (2008) A European pharmaceutical company initiative challenging the regulatory requirement for acute toxicity studies in pharmaceutical drug development (Farmasötik ilaç geliştirmede akut toksisite çalışmaları için düzenleyici gerekliliklere meydan okuyan bir Avrupa farmasötik şirketi girişimi). *Regul Toxicol Pharmacol* 50:345-52.

Siedle T, Prieto P ve Bulgheroni A (2011) Examining the regulatory value of multiroute mammalian acute systemic toxicity studies (Birden fazla uygulama yolundan memeli akut sistemik toksisite çalışmalarının düzenleyici değerinin incelenmesi). *ALTEX* 28:95-102.

Ek R.7.4–3 Akut toksisite tahmini için nicel yapı aktivite ilişkileri

Akut toksisitenin tahmini için birkaç (Q)SAR modeli vardır. Bununla birlikte, şimdiye kadar, düzenleyici bağlam içinde kullanımları, sınırlı uygulanabilirlik alanları ve tahminlerinin doğruluğu nedeniyle engellenmiştir. Akut toksisite için nicel yapı aktivite ilişkilerinin daha geniş bir uygulaması amacıyla daha fazla gelişmeye ihtiyaç duyulurken, tahmin amaçlı (Q)SAR yaklaşımlarının uygulanmasına yönelik olasılıkları göstermek veya toksisite mekanizmalarını araştırmak için aşağıda bazı örnekler verilmiştir.

Soluma toksisitesi için nicel yapı aktivite ilişkileri

Uçucu maddelerin soluma toksisitesini tahmin etmek için bazı basit regresyon modelleri geliştirilmiştir ve bunlar, uygulanabilirlik alanlarında güvenilir bir şekilde kullanılabilir.

Tipik olarak, buhar basıncı (VP) ve kaynama noktası (BP) gibi parametrelerin, akut toksik etkinin (örneğin, LC₅₀ değeri) faydalı göstergeleri olduğu bulunmuştur. Bu modeller, toksisitenin belirli olmayan narkoz mekanizması tarafından meydana geldiği ve LC₅₀ verilerinin kanda kararlı hal konsantrasyonuna ulaşılan testlere dayandığı varsayımına dayanmaktadır. Bu modeller yalnızca sistemik olarak etki gösteren uçucu bileşikler için uygundur.

Örneğin, bazı yaygın çözücülerin hem sıçanlar (4 saat boyunca tüm vücut maruz kalması) hem de fareler (2 saat boyunca tüm vücut maruz kalması) üzerindeki nörotropik etkilerine yönelik Frantik ve ark. (1994) çalışmasından alınmış akut (öldürücü olmayan) nörotoksosite verileri, Cronin (1996) tarafından QSAR analizine tabi tutulmuştur. Sıçanlarda cevapta %30 baskılanmaya (log₁/ECR₃₀) neden olan 4 saatlik toksisite verilerinin aşamalı regresyon analizi aşağıdaki denklemi vermiştir:

$$\log_1/\text{ECR}_{30} = 0.361 \text{ ClogP} - 0.117 \text{ }^0\chi - 1.76$$

$$n = 37 \quad R_2 = 0.817 \quad s = 0.280 \quad F = 35.2$$

Bu ilişki, oktanol-su dağılım katsayısı logP ile kısmi bir nörotoksosite bağımlılığını gösterir. Sıfırıncı dereceden moleküler bağlantı χ ile negatif korelasyonun (orijinal belgede MOLCONN-X yazılımı ile hesaplanmıştır), büyük moleküller için kan-beyin bariyerinin membran geçirgenliğinin azaldığının bir göstergesi olduğu düşünülmektedir.

Fare nörotoksitesini için aşamalı regresyon şu denklemi vermiştir:

$$\log_1/\text{ECM}_{30} = 0.212 \text{ ClogP} + 0.00767 \text{ BP} - 0.176 \text{ }^0\chi - 2.03$$

$$n = 39 \quad R_2 = 0.811 \quad s = 0.271 \quad F = 22.4$$

burada, BP maddenin kaynama noktasıdır (BP, buhar basıncıyla ters orantılıdır).

Yüksek nörotoksositeye sahip bileşikleri düşük nörotoksositeye sahip bileşiklerden ayırmak için temel bileşenler analizinin (PCA) uygulanması, bir membranda dağılıma ek olarak (logP ve moleküler boyut ile belirlenir), suda çözünürlük ve uçuculuğun da nörotoksositeyi yöneten önemli faktörler olduğunu ortaya koymuştur (Cronin, 1996). Daha toksik bileşiklere metabolizma, nicel yapı aktivite ilişkilerinde aykırı değerler olarak görünen bileşiklerin olası bir nedeni olarak önerilmektedir.

Temel soluma toksisitesi ile ilgili olarak, Veith ve ark. (2009), US ECOTOX veritabanından fare ve sıçanlarda yapılan soluma toksisitesi çalışmalarından elde edilen verileri kullanarak kemirgenlerde narkoz tahmini için iki model geliştirmiştir:

$$\text{Log LC50}_{\text{rat}} = 0.69 \log \text{VP} + 1.54$$

$$n = 36 \quad r^2 = 0.94 \quad \text{Std. Hata} = 0.19 \quad \text{StT testi} = 18.35$$

$$\text{Log LC50}_{\text{fare}} = 0.57 \log \text{VP} + 2.08$$

$$n = 28 \quad r^2 = 0.74 \quad \text{Std. Hata} = 0.20 \quad \text{StT testi} = 8.63$$

burada VP, EPISUITE v3.2 kullanılarak maddenin mm Hg cinsinden tahmini buhar basıncıdır. Sonuçlarla ilgili daha fazla bilgi için okuyucunun orijinal referansa başvurması önerilir.

Modeller, reaktif maddeler veya reseptör aracılı toksisite gösterenler için uygun değildir. Modellerin geliştirilmesinde uygulanan bir yaklaşım, Russom düzenlemesine göre reaktif olarak tanımlanan maddeleri hariç tutmaktır (Russom ve ark., 1997).

Oral toksisite için nicel yapı aktivite ilişkileri (LD₅₀)

Literatürde, genellikle küçük bileşik setlerine ilişkin olarak LD₅₀ değerinin tahmini için birkaç model referans gösterilmiştir. Örneğin, Hansch ve Kurup (2003), Cope ve Hancock (1939) çalışmasından alınan toksisite verilerini kullanarak dişi beyaz farelerde barbitüratların (LD₅₀) toksisitesini tahmin etmek için aşağıdaki nicel yapı aktivite ilişkisini geliştirmiştir:

$$\log 1/\text{LD}_{50} = -1.44 \log P + 0.16 \text{NVE} - 8.70$$

$$n = 11 \quad R^2 = 0.924 \quad s = 0.077 \quad R_{2cv} = 0,879$$

burada, NVE değerlik elektronlarının sayısıdır (polarize edilebilirliğin bir ölçüsü olarak kullanılır).

Daha yakın zamanlarda Koleva ve ark. (2011), sıçanlarda ve farelerde yalnızca temel toksisiteye neden olan bileşikler için oral LD₅₀ değerini ölçmek üzere iki doğrusal olmayan regresyon modeli geliştirmiştir:

$$\log 1/\text{LD}_{50} \text{ sıçan} = -1.780 + 0.465 \log P - 0.111(\log P)^2$$

$$n = 55 \quad \text{rms} = 0.15 \quad r^2_{\text{adj}} = 0.59 \quad F = 40.3$$

$$\log 1/\text{LD}_{50} \text{ fare} = -1.841 + 0.503 \log P - 0.105(\log P)^2$$

$$n = 30 \quad \text{rms} = 0.17 \quad r^2_{\text{adj}} = 0,72 \quad F = 38.5$$

burada logP n-oktanol/su dağılım katsayısıdır.

Modeller, doymuş monohidrik alkoller ve doymuş monoketonlardan oluşan bir eğitim seti ile geliştirilmiştir. Sınırlı suda çözünürlüğe sahip veya potansiyel olarak metabolizmaya uğrayan maddeler, alanın dışında kabul edilmiştir ve hem eğitim hem de test setlerinin dışında bırakılmıştır. Yazarlar, aşırı toksisite uyguladıkları için alanın dışında kalan bazı reaktif madde sınıflarının, özellikle nükleofilik bölgelere kovalent bağlanmaya uğrayabilen elektrofilik maddelerin altını çizmektedir.

İnsan toksisitesini tahmin etmek için QSAR

King (1985) çalışmasından toksisite verilerini kullanarak insanlara yönelik çeşitli ilaçların LD₁₀₀ değerini tahmin etmek için aynı tanımlayıcılar kullanılmıştır:

$$\log_1/C = 0.61 \log P + 0.017 \text{NVE} + 1.44$$

$$n = 36 \quad R^2 = 0,850 \quad s = 0.438 \quad R^2_{cv} = 0.817$$

İn vitro etkileri tahmin etmek için QSAR

Literatürde *in vitro* etkileri tahmin etmek için bir dizi QSAR modelinden bahsedilmektedir (Lapenna ve ark., 2010 çalışmasında incelenmiştir), ancak bunlar, düzenleyici amaçlar için akut toksisitenin değerlendirilmesiyle doğrudan ilgili değildir. Genel olarak, bu modeller sitotoksik etki mekanizmalarını araştırmak için geliştirilmiştir ve hidrofobikliğin rolünün yanı sıra (Lessigiarska ve ark., 2006), bağ ayrışma enerjileri (Selassie ve ark., 1999) ve ayrışma sabitleri (Moridani ve ark., 2003) dahil olmak üzere elektrotopolojik durum tanımlayıcılarını özetlerler. Bu modeller akut toksisitenin değerlendirilmesiyle doğrudan ilgili olmasa da, tanımlanmış madde gruplarının *in vitro* sitotoksitesi için güvenilir nicel yapı aktivite ilişkilerinin geliştirilebileceği gerçeği, *in vitro* verileri modelleme yaklaşımının, bu tür nicel yapı aktivite ilişkilerinin akut toksisite için test ve değerlendirme stratejisine bütünleştirilmesi açısından daha da araştırılması gerektiğini göstermektedir. Örneğin, doğrulanmış bir *in vitro* testin *in vitro* verilerini tahmin etmek için bir QSAR serisi geliştirilebilir ve daha sonra *in vivo* testi desteklemek veya yerini almak için kullanılabilir.

Bilgisayarlı modeller

Heterojen bileşik grupları için, akut toksisiteyi tahmin etmek üzere bilgisayarlı modeller mevcuttur (normalde LD50_{oral}).

HazardExpert gibi bilgiye dayalı yazılımlar (ayrıca bkz. *BG ve KGD Rehberi*, Kısım R.6, Bölüm R.6.1), toksisiteyi tahmin etmek için insan uzman görüşlerinden türetilen kurallara dayanmaktadır. TOPKAT ve MultiCASE gibi istatistiksel tabanlı yazılımlarda, (Q)SAR modellerini türetmek için istatistiksel yöntemler kullanılır (ayrıca bkz. Bölüm R.6.1).

Kısa bir açıklamayla birlikte mevcut bilgisayarlı modellerden bazılarının listesi aşağıda verilmiştir:

OECD QSAR Araç Kutusu

Ücretsiz olarak indirilebilen OECD QSAR Araç Kutusu yazılımı (<http://www.qsartoolbox.org/>), sıçanlarda akut oral toksisite için mekanik kategoriler oluşturmada faydalı olabilecek profil oluşturucular içerir:

- Oral yoldan uygulandığında etkilere dayalı olarak bir toksisite sınıfına ("Yüksek", "Orta" veya "Düşük") atama yapan Cramer toksik zararlılık sınıflandırması.
- Reaktiviteleri nedeniyle daha yüksek akut toksisite göstermesi muhtemel olan elektrofilik maddelerin tanımlanmasını sağlayan OASIS ile proteine bağlanma ve OECD ile proteine bağlanma.
- Sıçanlarda 28 günlük bir çalışmada etkileri tahmin etmeye yardımcı olmak amacıyla başlangıçta Japon NITE tarafından geliştirilen tekrarlı doz toksisitesi (HESS). Profil oluşturucu, akut toksisite (örneğin nörotoksisite) için de geçerli olan bazı özel etki şekillerinin tanımlanmasına izin verecektir.

QSAR Araç Kutusu ayrıca aşağıdaki veri tabanlarında akut toksisite hakkında deneysel veriler içerir:

- ECHA Chem: bu veritabanı REACH kayıt dosyalarından gizli olmayan veriler içermektedir.
- Kemirgen Soluma Toksikitesi Veritabanı: literatürde bildirilen sıçan soluma çalışmalarından elde edilen yüksek kaliteli verilerin bir derlemesidir.
- Toxicity Japan MHLW: Japonya'nın Mevcut Kimyasallar Programı kapsamında gerçekleştirilen tek doz toksisite testi ve mutajenite testi sonuçlarının deneysel sonuçlarını içerir.

Profil oluşturucuların ve analoglar için verilerin birleşiminin kullanılması, çapraz okuma veya eğilim analizi yaklaşımı aracılığıyla yeni maddeler için akut oral toksisitenin tahmin edilmesine olanak sağlayabilir.

HazardExpert

HazardExpert, CompuDrug Limited (<http://www.compudrug.com>) tarafından geliştirilen Pallas yazılımının bir modülüdür. Program, "Toksik Parçalar Bilgi Bankası"nda depolanan ve hem olumlu hem de olumsuz modülatör etkiler uygulayan alt yapıları içeren bilinen toksikoforlar için sorgu yapısını arayarak çalışır. Toksikofor bir kez tanımlandıktan sonra, bu, nörotoksisite dahil olmak üzere bir dizi toksisite sonlanma noktası için tahminleri tetikler. Sistemin varsayılan bilgi tabanı, bir ABD EPA raporuna (Brink ve Walker, 1987) ve CompuDrug Limited tarafından toplanan bilimsel bilgilere dayanmaktadır. Bu program, ana bileşiğin ve metabolitlerinin toksisitesini tahmin etmek için Pallas yazılımının başka bir modülü olan MetabolExpert'e bağlanabilir. Modelin geçerliliğine ilişkin bilgi mevcut değildir. HazardExpert'in düzenleyici kullanımıyla ilgili tavsiyelerde bulunulmadan önce geçerliliği ve uygulanabilirliği üzerine araştırmalara ihtiyaç vardır.

TOPKAT

TOPKAT yazılım paketi, çeşitli toksisite ölçümlerini değerlendirmek için çapraz doğrulanmış nicel yapı-toksisite ilişkisi (QSTR) modelleri kullanır (<http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/qsar-admet-and-predictive-toxicology.html>). TOPKAT'ın Sıçan Oral LD₅₀ modülü, farklı kimyasal sınıfları için 19 QSAR regresyon modeli içerir. Modeller, bir dizi yapısal, topolojik ve elektrofizyolojik indislere dayanmaktadır ve sıçanda oral akut medyan ölümcül doz (LD₅₀) tahminlerini yapmaktadır.

TOPKAT sıçan oral LD₅₀ modelleri, Kimyasal Maddelerin Toksik Etkileri Kaydından (RTECS) alınan deneysel verilere dayanmaktadır. RTECS, birden fazla değer mevcut olduğunda en toksik değeri listelediğinden, TOPKAT modeli sorgu yapılarının toksisitesini fazla tahmin etme eğilimindedir.

TOPKAT'ın Sıçan Soluma LC₅₀ modülü, farklı kimyasal sınıflarla ilgili beş alt model içerir.

Akut oral toksisite modelleri de dahil olmak üzere TOPKAT modelleri, EINECS listesindeki yaklaşık 47.000 organik maddenin zararlı özelliklerini değerlendirmek için 2005 yılında Danimarka EPA (<http://qsar.food.dtu.dk/>) tarafından kullanılmıştır. TOPKAT veri tabanında bulunmayan 1840 maddeyi kullanan bu modelin harici bir değerlendirmesi zayıf sonuçlar vermiştir (R₂ = 0.31). Bununla birlikte, tahminlerin %86'sı, test sonuçlarının (DK EPA çalışması) 10 katı içerisine düşmektedir.

Danimarka EPA, TOPKAT modelinin akut toksisite, Xn; R22 (SEA yönetmeliği yürürlüğe girmeden önce AB'de kullanılan eski Tehlikeli Maddeler Direktifi (DSD) sınıflandırma/etiketleme sistemi altında) için en az katılıktaki sınıflandırmanın bir göstergesini vermek üzere yeterli olduğu sonucuna varmıştır.

CASE Ultra

CASE Ultra yazılımı (<http://www.multicase.com>), NTP, WHO, RTECS ve diğer düzenleyici kurum verilerinin derlemelerinden elde edilen 12.262 bileşiğe dayalı bir sıçan LD₅₀ modelinden oluşan bir akut toksisite modülü içerir. Modelin geçerliliğine ilişkin bilgi mevcut değildir. Düzenleyici kullanımıyla ilgili tavsiyelerde bulunulmadan önce CASE Ultra'nın geçerliliği ve uygulanabilirliği üzerine araştırmalara ihtiyaç vardır.

T.E.S.T.

ABD EPA tarafından geliştirilen Toksikite Tahmini Yazılım Aracı (T.E.S.T.), sıçanlarda oral LD₅₀ dahil olmak üzere birçok farklı sonlanma noktasının tahminine izin verir. Versiyon 4.0 ve üzeri, hiyerarşik kümeleme, rastgele orman, en yakın komşuların kullanımı ve bir fikir birliği modeli gibi LD₅₀ tahmini için bir model oluşturmak üzere farklı yöntemlerle kullanılabilen sıçan akut toksisite verilerine sahip 7413 maddeden oluşan bir veritabanı içerir. Yazılım, tahminleri gerçekleştirmek için çeşitli moleküler tanımlayıcılar kullanır. LD₅₀ için tahminlerin doğruluğu, kullanılan modele ve maddenin türüne bağlıdır, ancak yazılım belgelerine göre, genel olarak diğer sonlanma noktaları kadar iyi değildir.

Yazılım, eğitim setindeki ve modellerin test setindeki en yakın analogların görselleştirilmesine ve bunlar için her modelin doğruluğuna izin verir, böylece kullanıcı, bir tahminin güvenilir olup olmadığını tahmin etmek için uzman görüşü kullanabilir.

Derek Nexus

Derek Nexus (<http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm>), birçok insan sağlığı sonlanma noktası için yapısal uyarı setleri içerir. Bunların arasında, doğrudan bir LD₅₀ türetmek için kullanılamayan, ancak çok toksik bileşiklerin tanımlanmasında faydalı olabilecek "yüksek akut toksisite" için birkaç uyarı vardır. Diğer sonlanma noktaları için uyarılar, kardiyotoksikite veya kolinesteraz inhibisyonu gibi bu etkiler nedeniyle özellikle toksisiteye sahip olması beklenen belirli etki şekillerine sahip molekülleri tanımlamak için kullanılabilir.

ACD/Percepta

ACD/Percepta paketinde (<http://www.acdlabs.com/products/percepta/> yer alan modeller, fareler için oral, intraperitoneal, intravenöz, subkutan uygulama altında ve sıçanlar için oral ve intraperitoneal uygulama yöntemleri altındaki LD₅₀ değerlerinin hesaplanmasına izin verir. Bunların tümü, temel toksisiteyi türetmek için kullanılan parçalı nicel yapı aktivite ilişkilerine ve ayrıca belirli etki şekilleriyle ilişkili parçalara dayalı aşırı toksisite için düzeltmelere dayanmaktadır.

Modellerin geliştirilmesinde 100.000'den fazla bileşik kullanılmıştır, ancak her modelin kaç veri noktasına dayandığı belirsizdir. Yazılım, eğitim setindeki bileşiklerin benzerliğine ve bunlar için tahminlerin doğruluğuna dayalı olarak tahminin güvenilirliğinin otomatik bir değerlendirmesini sağlar.

İnceleme yayınları

Akut (ve kronik) sistemik toksisiteyi tahmin etmek için mevcut QSAR modelleri ve yazılım araçları araştırılmış ve farklı inceleme makalelerinde karşılaştırılmıştır. Daha ayrıntılı olarak, Norlén ve ark. (2012), çeşitli QSAR araçlarının ve *in vitro* 3T3 NRU yönteminin tahmin performansının bir analizini ve karşılaştırmasını sunmuştur. Lapenna ve ark. (2010) incelemesi, akut toksisite için mevcut literatür modellerini, QSAR yazılımını ve veritabanlarını kapsar.

Referanslar

- Brink RH ve Walker JD (1987) EPA TSCA ITC Ara Raporu, Dynamic Corporation, Rockville, 6/4/1987.
- Cope AC ve Hancock EM (1939) Substituted Vinyl Barbituric Acids III. Derivatives Containing a Dialkylvinyl Group having Five or More Carbon Atoms (Yer değiştirmiş Vinil Barbiturik Asitler III. Beş veya Daha Fazla Karbon Atomuna Sahip Dialkilvinil Grubu İçeren Türevler). J Am Chem Soc 61:776-9.
- Cronin MTD (1996) Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Analysis of the Acute Sublethal Neurotoxicity of Solvents (Çözücülerin Akut Öldürücü Altı Nörotoksitesinin Nicel Yapı-Aktivite İlişkisi (QSAR) Analizi). Toxicol *in Vitro* 10:103-10.
- Hansch C ve Kurup (2003) A. QSAR of chemical polarisability and nerve toxicity (QSAR kimyasal polarizasyon ve sinir toksisitesi). 2. J Chem Inf Comp Sci 43:1647-51.
- King LA (1985) Fergusons principle and the prediction of fatal drug levels in blood (Ferguson ilkesi ve kandaki ölümcül ilaç seviyelerinin tahmini). Human Toxicol 4:273-8.
- Koleva YK, Cronin MT, Madden JC ve Schwöbel JA (2011) Modelling acute oral mammalian toxicity. 1. Definition of a quantifiable baseline effect (Akut oral memeli toksisitesinin modellenmesi. 1. Ölçülebilir bir temel etki tanımı). Toxicol *in Vitro* 25:1281-93.
- Lapenna S, Fuart-Gatnik M ve Worth A (2010) Review of QSAR models and software tools for predicting acute and chronic systemic toxicity (Akut ve kronik sistemik toksisiteyi tahmin etmek için QSAR modellerinin ve yazılım araçlarının gözden geçirilmesi). JRC raporu EUR 24639 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC61930>
- Lessigiarska I, Worth AP, Netzeva TI, Dearden JC ve Cronin MTD (2006) Quantitative structure-activity-activity and quantitative structure-activity investigations of human and rodent toxicity (İnsan ve kemirgen toksisitesinin nicel yapı-aktivite ilişkisi ve nicel yapı-aktivite araştırmaları). Chemosphere 65:1878-87.
- Moridani MY, Siraki A ve O'Brien PJ (2003) Quantitative structure toxicity relationships for phenols in isolated rat hepatocytes (İzole sıçan hepatositlerinde fenoller için nicel yapı toksisite ilişkileri). Chem Biol Interact 145:213-23.
- Norlén H, Berggren E, Whelan M ve Worth A (2012) Akut sistemik toksisite tahmini için hesaplamalı ve *in vitro* yöntemlerin kullanımına ilişkin bir araştırma. JRC raporu EUR 25473 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi, Lüksemburg. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC72736>.
- Selassie CD, Shusterman AJ, Kapur S, Verma RP, Zhang L ve Hansch C (1999) On the Toxicity of Phenols to Fast Growing Cells. A QSAR Model for a Radical-Based Toxicity (Fenollerin Hızlı Büyüyen Hücrelere Toksisitesi Üzerine. Radikal Tabanlı Toksisite için QSAR Modeli). Perkin Transactions 2, 2729-33.
- Veith GD, Petkova EP ve Wallace KB (2009) A baseline inhalation toxicity model for narcosis in mammals (Memelilerde narkoz için temel soluma toksisitesi modeli), SAR QSAR Environ Res, 20:567-78.

R.7.5 Tekrarlı doz toksisitesi

R.7.5.1 Giriş

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, bir maddeye tekrarlı maruz kalmaktan kaynaklanabilecek olası genel toksikolojik etkiler hakkında bilgi sağlar. Ayrıca, bu çalışmalar, bu sonlanma noktalarını araştırmak için özel olarak tasarlanmamış olsalar bile örn. üreme toksisitesi ve kanserojenlik açısından bilgi sağlayabilir.

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında araştırılan organlar ve dokular arasında kalp, beyin, karaciğer, böbrekler, pankreas, dalak, bağışıklık sistemi, akciğerler gibi hayati organlar bulunur. İncelenen etkiler; morfoloji, fizyoloji, büyüme veya yaşam süresindeki değişiklikleri, işlevsel kapasitede bozukluğa veya ek stresi telafi etme kapasitesinde bozulmaya veya diğer çevresel etkilerin zararlı etkilerine hassasiyette artışa neden olan davranışları içerebilir. Bu nedenle, çevrede bulunabilecek kimyasal maddeler için muhtemel olumsuz genel toksikolojik etkilerin değerlendirilmesi önemlidir.

R.7.5.1.1 Tekrarlı doz toksisitesi tanımı

Tekrarlı doz toksisitesi terimi, bir maddeyle tekrarlı günlük dozlama veya maruz kalmanın bir sonucu olarak beklenen yaşam süresinin bir kısmı boyunca (subakut veya subkronik maruz kalma) veya kronik maruz kalma durumunda yaşamın büyük bir kısmında ortaya çıkan genel toksikolojik etkileri kapsar.

Genel toksikolojik etkiler terimi (bu raporda genellikle *genel toksisite* olarak anılacaktır), örneğin; vücut ağırlığı ve/veya vücut ağırlığı artışı, mutlak ve/veya bağıl organ ve doku ağırlıkları, klinik kimyadaki değişiklikler, idrar analizi ve/veya hematolojik parametreler, sinir sistemi ile genel organ ve dokulardaki fonksiyonel bozukluklar ve makroskopik ve mikroskopik olarak incelenen organ ve dokularda patolojik değişiklikler üzerindeki etkileri içerir. Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları ayrıca, nörotoksisite, immünotoksisite, endokrin aracılı etkiler, üreme toksisitesi ve kanserojenlik gibi toksisitenin belirli gösterimlerini belirleme potansiyeline sahip parametreleri de inceleyebilir.

Olumsuz bir etki, bir organizmanın, sistemin veya (alt) popülasyonun morfolojisinde, fizyolojisinde, büyümesinde, gelişiminde, üremesinde veya yaşam süresinde meydana gelen ve fonksiyonel kapasitede bir bozukluğa yol açan bir değişiklik veya ek stresi telafi etme kapasitesinde bir bozulma veya diğer etkilere hassasiyette bir artıştır (OECD, 2003).

Kimyasal bir madde, sistemik ve/veya lokal etkilere neden olabilir.

- *Lokal etki*, bir maddenin sistemik olarak mevcut olup olmadığına bakılmaksızın ilk temas bölgesinde gözlenen bir etkidir.
- *Sistemik etki*, normalde ilk temas bölgesinden uzakta, yani madde fizyolojik bir engelden (mide-bağırsak yolunun veya solunum yolunun mukoz membranı veya deriyi) geçtikten ve sistemik olarak mevcut hale geldikten sonra gözlemlenen bir etki olarak tanımlanır.
- Bununla birlikte, sistemik etkilerin lokal bir eylemin bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır (yani, bir maddenin sistemik yararlanımının zorunlu olarak gerekli olmadığı ikincil etkiler).

Bunun aksine, yüzey epitelindeki toksik etkiler, sistemik toksisitenin bir sonucu olarak veya maddenin veya aktif metabolitinin/metabolitlerinin sistemik dağılımına ikincil olarak dolaylı etkileri yansıtabilir.

R.7.5.1.2 Tekrarlı doz toksisitesi hakkında rehberin amacı

Bu Rehberin amacı, tekrarlı doz toksisitesi testiyle ilgili KKDİK bilgi gerekliliklerini ele almak ve kayıt ettireni bu gereklilikleri nasıl karşılayabileceği konusunda bilgilendirmektir.

Tekrarlı doz toksisitesini değerlendirmenin amaçları aşağıda belirtilenleri değerlendirmektir:

1. insan veya insan dışı çalışmalara dayalı olumsuz etkiler:
 - o insanların bir maddeye maruz kalmasının, beklenen yaşam süresinin bir bölümü boyunca veya yaşamın büyük bir kısmında tekrarlı günlük maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıkan olumsuz toksikolojik etkilerle ilişkili olup olmadığı; bu insan çalışmaları potansiyel olarak daha yüksek hassasiyete sahip popülasyonları da belirleyebilir;
 - o bir maddenin deney hayvanlarına uygulanmasının, beklenen yaşam süresinin bir kısmı veya büyük bir kısmı boyunca tekrarlanan günlük maruz kalmanın bir sonucu olarak olumsuz toksikolojik etkilere neden olup olmadığı; insan sağlığı üzerindeki olası olumsuz etkilerin habercisi olan etkiler;
2. hedef organlar, potansiyel kümülatif etkiler ve olumsuz toksikolojik etkilerin geri döndürülebilirliği;
3. tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında gözlemlenen herhangi bir olumsuz toksikolojik etki için doz-cevap ilişkisi ve eşik değeri;
4. tekrarlı doz toksisitesi için maddelerin risk karakterizasyonu ve sınıflandırılma ve etiketlenmesi (S&E) için temel;
5. etki şekli ve mekanizması verileri.

R.7.5.2 Tekrarlı doz toksisitesi için bilgi gereklilikleri

[BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.2, Bölüm R.2.1, KKDİK Yönetmeliğinin bilgi gereklilikleri hakkında genel rehberlik sağlar. Tekrarlı doz toksisitesi için, sonlanma noktası ile ilgili tüm mevcut bilgilerin değerlendirilmesi ve dikkate alınan her bir tonaj seviyesinde 28848 sayılı Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında sınıflandırılması gerekir. Tekrarlı doz toksisitesi ile ilgili aşağıdaki standart bilgi gereklilikleri KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10 içerisinde belirtilmiştir:

- **Ek 7'de** (≥ 1 ton/yıl), tekrarlı doz toksisitesi ile ilgili mevcut bilgilere ek olarak tekrarlı doz toksisitesine ilişkin hiçbir test gerekliliği belirtilmemiştir.
- **Ek 8'de** (≥ 10 ton/yıl), kısa süreli tekrarlı doz toksisite çalışması (28 gün), genellikle tek bir türde (erkek ve dişi), insan maruz kalmasının olası yolu göz önünde bulundurularak en uygun uygulama yolu kullanılarak gereklidir.
- **Ek 9'da** (≥ 100 ton/yıl), bir türde (erkek ve dişi) genellikle subkronik tekrarlı doz toksisitesi çalışması (90 gün) gereklidir (kemirgenlerde 90 günlük çalışma); insan maruz kalmasının olası yoluna göre en uygun uygulama yolunu kullanan kısa süreli tekrarlı doz toksisitesi çalışması (28 gün) da minimum gerekliliktir. Ek 8 seviyesinde zaten sağlanmışsa veya 90 günlük bir çalışma önerilmişse, bu tonaj seviyesinde 28 günlük bir testin gerekli olmadığı unutulmamalıdır.

- **Ek 10**'da (≥ 1000 ton/yıl), Ek 8-9'da tekrarlı doz toksisitesi için gerekli olanlara ilave olarak hiçbir belirli test bu tonaj seviyesinde standart bilgi gerekliliği değildir. Bununla birlikte, insan maruz kalmasının sıklığı ve süresi, uzun süreli çalışmanın uygun olduğunu gösteriyorsa ve aşağıdaki koşullardan biri karşılanırsa, Ek 10, sütun 2 izlenerek, kayıt ettiren tarafından uzun süreli tekrarlı toksisite çalışması (≥ 12 ay) önerilebilir veya Madde 36 veya 37 uyarınca ÇŞB tarafından talep edilebilir:
 - mevcut kanıtların toksikolojik değerlendirme veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu 28 günlük veya 90 günlük çalışmada, özellikle endişe verici ciddi veya şiddetli toksisite etkileri gözlenmiştir veya
 - çalışılan maddenin moleküler yapısıyla açık bir ilişkisi olan maddelerde gösterilen etkiler 28 günlük veya 90 günlük çalışmada tespit edilmemiştir veya
 - madde, 90 günlük bir çalışmada tespit edilemeyen zararlı bir özelliğe sahip olabilir.

KKDİK Yönetmeliğinde Ek 7-10 1. Sütun, tüm kimyasal maddeler için gerekli olan standart bilgileri belirler ve 2. Sütun, belirli bilgiler için gereklilik/gerekliliklerden feragat edilerek bireysel sonlanma noktaları için gerekli standart bilgi gerekliliklerinin değiştirilebileceği (uyarlanabileceği) veya belirli durumlarda, ek veya farklı bilgi ihtiyacını tanımlayan özel kuralları listeler. (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.2 Bölüm R.2.1).

Ek 7 ila 10, sütun 2'de listelenen özel uyarılama kurallarına ek olarak, gerekli standart bilgiler, 1) testin bilimsel olarak gerekli görünmediği, 2) testin teknik olarak mümkün olmadığı ve 3) KGR'de geliştirilen maruz kalma senaryolarına göre test yapılmayabilecek olan (maddeye özel maruz kalmaya dayalı test) durumlarda Ek 7-10'da belirtilen standart test gerekliliklerinin uyarlanması için genel kuralları belirleyen Ek 11'e göre de uyarlanabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.5 Bölüm R.5.1 "Maruz kalmaya dayalı feragat").

Ek 7-10'un giriş bölümlerinin, aşındırıcı maddelerle aşındırıcılığa neden olan konsantrasyon/doz seviyelerinde *in vivo* testten kaçınılmasını gerektirdiği de unutulmamalıdır.

Standart bilgi gerekliliklerini etkileyebilecek faktörler arasında, diğer toksisite çalışmalarının sonuçları, maddenin anında parçalanması, belirli doku ve organlarda maddenin veya metabolitlerinin birikmesi, belirli bir tonaj seviyesinde gerekli testte NOAEL tanımlanamaması, özel önem arz eden toksisite, maruz kalma yolu, bilinen toksik bir maddeyle yapısal ilişkiler, maddenin fiziko-kimyasal özellikleri ve kullanım ve insan maruz kalma modellerini içerir. Bu uyarlamalar, [Bölüm R.7.5.6](#)'da sunulan aşamalı Bütünleşik Test Stratejisinde (BTS) ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

R.7.5.3 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine bilgi kaynakları

Tekrarlı doz toksisitesi dahil toksikolojik bilgiler, halka açık çalışma raporlarından (örn. Ulusal Kanseri Enstitüsü'nden) ve risk değerlendirme kuruluşlarından/kurumlarından (örn. EFSA veya Avrupa Komisyonu'ndan uzman panelleri), yayınlanmamış çalışmalardan, veri tabanlarından ve kitaplar, bilimsel dergiler, kriter belgeleri, monograflar ve diğer yayınlar gibi yayınlardan elde edilebilir (daha fazla genel rehberlik için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.3). Tekrarlı doz toksisitesi verilerini içeren faydalı veritabanları çevrimiçi olarak mevcuttur. Ücretsiz şekilde erişilebilen veri tabanlarının bazı örnekleri, Fraunhofer ITEM RepDose veritabanı (<http://fraunhofer-repdose.de/>), ABD EPA ToxRefDB (<http://www.epa.gov/comptox/toxrefdb/>), ECHA CHEM (www.echa.europa.eu) veritabanlarıdır. Son üç veritabanı da OECD QSAR Araç Kutusu (www.qsartoolbox.org) içinde ücretsiz olarak mevcuttur.

Tekrarlı doz toksisitesi ile ilgili bilgiler, diğer sonlanma noktaları, yapısal analoglar ve fiziko-kimyasal özellikler hakkındaki verilerden de elde edilebilir.

KKDİK, bilginin mümkün olduğunda omurgalı hayvan testleri dışında başka yollarla oluşturulmasını gerektirir. Omurgalı hayvanlar üzerinde yapılan testler yalnızca son çare olarak yapılmalıdır. Bu nedenle, bir maddenin zararlı özelliklerini belirlemek için yeni testler yapılmadan önce, mevcut tüm bilgiler, KKDİK Yönetmeliği Ek 6'nın 1. adımına göre toplanmalı ve değerlendirilmelidir (bkz. Bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin genel rehberlik hakkında [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.4).

R.7.5.3.1 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan dışı veriler

R.7.5.3.1.1 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal veriler

Bir maddenin fiziko-kimyasal özellikleri, test edilen maddenin seyreltilmesi ve dozlanması için uygun bir taşıyıcı seçerken, deneysel *in vivo* tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında uygulanacak uygun bir uygulama yoluna karar verirken ve testin teknik olarak mümkün olmadığı durumlarda testten muaf olmaya karar verilirken dikkate alınacak temel unsurlardır.

Oral, soluma ve deri yoluyla emilimle ilgili fiziko-kimyasal verilerin yorumlanmasına ilişkin rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım Bölüm R.7c, Bölüm R.7.12.2.1'de bulunabilir.

(Q)SAR modelleri

Diğer bazı sonlanma noktaları ile karşılaştırıldığında, düzenleyici bir bağlamda tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için (Q)SAR modellerini kullanma olasılığı sınırlıdır. Bu sınırlama, sistemik etkileşimlerin karmaşıklığı ve tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında yer alan etkiler nedenlidir. Bu karmaşıklığı hesaplama araçlarıyla tahmin etmek zordur. Bu nedenle, (Q)SAR modellerinin kullanımı, nicel yapı aktivite ilişkilerinden gelen tarama ve mekanik bilgilerin (hedef organların ve metabolitlerin tahmini dahil) mevcut *in vivo* çalışmaları destekleyebileceği *Kanıt Ağırlığı* hususları bağlamında görülmelidir. Tekrarlı doz toksisitesi için (çoğunlukla ticari) (Q)SAR modelleri, [Ek R.7.5-2](#) *tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için nicel yapı aktivite ilişkileri* içerisinde açıklanmaktadır.

Nicel yapı aktivite ilişkilerinin mevcudiyeti ve uygulaması hakkında daha kapsamlı rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6'da (ayrıca bkz. OECD, 2014) ve ECHA web sitesinde bulunan ECHA [Uygulamalı Rehberi 5](#) "Nicel yapı aktivite ilişkileri nasıl kullanılır ve raporlanır" bölümünde mevcuttur.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Hem çapraz okuma hem de ilgili kimyasal kategori kavramını içeren gruplandırma kavramı, OECD HPV programı (OECD 2007a) kapsamında geliştirilmiştir. Bu, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.5'te belirtilen özel koşullar karşılandığında test yapmaya gerek kalmadan veri boşluklarını doldurmak için kullanılacak bir yaklaşımdır.

Kimyasal kategorilerin uygulanmasına ilişkin kapsamlı rehberlik/çapraz okuma, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6'da mevcuttur (ayrıca bkz. OECD, 2014).

Çapraz okuma değerlendirmesine ilişkin daha detaylı öneriler, ECHA Çapraz Okuma Değerlendirme Çerçevesi (RAAF) içerisinde bulunabilir (bkz. <http://echa.europa.eu/en/support/grouping-of-substances-and-read-across>). OECD QSAR Araç Kutusu gibi yazılımlar, analoglar için veri bulmak ve çapraz okuma durumlarını desteklemek için kullanılabilir. OECD eChemPortali (http://www.echemportal.org/echemportal/index?pageID=0&request_locale=en), uygun analoglar hakkında daha fazla veri toplamak için kullanılabilir.

R.7.5.3.1.2 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test verileri*İn vitro veriler*

Halihazırda, hayvan testlerine mevcut hiçbir alternatifin, tekrarlı maruz kalmadan sonra toksisiteyi tespit etmek için kendi başına düzenleyici amaçlar için yeterli olduğu düşünülmemektedir. Son on yılda çok sayıda *in vitro* sistem geliştirilmiş ve EURL ECVAM raporlarında (Worth ve Balls, 2002; Prieto ve ark., 2005; Prieto ve ark., 2006; Zuang ve ark., 2015) ve yayınlarda (Alder ve ark., 2011) tartışılmış ve özetlenmiştir. Şu anda, bu raporlarda listelenen *in vitro* modeller araştırma ve geliştirme düzeyindedir ve doku, hücre ve moleküler seviyelerde organ toksisitesi türlerini incelemek veya hedef organ toksisitesinin mekanik yönlerini değerlendirmek için çok yararlı olsalar da, tekrarlı doz toksisitesi tahmin amaçları için kullanılamazlar. Bu modellerin bazı sınırlamaları, örneğin kinetik ve biyodönüşümü hesaba katmak için mevcut hücre kültürü sistemlerinin sınırlı kapasitelerini, *in vitro* sistemlerden NOAEL gibi değerleri türetme zorluğunu ve *in vitro* deneyler için insan maruz kalma konsantrasyonlarına uyarılma için ilgili olan doz/konsantrasyon seçimini içerir. Mevcut *in vitro* sistemlerin daha fazla geliştirilmesi ve optimizasyonunun yanı sıra genel ve hücre tipine özgü toksisite mekanizmaları veya *in vivo* toksik etkilerin ifadesi ile ilgili sonlanma noktalarının seçimi devam etmektedir. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi yeni teknolojiler, uzun süreli toksik cevap sürecinin erken aşamalarında ortaya çıkan ve mekanik olarak altta yatan patolojiye bağlı olan belirli toksisite belirteçlerinin tanımlanmasına yardımcı olabilir. Bir EURL ECVAM çalıştay raporu (Prieto ve ark., 2006) fizyolojik tabanlı kinetik (PBK) modellemeyi, biyobelirteçlerin kullanımını ve omik teknolojilerini birleştirerek *in vitro* tekrarlı doz toksisitesini değerlendirmek için önerilen bir yaklaşımı içerir. Bununla birlikte, bu bütünlük yaklaşım hala geliştirme ve değerlendirme aşamasındadır ve düzenleyici amaçlar için hazır değildir.

Geliştirilmekte olan alternatif yöntemlerin durumuna ilişkin en son bilgiler EURL ECVAM web sitesinden (<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>) ve alternatif yöntemlerin doğrulanması için diğer uluslararası merkezlerinkilerden elde edilebilir. Kayıt ettirenlere ayrıca potansiyel yeni test rehberleri ve test rehberi güncellemeleri için Test yöntemleri ve alternatifleriyle ilgili ECHA web sayfasındaki (<http://echa.europa.eu/support/testing-methods-and-alternatives>) ve OECD web sitesindeki (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>) güncellemeleri takip etmeleri önerilir.

Çapraz okumayı veya kanıt ağırlığı yaklaşımını desteklemek için *in vitro* yöntemler kullanılabilir.

İnsan hücre hatlarını kullanan, özellikle metabolizma üzerine *in vitro* veriler, çalışmanın yorumlanmasına yardımcı olabilir ve böylece gereksiz hayvan deneyleri ihtiyacını ortadan kaldıracaktır.

Şu anda, iyi karakterize edilmiş hedef organ ve hedef sistem modellerinden elde edilen *in vitro* test verileri, örn. etki şekilleri/toksisite mekanizmaları, gözlemlenen tekrarlı doz toksisitesinin yorumlanmasında faydalı olabilir. Bu bağlamda, OECD kimyasallar programı kapsamında geliştirilen Olumsuz Etki Oluşum Yolları (AOP) gibi yaklaşımlar, *in vitro* yöntemlerin kullanımından elde edilenler de dahil olmak üzere farklı kanıt parçalarının bütünlleştirilmesine yardımcı olur (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>).

Hayvan verileri

Zararlılık karakterizasyonu ve risk değerlendirmesinde kullanılmak üzere tekrarlı doz toksisitesine ilişkin en uygun veriler, öncelikle uluslararası kabul görmüş test rehberlerine uygun olarak deney hayvanlarında yapılan çalışmalardan elde edilir. Bazı durumlarda, geleneksel test rehberlerine uymayan tekrarlı doz toksisite çalışmaları da bu sonlanma noktası için ilgili bilgileri sağlayabilir.

Dikkatlice değerlendirilirse, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının potansiyel olarak üreme sistemi toksisitesi ve kanserojenite (örn. pre-neoplastik lezyonlar) hakkında bilgi sağlayabileceği unutulmamalıdır.

Tekrarlı doz toksisitesi için mevcut AB/OECD test rehberi çalışmalarından elde edilebilecek bilgiler aşağıda kısaca özetlenmiştir.

[Tablo R.7.5-1](#), bu OECD test rehberi çalışmalarında incelenen parametreleri daha ayrıntılı olarak özetlemekte ve çeşitli çalışmalar arasındaki benzerlik ve farklılıklara genel bir bakış sunmaktadır. En az 1000 mg/kg va/günlük tek bir doz seviyesi veya tek bir sınır konsantrasyon kullanan bir sınır testinde herhangi bir olumsuz etki gözlenmezse, 3 doz seviyesi kullanan tam bir çalışmanın gerekli olmadığı dikkate alınmalıdır.

AB Test Yöntemleri (TM) Yönetmeliği Ekinde (440/2008 Sayılı Konsey Tüzüğü (EC)) verilen test rehberlerinin başlangıçta OECD test rehberlerine (<http://www.oecd.org>) karşılaştırılabilir olduğu unutulmamalıdır (<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>). Bununla birlikte, tekrarlı doz toksisitesi için birkaç OECD test rehberi (örneğin OECD Test Rehberi 407, 412, 413) yakın zamanda önemli yeni bilgilerle güncellenmiştir ancak bu değişiklikler henüz AB TM Yönetmeliğinde uygulanmamıştır. AB TM Yönetmeliğinin test rehberlerinin güncellenmiş OECD test rehberleriyle uyumlu hale getirilmesi biraz zaman gerektirdiğinden, yeni testlerin yürütülmesi için bir test rehberinin (OECD Test Rehberi ve/veya AB yöntemi) en son güncellemesi kullanılmalıdır. Çalışma protokollerinin diğer ayrıntıları, ilgili test rehberlerinde açıklanmıştır.

- **Tekrarlı doz 28 günlük toksisite çalışmaları:**

Oral uygulama (OECD Test Rehberi 407/B.7), dermal uygulama (OECD Test Rehberi 410/B.9) ve soluma (OECD Test Rehberi 412/B.8) kullanan çalışmalar için ayrı rehberler mevcuttur. OECD Test Rehberi 407 protokolü, nörotoksik potansiyelin, immünolojik etkilerin veya üreme organı toksisitesinin tanımlanmasını sağlayan şekilde cilt ve soluma uygulaması için olanlara kıyasla ek parametreler içermesine rağmen, bu çalışma protokollerinin prensibi aynıdır. Ek olarak, OECD Test Rehberi 407, belirli endokrin aracılı etkilerin diğer toksikolojik etkilerle bağlam içine alınmasına izin verir.

28 günlük çalışmalar, hayvanların yaşam süresinin nispeten sınırlı bir döneminde genç yetişkin hayvanların maddeye maruz kalmadan kaynaklanan toksikolojik etkiler hakkında bilgi sağlar.

Etkilerin kalıcılığı ve tersinirliği ile ilgili ek bilgiler, ek kontrol ve en yüksek doz uydu gruplarının kullanılmasıyla elde edilebilir.

- **Tekrarlı doz 90 günlük toksisite çalışmaları:**

Oral uygulama (OECD Test Rehberi 408 ve 409/B.26 ve B.27, sırasıyla kemirgen ve kemirgen olmayan türlerde), deri uygulaması (OECD Test Rehberi 411/B.28) veya soluma (OECD Test Rehberi 413/B.29) kullanan çalışmalar için ayrı rehberler mevcuttur.

Revize edilmiş OECD Test Rehberi 408 protokolü, nörotoksik potansiyelin, immünolojik etkilerin veya üreme organı toksisitesinin tanımlanmasını sağlayan deri ve soluma uygulamalarına kıyasla ek parametreler içermesine rağmen, bu çalışma protokollerinin prensibi aynıdır.

90 günlük çalışmalar, süttten kesilme sonrası olgunlaşmayı ve yetişkinliğe kadar büyümeyi kapsayan sub-kronik maruz kalmadan (hayvanların yaşam süresinde uzun bir süre) kaynaklanan genel toksikolojik etkiler, hedef organlar ve maddenin potansiyel birikimi hakkında bilgi sağlar.

Etkilerin kalıcılığı ve tersinirliği ile ilgili ek bilgiler, ek kontrol ve en yüksek doz uydu gruplarının kullanılmasıyla elde edilebilir.

- **Kronik toksisite çalışmaları:**

Kronik toksisite çalışmaları (OECD Test Rehberi 452/B.30), hayvanların yaşam süresinin büyük bir bölümünü kapsayan uzun bir süre boyunca tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan toksikolojik etkiler hakkında bilgi sağlar. Kronik toksisite çalışmalarının süresi en az 12 ay olmalıdır.

Birleşik kronik toksisite/kanserojenlik çalışmaları (OECD Test Rehberi 453/B.33), neoplazi dışındaki patolojinin değerlendirilmesi için ek bir yüksek doz uydu grubu içerir. Uydu grubu en az 12 ay maruz bırakılmalı ve çalışmanın kanserojenlik kısmındaki hayvanlar, hayvanların normal yaşam sürelerinin çoğu boyunca çalışmada tutulmalıdır.

İdeal olarak, kronik çalışmalar genel toksisite etkilerinin (fizyolojik, biyokimyasal ve hematolojik etkiler, vb.) tespitine izin vermeli, ancak aynı zamanda maddenin nörotoksik, immünotoksik, üreme ve kanserojen etkileri hakkında bilgi vermelidir. Bununla birlikte, 12 aylık çalışmalarda, uzun bir latent dönem gerektiren veya birikimli olan, belirli olmayan yaşam kısaltıcı etkiler muhtemelen tespit edilemeyebilir. İlave olarak, birleşik çalışma, neoplastik etkilerin saptanmasına ve kanserojen potansiyelin ve yaşamı kısaltıcı etkilerin belirlenmesine izin verecektir.

- **Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisite çalışması:**

Birleşik tekrarlı doz toksisitesi/üreme tarama çalışması (OECD Test Rehberi 422¹⁰⁰), erkekler için minimum 4 hafta ve dişiler için yaklaşık 63 gün (hayvanların yaşam süresinde nispeten sınırlı bir süre) boyunca tekrarlı maruz kalmadan (genellikle oral maruz kalma) kaynaklanan toksikolojik etkiler ve üreme toksisitesi hakkında bilgi sağlar. Tekrarlı doz toksisitesi bölümü için, OECD Test Rehberi 407/B.7'ye kıyasla maruz kalma süresinin (dişi hayvanların) OECD Test Rehberi 422'de daha uzun olduğu gebe dişilerin kullanımı dışında, OECD Test Rehberi 422, OECD Test Rehberi 407/B.7 ile uyumludur.

Subkronik toksisiteyi (OECD Test Rehberi 407) test etmek için kullanılan hayvanların, bir birleşik tekrarlı doz toksisitesi/üreme tarama çalışmasında (OECD Test Rehberi 422; yetişkinler, 10-12 haftalık) kullanılan hayvanlardan genellikle daha genç (9 haftadan küçük gençler) olduğu belirtilmelidir. Bu yaş farkı, toksikokinetikte farklılıklara ve test edilecek maddenin toksisitesine hassasiyete neden olabilir.

- **Nörotoksisite çalışmaları:**

Kemirgenlerdeki nörotoksisite çalışması (OECD Test Rehberi 424/B.43), tekrarlı doz sistemik toksisite çalışmalarında gözlenen potansiyel nörotoksisiteyi daha fazla karakterize etmek için tasarlanmıştır. Kemirgenlerde yapılan nörotoksisite çalışması, yetişkin kemirgenlerde başlıca nöro-davranışsal ve nöro-patolojik etkiler hakkında ayrıntılı bilgi sağlayacaktır.

- **Organofosforlu maddelerin gecikmiş nörotoksisite çalışmaları:**

Gecikmiş nörotoksisite çalışması (OECD Test Rehberi 419 /B.38), organofosforlu maddelerin nörotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere özel olarak tasarlanmıştır. Bu çalışma, hayvanların yaşam süresinin nispeten sınırlı bir süresi boyunca tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan gecikmiş nörotoksisite hakkında bilgi sağlar.

¹⁰⁰ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

Tablo R.7.5–1 *İn vivo* tekrarlı doz toksisitesi testi rehberlerine genel bakış

Test	Tasarım	Sonlanma noktası
OECD Test Rehberi 407 (2008) (B.7) Kemirgenlerde tekrarlı doz 28 günlük oral toksisite çalışması	28 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 5 erkek ve 5 dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler Fonksiyonel gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel doku hasarının plazma veya serum belirteçleri (isteğe bağlı) Östrus döngüsü (isteğe bağlı) T3, T4, TSH (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji
OECD Test Rehberi 410 (1981) (B.9) Tekrarlı doz dermal toksisite: 21/28 günlük çalışma	21/28 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 5 erkek ve dişi Sıçan, tavşan veya gine domuzu	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji
OECD Test Rehberi 412 (2009) (B.8) Tekrarlı doz soluma toksisitesi: 28 günlük veya 14 günlük çalışma	28 veya 14 gün boyunca maruz kalma En az 3 konsantrasyon (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 5 erkek ve 5 dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya Bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvı analizi (isteğe bağlı) İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji

<p>OECD Test Rehberi 408 (1998) (B.26) Kemirgenlerde tekrarlı doz 90 günlük oral toksisite çalışması</p>	<p>90 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 10 erkek ve 10 dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan</p>	<p>Klinik gözlemler Oftalmolojik inceleme Fonksiyonel gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya İdrar analizi Genel nekropsi Organ ağırlıkları</p>
<p>OECD Test Rehberi 409 (1998) (B.27) Kemirgenlerde tekrarlı doz 90 günlük oral toksisite çalışması</p>	<p>90 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 4 erkek ve dişi Yaygın olarak kullanılan kemirgen olmayan hayvanlar: köpek</p>	<p>Klinik gözlemler Oftalmolojik inceleme Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya İdrar analizi Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji</p>
<p>OECD Test Rehberi 411 (1981) (B.28) Subkronik dermal toksisite: 90 günlük çalışma</p>	<p>90 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 10 erkek ve dişi Sıçan, tavşan veya gine domuzu</p>	<p>Klinik gözlemler Oftalmolojik inceleme Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji</p>
<p>OECD Test Rehberi 413 (2009) (B.29) Subkronik soluma toksisitesi: 90 günlük çalışma</p>	<p>90 gün boyunca maruz kalma En az 3 konsantrasyon (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 10 erkek ve dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan</p>	<p>Klinik gözlemler Oftalmolojik inceleme Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji Klinik biyokimya Bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvı analizi (isteğe bağlı) İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji</p>

<p>OECD Test Rehberi 452 (2009) (B.30) Kronik toksisite çalışmaları</p>	<p>12 ay maruz kalma (daha uzun veya daha kısa süre kullanılabilir, ancak yeterince gerekçelendirilmelidir)</p> <p>En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol</p> <p>Kemirgenler: Grup başına en az 20 erkek ve 20 dişi</p> <p>Kemirgen olmayanlar: Grup başına en az 4 erkek ve 4 dişi</p> <p>Tercih edilen kemirgen türü: sıçan</p> <p>Tercih edilen kemirgen dışı tür: köpek</p>	<p>Nörolojik değişiklikler dahil klinik gözlemler</p> <p>Oftalmolojik inceleme</p> <p>Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi</p> <p>Hematoloji</p> <p>Klinik biyokimya</p> <p>İdrar analizi</p> <p>Genel nekropsi</p> <p>Organ ağırlıkları</p> <p>Histopatoloji</p>
<p>OECD Test Rehberi 453 (2009) (B.33) Birleşik kronik toksisite/kanserojenite çalışmaları</p>	<p>12 ay maruz kalma (daha uzun veya daha kısa süre kullanılabilir, ancak yeterince gerekçelendirilmelidir) veya normal yaşam süresinin çoğu (kanserojenlik kısmı)</p> <p>En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol</p> <p>Kronik toksisite: Grup başına en az 10 erkek ve 10 dişi</p> <p>Kanserojenite: Grup başına en az 50 erkek ve 50 dişi</p> <p>Tercih edilen kemirgen türü: sıçan</p> <p>Tercih edilen kemirgen dışı tür: köpek</p>	<p>Esasen, kronik toksisite için Test Rehberi 452'deki gibi</p>

OECD Test Rehberi 422 ¹⁰¹ (2016) Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışması	Çiftleşmeden 2 hafta önce başlayarak minimum 4 hafta (erkekler) veya en azından doğum sonrası 13. güne kadar ¹⁰² (dişiler - en az 9 hafta maruz kalma) maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 10 erkek ve 12-13 dişi Tür: sıçan	Test Rehberi 407'deki gibi klinik gözlemler Test Rehberi 407'deki gibi fonksiyonel gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Test Rehberi 407'deki gibi hematoloji Hormonal ölçümler (tiroid hormonu) Klinik biyokimya İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Organ ağırlıkları
OECD Test Rehberi 424 (1997) (B.43) Kemirgenlerde nörotoksikite çalışması	En az 28 gün maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol; Grup başına en az 10 erkek ve 10 dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan	Detaylı klinik gözlemler Fonksiyonel gözlemler Oftalmolojik inceleme Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji (tekrarlı doz sistemik toksisite çalışması ile birlikte ise) Klinik biyokimya (tekrarlı doz sistemik toksisite çalışması ile birlikte ise) Histopatoloji
OECD Test Rehberi 419 (1995) (B.38) Organofosforlu maddelerin gecikmiş nörotoksitesisi: 28 günlük tekrarlı doz çalışması	28 gün boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 12 kuş Tür: evcil yumurta tavuğu	Detaylı klinik gözlemler Vücut ağırlığı Klinik biyokimya Genel nekropsi

- **Tekrarlı doz toksisitesi hakkında bilgi sağlayan diğer çalışmalar:**

Tekrarlı doz toksisitesini araştırmayı amaçlamasa da, deney hayvanlarının tekrarlı maruz kalmasını içeren diğer mevcut OECD/AB test rehberi çalışmaları, tekrarlı doz toksisitesi hakkında yararlı bilgiler sağlayabilir. Bu çalışmalar [Tablo R.7.5-2](#)'de özetlenmiştir.

Bir ve iki nesilli çalışmalar (OECD Test Rehberi 415 ve 416 /B.34 ve B.35) ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (OECD Test Rehberi 443/B.56)

¹⁰¹ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

¹⁰² OECD Test Rehberi 422 2016'da güncellenmiştir; OECD Test Rehberi 422'nin önceki versiyonuna göre, maruz kalma en azından doğum sonrası 4. güne kadardır.

Klinik toksisite belirtileri, vücut ağırlığı, seçilen organ ağırlıkları ve seçilen organların genel ve mikroskobik değişiklikleri kaydedildiği için uzun bir süre boyunca (ebeveyn hayvanlar için yaklaşık 90 gün) tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan genel toksikolojik etkiler hakkında bilgi sağlayabilir.

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (OECD Test Rehberi 414/B.31), üreme/gelişimsel toksisite tarama çalışması (OECD Test Rehberi 421¹⁰³) ve gelişimsel nörotoksisite çalışması (OECD Test Rehberi 426¹⁰³) klinik toksisite belirtileri ve vücut ağırlığı kaydedildikçe hayvanların ömrünün nispeten sınırlı bir süresi boyunca tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan genel toksikolojik etkilerin bazı göstergelerini verebilir.

Kanserojenlik çalışması (OECD Test Rehberi 451/B.32), neoplastik lezyonlar hakkındaki bilgilere ek olarak, klinik toksisite belirtileri, vücut ağırlığı ile organ ve dokuların genel ve mikroskobik değişiklikleri kaydedildikçe hayvanın yaşam süresinin büyük bir kısmında tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan genel toksikolojik etkiler hakkında bilgi sağlayacaktır.

İmmünotoksisiteyi araştırmak için şu anda OECD veya AB test yöntemi mevcut değildir. Bununla birlikte, "Sağlık Etkileri Test Rehberleri OPPTS 870.7800 İmmünotoksisite" referans alınabilir.

Tablo R.7.5–2 Tekrarlı doz toksisitesi hakkında bilgi veren diğer *in vivo* test rehberi çalışmalarına genel bakış

Test	Tasarım	Sonlanma noktaları (genel toksisite)
OECD Test Rehberi 443 (2012) (B.56) Genişletilmiş tek-nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması	Çiftleşme öncesinden (P) doğum sonrası 90-120. (F1) güne kadar 10 hafta maruz kalma (kısaltmak için belirli nedenler hariç). Kohort 1B uzatılması tetiklenirse, doğum sonrası 4. veya 21. güne (F2) kadar En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Doz grubu başına 20 hayvan (P nesli) üretmek için yeterli çiftleşme çifti, eğer tetiklenirse Kohort 1B uzatılması için 20 çiftleşme çifti Tetiklenirse, Kohort 2A, 2B ve/veya 3'ün her biri için doz grubu başına 10 erkek ve 10 dişi. Tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Klinik kimya Hematoloji Tiroid hormonları (T4 ve TSH) Klinik biyokimya İdrar analizi Sperm parametreleri Genel nekropsisi (yetişkinler) Dalak lenfosit alt popülasyon analizi Organ ağırlıkları Histopatoloji Endokrin etki şekli için belirli parametreler Belirli bir endişe durumunda gelişimsel nörotoksisite ve/veya belirli bir endişeye dayalı gelişimsel immünotoksisite hakkında özel araştırma

¹⁰³ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

OECD Test Rehberi 416 (2001) (B.35) İki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışması	Çiftleşmeden önce başlayarak çiftleşme döneminin sonuna kadar (erkekler) veya 2. neslin sütten kesilmesine kadar (dişiler) en az 10 hafta boyunca maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Doz grubu başına tercihen en az 20 gebe dişi olacak şekilde yeterli sayıda hayvan Tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Östrus döngüsü Sperm parametreleri Genel otopsi (tüm ebeveyn hayvanlar) Organ ağırlıkları Histopatoloji
OECD Test Rehberi 415 (1983) (B.34) Tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması	Erkekler: Çiftleşmeden önce başlayarak çiftleşme döneminin sonuna kadar en az bir spermatojenik döngü için maruz kalma Dişiler: Çiftleşmeden önce başlayarak 1. neslin sütten kesilmesine kadar en az iki hafta maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Doz grubu başına yaklaşık 20 gebe dişi verecek yeterli hayvan sayısı Tür: sıçan veya fare	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve gıda tüketimi Genel nekropsi Histopatoloji
OECD Test Rehberi 414 (2001) (B.31) Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması	İmplantasyondan itibaren en az beklenen doğumdan bir veya iki gün öncesine kadar maruz kalma En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol İmplantasyon bölgeleri olan yaklaşık 20 dişi hayvanla sonuçlanacak yeterli sayıda dişi Tercih edilen kemirgen türü: sıçan Tercih edilen kemirgen dışı tür: tavşan	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Tüm dişilerin makroskopik incelemesi
OECD Test Rehberi 421 ¹⁰⁴ (2016) Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi	Erkekler: Çiftleşmeden önce başlayarak çiftleşme döneminin sonuna kadar en az iki hafta boyunca maruz kalma Dişiler: Çiftleşmeden önce başlayarak en az doğum sonrası 13. güne kadar en az iki hafta boyunca maruz kalma ¹⁰⁵	Klinik gözlemler Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Östrus döngüsü Klinik kimya

¹⁰⁴ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

¹⁰⁵ OECD Test Rehberi 421 2016'da güncellenmiştir; OECD Test Rehberi 421'nin önceki versiyonuna göre, maruz kalma en azından doğum sonrası 4. güne kadardır.

	En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 10 erkek ve 12-13 dişi Tür: sıçan	Tiroid hormonları (T4) Genel nekropsi Organ ağırlıkları Histopatoloji
OECD Test Rehberi 426 ¹⁰⁴ (2007) Gelişimsel nörotoksisite çalışması	En azından implantasyondan başlayarak emzirme boyunca maruz kalma (doğum sonrası 21. gün) En az 3 doz seviyesi (sınır testi hariç) artı kontrol Grup başına en az 20 gebe dişi Tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi
OECD Test Rehberi 451 (2009) (B.32) Kanserojenite çalışmaları	Normal yaşam süresinin çoğunda, normalde 24 ay maruz kalma En az 3 doz seviyesi artı kontrol Grup başına en az 50 erkek ve 50 dişi Kemirgenler, tercih edilen tür: sıçan	Klinik gözlemler (tümör gelişimine özel dikkat) Vücut ağırlığı ve yiyecek/su tüketimi Hematoloji (isteğe bağlı) Klinik kimya (isteğe bağlı) İdrar analizi (isteğe bağlı) Genel nekropsi Histopatoloji

R.7.5.3.2 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan verileri

Zararlılık ve doz-cevap değerlendirmesi için tek dayanağı oluşturmaya yeterli insan verileri nadirdir. Mümkün olduğunda, güvenilir ve ilgili insan verileri hayvan verilerine göre tercih edilir ve genel *Kanıt Ağırlığına* katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, insanlarda pozitif bulguların bulunmaması, pozitif olan kaliteli hayvan verilerini hükümsüz kılmayabilir.

Bireylerin kasıtlı olarak kimyasal maddelere maruz kalmasıyla ilgili pratik ve etik hususlar nedeniyle gönüllü insan çalışmaları önerilmemektedir. Ancak, aşağıdaki insan verisi türleri halihazırda mevcut olabilir:

- Maruz kalan popülasyonlar üzerinde analitik epidemiyoloji çalışmaları. Bu veriler, insan maruz kalması ile biyolojik etki belirteçleri, kronik etkilerin erken belirtileri, hastalık oluşumu veya uzun süreli belirli ölüm riskleri gibi etkiler arasındaki bir ilişkiyi tanımlamak için yararlı olabilir. Çalışma tasarımları, vaka kontrol çalışmalarını, kohort çalışmalarını ve kesitsel çalışmaları içerir.
- Tanımlayıcı veya korelasyon epidemiyoloji çalışmaları. İnsan popülasyonları arasındaki hastalık oranlarındaki farklılıkları yaş, cinsiyet, ırk ve zamansal veya çevresel koşullardaki farklılıklara göre inceler. Bu çalışmalar, daha fazla araştırma için öncelikli alanların belirlenmesi amacıyla faydalı olabilir, ancak doz-cevap bilgisi için uygun olmayabilir.
- Vaka raporları, bir maddeye maruz kalan bir bireydeki veya bir grup bireydeki belirli bir etkiyi tanımlar. Genel olarak vaka raporları, özellikle maruz kalma belirli maddelere tek bir maruz kalma, kötüye kullanım veya istismarı temsil ediyorsa, zararlılık tanımlaması için sınırlı değere sahiptir.

- İnsan gönüllülerde kontrollü çalışmalar. Düşük maruz kalma toksikokinetik çalışmaları da dahil olmak üzere bu çalışmalar, risk değerlendirmesinde de kullanılabilir.
- Mesleki gözetimden elde edilen bilgiler (büyük kimya şirketleri, çalışan sağlığını izlemek ve yönetmek için genellikle rutin bir tıbbi izleme sistemine sahiptir).
- Pazarlama sonrası izleme verileri (örneğin, belirli tüketici ürünlerinden, kozmetik ürünlerinden).
- Meta analiz. Bu tür bir çalışmada, birden çok çalışmadan elde edilen veriler birleştirilir ve bağlı risk veya doz-cevap eğrisinin genel bir değerlendirmesi analiz edilir.

R.7.5.3.3 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine maruz kalma hususları

Maruz kalma, kullanım ve risk yönetimi önlemlerine ilişkin bilgiler, KKDİK Yönetmeliğinin Madde 11 ve Ek 6'sına (Bölüm 3) uygun olarak toplanmalıdır.

Bu tür bilgiler, KKDİK kapsamında tekrarlı doz toksisitesi hakkında ihtiyaç duyulan bilgilerin kapsamı ve niteliğinde bir uyarlamaya yol açabilir; maruz kalma hususları nedeniyle iki tür *uyarlama* mümkündür: bir çalışmanın maruz kalmaya dayalı feragatı veya daha sonraki çalışmaların maruz kalmaya dayalı olarak tetiklenmesi.

Tekrarlı doz toksisitesi bilgi gerekliliklerinin maruz kalmaya dayalı uyarlamaları hakkında daha ayrıntılı rehberlik Bölüm [R.7.5.4](#) (Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi) ve [R.7.5.6](#) 'da (Bütünleşik Test Stratejisi) verilmektedir.

Ayrıca, hayvan çalışmalarında kullanılacak en uygun uygulama yolu dikkate alınmalıdır (daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm [R.7.5.6.3.4](#)). İnsan maruz kalmasının i.v., i.m., s.c., i.p. gibi fizyolojik olmayan yolları, KKDİK Yönetmeliği uyarınca talep edilen hayvan testleri için genellikle uygun olmayan uygulama yolları olarak kabul edilir. Bu tür uygulama yollarını kullanan mevcut çalışmaların uygunluğunun vaka bazında değerlendirilmesi gerekir.

R.7.5.4 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Mevcut bilgilerin nasıl değerlendirileceğine dair genel rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.4 içerisinde verilmektedir.

R.7.5.4.1 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan dışı veriler

R.7.5.4.1.1 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test dışı veriler

Fiziko-kimyasal özellikler

Kayıt altına alınan bir kimyasal maddenin fiziko-kimyasal özellikleri, herhangi bir yeni deneysel *in vivo* tekrarlı doz toksisite çalışması yapılmadan önce her zaman dikkate alınmalıdır.

Bir maddenin fiziko-kimyasal özellikleri, maddenin belirli bir yola (oral, dermal veya solunum yolu) maruz kaldıktan sonra emilip emilemeyeceğini ve hedef organ/organlara ve doku/dokulara (veya aktif bir metabolitinin) ulaşma olasılığının olup olmadığını gösterebilir. Dolayısıyla, fiziko-kimyasal özellikler deneysel *in vivo* tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında uygulanacak en uygun uygulama yoluna karar vermede temel unsurlardır (bkz. Bölüm [R.7.5.4.3](#)).

Fiziko-kimyasal özellikler, testin teknik olarak mümkün olup olmadığına karar vermek için de önemlidir. Tekrarlı doz toksisitesi testi, KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 2'de belirtildiği gibi, maddenin özelliklerinin bir sonucu olarak çalışmayı yürütmek teknik olarak mümkün değilse (örneğin, kararsız maddeler kullanılmazsa veya maddenin suyla karıştırılması yangın veya patlamaya neden olabilir) yapılmaz. Ek 11 ayrıca, KKDİK Yönetmeliği Madde 14 (3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine, daha özellikle belirli bir yöntemin teknik sınırlamalarına ilişkin verilen rehber her zaman uyulması gerektiğini vurgulamaktadır.

Fiziko-kimyasal özelliklerin kullanımına ilişkin ek genel rehberlik, örneğin [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c'de toksikokinetikle ilgili Bölüm R.7.12'de verilmiştir.

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma yaklaşımı

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma, KKDİK Yönetmeliğinin standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için bir olasılık sunar. Çapraz okuma yaklaşımı yeterliyse, gereksiz testlerden kaçınılabilir. Çapraz okuma yaklaşımı ayrıca bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı kullanılan bir KKDİK bilgi gerekliliği için bir sonucu destekleyebilir.

Çapraz okumaya ilişkin rehber, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6 "QSAR ve kimyasalların gruplandırılması" içerisinde verilmektedir (ayrıca bkz. OECD, 2014). Kimyasalları gruplandırma tekniklerini tanımlamak için *kategori yaklaşımı* ve *analog yaklaşım* terimlerinin kullanıldığını belirtirken, *çapraz okuma* terimi her iki yaklaşımda da veri boşluklarını doldurma tekniği için ayrılmıştır. Bu rehber aynı zamanda gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımları geliştirmeye yönelik metodolojiye ilişkin öneriler de sunar. Ayrıca ECHA, uzmanlara çapraz okuma yaklaşımlarını değerlendirmek için şeffaf ve yapılandırılmış bir metodoloji sağlamak için bir RAAF geliştirmiş ve yayınlamıştır. RAAF tanımlaması ECHA'nın web sitesinde mevcuttur (<http://echa.europa.eu/en/support/grouping-of-substances-and-read-across>).

Bilgi gerekliliğini karşılamak için gereken çalışmaların farklı karmaşıklıkları (örn. anahtar parametreler, biyolojik hedefler) nedeniyle, çapraz okuma yaklaşımı her bilgi gerekliliği için dikkate alınmalıdır. Bu, çapraz okumanın (ve kategori yaklaşımının) söz konusu özelliğe özgü olduğu ve bu nedenle belirli bir çapraz okuma hipotezi ve münferit özellikleri tahmin etmek için gerekçelendirme gerektirdiği anlamına gelir.

KKDİK kapsamındaki bir gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımı bağlamında, bir kimyasal maddenin özelliklerinin başka bir maddeye ilişkin verilerden tahmin edilmesine temel oluşturan bilimsel iddiaları veya hipotezleri doğrulamak için yeterli ve güvenilir destekleyici kanıtların sağlanması gerekmektedir. Destekleyici kanıt, incelenen maddenin özelliğini belirlemek için tek başına yeterli değildir, bunun yerine çapraz okuma hipotezinin güçlendirilmesine ve gerekçelendirilmesine katkıda bulunur. Durumu güçlendirmek amacıyla çapraz okumayı gerekçelendirmek için kullanılan birkaç kanıt yolu olabilir. Gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımlarını güçlendirmek için farklı destekleyici bilgi türlerinin (örn. toksikokinetik veriler, metabolomikler, yüksek verimli tarama verileri, ...) potansiyeli, ECHA dahilinde 19-20 Nisan 2016 tarihinde düzenlenen düzenleyici bilimde yeni yaklaşım metodolojilerinin kullanımına ilişkin bir atölye çalışmasından elde edilmiştir (https://echa.europa.eu/view-article/-/journal_content/title/topical-scientific-workshop-new-approach-methodologies-in-regulatory-science).

Prencip olarak, çapraz okuma yaklaşımı uygulayarak bir özelliğin/etkinin varlığını veya yokluğunu tahmin etmek mümkündür. Etki/etkilerin bulunmadığının tahmin edilmesi için, tipik olarak, böyle bir iddiayı destekleyecek mekanik bir kavrayış mevcut değildir. Etkinin/etkilerin bulunmaması diğer savunmalarla, örneğin biyolojik hedef/hedeflere maruz kalma olmaması veya olumsuz bir sonuca yol açan biyolojik etkileşim eksikliğiyle açıklanabilir. Bu durumların çapraz okuma hipotezinde ve çapraz okuma gerekçesinde ele alınması ve kanıtlarla desteklenmesi gerekir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 1.5'in hükümleri, gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımlarının sonuçlarının "sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için yeterli olmasını" gerektirir.

Tekrarlı doz toksisite çalışmaları tipik olarak, gözlenen etkilerin gücüne dayalı olarak S&E ve DNEL değerleri türetmek için kullanılır (örneğin, çıkış noktası olarak tanımlanan NOAEL kullanımı). Bir tahmin için, bu, kaynak çalışma/çalışmalarının bir veya daha fazla kaynak madde için bir özelliğin bilinen değerlerinin tanımlanmasına izin vermesini gerektirir; bu, daha sonra hedef madde için aynı özelliğin bilinmeyen değerini tahmin etmek üzere kullanılır. Bu durumda, kaynak çalışmada gözlemlenen etki türünün ve gücünün, söz konusu hedef maddenin özelliğini eksik tahmin etmeden hedef madde için S&E ve/veya risk değerlendirme amaçlarıyla kullanılabilirliğini göstermek üzere kapsamlı bir bilimsel temel ve nicel destekleyici kanıt (örneğin toksikokinetik bilgi) sağlamak esastır.

KKS'de çapraz okuma ve/veya kategori yaklaşımlarının nasıl raporlanacağına ilişkin pratik hususlara ilişkin bilgiler, "REACH kaydı için bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için hayvan testlerine alternatifler nasıl kullanılır" başlığı altında [ECHA Uygulamalı Rehberi 6](#) içerisinde verilmiştir.

(Q)SAR

Bir madde için (Q)SAR analizi, belirli bir mekanizmanın oluşması ve tekrarlı maruz kalma durumunda olası organ veya sistemik toksisitenin belirlenmesi için göstergeler verebilir. Kimyasal zararlılığı belirlemek ve risk değerlendirmesine yardımcı olmak için (Q)SAR biliminin güvenilirliği, uygulanabilirliği ve genel kapsamı çeşitli gruplar ve organizasyonlar tarafından değerlendirilmiştir. Bu konuya ilişkin rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6 Bölüm R.6.1'de (ayrıca bkz. OECD, 2014) ve OECD Monograf No. 69'da (OECD 2007b) sunulmaktadır. Nicel yapı aktivite ilişkilerinin uygulanması, uygun raporlama formatlarına göre belgelendirilmelidir: QSAR model raporlama formatı (QMRF, bkz. Bölüm R.6.1.9) ve QSAR tahmin raporlama formatı (QPRF, bkz. Bölüm R.6.1.10).

Genel olarak, (Q)SAR yaklaşımları şu anda tekrarlı doz toksisitesi için yeterince doğrulanmamıştır ve sonuç olarak, bu alandaki bir test stratejisinde rutin kullanımlarına ilişkin kesin tavsiyeler yapılamaz. Tekrarlı doz toksisitesiyle ilişkili çok sayıda potansiyel hedef/mekanizma vardır ve günümüzde (Q)SAR modelleri serisi tarafından yeterince kapsanamaz. Bu nedenle, diğer destekleyici kanıtlar olmaksızın mevcut (Q)SAR modellerinden elde edilen negatif bir sonuç, toksikolojik zararlılığın olmadığını veya zararlılık sınıflandırmasına ihtiyaç olmadığını gösterdiği şeklinde yorumlanamaz. (Q)SAR modellemesinin diğer bir sınırlaması, N(L)OAEL dahil olmak üzere doz-cevap bilgilerinin sağlanmamasıdır. Benzer şekilde, doğrulanmış bir (Q)SAR modeli potansiyel bir toksikolojik zararlılığı tanımlayabilir, ancak bu yaklaşımdaki sınırlı güven nedeniyle, böyle bir sonuç tekrarlı doz toksisitesine göre zararlılık sınıflandırmasını desteklemek için yeterli olmayabilir.

Bazı durumlarda, (Q)SAR sonuçları, uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, diğer verilerle birlikte değerlendirildiğinde bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak kullanılabilir. Ayrıca, (Q)SAR verileri, uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, bir madde gruplandırma yaklaşımı içinde çapraz okuma yoluyla toksikolojik özellikleri değerlendirirken destekleyici kanıt olarak kullanılabilir. Pozitif ve negatif (Q)SAR modelleme sonuçları çapraz okuma değerlendirmesinde ve sınıflandırma amaçları için değerli olabilir.

R.7.5.4.1.2 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine test verileri

İn vitro veriler

Bölüm [R.7.5.3.1](#)'de daha önce bahsedildiği gibi, halihazırda mevcut *in vitro* araçlardan elde edilen veriler, tekrarlı doz toksisitesi için risk değerlendirmesi ve S&E ile ilgili olarak düzenleyici karar verme amacıyla kendi başlarına kullanılmak için yeterli görülmemektedir. Bununla birlikte, bu tür veriler, örneğin lokal hedef organ etkilerini tespit etmek ve/veya etki mekanizmalarını açıklığa kavuşturmak gibi, tekrarlı doz toksisitesinin değerlendirilmesinde yardımcı olabilir. Şu anda, düzenleyici amaçlar için doğrulanmış ve kabul edilmiş *in vitro* yöntemler olmadığından (Adler ve ark., 2011; Zuang ve ark., 2015), bu *in vitro* çalışmaların her birinin kalitesi ve sağlanan verilerin yeterliliği dikkatlice değerlendirilmelidir. Ayrıca, *in vitro* testlerde kullanılan konsantrasyonlar, *in vivo* maruz kalma koşulları ile karşılaştırılmalıdır.

Çeşitli çalışma yöntemlerinin sonuçlarının uygulanabilirliği ve geçerliliğinin değerlendirilmesi, bir çalışmanın yürütülmesinin kalitesinin değerlendirilmesi, verilerin tekrarlanabilirliği ve taşıyıcı, tekrar sayısı, maruz kalma/inkübasyon süresi, İLU uyumluluğu veya karşılaştırılabilir kalite açıklaması gibi hususlar için [BG ve KGD Rehberinin](#) R.4 ve R.5 Bölümlerinde genel rehberlik verilmektedir.

İlave olarak, olumsuz etki oluşum yollarından gelen bilgiler (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>), belirli bir toksikolojik sonlanma noktası için mevcut bilgilerin düzenlenmesine ve temel mekanizmayı anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulan bilgi boşluklarının belirlenmesine yardımcı olabilir. Ayrıca kimyasal zararlılık karakterizasyonuna yardımcı olabilir ve daha az hayvan kullanan veya hiç hayvan kullanmayan yeni test yaklaşımlarının geliştirilmesine rehberlik edebilir. Olumsuz Etki Oluşum Yolu yaklaşımları kanıt ağırlığı kavramı içerisinde kullanılabilir.

Hayvan verileri

Sub-akut ila kronik maruz kalmanın ardından hedef organ toksisitesi hakkında veri oluşturmak için tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının temel kavramı, deney hayvanlarına 2-4 hafta, 13 hafta veya daha uzun süreyle tekrarlı uygulama yapılmasıdır. Bu çalışmalardan Bölüm [R.7.5.3.1](#) 'de bahsedilmiş ve [Tablo R.7.5-1](#)'de özetlenmiştir.

İlave olarak, deney hayvanlarında yapılan diğer çalışmalar, tekrarlı doz toksisitesi hakkında faydalı bilgiler sağlayabilir. Şu anda çoğu alternatif yöntem (örn. (Q)SAR, *in vitro* testler) araştırma ve geliştirme aşamasında kalırken ve subkronik/kronik hayvan çalışmaları için vekil olarak hazır değilken, daha az hayvanla daha fazla verimlilik ve kullanım ve kaynakların daha iyi kullanılmasını sağlayarak risk değerlendirmesi için veri toplamayı iyileştirme fırsatları vardır. KKDİK kapsamında zorunlu olmasa da, diğer fırsatlar arasında, toksikokinetik verilerin tekrarlı doz toksisitesi testiyle bağlantılı olarak erken bir aşamada elde edilmesi ve böylelikle hayvan çalışmalarından ve risk değerlendirme sürecinde kullanılmak üzere maksimum miktarda bilginin alınmasının sağlanması yer alır.

Kayıt altına alınan bir madde için mevcut olan tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının sayısı, hiçbir çalışma olmamasından, bir doz aralığı bulma çalışması, 28 günlük bir tekrarlı doz toksisitesi rehber çalışması ve bazı maddeler için subkronik ve/veya kronik çalışmalar dahil olmak üzere bir dizi rehber çalışmasına kadar değişkenlik gösterebilir. Farklı türler ve maruz kalma yolları kullanan çalışmalar da olabilir. İlave olarak, bir hedef organ veya dokudaki kritik bir etkinin doğasını, mekanizmasını ve/veya doz-ilişkinini daha fazla araştıran özel toksisite çalışmaları da bazı maddeler için gerçekleştirilmiş olabilir.

Tekrarlı doz toksisite verilerinin değerlendirilmesi ve *Kanıt Ağırlığının* geliştirilmesi için aşağıdaki genel rehberlik sağlanmıştır:

- Toksikokinetik ve toksikodinamik veriler, bu türün insan risk değerlendirmesi için daha az ilgili olduğunu göstermedikçe, en hassas hayvan türleri üzerine yapılan çalışmalar önemli çalışmalar olarak seçilmelidir.
- Beklenen uygulama yolu/yolları, insan maruz kalmasının sıklığı ve süresi ile ilgili olarak uygun bir maruz kalma yolu, süresi ve sıklığını kullanan çalışmaların ağırlığı daha fazladır.
- Bir NOAEL veya Kıyaslama Dozu Güven Aralığı Alt Sınırının (BMDL) tanımlanmasını ve kapsamlı bir zararlılık tanımlamasını sağlayan çalışmaların ağırlığı daha fazladır.
- BMDL, bir NOAEL türetmek için paralel olarak veya güvenilir NOAEL olmadığında alternatif olarak kullanılabilir. İlave olarak, BMD yaklaşımı, mümkün olduğunda LOAEL-NAEL (olumsuz etki olmayan seviye) ekstrapolasyonuna tercih edilir.

- Daha uzun süreli çalışmalara, en ilgili NOAEL veya Kıyaslama Dozu Güven Aralığı Alt Sınırının belirlenmesinde daha kısa süreli tekrarlı doz toksisitesi çalışmasına kıyasla daha fazla ağırlık verilmelidir.
- Kritik etki/etkileri (doz-cevap ilişkileri ve insanlar için uygunluk açısından) ve hedef organ/organlar ve/veya doku/dokuları tanımlamak için yeterli kanıt mevcutsa, NOAEL veya Kıyaslama Dozu Güven Aralığı Alt Sınırının tanımlanmasında bu etkiyi araştıran belirli çalışmalara daha fazla ağırlık verilmelidir. Kritik etki, lokal ve sistemik bir etki olabilir.

Geleneksel rehberlere ve/veya İyi Laboratuvar Uygulamalarına göre gerçekleştirilmeyen tekrarlı doz toksisite çalışmalarından elde edilen veriler, risk değerlendirmesi ve S&E ile ilgili bilgiler sunabilir, ancak bu tür veriler ekstra dikkatli değerlendirme gerektirir. KKDİK Yönetmeliği Ek 11, İyi Laboratuvar Uygulamalarına göre yürütülmeyen mevcut çalışmaların veya Madde 14(3)'te belirtilen test yöntemlerinin (rehber çalışmaları) kullanımının KKDİK Madde 14(3) uyarınca gerçekleştirilen *in vivo* testlerin yerini alabileceği durumları özellikle tanımlar. Rehber dışı çalışmalardan elde edilen veriler, aşağıdaki koşullar karşılanırsa, KKDİK Madde 14(3)'te atıfta bulunulan ilgili test yöntemleriyle üretilen verilere eşdeğer olarak kabul edilmelidir:

- S&E ve/veya risk değerlendirmesinin amacı için yeterlilik;
- KKDİK Madde 14(3)'te atıfta bulunulan ilgili test yöntemlerinde araştırılması öngörülen anahtar parametrelerin yeterli ve güvenilir şekilde kapsanması;
- maruz kalma süresi ilgili bir parametre ise, KKDİK Madde 14(3)'te belirtilen ilgili test yöntemleriyle karşılaştırılabilir veya onlardan daha uzun maruz kalma süresi; ve
- çalışmanın yeterli ve güvenilir belgelendirilmesinin sağlanması.

Diğer tüm durumlarda, rehber dışı çalışmalar kanıtların toplam ağırlığına katkıda bulunabilir ancak bir maddenin zararlılık ve risk değerlendirmesi için tek başına kullanılamazlar. Bu nedenle, bu tür çalışmalar, tekrarlı doz toksisitesinin değerlendirilmesi için veya belirli bir tonaj seviyesinde tekrarlı doz toksisitesi için standart bilgi gerekliliklerinden muafiyet için tek dayanak olarak görev alamaz, yani bir maddeyi tekrarlı doz toksisitesi ile ilişkili olarak yeterince kontrol edilmiş olarak tanımlamak için kullanılamazlar.

Bir maddenin tekrarlı doz toksisitesi potansiyeli hakkında risk değerlendirmesi gerçekleştirmek ve tekrarlı maruz kalmadan kaynaklanan belirli hedef organ toksisitesi (BHOT Tekrar. Mrz. Kategori 1 veya Kategori 2) için SEA uyarınca S&E hakkında sonuca varmak için mevcut çalışmalardan yeterli bilgi mevcutsa, başka bir *in vivo* teste gerek yoktur. Bir **Kanıt Ağırlığı** analizine dayalı olarak, kritik etki/etkiler ve hedef organ/organlar ve doku/dokular tanımlanabildiğinde, doz-cevap ilişkileri ve kritik etki/etkiler için NOAEL ve/veya LOAEL değeri/değerleri oluşturulabildiğinde ve insanlar için uygunluk değerlendirilebildiğinde, mevcut bilgiler yeterli kabul edilir.

Tekrarlı maruz kalmanın ardından belirli hedef organlarda olası etkilerin 28 günlük çalışma süresi içinde gözlenemeyebileceğine dikkat edilmelidir. Ayrıca, 28 günlük ve 90 günlük oral ve soluma protokollerinin 28 günlük ve 90 günlük dermal protokollere kıyasla ek parametreler içerdiği gerçeğine de dikkat çekilmektedir.

Bir bütün olarak mevcut verilerin bu sonlanma noktasının net bir değerlendirmesini sağlamak için yetersiz olduğu düşünüldüğünde, kullanım modeli, insan maruz kalma potansiyeli, fiziko-kimyasal özellikler ve yapısal uyarılar dahil olmak üzere maddeye ilişkin mevcut tüm ilgili bilgiler göz önünde bulundurularak daha fazla test yapılması gerekliliği dikkate alınmalıdır. Test stratejisi Bölüm [R.7.5.6.3](#) içerisinde verilmiştir.

Nörotoksisite veya immünotoksisite veya belirli etki şekli hakkındaki mevcut verilerden elde edilen bilgiler değerlendirilmelidir.

Nörotoksisite ve immünotoksisite ile ilgili olarak, standart oral 28 günlük ve 90 günlük toksisite çalışmaları, bu tür etkileri tespit edebilen sonlanma noktaları içerir. Nörotoksisite göstergeleri arasında klinik gözlemler, fonksiyonel bir gözlemsel seri, motor aktivite değerlendirmesi ve omurilik ve siyatik sinirin histopatolojik incelemesi bulunur. İmmünotoksisite göstergeleri, hematolojik parametrelerdeki değişiklikleri, serum globulin düzeylerini, dalak ve timüs gibi bağışıklık sistemi organ ağırlıklarındaki değişiklikleri ve dalak, timüs, lenf düğümleri ve kemik iliği gibi bağışıklık organlarındaki histopatolojik değişiklikleri içerir. Standart oral 28 günlük ve 90 günlük çalışmalardan elde edilen veriler, nörotoksisite veya immünotoksisite kanıtlarını belirlediğinde, etkileri daha fazla araştırmak için başka çalışmalar gerekli olabilir.

İmmünotoksisite hakkında ek rehberlik, risk değerlendirmesi için İmmünotoksisite hakkında DSÖ/IPCS Rehberinde mevcuttur (DSÖ, 2012).

Endokrin bozuculara da daha fazla odaklanılmıştır. Zararlılık ve risk değerlendirmesiyle ilgili olarak, şu anda endokrin bozukluğu mekanizmasıyla bağlantılı tüm etkileri özel olarak tespit eden herhangi bir test yöntemi bulunmamaktadır. OECD kavramsal çerçevesindeki tarama ve testlerden elde edilen zararlılık verilerinin yorumlanmasını kolaylaştırmak için rehber (bkz. http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdworkrelatedtoendocrinedisrupters.htm#GD_Standar_dized_TG) 2012 yılında yayınlanmıştır (OECD, 2012).

Etki şekli analizi hakkında daha fazla Rehberlik, Etki şekli ve insan ilgisine ilişkin DSÖ/IPCS çerçevesinden elde edilebilir. Çerçeve, etki şekli hakkında bir *Kanıt Ağırlığı* analizi gerçekleştirmek için yapılandırılmış ve şeffaf bir yaklaşım sağlar (Meek ve ark., 2014).

Standart bir oral 28 günlük tekrarlı doz toksisitesi rehber çalışmasından (OECD Test Rehberi 407/B.7) veri mevcut değilse, 10 t/y düzeyinden başlayan tonaj seviyelerinde minimum tekrarlı doz toksisitesi veri gerekliliği (28 günlük çalışma) belirli durumlarda, *üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından* elde edilen sonuçlarla karşılanabilir (OECD Test Rehberi 422¹⁰⁶). Bu yaklaşımın bir avantajı, tek bir çalışmada tekrarlı doz toksisitesi ve üreme toksisitesi hakkında bilgi elde ederek test için kullanılan hayvan sayısında genel bir tasarruf sağlamaktır. İlave olarak, birleşik çalışmada hayvanların sayısı daha yüksektir (standart 28 günlük oral çalışmada cinsiyet başına 5'e kıyasla cinsiyet başına 10)¹⁰⁷ ve dozlama süresi, standart oral 28 günlük çalışmada olduğundan daha uzundur. Bu nedenle, birleşik çalışmadan tekrarlı doz toksisitesi hakkında daha fazla bilgi beklenebilir. Birleşik çalışmanın kullanılmasındaki olası komplikasyonlar, hem tekrarlı doz toksisitesini hem de üreme sistemi toksisitesini yeterince incelemek için yeterli doz seviyelerinin seçimini içerir. Ayrıca gebe ve gebe olmayan hayvanlar arasındaki hassasiyet farklılıkları nedeniyle sonuçların yorumlanması karmaşık olabilir ve özellikle çalışmada serum ve histopatolojik parametrelerin aynı anda değerlendirilmediği durumlarda genel toksisitenin değerlendirilmesi daha zor olabilir. Sonuç olarak, tekrarlı doz toksisitesinin değerlendirilmesi için birleşik çalışmanın kullanıldığı durumlarda, bu çalışmadan elde edilen verilerin kullanımı açıkça belirtilmelidir. Bu tür komplikasyonlara rağmen, bir maddenin tekrarlı doz toksisite potansiyelinin ilk zararlılık değerlendirmesi için, bu çalışma aynı zamanda üreme toksisitesi değerlendirmesiyle ilgili olduğunda, birleşik çalışmanın kullanılması önerilir.

¹⁰⁶ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

¹⁰⁷ Tüm yetişkin hayvanlar için üreme organlarının ve makroskopik lezyon gösteren tüm organların histopatolojik incelemesi gereklidir. Diğer tüm organlar, cinsiyet ve doz başına 5 hayvanda incelenir.

Genel olarak, *üreme ve gelişimsel toksisite çalışmaları* gibi bir test maddesinin tekrarlı uygulanmasını gerektiren toksikolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.5.3.1](#)), tekrarlı doz toksisitesinin değerlendirilmesine katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, bu tür toksikolojik çalışmalar, standart bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından elde edilen bilgileri nadiren sağlar ve bu nedenle, tekrarlı doz toksisitesinin değerlendirilmesi için tek dayanak olarak veya belirli bir tonaj seviyesinde tekrarlı doz toksisitesi için standart bilgi gerekliliklerinden muafiyet için kullanılamaz.

Akut toksisite, in vivo tahriş ve in vivo genotoksisite çalışmaları gibi çalışmalar, tekrarlı doz toksisitesinin genel değerlendirmesine sınırlı bilgi sağlar. Bununla birlikte, bu tür çalışmalar, tekrarlı doz toksisitesinde kullanılacak doz seviyelerine karar vermede faydalı olabilir ve ayrıca etkilerin doğası (lokal, sistemik) hakkında bazı bilgiler sağlayabilir.

Tekrarlı doz toksisitesi testi için doz seçimine ilişkin rehber (ayrıca bkz. [Tablo R.7.5-1](#)) AB ve OECD test rehberlerinde ayrıntılı olarak verilmektedir. Test maddesinin fiziko-kimyasal özellikleri veya biyolojik etkileriyle sınırlandırılmadıkça, en yüksek doz seviyesi toksisiteye neden olmak amacıyla seçilmelidir, ancak ölüm veya şiddetli acı çekilmemelidir.

KKDİK tarafından gerekli olmamakla birlikte, toksikokinetik çalışmalar, örneğin bir maddenin veya metabolitlerinin belirli dokularda veya organlarda birikmesi ve tekrarlı dozun toksisitesinin mekanik yönleri ve tür farklılıkları ile ilgili olarak tekrarlı doz toksisitesi verilerinin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında yardımcı olabilir. Toksikokinetik bilgi, doz seviyelerinin seçiminde de kullanılabilir. Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları yürütülürken, gözlemlenen uygulamaya bağlı toksisitenin emilim doygunluğuna ve detoksifikasyon mekanizmalarına neden olan aşırı yüksek dozların uygulanmasıyla ilişkili olmadığından emin olunmalıdır. Metabolizmanın doygunluğuna neden olan aşırı dozların kullanıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bir maddenin kolayca metabolize edilebildiği ve vücuttan atılabildiği daha ilgili ve gerçekçi maruz kalma seviyelerinde ortaya çıkan riski tanımlamada genellikle sınırlı değere sahiptir. Daha iyi tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının tasarlanmasında anahtar unsurun, yararlı metabolik ve toksikokinetik araştırmalardan elde edilen sonuçlara dayalı olarak uygun doz seviyelerinin seçilmesi olduğu öne sürülmektedir. Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının tasarımında ve değerlendirilmesinde toksikokinetik bilgilerin uygulanmasına ilişkin daha fazla ayrıntı, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7c'de toksikokinetik hakkındaki Bölüm R.7.12'de mevcuttur.

R.7.5.4.2 Tekrarlı doz toksisitesi üzerine insan verileri

Epidemiyolojik çalışmalar veya vaka raporları veya izleme programlarından elde edilen bilgiler şeklindeki insan verileri, zararlılık tanımlama sürecinin yanı sıra risk değerlendirme sürecinin kendisine de katkıda bulunabilir. Epidemiyolojik çalışmaların yeterliliğini değerlendirme kriterleri arasında, yeterli araştırma tasarımı, uygun bir hipotezin oluşturulması, maruz kalan ve kontrol gruplarının doğru seçilmesi ve karakterizasyonu, maruz kalmanın yeterli karakterizasyonu, hastalığın maruz kalmanın bir etkisi olarak gelişmesi için yeterli takip süresi, geçerli etki tespiti, önyargı ve karıştırıcı faktörlerin uygun şekilde değerlendirilmesi, uygun istatistiksel analiz ve bir etkiyi tespit etmek için makul istatistiksel güç yer alır. Bu tür kriterler Swaen (2006) tarafından daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır ve *Epidemiology Textbooks* (Epidemiyoloji Kitapları) kaynağından türetilebilir (Checkoway ve ark., 1989; Hernberg, 1991; Rothman, 1998).

İnsan deneysel çalışmalarından elde edilen sonuçlar genellikle, nispeten az sayıda denek, kısa maruz kalma süresi ve etkileri tespit etmede zayıf hassasiyetle sonuçlanan düşük doz seviyeleri gibi bir dizi faktörle sınırlıdır.

Zararlılık tanımlama ile ilgili olarak, insan verilerinin bağıl hassasiyet eksikliği, belirli zorluklara neden olabilir. Bu nedenle, hayvanlarda gözlemlenen belirli bir toksik tepkinin etki şeklinin insanlarla ilgili olmadığı kanıtlanmadıkça, negatif insan verileri hayvanlardaki pozitif bulguları geçersiz kılmak için kullanılamaz. Böyle bir durumda tam bir gereçlendirme gereklidir.

İnsan gönüllülerde test yapılmasının kesinlikle tavsiye edilmediği vurgulanmaktadır, ancak halihazırda mevcut olan kaliteli veriler mevcutsa, bunlar genel *Kanıt Ağırlığında* kullanılabilir.

R.7.5.4.3 Tekrarlı doz toksisitesi için maruz kalma hususları

R.7.5.4.3.1 Uyarlamalar

Maruz kalma durumları nedeniyle testten iki tür *uyarlama* mümkündür: bir çalışmanın maruz kalmaya dayalı feragatı ve daha sonraki çalışmaların maruz kalmaya dayalı olarak tetiklenmesi. Maruz kalmaya dayalı feragat hakkında daha fazla bilgi [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.5, Bölüm R.5.1'de mevcuttur. Tekrarlı doz toksisitesi için test gerekliliklerinin maruz kalmaya dayalı uyarlamaları hakkında daha ayrıntılı rehber aşağıda ve Bölüm [R.7.5.6](#)'da (Bütünleşik Test Stratejisi) verilmiştir.

R.7.5.4.3.2 En uygun uygulama yolu

Tekrarlı doz toksisitesi testiyle ilgili olarak, oral yol varsayılan yoldur çünkü çoğu maddenin sistemik yararlanımını (dahili doz) en yüksek düzeye çıkardığı varsayılmaktadır. Bununla birlikte, vaka bazında, diğer uygulama yollarının uygunluğu da değerlendirilmelidir. Bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine ve insan maruz kalmasının en ilgili yoluna bağlı olarak, deri veya soluma yolu da KKDİK Yönetmeliğinin Ek 8 ve 9'unda belirtildiği gibi uygun olabilir.

Deri yolu, imalatta ve/veya kullanımda maddenin deri teması olasılığı yüksekse ve fiziko-kimyasal (ve toksikolojik) özellikler, deri yoluyla önemli emilim oranı potansiyeli ve KKDİK Yönetmeliği Ek 8 Bölüm 8.6.1 ve/veya Ek 9 Bölüm 8.6.2 2. sütununda verilen kriterler dermal yolla testin uygunluğunu yerine getirdiğini gösteriyorsa uygundur. Deri emilimine ilişkin fiziko-kimyasal verilerin yorumlanmasına ilişkin rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c Tablo R.7.12-3'te bulunabilir.

Soluma yoluyla insanların maruz kalması, maddenin buhar basıncı ve/veya solunabilir boyuttaki aerosollere, partiküllere veya damlacıklara maruz kalma olasılığı hesaba katıldığında olasıysa, soluma yolu uygundur. Solunum yoluyla emilime ilişkin fiziko-kimyasal verilerin yorumlanmasına ilişkin rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c Tablo R.7.12-2'de bulunabilir.

Birden fazla yol uygunsa, en uygun uygulama yoluna karar verilmesi gerekir (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.5.6.3.4](#), "En uygun uygulama yolunun seçimi").

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için uygulama yolunun seçimini desteklemek üzere oral, deri ve/veya soluma yoluyla maruz kalmayı takiben emilim hakkında bilgi düşünülebilir (EFSA, 2012; SCCS, 2016).

İnsan maruz kalmasının i.v., i.m., s.c., i.p. gibi fizyolojik olmayan yolları, KKDİK Yönetmeliği uyarınca talep edilen hayvan testleri için genellikle uygun olmayan uygulama yolları olarak kabul edilir. Bu tür uygulama yollarını kullanan mevcut çalışmaların uygunluğunun vaka bazında değerlendirilmesi gerekir.

R.7.5.4.3.3 Diğer çalışmalar için gereklilikler

KKDİK Yönetmeliği Ek 8 ila Ek 10'a göre, kayıt ettiren tarafından ileri çalışmalar önerilmelidir veya örneğin aşağıdaki maruz kalma seviyelerine yol açan tüketici ürünlerinde kullanım gibi maruz kalmayla ilgili özel endişeler varsa ÇŞB tarafından istenebilir:

- insanlarda toksisitenin beklenebileceği doz seviyelerine yakın (Ek 8);
- insanlara toksisitenin beklenebileceği doz seviyelerinden daha yüksek (Ek 9);
- hayvan çalışmalarında toksisitenin gözlemlendiği doz seviyelerine yakın (Ek 10).

Kayıt ettiren tarafından önerilen veya ÇŞB tarafından talep edilen, maruz kalmayla tetiklenen tüm çalışmalar, durum bazında değerlendirilmelidir.

R.7.5.4.3.4 Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için feragat

Çeşitli maruz kalma türleri, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından *feragat* için olası bir temel oluşturur. Örneğin, KKDİK Madde 14 ve Ek 11 Bölüm 3'te, Ek 8 Bölüm 8.6 ve 8.7'ye (yani tekrarlı doz toksisitesi ve üreme sistemi toksisitesi) ve Ek 9 ve 10'a göre yapılan testlerin, Kimyasal Güvenlik Raporunda geliştirilen maruz kalma senaryosu/senaryolarına dayalı olarak yapılmayabileceği belirtilmiştir. Her durumda yeterli gerekçelendirme ve belgelendirme sağlanmalıdır ([BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.5, Bölüm R.5.1).

Ek 11, Bölüm 3.2 (a), bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından feragat etmek için çok katı sınırlar/gereklilikler belirler. Üç kriterin karşılanması gerekir: (i) "önemli maruz kalmanın olmaması veya hiç olmaması" ile ilgili, (ii) DNEL değerinin ilgili ve uygun olması ve (iii) "maruz kalmanın her zaman türetilen DNEL değerinin çok altında olmasını" gerektirir.

İkinci kriter, kullanılan DNEL değerinin "hem ihmal edilecek bilgi gerekliliği hem de risk değerlendirme amaçları için ilgili ve uygun" olmasını gerektirir. İlgili OECD veya AB test rehberine uygun bir alt kronik çalışmada kapsanan parametreler ve gözlemler göz önüne alındığında, diğer çalışma türlerinin ilgili ve uygun bilgileri sağlaması pek olası değildir. Örneğin, bir subkronik çalışma dışındaki çalışmalardaki test süresi veya histopatoloji sonuçları normalde bu standart bilgi gerekliliğini karşılamayacaktır. Bir istisna, çoğu durumda subkronik bir çalışma için bilgi gerekliliğini kapsayan kronik toksisite çalışmasıdır; ancak, kayıt ettirenin güvenilir kronik toksisite çalışma verilerine erişimi olması durumunda, maruz kalmaya dayalı bir uyarlamaya ihtiyaç duyulmayacaktır çünkü bir sütun iki uyarlaması uygulanabilir (bkz. Ek 9, Bölüm 8.6.2). Yasal metinde, Ek 11, Bölüm 3.2(a)(ii)'de belirtilen kriterle ilişkin bir dipnot, 90 günlük toksisite çalışmasından feragat etmek amacıyla 28 günlük bir toksisite çalışmasından türetilen bir DNEL değerinin kullanımını açıkça reddetmektedir. Bu nedenle, bu ikinci kriter genellikle karşılanmayacaktır ve sağlandığında bile Ek 11, Bölüm 3.2'deki uyarlama olasılığı uygulanamaz.

Potansiyel olarak daha muhtemel bir uyarlama olasılığı, maddenin yalnızca sıkı kontrol koşulları altında kullanıldığını gösteren belgelendirme gerektiren Ek 11, Bölüm 3.2(b)'de belirtilmiştir. Bu koşullar, yani kayıt ettirenin bu feragat olasılığını kullanması için uygulanması gereken teknikler, kontroller ve prosedürler, KKDİK Yönetmeliği Madde 18(4)'de belirtilmiştir.

Ek 11, Bölüm 3.2(c) "bir matrisle kalıcı olarak gömülü" maddelerle ilgilidir ve yalnızca bu özel durumlar için geçerlidir. Ek 11'in 3.1 ve 3.3 Bölümlerinin tek başına ya da bağımsız feragat olasılıkları değil, Bölüm 3.2'de belirtilen tüm uyarlamalar için geçerli olan genel gereklilikler olması dikkate değerdir.

Ayrıca, eğer "madde reaktif değilse, çözünebilir değilse, solunabilir değilse, eminilime ilişkin kanıt bulunmuyorsa ve 28 günlük 'sınır testinde' toksisite bulgusu görülüyorsa, özellikle de bu gibi bir örüntü insanda kısıtlı maruz kalmaya eşlik ediyorsa" KKDİK Yönetmeliği Ek 9'a göre sub-kronik toksisite çalışmasının (90 günlük çalışma) yürütülmesine gerek yoktur. Çalışmayı ihmal etmek için, yukarıda yorumlanan ön koşulların, aralarında "ve" kelimesi kullanıldığı için birlikte ele alınması gerekir. İlave olarak, sınırlı insan maruz kalması feragat olasılığını güçlendirecektir.

Yasal metinden alınan "*reaktif değilse*" terimi, doğal kimyasal reaktivite ile ilgili olabilir ve bu nedenle, lokal etki ve mutajenitenin olmadığı bir göstergesi olarak yorumlanabilir. "*Çözünebilir değilse ve solunabilir değilse*" terimleri, düşük maruz kalma potansiyelinin göstergeleri olarak yorumlanabilir ve daha fazla tanımlanmalıdır. "*Emilim kanıtı yok*" terimi, çalışmayı atlamak için emilim eksikliğine dair kanıt olması gerektiği anlamına gelir.

Ayrıca, "*28 günlük bir sınır testinde toksisite bulgusu görülüyorsa*", 90 günlük çalışmadan feragat etmek için en az 28 günlük bir sınır testinin olması gerektiği anlamına geldiği şeklinde yorumlanabilir ve bu 28 günlük çalışma 1000 mg/kg vücut ağırlığı dozunda herhangi bir toksisite belirtisi göstermemelidir.

"Kısıtlı maruz kalmanın" yorumlanması, maruz kalma seviyesini, maruz kalma sıklığını ve/veya süresini kapsmalıdır. Bu nedenle, "kısıtlı maruz kalma" duruma göre değerlendirilmelidir.

Son olarak, KKDİK Yönetmeliği Ek 8'e göre, "*insanda kısıtlı maruz kalmaya eşlik ediyorsa*" tekrarlı doz toksisitesi için testlerin (28 günlük çalışma) gerçekleştirilmesine gerek yoktur.

İlgili insan maruz kalması, maddenin doğal özelliklerine, popülasyonun maddeyle temas edip etmediğine ve maddenin nasıl kullanıldığına bağlıdır. Bu nedenle, feragat durum bazında düşünülebilir.

Toksikolojik endişe eşik değeri (TTC) kavramı, hayvanların ve diğer değerlendirme kaynaklarının kullanımını azaltmak için uygulanabilir (Kroes ve ark., 2004). TTC kavramının kullanımı aynı zamanda yeterli kalitede maruz kalma bilgisi elde etmek için bir itici güç olarak görülebilir. Bununla birlikte, kavramın endüstriyel kimyasal maddeler için uygulanıp uygulanmayacağına karar verirken dikkate alınması gereken bir dizi sınırlama veya dezavantaj vardır ve rehberle bütünleştirilmeden önce eşik değerleri hakkında daha fazla tartışmaya ihtiyaç vardır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7 Bölüm R.7c'de Ek R.7-1; TemaNord, 2005). Toksikolojik endişe eşik değeri (TTC) yaklaşımının bir incelemesi ve yeni TTC karar ağacının geliştirilmesi EFSA/WHO (2016) kaynağından edinilebilir.

R.7.5.4.4 Tekrarlı doz toksisitesi için kalan belirsizlik

Bir KGD için temel gereklilik, her maruz kalma senaryosu için DNEL değerlerinin türetilmesidir ([Şekil R.7.5-1](#)'deki kutu 5). Tekrarlı doz toksisitesi için DNEL, tek bir uygun tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından veya mevcut tüm tekrarlı doz toksisitesi verilerinin *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinden türetilen ve belirsizliği ve değişkenliği hesaba katan bir genel değerlendirme faktörü (AF) ile ilişkili olan, insanlarda etki gözlemlenmediği varsayılan bir seviyedir. Aşağıdaki unsurlar, kritik etkiler için bir eşğin belirlenmesinde ve değerlendirme faktörü seçiminde belirsizliğe katkıda bulunur (DNEL türetme ve değerlendirme faktörlerinin uygulanmasına ilişkin daha ileri rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8'de verilmiştir).

R.7.5.4.4.1 Kritik etkinin eşığı

Tekrarlı doz toksisitesi için genel eşğin belirlenmesinde, bir olumsuz etkiye neden olan en düşük dozu (yani LOAEL veya LOAEC) ve biyolojik ve/veya statik açıdan önemli olumsuz etkileri olmayan en yüksek seviyeyi (yani NOAEL veya NOAEC) belirlemek için tüm ilgili bilgiler değerlendirilir. Bu değerlendirmede tüm toksikolojik cevaplar hesaba katılır ve kritik etki belirlenir. Eşikteki belirsizlik, verilerin gücüne bağlıdır ve büyük ölçüde temelde yatan deneysel verilerin tasarımıyla belirlenir.

Kritik etki/etkiler eşigindeki belirsizliğin değerlendirilmesinde grup boyutu, çalışma tipi/süresi veya metodoloji gibi parametrelerin dikkate alınması gerekir.

NOAEL tipik olarak DNEL türetilmesi için başlangıç noktası olarak kullanılır. Bir NOAEL değerine ulaşılamaması durumunda, mevcut bilgilerin kapsamlı bir zararlılık değerlendirmesi ve S&E için yeterli olması koşuluyla LOAEL kullanılabilir.

BMD, DNEL türetilmesi için başlangıç noktası olarak da kullanılabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi Bölüm R.8](#) ve [EFSA, 2017](#)).

NOAEL veya LOAEL seçimi genellikle, doz-cevap eğrisinin şekli dikkate alınmadan, en ilgili toksisite çalışmasında kullanılan doz seviyelerine dayanır. Bu nedenle NOAEL/LOAEL, olumsuz etki için gerçek eşiği yansıtmayabilir. Öte yandan BMD, eşik belirlenmesi için istatistiksel bir yaklaşımdır ve doz- cevap eğrisine dayanır. Alternatif olarak, olumsuz bir etki için eşiği belirlemek üzere matematiksel eğri oluşturma teknikleri veya istatistiksel yaklaşımlar mevcuttur. Eşiği tahmin etmek için bu tür yaklaşımların (örn. BMD) kullanımı, duruma göre değerlendirilmelidir. Daha fazla rehberlik için [BG ve KGD](#) Rehberinin R.8 Bölümü incelenmelidir.

R.7.5.4.4.2 Genel değerlendirme faktörü

Türler arasında ve içinde hassasiyetteki değişkenlik, tekrarlı doz toksisitesi için başka bir belirsizlik kaynağıdır. Sırasıyla bu türler arası ve tür içi farklılıklar, bir maddenin toksikokinetiği ve dinamiğindeki değişikliklerle bağlantılıdır. Test dışı, *in vitro* veya *in vivo* yöntemlerden elde edilen bilgiler, hayvan verilerinin insan risk değerlendirmesi için uygunluğunun anlaşılmasında bir iyileşmeye yol açabilir ve bu farklılıklar için benimsenen standart varsayılan değerlendirme faktörlerinin değiştirilmesine yol açabilir.

Tüm veri tabanının kalitesi, farklı çalışmalar ve sonlanma noktaları arasında güvenilirlik ve tutarlılık açısından değerlendirilmeli ve test yönteminin kalitesi, çalışma tasarımının boyutu ve gücü, biyolojik olasılık, doz-cevap ilişkileri ve istatistiksel ilişki dikkate alınmalıdır.

Eksik test verilerinin yerine fiziko-kimyasal özelliklerden elde edilen test dışı veriler, yapısal veya mekanik olarak ilgili maddelere çapraz okuma (SAR/kimyasal kategorisi) olabilir. (Q)SAR tahminleri ve Olumsuz Etki Oluşum Yolları ayrıca bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak kullanılmak üzere bilgi sağlayabilir (Tekrarlı Doz Toksisitesi için (Q)SAR modelleri hakkında daha fazla ayrıntı için bkz. [Ek R.7.5-2](#) *tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için nicel yapı aktivite ilişkileri*). Veri boşluklarını doldurmak için *in vitro* veriler ve standart olmayan *in vivo* testler kullanılabilir. Standart OECD/AB rehberlerine göre toksisite testleri ile birlikte bu tür veriler, bazı durumlarda toksikolojik etkinin daha iyi anlaşılmasına ve sonuçta genel belirsizlikte bir azalmaya yol açabilir. Öte yandan, yalnızca *in vitro* ve test dışı verilere dayanan bilgiler şu anda tekrarlı doz toksisitesi verileri için bir vekil olarak kullanılmak üzere yetersizdir ve belirsizlik, bu bilgilerin KGD ve S&E için uygun olmayacağı ölçüde yeterince yüksektir. Kimyasal kategoriler söz konusu olduğunda, test dışı yöntemlerden veya *in vitro* verilerden elde edilen bilgiler, tekrarlı doz toksisitesi için veri gerekliliklerini karşılamak ve bir madde kategorisi içinde çapraz okuma için genel güvenilirlik ve tutarlılıkta gelişmeye yol açmak için kullanılabilir.

Farklı verilerin yeterliliği ve/veya tamlığı değişiklik gösterebileceğinden, genel veri tabanında kalite eksikliği ve eksiksizlik, kalan belirsizliği kapsayacak şekilde bir değerlendirme faktörü ile telafi edilmelidir.

Bu farklılıkları (türler arası ve tür içi, tüm veri tabanının kalitesi) ele alan değerlendirme faktörlerinin yanı sıra, insan ve hayvan maruz kalma koşulları arasındaki farklılıklarla ilgili diğer belirsizlikler (örn. uygulama yolu ve süre) ve doz-cevap özellikleri, DNEL türetme hakkındaki daha kapsamlı rehberde açıklanmıştır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8 Bölüm R.8.4.3).

R.7.5.4.4.3 Diğer hususlar

Test teknik olarak mümkün olmadığında başka bir durum (KKDİK Yönetmeliği Ek 11 Bölüm 2'de belirtilen feragat seçeneği) ortaya çıkabilir (ayrıca bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.5).

Bu gibi durumlarda, QSAR, kategori oluşturma ve çapraz okuma gibi yaklaşımlar zararlılık karakterizasyonunda yardımcı olabilir (daha fazla bilgi için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6 ve Kimyasalların Gruplandırılmasına İlişkin OECD Rehberi, İkinci Baskı (OECD, 2014)). Bu yaklaşımlar, bir doz tanımlayıcı için bir vekil olarak uygun olabilecek bilgilerin üretilmesi amacıyla da düşünülmelidir. Alternatif olarak, genel eşik yaklaşımları, örn. TTC, bir risk karakterizasyonunun başlangıç noktasını tanımlamak için düşünülebilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7 Bölüm R.7c Ek R.7-1).

R.7.5.5 Tekrarlı doz toksisitesi için varılan sonuçlar

Tekrarlı doz toksisitesi için mevcut tüm toksikolojik bilgilerin değerlendirilmesi ([Şekil R.7.5-1](#)'de adım 2).

Bir bütün olarak mevcut bilgilerin (yani test ve test dışı ve diğer sonlanma noktalarını ele alan çalışmalardan elde edilen ilgili bilgiler) KKDİK gerekliliklerini yerine getirmek için gerekli tonaj temelli veri gerekliliklerini karşılayıp karşılamadığına dair bir değerlendirme içermelidir. Bir maddenin veri tabanını değerlendirirken bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı kullanılmalıdır. Bu yaklaşım, tutarlılık ve biyolojik inandırıcılık için mevcut verilerin tümünün eleştirel bir değerlendirmesini gerektirir. Potansiyel olarak ilgili çalışmalar, kalite ve yüksek kaliteli çalışmalara, daha düşük kalitede olanlardan daha fazla ağırlık verilerek değerlendirilmelidir. Toksikite ile ilgili bireysel verilerin değerlendirilmesi, mevcut bilgilerin Değerlendirilmesine ilişkin [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.4'te belirtilen ilkeleri takip etmelidir. Hem epidemiyolojik hem de deneysel veriler mevcut olduğunda, insanlar ve hayvanlar arasındaki etkilerin benzerliğine daha fazla ağırlık verilir. Mekanizma veya etki şekli iyi karakterize edilmişse, bu bilgi insan veya hayvan çalışmalarında gözlemlenen etkilerin yorumlanmasında kullanılır. Bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, basitçe pozitif ve negatif çalışmaların sayısını hesaplamak olarak yorumlanamaz ve risk değerlendirmesi için başlangıç noktaları olarak uygun olabilecek münferit çalışmalarda belirlenen dozların veya maruz kalmaların ortalamasını belirtmez. Başlangıç noktası için kullanılan çalışma veya çalışmalar, mevcut tüm kanıtların bilgili ve uzman değerlendirmesi ile belirlenir. İnsanlarda potansiyel etkilerin bulunmamasını tahmin etmek için hayvan çalışmalarında etkilerin bulunmamasının önemi göz önüne alınmalıdır. Bu, özellikle diğer veri türlerinin bir etkiye işaret ettiği bir durumdur.

Mevcut tekrarlı doz toksisitesi verileri, tekrarlı maruz kalma durumunda sağlığa zararların karakterizasyonu için ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Bu süreçte, tüm toksikolojik etkilerin bir değerlendirmesi, bunların doz-cevap ilişkileri ve olası eşikler dikkate alınır. Değerlendirme, gözlemlenen etki/etkilerin olumsuz veya uyarlanabilir, tersinir veya tersinir olmayan veya daha önemli bir etkinin habercisi veya genel toksisiteye ikincil olup olmadığına dair etkinin ciddiyetinin bir değerlendirmesini içermelidir. Çeşitli parametrelerdeki değişiklikler arasındaki korelasyonlar (örn. klinik veya biyokimyasal ölçümler, organ ağırlıkları ve (histo)patolojik etkiler arasında) etkilerin doğasının değerlendirilmesinde yardımcı olacaktır. Bu konuya ilişkin daha fazla rehberlik Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS, 1994; 1999), ECETOC (2002) ve DSÖ (2016) yayınlarında bulunabilir.

Etki verileri ayrıca hedef organların veya belirli organ sistemlerinin potansiyel ciddi toksisitesi (örn. nörotoksikite veya immünotoksikite), gecikmiş etkiler veya kümülatif toksisite için de analiz edilir. Ayrıca değerlendirme, çalışma ayrıntılarını hesaba katmalı ve maruz kalma koşulları ve süresi ile incelenen parametrelerin toksikolojik etkinin / etkilerin yeterli bir karakterizasyonu için uygun olup olmadığını belirlemelidir.

Bir değerlendirme, tekrarlı doz toksisitesi bilgilerinin doz tanımlayıcı (NOAEL/LOAEL/BMDL) tahmini de dahil olmak üzere toksikolojik zararlılıkların kapsamlı bir karakterizasyonu için yeterli olduğu ve verilerin risk değerlendirmesi ve S&E için yeterli olduğu sonucuna varılmasına izin veriyorsa, KKDİK Yönetmeliği Ek 8-10 2. sütununa göre, daha fazla risk belirtisi olmadıkça başka testlere gerek yoktur.

Dikkate alınması gereken diğer bir husus, çalışma süresinin toksikolojik etkilerin yeterli bir şekilde ifade edilmesi için uygun olup olmadığıdır. Kritik etki, ciddi belirli sistem veya hedef organ toksisitesi (örn. hemolitik anemi, nörotoksisite veya immünotoksisite), gecikmiş etkiler veya kümülatif toksisite içeriyorsa ve bir eşik **belirlenmemişse**, doz ekstrapolasyonu uygun olmayabilir ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu durumda, gelişmiş bir zararlılık karakterizasyonu için özel bir çalışma muhtemelen daha uygun olacaktır ve bu aşamada standart bir kısa süreli kemirgen veya sub-kronik toksisite testi yerine düşünülmelidir.

Bir NOAEL tanımlanmasında, etkinin ciddiyeti, bir doz ve zaman-etki ilişkisinin varlığı veya yokluğu ve/veya bir doz ve zaman-cevap ilişkisi, biyolojik ilgililik, tersinirlik ve geçmişteki temsili kontrol değerleri ile gösterilebilen bir etkinin normal biyolojik değişkenliği gibi diğer faktörlerin dikkate alınması gerekir (IPCS, 1990).

R.7.5.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme n uygunluğa ilişkin sonuç

KKDİK Yönetmeliği uyarınca, kullanılan veriler (mevcut veya üretilen), S&E ve risk değerlendirmesi ([Şekil R.7.5-1](#)'deki kutu 3) amaçları için yeterli olmalıdır.

Bu nedenle, veriler, BHOT Tekrar. Mrz. Kategori 1 veya 2'de sınıflandırması için SEA kriterleri ile bir karşılaştırmaya izin vermelidir. Bu kriterler, etkilerin gücüne ve ciddiyetine ve sınıflandırma kategorileriyle ilişkili olarak ortaya çıktıkları doz seviyelerine odaklanır.

Temel olarak aşağıdaki sonuçlar, tekrarlı doz toksisitesi için S&E yeterliliğinin değerlendirilmesinden elde edilebilir:

- Veriler, SEA Yönetmeliğine göre BHOT Tekrar. Mrz. sınıflandırması kriterlerine karşı bir karşılaştırmaya izin veriyorsa, S&E amacı için yeterli kabul edilir ([Şekil R.7.5-1](#)'deki kutu 3) ¹⁰⁸.
- Veriler, S&E amacıyla yetersiz kabul edilir ve SEA kriterlerine karşı kontrol edilemez (sonuçsuz veya eksik veriler). Bu durumda test düşünülmelidir.

Daha fazla bilgi için [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.9 incelenmelidir.

R.7.5.5.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

KGD için uygun olmak amacıyla ([Şekil R.7.5-1](#), Kutu 3), her bir maruz kalma senaryosu için uygun DNEL değerleri belirlenmelidir. Tipik olarak, DNEL türetilirken, bir doz tanımlayıcısı, başlangıç noktasının değiştirilmesi ve değerlendirme faktörlerinin uygulanması dikkate alınır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8).

¹⁰⁸ Bir madde sınıflandırılmadığında maruz kalma değerlendirmesi ve risk karakterizasyonunun yapılması gerekmeyeceği birlikte ([BG ve KGD Rehberi](#) Kısım A, Bölüm A.1.2), burada tekrarlı doz toksisitesi gibi etki gücüne dayalı sonlanma noktaları için yine de potansiyel olarak bir risk olabilir. Bu nedenle, güvenli elleçleme ve kullanımı sağlamak için gönüllülük esasına göre maruz kalma değerlendirmesi ve risk karakterizasyonu yapılması düşünülebilir.

Doz tanımlayıcısının tanımlanması için, kritik etki için uygun bir eşik dozu, DNEL türetilmesi için başlangıç noktası olarak, yani NOAEL veya BMDL olarak belirlenmelidir. Bir NOAEL değeri tanımlanamazsa, verilerin kapsamlı bir zararlılık değerlendirmesi için yeterli olması koşuluyla bunun yerine LOAEL kullanılabilir, ancak mümkün olduğunda, LOAEL-NAEL ekstrapolasyonuna BMD karşı yaklaşımı tercih edilir.

Doz tanımlayıcısının uygulama yoluna özgü olması gerektiği unutulmamalıdır. Bu nedenle, yalnızca oral maruz kalma ile hayvan verilerinin mevcut olması ve insanların esas olarak deri ve/veya soluma yoluyla maruz kalması durumunda, dermal yol için bir DNEL ve/veya soluma yolu için DNEL değeri gereklidir: örn. izin verilirse uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon gereklidir. Uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyona ilişkin rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8 Bölüm R.8.4.2'de verilmektedir.

Bu şekilde uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyona izin verilmiyorsa, son çare olarak muhtemelen test dahil olmak üzere uygulama yoluna özgü bilgilere ihtiyaç vardır (bkz. Bölüm [R.7.5.6.3](#)).

Değerlendirme faktörleri uygulayarak (mevcut verilerdeki belirsizliği ele almak için) bu doz tanımlayıcısından bir DNEL türetilmesi başka bir bölümde açıklanmıştır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.8 Bölüm R.8.4.3; ayrıca bkz. Bölüm [R.7.5.4.4](#)).

R.7.5.5.3 Bilgilerin yeterli olmaması

KKDİK kapsamındaki tonaja bağlı bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için, Bölüm [R.7.5.6.3](#) içerisinde açıklanan test stratejisi kullanılabilir.

R.7.5.6 Tekrarlı doz toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

R.7.5.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu test stratejisindeki amaç, tekrarlı doz toksisitesi ile ilgili olarak zararlılığın tanımlanmasına yönelik aşamalı bir yaklaşım hakkında rehberlik sağlamaktır ([Şekil R.7.5-1](#)).

Stratejinin bir ilkesi, mevcut tüm çalışmaların sonuçlarının başka bir çalışma başlatılmadan önce değerlendirilmesidir. Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli ve insani bir şekilde karşılanmasını sağlamayı amaçlamaktadır.

Tekrarlı doz toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisinin (BTS) temel hedefleri, aşağıdakileri sağlamak için yeterli bilgi üretmektir:

- Zararlılık profilinin karakterizasyonu ve bir maddeye tekrarlı maruz kalma üzerine doz-cevabı;
- Tekrarlı doz toksisitesi için kimyasal güvenlik değerlendirmesi gerçekleştirilmesi.

Bu stratejide üretilen bilgiler, SEA Yönetmeliği Ek 1'de verilen kriterlere göre S&E için uygun olmalıdır.

Ek olarak, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından elde edilen bilgiler, tekrarlı maruz kalmaya (örn. üreme ve gelişimsel toksisite) dayalı diğer sonlanma noktaları için değerli bilgiler verebilir ve diğer *in vivo* çalışmalar için değerlidir.

R.7.5.6.2 Ön hususlar

Yukarıda ana hatları verilen hedeflere dayanılarak, daha ileri testlere duyulan ihtiyaç konusunda bilinçli kararların alınabilmesi için bir çerçeve geliştirilmiştir. Daha fazla veri üretilmesi gerekli görülüyorsa, bilgi ihtiyaçları kaynaklar ve hayvan kullanımı açısından verimli bir şekilde karşılanmalıdır. Bu, KKDİK bilgi gereklilikleri tarafından şart koşulan tonaja dayalı gerekliliklere uygun olarak en uygun çalışma tipinin kullanılması ve maruz kalma, gruplandırma ve kategori oluşumu hususlarına bağlı değişiklikleri hesaba katmak anlamına gelir. Veri gereklilikleri, maruz kalma hususları veya test stratejisindeki herhangi bir aşamada belirtilen endişe düzeyi dikkate alınarak artırılabilir veya azaltılabilir.

Yılda 10 tonun (ton/yıl) altındaki tonaj seviyelerinde imal edilen maddeler için tekrarlı doz toksisitesi için test yapılması gerekli değildir. Daha yüksek imalat hacimlerinde, standart veri gereklilikleri, genel olarak, her bir tonaj bandında artar (bkz. Bölüm [R.7.5.2](#)). Herhangi bir madde için en uygun test rejimini benimseme esnekliğini sürdürmek, BTS'nin temel bir bileşenidir. Bununla birlikte, belirli bir tonaj seviyesinde tekrarlı doz toksisitesi için testin gerekli olup olmadığına bakılmaksızın, tüm mevcut test verileri ve maddeye ilişkin diğer tüm mevcut ve ilgili bilgiler toplanmalıdır.

Yukarıda Bölüm [R.7.4](#)'te, akut oral toksisite için bilgi gerekliliğini uyarlamak için bir sub-akut oral toksisite çalışmasının kullanılması olasılığı ele alınmıştır. Bu uyarlama, subakut çalışmadan NOAEL 1000 mg/kg'ın üzerinde olduğunda ve düşük akut toksisite bazı ek bilgilerle desteklenebildiğinde önerilebilir, bunların daha sonra *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılması gerekir. Kayıt ettirenin, bir maddenin düşük toksisiteye sahip olduğuna dair bazı göstergeleri olması ve akut oral toksisite çalışmasından "feragat etme" niyetinde olması durumunda, öncelikle, yani akut oral çalışmadan önce subakut oral toksisite çalışmasını gerçekleştirmelidir. Akut oral toksisite çalışmasının bu *Kanıt Ağırlığına* dayalı uyarlamasına ilişkin ayrıntılı rehberlik Bölüm R.7.4 [Ek R.7.4-1](#) içerisinde verilmektedir.

R.7.5.6.3 Tekrarlı doz toksisitesi için test ve değerlendirme stratejisi

Tekrarlı doz toksisitesi için genel test ve değerlendirme stratejisi [Şekil R.7.5-1](#)'de özetlenmiştir.

Kısaca, strateji, tekrarlı doz toksisitesi ile ilgili tüm mevcut bilgilerin toplanmasıyla başlar ([Şekil R.7.5-1](#)'deki adım 1).

Bu bilgi, daha sonra, KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10'un standart bilgi gerekliliklerini karşılayıp karşılamadığını (Sütun 1) veya belirli sonlanma noktaları için Sütun 2 uyarlaması savunmasını gerekçelendirmek için kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için değerlendirilir ([Şekil R.7.5-1](#) adım 2) (ayrıca bkz. aşağıda Bölüm [R.7.5.6.3.1](#), [R.7.5.6.3.2](#) ve [R.7.5.6.3.3](#)). Bu eklerde tekrarlı doz toksisitesi için kullanılan farklı tanımlayıcılar, *sınırlı maruz kalma* (Ek 9) ile *ilgili maruz kalma olmaması* (Ek 8) arasında değişir. İlave olarak, KKDİK Yönetmeliği Ek 11, Ek 7-9'da belirtilen standart test rejiminin uyarlanması için kuralları veya temel yaklaşımları içerir (bkz. aşağıda Bölüm [R.7.5.6.3.5](#) ve [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.5).

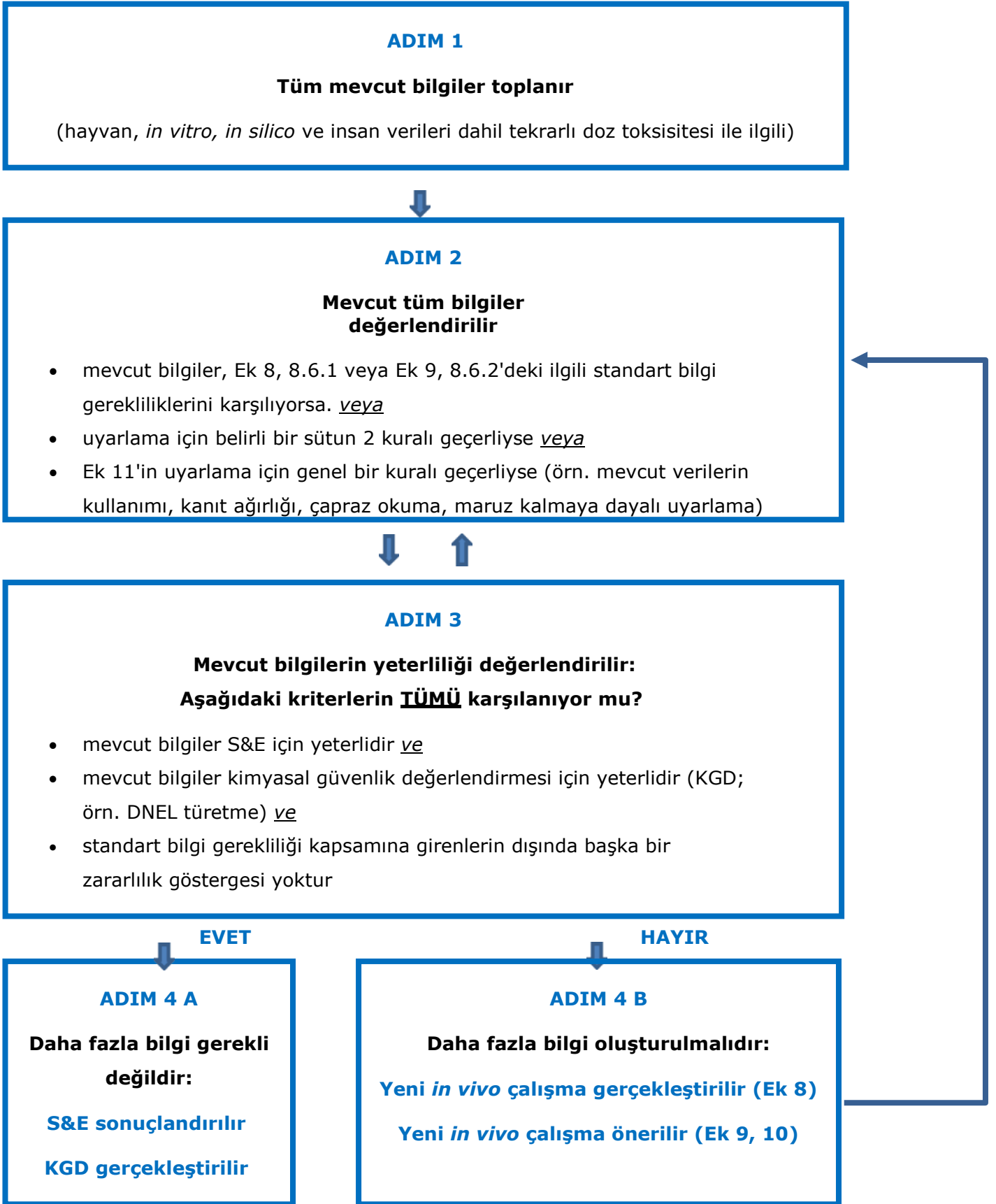
Mevcut bilgilerin yeterliliği de dikkate alınmalıdır ([Şekil R.7.5- 1](#)).'deki adım 3). Bu aşamadaki maruz kalma değerlendirmeleri, eğer uygulamalar geniş bir popülasyon için yaygın dağılımlı kullanımları (örneğin tüketici ürünleri) içeriyorsa ve düşük bir maruz kalma aralığı için belirli bir endişe varsa, ek verilere olan ihtiyacı tetikleyebilir. Bu aşamada oluşturulacak veriler, risk oranını iyileştirmeyi hedeflemelidir ve bu nedenle, geliştirilmiş bir maruz kalma karakterizasyonu veya geliştirilmiş bir zararlılık karakterizasyonu için bir tetikleyici olabilir. İkinci durumda, gerekli bilgi, kritik toksik sonlanma noktasının geliştirilmiş bir karakterizasyonuna yol açan ve böylece tekrarlı doz toksisitesi için NOAEL içerisindeki belirsizliği azaltan özel bir çalışmayı içerebilir. Nörotoksisiteye uygulanan böyle bir test yaklaşımının bir örneği [Ek R.7.5-1](#)'de verilmiştir.

Ayrıca, yeni test başlatılmadan önce, mevcut bilgiler ciddi etkiler, ciddi belirli sistem veya hedef organ toksisitesi (örn. nörotoksosite veya immünotoksosite), gecikmiş etkiler veya birikimli toksisite gösterebilecek kanıtlar için incelenmelidir. Bu çıkarımlar, kısa süreli ve/veya (sub)kronik toksisite için standart protokoller yerine özel çalışma protokolleri için bir tetikleyici sağlayabilir. Bu belirli protokoller, doz cevabı, toksik etki eşiği ve toksik etkilerin doğasının anlaşılması dahil olmak üzere bu zararlılıkların yeterli bir şekilde karakterize edilmesini sağlayacak şekilde, duruma göre tasarlanmalıdır. Bu yaklaşımın bir örneği [Ek R.7.5-1](#)'de verilmiştir.

Önceki tüm adımlara dayanarak, mevcut bilginin S&E konusunda uygun sonuca varmak ve bir KGD gerçekleştirmek için yeterli olup olmadığına (adım 4A) veya yetersiz ve/veya uygunsuz olduğuna ve daha fazla bilginin oluşturulması gerektiğine (adım 4B) ilişkin bir karar ([Şekil R.7.5-1](#) adım 4) verilmelidir. Kayıt ettirenler, Ek 9 veya 10'da belirtilen yeni bir *in vivo* çalışma için bir test teklifinin sunulması gerektiğine dikkat etmelidir. Bu test teklifinin incelenmesinin ardından, ÇŞB, üstlenilmeden önce değerlendirme kararında testi onaylamalıdır.

Oluşturulan yeni veriler, tekrarlı doz toksisitesi hakkında bir sonuca varılıp ulaşılamayacağını görmek için daha sonra değerlendirilmelidir ([Şekil R.7.5-1](#)'de adım 2 ve 3).

Şekil R.7.5–1 Tekrarlı doz toksisitesi için test ve değerlendirme stratejisi



Farklı tonaj seviyelerinin her birinde farklı testlerin kullanılması aşağıda özetlenmiştir. Yeni testlerin yürütülmesi için bir test rehberinin en son güncellemesinin (OECD Test Rehber ve/veya AB yöntemi) kullanılması gerektiği unutulmamalıdır. Ek olarak, tekrarlı doz toksisitesi değerlendirmesi için test tasarımına karar vermeden önce Bölüm [R.7.5.6.3.4](#) dikkate alınmalıdır.

R.7.5.6.3.1 10 ton/yıl veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 8)

Bu tonaj seviyesinde genellikle kısa süreli (28 günlük) bir toksisite testi (OECD Test Rehberi 407/B.7) gereklidir. Tekrarlı doz toksisitesi ve üreme sistemi toksisitesinin ilk değerlendirmesi gerekiyorsa, üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 422¹⁰⁹) ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının kullanılması önerilir. İnsan maruz kalmasının baskın yolu veya fiziko-kimyasal özellikler, deri veya solunum yolunun tekrarlı doz toksisitesi testinin değerlendirilmesi için daha uygun bir maruz kalma yolu olabileceğini belirtmediği sürece, bu testlerde maruz kalma yolu oral yoldur (OECD Test Rehberi 410 veya 412/B.9 veya B.8).

Kısa süreli bir kemirgen toksisite çalışmasının sonuçları (OECD Test Rehberleri 407, 410, 412, 422) doz-cevap karakterizasyonu, S&E ve risk değerlendirmesi için yeterliyse ve daha fazla risk için herhangi bir gösterge yoksa, daha fazla test gerekmez. (kapsamlı bir zararlılık karakterizasyonu için kriterlerin ayrıntılı bir tartışması için bkz. Bölüm [R.7.5.5.2](#)).

Bu tonaj seviyesinde, aşağıdaki durumlarda kısa süreli toksisite çalışmasının (28 gün) gerçekleştirilmesine gerek yoktur:

- uygun bir tür, dozaj ve uygulama yolunun kullanılması şartıyla güvenilir bir sub-kronik (90 gün) veya kronik toksisite çalışması mevcutsa; veya
- bir maddenin ani parçalanmaya uğradığı ve bölünme ürünleri hakkında yeterli verilerin bulunduğu durumlarda; veya
- ilgili insan maruz kalması Ek 11 Bölüm 3'e göre hariç tutulabilirse.

Ek 11'e göre uyarılma kurallarının da geçerli olduğu unutulmamalıdır ([BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.5). Daha fazla bilgi için aşağıda Ek 11 içerisinde ilgili Bölüm [R.7.5.6.3.5](#) incelenmelidir.

KKDİK Yönetmeliğine göre (Ek 8, Bölüm 8.6.1, sütun 2), sub-kronik toksisite çalışması (90 gün) aşağıdaki durumlarda kayıt ettiren tarafından önerilmelidir:

- insan maruz kalmasının sıklığı ve süresi, daha uzun süreli bir çalışmanın uygun olduğunu gösterirse;

ve aşağıdaki koşullardan biri karşılanırsa:

- diğer mevcut veriler, maddenin kısa süreli bir toksisite çalışmasında tespit edilemeyen zararlı bir özelliğe sahip olabileceğini gösterirse; veya
- uygun şekilde tasarlanmış toksikokinetik çalışmalar, maddenin veya metabolitlerinin, kısa süreli bir toksisite çalışmasında muhtemelen tespit edilemeyen ancak uzun süreli maruz kalmadan sonra olumsuz etkilere neden olabilecek şekilde belirli dokularda veya organlarda biriktiğini ortaya çıkarırsa (bkz. "hayvanlarda (biyo)birikim veya insan biyoizleme verilerinden çıkarımlar", [Ek R.7.6-2](#), Madde 2).

¹⁰⁹ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

KKDİK Yönetmeliği (Ek 8, Bölüm 8.6.1, sütun 2) ayrıca aşağıdaki durumlarda, kayıt ettiren tarafından daha ileri çalışmaların önerilmesi gerektiğini veya Madde 36 veya 37 uyarınca ÇŞB tarafından gerektirilebileceğini belirtir:

- NOAEL belirlenememesinin nedeni olumsuz toksik etkilerin olmaması olmadığı sürece, 28 veya 90 günlük çalışmada NOAEL belirlenememesi; veya
- özel önem taşıyan toksisite (örneğin, ciddi/şiddetli etkiler); veya
- mevcut kanıtların toksikolojik ve/veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu bir etkinin göstergeleri. Bu gibi durumlarda, bu etkileri (örn. immünotoksisite, nörotoksisite) araştırmak için tasarlanmış belirli toksikolojik çalışmalar yapmak daha uygun olabilir; veya
- ilk tekrarlı doz çalışmasında kullanılan maruz kalma yolu, beklenen insan maruz kalma yolu ile ilişkili olarak uygunsuzdur ve uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon yapılamaz; veya
- maruz kalmayla ilgili özel endişe (örneğin, insanlar için toksisitenin beklenebileceği doz seviyelerine yakın maruz kalma seviyelerine yol açan tüketici ürünlerinde kullanım); veya
- moleküler yapıda incelenen maddeyle açık bir ilişkisi olan maddelerde gösterilen etkiler 28 veya 90 günlük çalışmada tespit edilmemiştir (bkz. <https://echa.europa.eu/support/registration/how-to-avoid-unnecessary-testing-on-animals/grouping-of-substances-and-read-across>).

NOAEL belirlenememesinin her durumda bir veri boşluğuna yol açmadığı ve varsayılan olarak ek çalışmaları tetiklememesi gerektiği belirtilmelidir. Veriler kapsamlı bir zararlılık değerlendirmesi ve S&E için yeterliyse, LOAEL veya BMDL, KGD için başlangıç noktası olarak kullanılabilir (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.5.4.4](#) ve [R.7.5.5](#) ve [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.8).

Gelişmiş bir zararlılık karakterizasyonu için özel bir çalışma muhtemelen daha uygun olacaktır ve bu aşamada standart bir kısa süreli kemirgen veya sub-kronik toksisite testi yerine düşünülmelidir.

R.7.5.6.3.2 100 ton/yıl veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 9)

Bu tonaj seviyesinde, aşağıdaki bilgiler gereklidir (KKDİK Yönetmeliği Ek 9, Bölüm 8.6.1 ve 8.6.2):

- kısa süreli bir çalışma (28 gün) asgari gerekliliktir. İnsan maruz kalmasının baskın yolu, fiziko-kimyasal özellikler ve/veya uygulama yoluna özgü toksikokinetik davranış veya toksisite, tekrarlı doz toksisitesi testlerinde deri veya soluma yolunun (OECD Test Rehberi 410, 412/B.9, B.8) en uygun uygulama yolu olduğunu göstermediği sürece, bu testlerde tercih edilen uygulama yolu oral yoldur (OECD Test Rehberi 407/B.7; Test Rehberi 422¹¹⁰).
- genellikle tek bir kemirgen türünde sub-kronik toksisite çalışması (90 gün) gereklidir. İnsan maruz kalmasının baskın yolu, fiziko-kimyasal özellikler ve/veya uygulama yoluna özgü toksikokinetik davranış veya toksisite, tekrarlı doz toksisitesi testlerinde deri veya soluma yolunun

¹¹⁰ Bugüne kadar, karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

(OECD Test Rehberi 411, 413/B.28, B.29) en uygun uygulama yolu olduğuna göstermedikçe, bu testlerde tercih edilen uygulama yolu oral yoldur (OECD Test Rehberi 408/B.26).

KKDİK Yönetmeliğine göre, bu tonaj seviyesinde sub-kronik toksisite çalışmasının (90 gün) aşağıdaki durumlarda gerçekleştirilmesine gerek yoktur:

- Gözlemlenen NOAEL-28 günlük değerinin, uygun bir değerlendirme faktörünün uygulanmasıyla aynı maruz kalma yolu için NOAEL-90 günlük değerine yönelik ekstrapolasyona izin verdiği, maddeyi BHOT Tekrar. Mrz. Kategori 1 veya Kategori 2 olarak sınıflandırmak için kriterlere göre ciddi toksisite etkileri gösteren güvenilir bir kısa süreli toksisite çalışması (28 gün) mevcutsa; veya
- uygun bir tür ve uygulama yolunun kullanılması şartıyla güvenilir bir kronik toksisite çalışması mevcutsa; veya
- bir madde anında parçalanmaya uğruyorsa ve bölünme ürünleri hakkında yeterli veri mevcutsa (hem sistemik etkiler hem de alım sahasındaki etkiler için); veya
- madde reaktif değilse, çözünmüyorsa ve solunabilir değilse ve 28 günlük bir sınır testinde emilim kanıtı ve toksisite kanıtı yoksa, özellikle de böyle bir model sınırlı insan maruz kalması ile birleşirse.

Ek 11'e göre uyarılma kurallarının da geçerli olduğu unutulmamalıdır. Daha fazla bilgi için aşağıda Ek 11 içerisinde ilgili Bölüm [R.7.5.6.3.5](#) incelenmelidir.

İnsan maruz kalmasının, tekrarlı doz toksisitesi için test protokolünde kullanılan sıklık ve süreden farklı veya sınırlı olması durumunda, kısa süreli toksisite çalışması için veriler kapsamlı bir zararlılık karakterizasyonu,, risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme (S&E) için yeterliyse, subkronik toksisite çalışması gerekli olmayabilir. Bu uyarılma, kayıt ettiren tarafından tam gerekçelendirme gerektirir.

Kanıt Ağırlığının mevcut bilgilerin kısa süreli toksisiteyi karakterize etmek için yeterli olduğunu ve 90 günlük çalışmanın uygun doz seçimi için yeterince kapsamlı olduğunu göstermesi durumunda, bu aşamada 28 günlük özel bir çalışma gerekli değildir.

Bir subkronik kemirgen toksisite çalışmasını (OECD Test Rehberi 408, 411, 413/B.26, B.28, B.29) içerebilecek mevcut veriler, bir doz cevap karakterizasyonu ve S&E ve risk değerlendirmesi için yeterliyse başka testlere gerek yoktur.

Verilerin zararlılık karakterizasyonu ve risk değerlendirmesi için yetersiz olması durumunda, daha ileri çalışmalar kayıt ettiren tarafından önerilmelidir veya KKDİK Yönetmeliği Madde 36 veya 37'e göre ÇŞB tarafından gerektirilebilir: KKDİK Yönetmeliği Ek 9, Bölüm 8.6.2, sütun 2'ye göre, bu durum aşağıdaki durumlarda ortaya çıkabilir:

- NOAEL belirlenememesinin nedeni olumsuz toksik etkilerin olmaması olmadığı sürece 90 günlük çalışmada NOAEL belirlenememesi; veya
- özel önem taşıyan toksisite (örneğin, ciddi/şiddetli etkiler); veya
- mevcut kanıtların toksikolojik ve/veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu bir etkinin göstergeleri; Bu gibi durumlarda, bu etkileri (örn. immünotoksisite, nörotoksisite) araştırmak için tasarlanmış özel toksikolojik çalışmalar yapmak daha uygun olabilir; veya

- maruz kalmayla ilgili özel endişe (örneğin, insanlar için toksisitenin meydana geldiği doz seviyelerine göre yüksek maruz kalma seviyelerine yol açan tüketici ürünlerinde kullanım).

Gelişmiş bir zararlılık karakterizasyonu için özel bir çalışma muhtemelen daha uygun olacaktır ve standart bir kısa süreli kemirgen veya sub-kronik toksisite testi yerine düşünülmelidir. Bu yaklaşımın bir örneği [Ek R.7.5-1](#)'de verilmiştir.

NOAEL belirlenememesinin her durumda bir veri boşluğuna yol açmayacağı ve ek çalışmalar için varsayılan bir tetikleyici olmaması gerektiği belirtilmelidir. Veriler kapsamlı bir zararlılık değerlendirmesi veya S&E için yeterliyse, LOAEL veya BMD, KGD için başlangıç noktası olarak kullanılabilir (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.5.4.4](#) ve [R.7.5.5](#) ve [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.8).

R.7.5.6.3.3 1000 ton/yıl veya üzeri (KKDİK Yönetmeliği Ek 10)

Bu tonaj seviyesinde tekrarlı doz toksisitesi için 100 ton/yıl veya üzeri seviye için önerilenlerin ötesinde varsayılan test gerekliliği yoktur (yukarıyı inceleyiniz). Bununla birlikte, KKDİK Yönetmeliği Madde 40 ve 41'e göre, insan maruz kalmasının sıklığı ve süresi, uzun süreli bir çalışmanın uygun olduğunu gösteriyorsa ve aşağıdaki koşullardan birinin karşılanırsa, uzun süreli tekrarlı toksisite testi (12 ay) teklif edilebilir:

- 28 günlük veya 90 günlük çalışmada, toksikolojik değerlendirme veya risk karakterizasyonu için mevcut kanıtların yetersiz olduğu ciddi veya şiddetli toksisite etkileri gözlenmiştir; veya
- moleküler yapıda incelenen maddeyle açık ilişkisi olan maddelerde gösterilen etkiler 28 günlük veya 90 günlük çalışmada tespit edilmemiştir; veya
- madde, 90 günlük bir çalışmada tespit edilemeyen zararlı bir özelliğe sahip olabilir.

Ek olarak, aşağıdaki durumlarda kayıt ettiren tarafından ileri çalışmalar önerilmelidir veya KKDİK Yönetmeliği Madde 36 veya 37 uyarınca ÇŞB tarafından gerektirilebilir:

- özel önem taşıyan toksisite (örneğin, ciddi/şiddetli etkiler); veya
- mevcut kanıtların toksikolojik değerlendirme ve/veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu bir etkinin göstergeleri; Bu gibi durumlarda, bu etkileri (örn. immünotoksosite, nörotoksosite) araştırmak için tasarlanmış özel toksikolojik çalışmalar yapmak daha uygun olabilir; veya
- maruz kalmayla ilgili özel endişe (örn. toksisitenin gözlemlendiği doz seviyelerine yakın maruz kalma seviyelerine yol açan tüketici ürünlerinde kullanım).

Bazı durumlarda, gelişmiş bir zararlılık karakterizasyonu gerekliyse özel bir çalışma en uygun çalışma olabilir ve standart bir sub-kronik veya kronik toksisite testi yerine düşünülmelidir. Bu yaklaşımın bir örneği [Ek R.7.5-1](#)'de verilmiştir.

Bir subkronik kemirgen toksisite çalışmasının sonuçları (OECD Test Rehberi 408, 410, 411, 412, 413/B.26, B.9, B.28, B.8, B.29) kapsamlı bir zararlılık karakterizasyonu için yeterli ve risk değerlendirmesi ve S&E için uygun ise başka test gerekli değildir (kapsamlı bir zararlılık karakterizasyonu için kriterlerin ayrıntılı bir tartışması için bkz. Bölüm [R.7.5.4.4](#) ve [R.7.5.5](#))

Ayrıca, Ek 11'deki kurallardan herhangi biri geçerliyse test gereklilikleri de uyarlanabilir. Daha fazla bilgi için aşağıda Ek 11 içerisinde ilgili Bölüm [R.7.5.6.3.5](#) incelenmelidir.

Bu tonaj seviyesinde standart bir test gerekliliği olmadığından, sütun 2 herhangi bir feragat seçeneği içermemektedir.

R.7.5.6.3.4 Gerçekleştirilecek çalışmalar için diğer hususlar

Yeni bir çalışmanın oluşturulması gerektiğinde, testin uygun bir test yöntemine göre, iyi laboratuvar uygulamaları ilkelerine göre ve hayvan refahı ilkelerine uygun olarak yürütülmesi gerekir. İlave olarak, sonuçların zararlılık tanımlaması için uygun olmasını sağlamak için birkaç husus gereklidir. Bunlar, en uygun uygulama yolunun seçimi için önemlidir.

En uygun uygulama yolunun seçimi

Tekrarlı doz toksisite çalışması oral, soluma veya deri yoluyla yapılmalıdır. Belirli bir uygulama yoluna karar vermek için, önce uygun uygulama yollarının tanımlanması gerekir. Birden fazla yol uygunsa, en uygun uygulama yoluna karar verilmesi gerekir.

Tekrarlı doz toksisitesi testiyle ilgili olarak, oral yol varsayılan yoldur çünkü çoğu maddenin sistemik yararlanımını (dahili doz) en yüksek düzeye çıkardığı varsayılmaktadır. Bununla birlikte, vaka bazında, diğer uygulama yollarının uygunluğu da değerlendirilmelidir. Bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine ve insan maruz kalmasının en ilgili yoluna bağlı olarak, deri veya soluma yolu da KKDİK Yönetmeliğinin Ek 8 ve 9'unda belirtildiği gibi uygun olabilir.

İnsan maruz kalmasının i.v., i.m., s.c., i.p. gibi fizyolojik olmayan yolları, KKDİK Yönetmeliği uyarınca talep edilen hayvan testleri için genellikle uygun olmayan uygulama yolları olarak kabul edilir.

Aşınmaya neden olan konsantrasyon seviyelerinde aşındırıcı maddelerle yapılan *in vivo* testlerden kaçınılması gerektiği unutulmamalıdır.

- **Dermal uygulama yolunun uygunluğu**

Deri yolu ile tekrarlı doz toksisitesinin test edilmesi, imalat ve/veya kullanımındaki maddeyle deri teması olasılığı yüksekse ve fiziko-kimyasal özellikler, deri yoluyla önemli oranda emilim potansiyeli gösteriyorsa uygundur (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c Tablo R.7.12-3). Deri yolu ile sub-akut toksisite testi (28 gün) ayrıca maddenin solunmasının olası olmadığını gerektirir. Deri yolu ile sub-kronik toksisite testi (90 gün) ayrıca aşağıdaki koşullardan birinin karşılanmasını gerektirir:

- o oral toksisite testinden daha düşük dozlarda akut dermal toksisite testinde toksisite gözlenmesi; veya
- o cilt ve/veya göz tahrişi çalışmalarında sistemik etkiler veya diğer emilim kanıtları gözlenmesi; veya
- o *in vitro* testlerin, anlamlı ölçüde deri yoluyla emilim göstermesi; veya
- o yapısal olarak ilişkili maddeler için anlamlı dermal toksisite veya dermal nüfuz kabul edilmesi.

Madde şiddetli tahriş edici veya aşındırıcı ise, ciddi tahriş veya aşınmaya neden olmayan dozlarda yapılmadığı sürece ve

sistemik toksisiteyi değerlendirmek için bu tür dozların hala toksikolojik olarak uygun olması ve sonucun risk değerlendirmesinde kullanılabilmesi şartıyla deri yoluyla test yapılmasından kaçınılmalıdır.

Dermal yolla yapılan bir çalışma, özellikle uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon sorunlu ise gerekli olabilir (örn. oral veya soluma uygulamasıyla yapılan bir çalışmanın, dermal maruz kalmaya kıyasla metabolizmadaki önemli nitel farklılıklar nedeniyle güvenilir uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyona izin vermediği durumlarda). Uygulamada, farklılıklar büyük olasılıkla ilk geçiş metabolizmasındaki farklılıklar veya mide asidinin hidrolize duyarlılığından kaynaklanmaktadır.

- **Soluma uygulama yolunun uygunluğu**

Maddenin buhar basıncı ve/veya solunabilir boyuttaki aerosollere, partiküllere veya damlacıklara maruz kalma olasılığı dikkate alınarak, insanların soluma yoluyla maruz kalması muhtemel ise, soluma yoluyla tekrarlı doz toksisitesinin test edilmesi uygundur (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c Tablo R.7.12-2).

Soluma yoluyla test, gazlar için varsayılan yoldur ve genellikle insan maruz kalmasının baskın yolu soluma olan ortam sıcaklığında (> 25 kPa veya kaynama noktası 50°C'nin altında) yüksek ila çok yüksek buhar basıncına sahip sıvılar için tercih edilen yoldur.

Düşük buhar basıncına sahip sıvılar ve tozlar (nanomalzemeler dahil) için, insanların soluma yoluyla maruz kalma olasılığı, solunabilir boyuttaki (aerodinamik çap 100 µm'nin altında) aerosollere, partiküllere veya damlacıklara maruz kalma olasılığını hesaba katıyorsa, soluma yoluyla test yapılması uygundur. Nanomalzemeler hakkında daha fazla rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7a için geçerli olan Ek R.7-1 Nanomalzemeler için Tavsiyeler içerisinde mevcuttur.

- **En uygun uygulama yolunun seçimi**

Birden fazla uygulama yolunun uygun olması durumunda, **en uygun** uygulama yolunun hangisi olduğu dikkate alınmalıdır. Bu, tüm uygun uygulama yollarının avantaj ve dezavantajlarının değerlendirilmesini gerektirir.

Farklı uygulama yollarının dengelenmesi aşağıdaki hususları içerebilir:

- Tercih edilen uygulama yolları, yani:

- çok yüksek buhar basıncına sahip sıvılar ve gazlar için soluma (> 25 kPa veya 50°C'nin altında kaynama noktası),
- soluma, eğer oral yoldan soluma yoluna ekstrapolasyonun uygun olmayacağı etkiler meydana gelirse; örneğin:
 - oral uygulamayı takiben tespit edilemeyebilir olan şekilde, soluma yoluyla maruz kalmayı takiben sistemik etkilerle ilgili bazı endişeler varsa¹¹¹
 - nitel bir değerlendirmenin, maddenin güvenli elleçleme ve kullanımını kanıtlamak için yeterince kapsamlı olmayabileceği, solunum yolundaki lokal etkilerle ilgili bazı endişeler varsa¹¹²

¹¹¹ Soluma yoluyla maruz kalmayı takiben ortaya çıkabilecek sistemik etkiler, ilgili yola özel toksikokinetik farklılıklar olması durumunda oral uygulama ile yapılan bir çalışmada uygun şekilde tespit edilmeyebilir. Örneğin, maddenin solunum yolunda metabolize edilerek reaktif metabolitlere dönüşmesi veya maddenin oral uygulamadan sonra mide-bağırsak yolunda veya karaciğerde ilgili bir ilk geçiş etkisine uğraması durumunda, oral uygulamanın soluma maruz kalması sonrasında maddenin toksisitesini yansıtmaması beklenebilir.

- diğer tüm maddeler için oral;
 - o İnsan maruz kalması, örn .:
 - çalışanların ve/veya tüketicilerin maruz kalmasına özel dikkat gösterilerek, maddenin fiziko-kimyasal özellikleri ve kullanımları dikkate alınarak insan maruz kalmasının en yüksek olduğu varsayılan yol;
 - o İçsel özellikler/veritabanı, örneğin:
 - uygulama yoluna özel bilgilerin bulunması,
 - uygulama yoluna özel etkiler için bir endişenin açıklığa kavuşturulması,
 - genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması gibi daha sonraki test/testlerin tasarımına karar vermek için uygulama yoluna özel bilgilerin gerekliliği;
 - o Risk değerlendirmesi, örn. :
 - belirli DNEL değeri/değerlerinin gerekliliği,
 - nitel değerlendirme gerekliliği,
 - risk yönetimi önlemlerinin uygulanması,
 - veri tabanındaki belirsizlikler,
 - çalışma türlerinin orantılılığı (örneğin, iki uygulama yolunun, örneğin oral ve soluma yollarının eşit uygunlukta olması durumunda ekonomik savunmalar düşünülebilir);
 - o Uygulanabilirlik (örn. soluma yoluyla test bazı maddeler için teknik açıdan zor olabilir).
-

¹¹² Solunum yolundaki lokal etkilere yönelik bir endişe, diğerlerinin yanı sıra, cilt ve/veya gözler için aşındırıcı veya tahriş edici olan maddeler, solunum yolunda reaktif metabolitler veya akciğerlerde biriken solunamayan içe çekilebilir tozlar halinde hidrolize/metabolize olan maddeler için varsayılabilir.

İlave araştırmalar

Bir maddenin zararlılığını yeterince tanımlamak için, test yöntemlerinde isteğe bağlı olarak tanımlanan veya test yöntemlerinin gerekliliklerine ek olan ek araştırmalar yapılması gerekebilir. Maddeye ilişkin veya maddenin uygulanmasından beklenen özel etkiler (yani nörotoksisite, immünotoksisite, endokrin bozulma ile ilgili) için bir gösterge sağlayan hayvan çalışmalarından veya hayvan dışı testlerden elde edilen yapısal olarak benzer maddelerle ilgili mevcut bilgilerle ek araştırmalar başlatılabilir.

Belirli etkileri araştırmak için test protokollerini değiştirirken potansiyel sınırlamalar hesaba katılarak, tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının tasarımındaki çeşitli parametreleri keşfetme olasılığı (toksikokinetik veri üretimi, mikronükleus oluşumu, nörotoksisite, immünotoksisite) dikkate alınabilir. Ancak, OECD uyumlu bir çalışma tasarımı, söz konusu çalışmanın geçerliliğini tehlikeye atacak şekilde değiştirildiğinde dikkatli olunmalıdır.

Nanomalzemeler için önemli olabilecek özel araştırmalar (örn. akciğer yükü ve bronkoalveolar lavaj (BAL) ölçümleri) [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.7a için geçerli nanomalzemeler için tavsiyeler Ek R.7-1 içerisinde belirtilmiştir.

- **Toksikokinetik**

Toksikokinetik veriler, maddeye ve/veya metabolitlerine dahili maruz kalma tahminine ve gözlemlenen etkilerin dahili doz tahminleriyle korelasyonuna yardımcı olmak için diğer toksisite verileri (yani tekrarlı doz toksisitesi) ışığında dikkate alınmalıdır. Bu, bir doz-cevap ilişkisini karakterize etmek ve uygulanan dozların doğrusal olmayan bir doz cevabına yol açan bir doyma kinetiğine neden olup olmadığını belirlemek için özellikle önemlidir. Bu tür bilgiler, değerlendirme faktörlerinin türetilmesi, uygulama yolundan uygulama yoluna ekstrapolasyon ve DNEL değerlerinin türetilmesi için değerlidir.

İlave olarak, toksikokinetik verilerin (metabolizma karakterizasyonu dahil) oluşturulması, yaygın metabolik yolların benzerlik gerekçesinin bir parçası olduğu durumlarda çapraz okuma yaklaşımlarının uygulanması için gerekli kabul edilir.

OECD Test Rehberi 417, bağımsız test olarak veya tekrarlı doz toksisite çalışmaları ile birlikte toksikokinetik çalışmaların yürütülmesi için protokol sağlar.

Son yıllarda, *in silico* metabolizma temsilcileri (OECD Araç Kutusu, ticari çözümler) ve PBPK modellemesi dahil olmak üzere TK verilerinin oluşturulması için alternatiflerin geliştirilmesinde ilerleme kaydedilmiştir. Kinetik modelleme için *in silico* yöntemlerinin kullanımına ilişkin daha fazla ayrıntı, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.7c, Bölüm R.7.12'de mevcuttur.

- **Soluma çalışmaları için isteğe bağlı bronkoalveolar lavaj (BAL)**

Sub-akut ve sub-kronik soluma çalışmaları için OECD Test Rehberi 412 ve 413, alt solunum yolunun (yani alveollerin) birincil birikim ve tutulum bölgesi olduğuna dair kanıt olduğunda, bronkoalveolar lavajın (BAL) alveolit, pulmoner inflamasyon ve fosfolipidoza odaklanan hipoteze dayalı doz-etki parametrelerini nicel olarak analiz etmek üzere tercih edilen teknik olabileceği seçeneğini sunmaktadır. Bu, alveolar hasarın doz cevabı ve zamana bağlı değişikliklerin değerlendirilmesine izin verir. BAL ölçümleri genellikle histopatolojik incelemelerden elde edilen sonuçları tamamlar ancak bunların yerini alamaz. Akciğer lavajının nasıl yapılacağına dair rehberlik OECD Rehberi 39'da bulunabilir (OECD, 2009). OECD Test Rehberi 412 ve 413 şu anda revizyon aşamasındadır ve BAL ölçümleri hakkında daha fazla rehberlik içerecektir.

- **Nörotoksisite ve immünotoksisite**

Maddeye ilişkin mevcut verilerden veya yapısal olarak benzer maddelerden elde edilen verilerden elde edilen etki şekline ilişkin bilgiler, tekrarlı doz toksisite testlerinin tasarımında dikkate alınmalıdır.

Bu tür değerlendirmeler, potansiyel bir endokrin etki şeklini, nörotoksisiteyi veya immünotoksisiteyi araştırmak için ölçülecek parametrelerin dahil edilmesine yol açabilir.

Nörotoksisite ve immünotoksisitenin ayrıntılı analizi için sonlanma noktalarının standart 28 günlük ve 90 günlük dermal veya soluma tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında incelenmediği unutulmamalıdır. Bununla birlikte, OECD Test Rehberi 413'te (90 günlük soluma çalışması; 2009) şunlar belirtilmektedir: "Çalışma sırasında nörotoksisite bekleniyorsa veya gözleniyorsa, çalışma yöneticisi fonksiyonel bir gözlemsel seri (FOB) ve motor aktivite ölçümü gibi uygun değerlendirmeleri dahil etmeyi seçebilir."

Nörotoksisiteye ilişkin daha fazla rehberlik [Ek R.7.5-1](#)'de mevcuttur.

Tekrarlı doz toksisitesi testinin bir parçası olarak immünotoksisite ile ilgili araştırmalar yapılması gerekiyorsa, bunlar ilgili durumlarda immünotoksisite potansiyelinin değerlendirilmesine izin verecek şekilde yapılmalıdır (örn. ABD EPA OPPTS 870.7800 - Sağlık Etkileri Test Rehberi İmmünotoksisite uyarınca tekrarlı doz toksisitesi). İmmünotoksisite için ilkelerin gözden geçirilmesi, DSÖ/IPCS yayınlarından elde edilebilir ve ek rehber olarak kabul edilebilir (DSÖ, 1996a; 1996b; 1999; 2007; 2012).

- Endokrin etki şekli

Bir endokrin bozucu, endokrin sistemin işlevini/işlevlerini değiştiren ve sonuç olarak sağlam bir organizmada veya yavruları/soyunda veya (alt) popülasyonlarında olumsuz sağlık etkilerine neden olan ekzojen bir madde veya karışımdır (DSÖ, 2002).

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, üreme, sinir, bağışıklık ve endokrin sistem üzerindeki etkiler dahil olmak üzere çok çeşitli potansiyel sağlık zararlılıkları hakkında bilgi sağlar. Ölçülen parametrelere bağlı olarak, endokrin aracılı etkilerin mekanizmasını/mekanizmalarını aydınlatmaya yardımcı olabilecek içgörü de katarlar.

OECD Rehberi 150 (OECD, 2012), endokrin bozukluğu ile ilgili olduğu düşünülen tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları kapsamında hassasiyet ve araştırmalar üzerine bir analiz sağlar.

Ayrıca, birleşik tekrarlı doz toksisitesi/üreme sistemi tarama çalışması (OECD Test Rehberi 422), endokrin bozucularla ilgili sonlanma noktaları ile güncellenmiştir.

- Etki Şekli/Olumsuz Etki Oluşum Yolları

Etki şekli hakkında daha fazla bilgi, DSÖ/IPCS Etki şekli ve İnsan İlişkisi Çerçevesinde mevcuttur (bkz. <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/cancer/en/>).

Ek olarak OECD Olumsuz Etki Oluşum Yolları programından alınan bilgiler (bkz. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm>), bir maddenin testleriyle ilgili potansiyel yollar ve belirli bir etki şekline uygun olması muhtemel belirli araştırmalara ilişkin hususlar hakkında öngörü sağlayabilir.

- Alfa 2u-globulin aracılı nefropati

Bir madde, erkek sıçanlarda böbrek etkilerine yol açıyorsa ancak dişi sıçanlarda açmıyorsa, bu, alfa 2u-globulin aracılı bir nefropatinin göstergesi olabilir. Alfa 2u-globulinin aracılık etmediği ve insan risk değerlendirmesiyle ilgili olduğu varsayılan erkeğe özgü renal toksisite ile alfa 2u aracılı nefropati arasında ayırım yapmak önemlidir. İnsanlarda işlevsel bir alfa 2u-globulin geni bulunmadığından, bu etki şeklinin insanlarla ilgili olmadığı düşünülmektedir (IARC, 1999). Erkek sıçana özgü böbrek etkilerine aracılık etmede alfa 2u-globulinin katılımı, bu nedenle risk değerlendirmesi için böbrek etkilerinin ilişkisini belirlemek üzere önemlidir.

Böbrek üzerindeki etkilere gerçekten de alfa 2u-globulinin aracılık ettiğini kanıtlamak için, böbrek fonksiyonunu araştırmak üzere idrar analizi (test yöntemlerinde isteğe bağlı) ve böbrek patolojisine alfa 2u-globulinin katılımını göstermek için immünohistokimyasal araştırma da dahil olmak üzere tam histopatolojik inceleme gereklidir (bkz. örneğin Hamamura ve ark. (2006) ve IARC (1999)).

Sıçanlar hakkındaki kapsamlı veri tabanı nedeniyle, bu tür şu anda alfa 2u-globulin aracılı nefropatiye neden olan maddeleri test etmek için tercih edilmektedir. Bununla birlikte, alfa 2u-globulin aracılı nefropatinin uygulanabilecek dozu sınırlaması durumunda başka türlerin kullanımı (örn. fare) düşünülebilir ve gerçekleştirilmelidir.

- Üreme sistemi toksisitesi için ek parametreler

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, sperm parametreleri ve/veya östrus döngüleri ölçümleri gibi üreme parametreleri dahil edilerek değiştirilebilir. Maddenin güvenli kullanımını sağlamak için bu incelemeler kullanılmalıdır. Bu tür soruşturmaların yapılması kayıt ettirenin takdirine bağlıdır.

Çalışmalar birleştirilmesi

Hayvan refahı göz önüne alındığında, bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının farklı bir bilgi gerekliliğini karşılamak için gerekli olan bir çalışmayla birleştirilmesi mantıklı olabilir. Çalışmaları birleştirmek kayıt ettirenlerin sorumluluğundadır ve çalışmaların birleştirilmesinin de dezavantajları olduğundan dikkatli bir değerlendirme gerektirir. Bir çalışma birleşiminin, her bir araştırmancının bilgilerinin geçerliliğini ve sonuçlarını bozmaması sağlanmalıdır.

Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 422) ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışması, bir sub-akut toksisite çalışması ve üreme/gelişimsel toksisite için bir tarama çalışmasının birleşimidir. Bu testin avantajları ve dezavantajları yukarıda açıklanmıştır (bkz. Bölüm [R.7.5.4.1.2](#)).

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının bir *in vivo* memeli eritrosit mikronükleus testi ve/veya bir *in vivo* memeli alkalin komet testi ile birleştirilmesi için, özel hususlar ve referanslar OECD Test Rehberi 474 ve 489'da verilmektedir.

Bir subkronik toksisite çalışmasının genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasıyla birleştirilmesi genellikle desteklenmez. Subkronik toksisite çalışmasından elde edilen bilgiler, doz seviyelerine ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına yönelik çalışma tasarımına karar verirken değerli olabilir. Bununla birlikte, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımı tüm grupları içeriyorsa ve subkronik toksisite ile ilgili mevcut bilgiler bazı sınırlamalara sahipse, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından elde edilen bilgiler, mevcut bilgilerle birlikte subkronik toksisite için bilgi gerekliliğini yerine getirebilir.

R.7.5.6.3.5 Tekrarlı doz toksisitesi için standart test rejiminin KKDİK Ek 11 uyarlamaları

Bilgi gerekliliklerinin Ek 11 uyarlamalarının uygulanmasına ilişkin genel rehberlik [BG ve KGD Rehberinin](#) R.5 Bölümünde verilmektedir. Tekrarlanan doz toksisitesi için aşağıdaki ek rehber geçerlidir.

Testin bilimsel olarak gerekli görülmemesi

Bilimsel olarak gerekli görülüyorsa, bazı maddeler tekrarlı doz toksisitesi testinden hariç tutulabilir (Ek 11, Bölüm 1). Bu, örneğin aşağıdaki durumlarda geçerli olabilir:

- tekrarlı doz toksisitesine ilişkin mevcut veriler, İyi Laboratuvar Uygulamalarına veya KKDİK Yönetmeliği Madde 14(3)'te atıfta bulunulan test yöntemlerine göre gerçekleştirilmemiş bir çalışmadan elde edilmiştir, ancak bu veriler, Madde 14(3) içerisinde belirtilen ilgili test yönteminin anahtar parametrelerini yeterli ve güvenilir bir şekilde kapsamaktadır ve sınıflandırma, etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için yeterlidir, bu çalışmadaki maruz kalma süresi standart test yöntemiyle karşılaştırılabilir veya daha uzundur ve çalışmanın yeterli ve güvenilir belgelendirmesi sağlanmıştır;
- *Kanıt Ağırlığı*, mevcut bilgilerin yeterli bir zararlılık karakterizasyonu ve maddeye maruz kalmanın yeterince kontrol edildiği bir KGD için yeterli olduğunu gösterir;
- yaygın işlevselliğe ve/veya parçalanma ürünlerine sahip bir grup veya bir madde kategorisine ait maddeler veya toksikolojik özelliklerin nitel ve nicel anlayışına ilişkin yeterli bilgi için, tüm bireysel kategori üyelerinin test edilmesi gerekli olmayabilir (Ek 11, Bölüm 1.5). Bir madde kategorisi için çapraz okumanın uygulanmasına ilişkin kriterler ve ayrıntılı rehberlik [BG ve KGD Rehberinin](#) R.4.3.2 ve R.6.2 Bölümlerinde bulunabilir (ayrıca bkz. OECD, 2014).

Test teknik olarak mümkün değildir

Tekrarlı doz toksisitesi testinin yapılmasının teknik olarak mümkün olmadığı durumlar da olabilir (Ek 11, Bölüm 2). Bu, örneğin aşağıdaki durumlarda geçerli olabilir:

- Madde ortam koşullarında havada tutuşur;
- Madde anında parçalanmaya uğrar. Böyle bir durumda bölünme ürünleri için bilgi gereklilikleri, bu belgede belirtilene benzer bir yaklaşım izlenerek değerlendirilmelidir.

Maddeye özel maruz kalmaya dayalı test

Ek 11, 3.2 (a), bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından feragat etmek için çok katı sınırlar/gereklilikler belirler. Üç kriterin karşılanması gerekir: (i) "önemli maruz kalmanın olmaması veya hiç olmaması" ile ilgili, (ii) DNEL değerinin ilgili ve uygun olması ve (iii) "maruz kalmanın her zaman türetilen DNEL değerinin çok altında olmasını" gerektirir. Bu feragat olasılığının daha ayrıntılı açıklaması, Bölüm [R.7.5.4.3.4](#) "Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından feragat etme" bölümünde verilmiştir.

Potansiyel olarak daha muhtemel bir uyarılma olasılığı, maddenin yalnızca sıkı kontrol koşulları altında kullanıldığını gösteren belgelendirme gerektiren Ek 11 3.2(b)'de belirtilmiştir. Bu koşullar, yani kayıt ettirenin bu feragat olasılığını kullanması için uygulanması gereken teknikler, kontroller ve prosedürler, KKDİK Yönetmeliği Madde 18(4)'de belirtilmiştir.

Ek 11, 3.2(c) "bir matrise kalıcı olarak gömülü" maddelerle ilgilidir ve yalnızca bu özel durumlar için geçerlidir. Ek 11'in 3.1 ve 3.3 Bölümlerinin tek başına ya da bağımsız feragat olasılıkları değil, Bölüm 3.2'de belirtilen tüm uyarlamalar için geçerli olan genel gereklilikler olması dikkate değerdir.

R.7.5.7 Tekrarlı doz toksisitesi için referanslar

Adler S, Basketter D, Creton S, Pelkonen O, van Benthem J, Zuang V, Andersen K, Angers-Loustau A, Aptula A, Bal-Price A, Benfenati EBU, Bessems J, Bois F, Boobis A, Brandon E, Bremer S, Broschard T, Casati S, Coecke S, Corvi R, Cronin M, Daston G, Dekant W, Felter S, Grignard E, Gundert-Remy U, Heinonen T, Kimber I, Kleinjans J, Komulainen H, Kreiling R, Kreysa J, Leite S, Loizou G, Maxwell G, Mazzatorta P, Munn S, Pfuher S, Phrakonkham P, Piersma A, Poth A, Prieto P, Repetto G, Rogiers V, Schoeters G, Schwarz M, Serafimova R, Tähti H, Testai E, van Delft J, van Loveren H, Vinken M, Worth A ve Zaldivar J. (2011) Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing; current status and future prospects (Kozmetik testleri için alternatif (hayvan dışı) yöntemler; mevcut durum ve gelecekte beklenenler). Arch Toxicol 85:367-485.

Checkoway H, Pearce NE ve Crawford-Brown DJ (1989) Research methods in Occupational Epidemiology (Mesleki Epidemiyolojide Araştırma Yöntemleri) Oxford University Press, New-York, NY, ABD.

ECETOC (2002) ECETOC Teknik Rapor No. 85, Toksikoloji Çalışmalarında Olumsuz ve Olumsuz Olmayan Etkilerin Tanınması ve Aralarındaki Farklılık. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/technical-reports>

ECETOC (2003) ECETOC Teknik Rapor No. 89, Nicel Yapı Aktivite İlişkileri: Kimyasal yönetim uygulamaları açısından insan sağlığı ve çevre sonlanma noktaları için piyasadaki mevcut yazılımın değerlendirilmesi. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/technical-reports>

EFSA (2012) Dermal Emilim Rehberi. EFSA Journal 10:2665 [30 s.]. Erişim adresi: <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2665>

EFSA (2017) Güncelleştirme: Risk değerlendirmesinde kıyaslama dozu yaklaşımının kullanımına ilişkin rehber. EFSA Journal 15:4658 [41 s.]. Erişim adresi: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4658>

EFSA/DSÖ (2016) Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC) yaklaşımının gözden geçirilmesi ve yeni TTC karar ağacının geliştirilmesi. EFSA destekleyici yayın 2016: EN-1006. 50 s. Erişim adresi: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1006/pdf>.

Hamamura M, Hirose A, Kamata E, Katoku K, Kuwasaki E, Oshikata T, Nakahara Y, Ema M ve Hasegawa R (2006) Semi-quantitative immunohistochemical analysis of male rat-specific alpha2u-globulin accumulation for chemical toxicity evaluation (Kimyasal toksisite değerlendirmesi için erkek sıçana özgü alfa2u-globulin birikiminin yarı-nicel immünohistokimyasal analizi). J Toxicol Sci 31:35-47.

Hernberg S (1991) Introduction to Occupational Epidemiology (Mesleki Epidemiyolojiye Giriş). Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI,, ABD

IARC (1999) Tiroid, Böbrek ve İdrar Kesesi Karsinogenezinde Tür Farklılıkları. IARC Bilimsel Yayınları No. 147 (CC Capen, E Dybing, JM Rice ve JD Wilbourn Ed.), 225 s. Erişim adresi: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Publications/pub147/IARCpub147.pdf>

Kroes R, Renwick AG, Cheeseman M, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos JG ve Würtzen G (2004) Structure-based thresholds of toxicological concerns (TTC): Guidance for application to substances present at low levels in the diet (Toksikolojik endişelerin yapı temelli eşikleri (TTC): Diyetle düşük seviyelerde bulunan maddelere uygulama rehberi). Food Chem Toxicol 42:65-83.

Meek ME, Boobis A, Cote I, Dellarco V, Fotakis G, Munn S, Seed J ve Vickers C (2014) New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action/species concordance analysis (DSÖ/IPCS çerçevesinin etki şekli/tür uyum analizi üzerine evrimi ve uygulamasında yeni gelişmeler). J Applied Toxicol 34:1-18.

OECD (2003) Kimyasal Zararlılık/Risk Değerlendirmesinde Kullanılan Seçilmiş Anahtar Genel Terimlerin Açıklamaları; Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 44 (ENV/JM/MONO(2003)15). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2003\)15&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2003)15&docLanguage=En)

OECD (2006) Yeni ve mevcut kimyasalların değerlendirilmesinde (Nicel) Yapı Aktivite İlişkisi (Q)SAR modellerinin OECD üye ülkelerindeki düzenleyici kullanımları ve uygulamalarına ilişkin Rapor. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 58 (ENV/JM/MOM(2006)25). Erişim adresi: <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/38131728.pdf>

OECD (2007a) HPV Kimyasallarının İnceleme Rehberi. http://www.oecd.org/document/7/0,2340,en_2649_34379_1947463_1_1_1_1,00.html

OECD (2007b) (Nicel) Yapı-Aktivite İlişkisi [(Q)SAR] Modellerinin Doğrulanmasına İlişkin Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 69 (ENV/JM/MONO(2007)2). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=en/v/jm/mono\(2007\)2](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=en/v/jm/mono(2007)2)

OECD (2009) Akut Solunum Toksikitesi Testi Hakkında Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 39 (ENV/JM/MONO(2009)28). Erişim adresi: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd-gd39.pdf>

OECD (2012) Endokrin bozukluğuna ilişkin kimyasalların değerlendirilmesi için standartlaştırılmış test rehberlerine ilişkin Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 150 (ENV/JM/MONO(2012)22). Erişim adresi: <http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono%282012%2922&doclanguage=en>

OECD (2014) Kimyasalların Gruplandırılmasına İlişkin Rehber, İkinci Baskı. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 194 (ENV/JM/MONO(2014)4). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)4&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)4&doclanguage=en)

Prieto P, Clemedson C, Meneguz A, Pfaller W, Sauer UG ve Westmoreland C (2005) Subacute and subchronic toxicity (Subakut ve subkronik toksisite). Altern Lab Anim 33 (Ek 1):109-16.

Prieto P, Baird AW, Blaauw BJ, Castell Ripoll JV, Corvi R, Dekant W, Dietl P., Gennari A, Gribaldo A, Griffin JL, Hartung T, Heindel JJ, Hoet P, Jennings P, Marocchio L, Noraberg J, Pazos P, Westmoreland C, Wolf A, Wright J ve Pfaller W (2006) The Assessment of Repeated Dose Toxicity *In Vitro*: A Proposed Approach (*In Vitro* Tekrarlı Doz Toksikitesinin Değerlendirilmesi: Önerilen Yaklaşım). ECVAM Çalıştay 56 Rapor ve Önerileri. ATLA. Altern Lab Anim 34:315-41.

Rennen MAJ, De Heer C ve Houben GF (1999) Prediction of Local Effects upon Dermal and Respiratory Repeated Exposure to Chemicals (Kimyasallara Deri ve Solunum Yoluyla Tekrarlı Maruz Kalmaya İlişkin Lokal Etkilerin Tahmini). Hollanda Uygulamalı Bilimsel Araştırma Örgütü (TNO), TNO Beslenme ve Gıda. Araştırma Enstitüsü, TNO Rapor V98.1267, Zeist, Hollanda.

Rothman KJ ve Greenland S (1998) Modern Epidemiology (Modern Epidemiyoloji), 2. Baskı, Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, ABD.

SCCS (2016) Kozmetik İçerik Maddelerinin Testleri ve Güvenlik Değerlendirmesi için SCCS Rehber Notları, 9. revizyon, 29 Eylül 2015 tarihinde kabul edilmiştir ve 25 Nisan 2016'da yayınlanmıştır. SCCS/1564/15. Erişim adresi: http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/scs_o_190.pdf

Swaen GMH (2006) A framework for using epidemiological data for risk assessment (Risk değerlendirme için epidemiyolojik verileri kullanmak üzere bir çerçeve). Hum Exp Toxicol 25:147-55.

TemaNord 2005: 559 (2005) Threshold of Toxicological Concern (TTC), Literature review and applicability (Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC), Literatür incelemesi ve uygulanabilirlik) (ISBN 92-893-1196-7). Erişim adresi: <http://norden.diva-portal.org/smash/get/diva2:702709/FULLTEXT01.pdf>

DSÖ (1990) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 104 - Gıdalardaki Pestisit Kalıntıları, toksikolojik değerlendirme ilkeleri. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (1994) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 170 - İnsan maruz kalma limitleri için rehber değerler. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (1996a) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 180 - Kimyasallara Maruz Kalma ile İlişkili Doğrudan İmmünotoksisteyi Değerlendirmeye Yönelik İlkeler ve Yöntemler. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (1996b) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 212 - Kimyasallara Maruz Kalma ile İlişkili Alerjik Aşırı Hassasiyetin Değerlendirilmesi için İlkeler ve Yöntemler. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (1999) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 210 - Kimyasallara maruz kalma nedeniyle insan sağlığına yönelik Risklerin değerlendirilmesine ilişkin ilkeler. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (2002) DSÖ/IPCS Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı. Endokrin Bozucuların Bilimsel Durumunun Küresel Değerlendirmesi. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/.

DSÖ (2004) DSÖ/IPCS Risk değerlendirme terminolojisi. Erişim adresi: <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ipcsterminologyparts1and2.pdf?ua=1>

DSÖ (2007) DSÖ/IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri No. 236 - Kimyasallara Maruz Kalma ile İlişkili Özbaşıklığı Değerlendirme İlkeleri ve Yöntemleri. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

DSÖ (2012) Uyumlaştırma Proje Dokümanı No. 10 - Kimyasallar için İmmünotoksiste risk değerlendirmesine ilişkin DSÖ/IPCS Rehberi. Erişim adresi: <http://www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj10.pdf>

DSÖ (2016) DSÖ monografı ve uzmanlar için rehber doküman. Erişim adresi: <http://www.who.int/foodsafety/chem/jecfa/guidelines/en/>

Worth AP ve Balls M, ed. (2002) Kimyasal testler için alternatif (hayvan dışı) yöntemler: mevcut durum ve gelecekte beklenenler. ECVAM ve ECVAM çalışma grubu tarafından kimyasallar üzerine hazırlanan bir rapor. Altern Lab Anim 30 (Ek 1) s. 125.

Zuang V, Desprez B, Barroso J, Belz S, Berggren E, Bernasconi C, Bessems J, Bopp S, Casati S, Coecke S, Corvi R, Dumont C, Gouliarmou V, Griesinger C, Halder M, Janusch-Roi A, Kienzler A, Landesmann B, Madia F, Milcamps A, Munn S, Price A, Prieto P, Schäffer M, Triebe J, Wittwehr C, Worth A ve Whelan M (2015) EURL ECVAM Alternatif Yöntemler ve Yaklaşımlar Geliştirme, Onaylama ve Düzenleyici Kabul Durum Raporu. JRC Bilim ve İlke Raporu EUR 27474 EN. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC97811/lbna27474enn.pdf>.

Bölüm R.7.5 için Ek R.7.5-1 ila 2

Ek R.7.5–1 Özel sistem/organ toksisitesi için test stratejisi: örnek nörotoksosite değerlendirmesi

Ek R.7.5-1 İçeriği

1. Genel hususlar
2. Tekrarlı doz toksisitesi için KKDİK bilgi gerekliliklerinden nörotoksitenin tanımı ve nörotoksosite potansiyelinin göstergesi
3. Yapı-aktivite hususları
4. Mevcut bilgilerin veya ilk testlerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi
5. DSÖ/FAO Uzmanları Pestisit Kalıntıları Ortak Toplantısından (JMPPR) öneriler
6. Daha fazla nörotoksosite testi
7. Referanslar

1. Genel hususlar

Bazı özel sistem/organ etkileri için, Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik Eki veya OECD'nin test yöntemleri, toksisitenin yeterli karakterizasyonunu sağlamayabilir. Sistemik toksisite için standart çalışmalar veya yapı aktivite ilişkisi bu tür etkilerin göstergeleri olabilir. Toksisitenin ve dolayısıyla insan sağlığına yönelik riskin yeterli karakterizasyonu için, diğer yayınlanmış test yöntemleri, kurum içi yöntemler veya özel olarak tasarlanmış testler kullanılarak çalışmalar yapılması gerekli olabilir. Bazı referanslar [Tablo R.7.5-3](#)'te verilmiştir. Belirli organ/sistem toksisitesini araştırmak için bir çalışma başlatmadan önce, canlı hayvanların kullanıldığı çalışmalara olan ihtiyacın (ve kapsamının/boyutunun) özellikle dikkatlice değerlendirilebilmesi için çalışma tasarımının ÇŞB'na sunulması önemlidir.

Organ/sistemik toksisitenin özel araştırması, bir dereceye kadar OECD'nin test rehberlerine ve Test Yöntemleri Hakkında Yönetmeliğin Ekine göre gerçekleştirilen tekrarlı doz toksisitesi testlerinin bir parçası olarak gerçekleştirilmektedir. Herhangi bir organ/sistem toksisitesinin (örn. bağışıklık, endokrin veya sinir sistemi) özel araştırması (veya daha fazla araştırılması) bazen gerekli olabilir ve durum bazında ele alınmalıdır. Bir test stratejisine örnek olarak nörotoksosite için yaklaşım aşağıda verilmiştir.

2. Tekrarlı doz toksisitesi için KKDİK bilgi gerekliliklerinden nörotoksitenin tanımı ve nörotoksosite potansiyelinin göstergesi

Nörotoksosite, merkezi veya periferik sinir sistemi veya duyu organlarında olumsuz etkilerin bir madde tarafından tetiklenmesidir. Duyu organına özgü etkileri sinir sistemi içinde bulunan diğer etkilerden ayırt etmek zararlılık ve risk değerlendirmesi amacıyla yararlıdır. Bir madde, sinir sisteminde tekrarlanabilir bir lezyona veya tekrarlanabilir bir nöral fonksiyon bozukluğu modeline neden oluyorsa, *nörotoksik* kabul edilir.

Test stratejisinin başlangıç noktası, Ek 8, 9 ve 10'da belirtilen ve Bölüm [R.7.5.6.3](#)'te ayrıntılı olarak açıklanan KKDİK gereklilikleridir.

Tonaj düzeyine bağlı olarak, bu gereklilikler 28 günlük ve/veya 90 günlük bir testi tetikleyebilir (örneğin OECD Test Rehberi 407, 408/B.7, B.26).

Bu protokoller, nörotoksisiteye neden olabilecek bir madde potansiyelinin değerlendirilmesi için başlangıç noktası olarak kabul edilmesi gereken bir dizi sinir sistemi sonlanma noktası (örneğin, motor ve otonom sinir sistemi aktivitesinin klinik gözlemleri, sinir dokusunun histopatolojisi) içerir. Standart 28- / 90 günlük testlerin sinir sistemi yapısının ve işlevinin yalnızca bazı yönlerini ölçtüğü bilinmelidir (örn. İşlevsel Gözlemsel Seri), diğer yönler ise, (örn. öğrenme ve hafıza ve duyuşal işlevler) sadece yüzeysel olarak test edilir veya test edilmez. SAR değerlendirmeleri, standart toksisite testlerinde test edilecek ek parametrelerin kullanılmasını veya gecikmiş nörotoksisite (OECD Test Rehberi 418 veya 419/B.37 veya B.38; aşağıya bakınız) gibi çalışmaların derhal talep edilmesini sağlayabilir.

Mevcut bilgilerden, yani yeterli şekilde gerçekleştirilen tekrarlı doz toksisite testlerinden, diğer test sistemleri (örn. *in vitro*), test dışı sistemler ((Q)SAR ve çapraz okuma) veya insan verilerinden nörotoksisite belirtisi yoksa, nörotoksisite için herhangi bir özel test yapmak gerekli olmayacaktır.

Aşağıda sunulan yaklaşım, bir maddenin potansiyel nörotoksisitesini araştırmak için hiyerarşik, aşamalı bir stratejidir. Adım 1 ve 2'de belirtilen gerekliliklerin, KKDİK Yönetmeliği Ek 8, 9 ve 10'daki tonaja dayalı bilgi gereklilikleri tarafından karşılandığı belirtilmelidir.

3. Yapı-aktivite hususları

Yapısal uyarılar yalnızca nörotoksik potansiyelin pozitif bir göstergesi olarak kullanılır. Nörotoksisite uyarısı olan madde sınıfları, organik çözücüler (kronik toksik ensefalopati için), organofosfor maddeler (gecikmiş nörotoksisite için) ve karbamatları (kolinerjik etkiler için) içerebilir. Biri kural tabanlı DEREK (Mevcut Bilgiden Risk Tahmini Çıkarımı) sistemi olmak üzere birkaç tahmin tekniği mevcuttur. Kural tabanı, aşağıdaki zararlılıkları ve yapısal uyarıları içerir: Organofosfat (doğrudan ve dolaylı antikolinesteraz aktivitesi için), N-metil veya N, N-dimetil karbamat (direkt antikolinesteraz aktivitesi için), gama-diketonlar (nörotoksisite için).

3. Mevcut bilgilerin veya ilk testlerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi

Standart akut veya tekrarlı doz toksisitesi testlerindeki nörotoksisite belirtileri, başka sistemik toksisiteye veya şişmiş veya tıkanmış sindirim sistemi gibi fiziksel etkilerden kaynaklanan rahatsızlığa ikincil olabilir. Ölümcüllüğe neden olanların yakınında veya üzerindeki doz seviyelerinde görülen sinir sistemi etkileri, tek başına, nörotoksisitenin kanıtı olarak değerlendirilmemelidir. Yüksek dozların uygulandığı akut toksisite çalışmalarında, genellikle sinir sistemi üzerindeki etkileri düşündüren klinik belirtiler gözlenir (örneğin, uyuşukluk gözlemleri, duruş veya davranış değişiklikleri) ve özel ve özel olmayan nörotoksisite belirtileri arasında bir ayırım yapılmalıdır.

Nörotoksisite, şu belirtilerle gösterilebilir: merkezi veya periferik sinir sistemindeki veya özel duyu organlarındaki morfolojik (yapısal) değişiklikler; nörofizyolojik değişiklikler (örn. elektroensefalografik değişiklikler); davranışsal (işlevsel) değişiklikler; nörokimyasal değişiklikler (örn. nörotransmitter seviyeleri).

Nörotoksisitenin değerlendirilmesi için bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı dikkate alınmalı ve etkinin türü, şiddeti, sayısı ve tersinirliği dikkate alınmalıdır. Tek veya birkaç birbirinden ilgisiz etkiden ziyade, tutarlı bir nörotoksik bulgu modeli nörotoksisitenin ikna edici kanıtı olarak alınmalıdır.

Sinir sisteminin birincil hedef organ olup olmadığını tespit etmek önemlidir. Nörotoksik etkilerin geri döndürülebilirliği de dikkate alınmalıdır. Maruz kalan insanlarda bu tür etkilerin ortaya çıkma potansiyeli (yani maruz kalma modeli ve tahmini maruz kalma düzeyi *akuttur*) risk karakterizasyonunda dikkate alınmalıdır. Tersinir etkiler, etkinin ciddiyetine ve niteliğine bağlı olarak yüksek endişe kaynağı olabilir.

Bu bağlamda, deney hayvanlarında gözlenen zararsız görünen etkilerin, oluştukları ortama bağlı olarak insanlarda yüksek endişe kaynağı olabileceği unutulmamalıdır (örneğin, uyku hali kendi başına zararlı olmayabilir, ancak makine çalıştırılmasıyla ilgili olarak yüksek endişeye neden olan bir etkidir). Ayrıca, açık etki geçici olsa bile kalıcı bir lezyonun oluşma olasılığı göz ardı edilemez. Sinir sistemi, hasarı telafi edebilecek yedek kapasiteye sahiptir, ancak yedek kapasitesindeki sonuçta ortaya çıkan azalma, olumsuz bir etki olarak değerlendirilmelidir. Tersinir olmayan nörotoksik etkiler yüksek endişe kaynağıdır ve genellikle yapısal değişiklikleri içerir, ancak en azından insanlarda, kalıcı fonksiyonel etkilerin (örn., depresyon, istemsiz motor titreme), görünüşte morfolojik anormallikler olmaksızın, nörotoksik maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıktığından şüphelenilir.

Organofosfat pestisitlerin değerlendirilmesi için, DSÖ/FAO Uzmanları Pestisit Kalıntıları Ortak Toplantısı (JMPR), "Kolinesteraz İnhibisyonunun Yorumlanması" (FAO, 1998; 1999) üzerine öneriler yayınlamıştır. Aşağıda özetlenen bu tavsiyelerin uygulanabilirliği, kolinesterazı inhibe eden diğer maddelere de genişletilebilir. Kolinesteraz inhibisyonu için yapısal bir uyarıya sahip olabilecek maddeler için, JMPR tarafından önerilen asetilkolinesteraz aktivitesinin ölçümünün, maruz kalma yolundan bağımsız olarak KKDİK tarafından gerekli görülen 28 veya 90 günlük standart test protokolleri için parametreler listesine dahil edilebileceği belirtilmelidir.

5. DSÖ/FAO Uzmanları Pestisit Kalıntıları Ortak Toplantısından (JMPR) öneriler

Beyin asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu ve klinik belirtiler, asetilkolinesterazları inhibe eden maddelerle ilgili toksikolojik çalışmalarda endişe duyulan birincil sonlanma noktaları olarak kabul edilir. Eritrosit asetilkolinesteraz inhibisyonunun, beyin enzimi ile ilgili veriler mevcut olmadığında, beyin ve periferik sinir asetilkolinesteraz inhibisyonu için bir vekil olarak kullanıldığı sürece, olumsuz bir etki olduğu da kabul edilir. Periferik etkiler için bir vekil olarak eritrosit asetilkolinesteraz inhibisyonunun kullanılması, beyne göre eritrositlerde daha fazla asetilkolinesteraz inhibisyonu ile sonuçlanan akut maruz kalmalar için gerekçelendirilmiştir. Bununla birlikte, tekrarlı doz çalışmalarında eritrositik enzimin inhibisyonuna güvenilmesi, enzimin sinir sistemindekine göre eritrositlerdeki yeniden sentez oranının daha düşük olması nedeniyle periferik dokularda aşırı inhibisyon tahminine neden olabilir. Plazma asetilkolinesteraz inhibisyonunun ilgili olmadığı düşünülmektedir. Beyin ve eritrosit asetilkolinesteraz inhibisyonu ile ilgili olarak, uzmanlar, %20 veya daha fazla istatistiksel olarak anlamlı inhibisyonun açık bir toksikolojik etkiyi temsil ettiğini ve bu tür bulguları reddetme kararının gerekçelendirilmesi gerektiğini tanımlamıştır. JMPR ayrıca, %20'den altında istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon veya %20'nin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan inhibisyonun, verilerin daha ayrıntılı bir analizinin yapılması gerektiğini gösterdiğine ilişkin bir kural üzerinde anlaşmıştır. Bu bulguların toksikolojik anlamlılığı durum bazında belirlenmelidir. Dikkate alınması gereken hususlardan biri, doz-cevap özelliğidir.

5. İleri nörotoksisite testleri

KKDİK kapsamında gerekli olan standart sistemik toksisite testlerinden elde edilen veriler, zararlılık değerlendirmesi, risk karakterizasyonu veya S&E için yeterli olmayan nörotoksisite göstergeleri sağlıyorsa, daha ileri araştırmaların yapısının dikkate alınması gerekecektir. Standart 28 günlük bir çalışmanın ardından KKDİK Yönetmeliği Ek 9'un gerekliliklerini karşılamak için 90 günlük bir çalışma başlatılırsa, uygulama yoluna bakılmaksızın sinir sistemi sonlanma noktalarını değerlendiren bir dizi sonlanma noktası dahil edilmelidir. Bazı durumlarda, etkilerin geri döndürülebilirliğinin değerlendirilmesi için bir uydu grubu dahil edilmesi olasılığıyla birlikte, OECD Test Rehberi 424 kullanılarak nörotoksisite testi gibi özel bir çalışma yapılması gerekli olabilir. OECD Test Rehberi 424, önceki çalışmalarda tanımlanan potansiyel nörotoksisitenin doğrulanması veya daha fazla karakterizasyonu için tasarlanmıştır. OECD rehberi, standart test sırasında halihazırda incelenenleri kopyalayan basit sonlanma noktaları sayısının en aza indirilebileceği ve daha özel testlerin dahil edilmesiyle daha belirli sonlanma noktalarının derinlemesine araştırılmasına daha fazla çaba gösterilen esnek bir yaklaşıma izin verir. Genel toksisite ile karışmayı önlemek için doz seviyelerinin ayarlanması düşünülmelidir.

Standart toksisite çalışmalarından elde edilen veriler açıkça özel nörotoksitenin göstergesiye (örn. sistemik toksisiteden daha düşük doz seviyelerinde meydana gelen nörotoksosite), genel toksisite çalışmalarından bulguları doğrulamak ve genişletmek ve nörotoksosite için bir NOAEL oluşturmak için daha fazla özel nörotoksosite testleri gereklidir. Yine OECD Test Rehberi 424'e göre nörotoksosite testi bu durum için uygun kabul edilir.

Belirli maddeler ve/veya belirli etkiler en iyi belirli türlerde araştırılır. Piridin türevleri insanlar ve primatlar için nörotoksiktir, ancak sıçanlar için değildir. Diğer nörotoksik maddeler arasında, organofosforlu maddeler, B.37 veya OECD Test Rehberi 418 (Akut maruz kalma sonrasında organofosforlu maddelerin gecikmiş nörotoksitesisi) ve B.38 veya OECD Test Rehberi 419 (Organofosforlu maddelerin gecikmiş nörotoksitesisi: 28 günlük tekrarlı doz çalışması) uyarınca tercihen yumurtlayan yetişkin tavukta gerçekleştirilecek, gecikmiş toksisite için belirli bir testte değerlendirilmesi gereken, bilinen gecikmiş nörotoksik özelliklere sahip bir gruptur. Bu tür çalışmalar, gecikmiş nörotoksositeyi tetikleyebilenlere benzer veya ilgili yapılara sahip biyosidal maddeler için özellikle gereklidir. Antikolinesteraz aktivitesi tespit edilirse, yeniden aktive edici ajana cevap için bir test gerekli olabilir.

Standart maruz kalma koşulları, nörotoksosite çalışmaları için her zaman yeterli olmayabilir. Bir hayvan deneyinde belirli nörotoksik etkileri tetiklemek için gereken maruz kalma süresi, temel etki mekanizmasına bağlı olacaktır. Kısa süreli zirvede maruz kalmalar, belirli madde/etki türleri için önemli olabilir. Test maddesi damar içine, deri altına veya oral yoldan bolus olarak uygulandığında, zaman-etki seyrini belirlemek ve tercihen zirve etkisi zamanında nörotoksosite parametrelerinin ölçümlerini gerçekleştirmek önemlidir.

Örneğin, bazı uçucu organik çözücülere kısa süreli maruz kalma ile ilişkili nörotoksosite, özellikle mesleki maruz kalma olmak üzere büyük ölçüde insan maruz kalmasını takiben tanımlanmıştır. Beklenen etkileri tespit etmek için tasarlanmış protokolleri kullanan akut soluma çalışmaları, bu tür maddeler/etkiler için idealdir. Bazı nörotoksik maddeler için, nörotoksositeyi ortaya çıkarmak için uzun bir maruz kalma süresi gereklidir.

Nörotoksitenin daha fazla araştırılması için en uygun yöntemler, standart sistemik toksisite testlerinde görülen etkiler ve/veya SAR temelli tahminlerden yola çıkılarak durum bazında belirlenmelidir. Kullanılabilecek yöntemlerin geniş kapsamı OECD (2004), DSÖ (1986) ve ECETOC (1992) tarafından yayınlanan belgelerde bulunabilir ve bazı yöntemler [Tablo R.7.5-3](#)'te özetlenmiştir.

Tablo R.7.5-3 Nörotoksisite araştırma yöntemleri

Etki	Mevcut yöntemler	Referanslar*
Morfolojik değişiklikler	Nöropatoloji. Genel anatomik teknikler. İmmünohistokimya. Özel Suşlar	Krinke, 1989; Odonoghue, 1989; Mattson ve ark., 1990
Fizyolojik değişiklikler	Elektrofizyoloji (örn. sinir iletim hızı (NCV), Elektroensefalogram (EEG), uyarılmış potansiyeller	Fox ve ark., 1982; Rebert, 1983; Mattson ve Albee, 1988
Davranış değişiklikleri	Fonksiyonel gözlemler. Duyusal fonksiyon testleri. Motor fonksiyon testleri (örn. lokomotor aktivite). Bilişsel fonksiyon testleri.	Robbins, 1997; Tilson ve ark., 1980; Cabe ve Eckerman, 1982; Pryor ve ark., 1983 Moser ve MacPhail, 1990; Moser 1995
Biyokimyasal değişiklikler	Nörotöransmitter analizi Enzim/protein aktivitesi. Hücre bütünlüğünün ölçüleri.	Dewar ve Moffet, 1979; Damstra ve Bondy, 1982; Cooper ve ark., 1986; Costa, 1998.

* ECETOC (1982), IPCS (1986) veya Mitchell (1982) kaynaklarında tam olarak verilmiştir.

7. Referanslar

Cabe PA ve Eckerman DA (1982) Assessment of learning and memory dysfunction in agent-exposed animals (Maddelere maruz kalan hayvanlarda öğrenme ve hafıza bozukluğunun değerlendirilmesi). *Kaynak: Nervous System Toxicology (Sinir Sistemi Toksikolojisi)* (Mitchell CL, Ed.), Raven Press, New York, NY, ABD, s. 138-98.

Cooper JR, Bloom FE ve Roth RH (Ed.) (1986) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology (Nörofarmakolojinin Biyokimyasal Temeli)*, Oxford University Press, New York, NY, ABD, 400 s.

Costa LG (1998) Biochemical and molecular neurotoxicology: Relevance to biomarker development, neurotoxicity testing and risk assessment (Biyokimyasal ve moleküler nörotoksikoloji: Biyobelirteç gelişimi, nörotoksisite testleri ve risk değerlendirmesiyle ilgili düzeyi). *Toxicol Lett* 102-103:417-21.

Damstra T ve Bondy SC (1982) Neurochemical approaches to the detection of neurotoxicity (Nörotoksisitenin saptanmasına nörokimyasal yaklaşımlar). *Kaynak: Nervous System Toxicology (Sinir Sistemi Toksikolojisi)* (Mitchell CL, Ed.), Raven Press, New York, NY, ABD, s. 349- 73.

Dewar AJ ve Moffet BJ (1979) Biochemical methods for detecting neurotoxicity. A short review (Nörotoksisiteyi tespit etmek için biyokimyasal yöntemler. Kısa bir inceleme). *Pharmacol Ther* 5:545-62.

ECETOC (1992) ECETOC Monograf No. 18, Kimyasalların nörotoksik potansiyelinin değerlendirilmesi. Erişim adresi: <http://www.ecetoc.org/monographs>

FAO (1998) Gıdalarda pestisit kalıntıları - 1998. Gıdalarda ve Çevrede Pestisit Kalıntıları üzerine FAO Uzman Paneli ve DSÖ Temel Değerlendirme Grubu Ortak Toplantısı Raporu. Bitki Üretimi ve Koruma Belgesi, No. 148. Erişim adresi: <http://www.who.int/foodsafety/publications/jmpr-reports/en/>

FAO (1999) Gıdalarda pestisit kalıntıları - 1999. Gıdalarda ve Çevrede Pestisit Kalıntıları üzerine FAO Uzman Paneli ve DSÖ Temel Değerlendirme Grubu Ortak Toplantısı Raporu. Bitki Üretimi ve Koruma Belgesi, No. 153. Erişim adresi: <http://www.who.int/foodsafety/publications/jmpr-reports/en/>

Fox DA, Lowndes HE ve Bierkamper GG (1982) Electrophysiological techniques in neurotoxicology (Nörotoksikolojide elektrofizyolojik teknikler). *Kaynak: Nervous System Toxicology (Sinir Sistemi Toksikolojisi) (Mitchell CL, Ed.), Raven Press, New York, NY, ABD, s. 299-336.*

Krinke G (1989) Neuropathological screening in rodent and other species (Kemirgen ve diğer türlerde nöropatolojik tarama). *J Am College Toxicol 8:141-6.*

Mitchell CL (Ed.) (1982) Nervous System Toxicology (Sinir Sistemi Toksikolojisi). Raven Press, New York, NY, ABD, 382 s.

O'Donoghue JL (1989) Screening for neurotoxicity using a neurologically based examination and neuropathology (Nörolojik temelli bir inceleme ve nöropatoloji kullanarak nörotoksisite taraması). *J Am College Toxicol 8:97-115.*

OECD (2004) Nörotoksisite Testi için Rehber Doküman. Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 20 (ENV/JM/MONO(2004)25). Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=en/v/jm/mono\(2004\)25](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?doclanguage=en&cote=en/v/jm/mono(2004)25) .

Mattsson JL ve Albee RR (1988) Sensory evoked potentials in neurotoxicology (Nörotoksikolojide duyuşsal uyarılan potansiyeller). *Neurotoxicol Teratol 10:435-43.*

Mattsson JL, Eisenbrandt DL ve Albee R (1990) Screening for neurotoxicity: complimentarity of functional and morphological techniques (Nörotoksisite için tarama: fonksiyonel ve morfolojik tekniklerin tamamlayıcılığı). *Toxicol Pathol 18:115-27.*

Moser VC ve MacPhail RC (1990) Comparative sensitivity of neurobehavioral tests for chemical screening (Kimyasal tarama için nörodavranışsal testlerin karşılaştırmalı hassasiyeti). *Neurotoxicology 11:335-44.*

Moser VC (1995) An evaluation of the components of a neurobehavioral screening battery (Nörodavranışsal tarama serisi bileşenlerinin bir değerlendirmesi). *Neurotoxicol Teratol 17:371.*

Pryor GT, Uyeno ET, Tilson HA ve Mitchell CL (1983) Assessment of chemicals using a battery of neurobehavioral tests: a comparative study (Bir nörodavranışsal test serisi kullanılarak kimyasalların değerlendirilmesi: karşılaştırmalı bir çalışma). *Neurobehav Toxicol Teratol 5:91-117.*

Rebert CS (1983) Multisensory evoked potentials in experimental and applied neurotoxicology (Deneyşel ve uygulamalı nörotoksikolojide çoklu duyuşsal uyarılmış potansiyeller). *Neurobehav Toxicol Teratol 5:659-71.*

Robbins TW (1977) Spontan motor aktivitenin ölçülmesi için mevcut yöntemlerin bir eleştirisi. *Kaynak: Handbook of Psychopharmacology (Psikofarmakoloji El Kitabı), Cilt 7 (Iverson LL, Iverson SD ve Snyder SH, Ed.), Plenum Press, New York, NY, ABD, s. 37-82.*

Tilson HA, Cabe, PA ve Burne TA (1980) Nörotoksisitenin değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal prosedürler. *Kaynak: Experimental and clinical neurotoxicology (Deneyşel ve klinik nörotoksikoloji) (Spencer PS ve Schaumburg HH, Ed.), Williams and Wilkins Company, Baltimore, MD, ABD, s. 758-66.*

DSÖ (1986) IPCS Çevre Sağlığı Kriterleri 60; Kimyasallara Maruz Kalma ile İlişkilili Nörotoksisitenin Değerlendirilmesine İlişkin İlkeler ve Test Yöntemleri. Erişim adresi: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_numerical/en/

Ek R.7.5–2 Tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için (Q)SAR

Tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için bir dizi *in silico* araç mevcuttur.

Bu Bölümün ana metninde daha önce belirtildiği gibi, bu araçların kullanımı esas olarak tarama ve mekanik bilgi elde etmek için olmalıdır. Bazıları aşağıdaki [Tablo R.7.5- 4](#)'te sunulmaktadır. Mevcut veri tabanlarının, literatürün ve *in silico* modellerin daha kapsamlı bir incelemesi, Lapenna ve ark., 2010 çalışmasından bir JRC raporunda verilmiştir.

Tablo R.7.5–4 Tekrarlı doz toksisitesinin tahmini için *in silico* araçlar

Araç	Model/modül	Açıklama
QSAR Araç Kutusu (Ücretsiz) http://www.qsartoolbox.org/	Profil oluşturucular ve veritabanları	ECHA ve OECD tarafından ortaklaşa geliştirilen QSAR Araç Kutusu, tekrarlı doz toksisitesi için belirli profil oluşturucular (örn. Tekrarlı doz HESS) ve veri tabanları (örn. Fraunhofer ITEM) içerir. Bu modüller, çapraz okuma veya eğilim analizi yoluyla veri boşluklarını doldurmak için tekrarlı doz toksisitesi deneysel verileri ile analogların seçimini kolaylaştırır.
ADMET Predictor (Simulation Plus) (Ticari) http://www.simulations-plus.com/Products.aspx?pID=13&mID=27	Toksisite	ADMET Predictor içerisindeki toksisite modülü, çeşitli organ toksisiteleri (örn. kalp, karaciğer) için bir dizi model içerir.
Derek Nexus (Lhasa) (Ticari) https://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm	Organ toksisitesi modelleri	Derek Nexus, tekrarlı doz toksisitesi (örn. karaciğer) ile ilgili birkaç belirli organ toksisitesi modeli içerir.
Discovery Studio (BIOVIA) (Ticari) http://accelrys.com/products/aborative-science/biovia-discovery-studio/qsar-admet-and-predictive-toxicology.html	TOPKAT	TOPKAT (Bilgisayar Destekli Teknoloji ile Toksisite Tahmini), Sıçan kronik LOAEL için bir model içerir.
Leadscope (Ticari) http://www.leadscope.com/index.php	Çeşitli organ olumsuz etkileri istatistiksel modelleri	Leadscope, tekrarlı doz toksisitesiyle ilgili birkaç belirli organ toksisitesi modeli içerir (örn. hepatobiliyer yol).

Referans

Lapenna S, Fuart-Gatnik M ve Worth A (2010) Review of QSAR models and software tools for predicting acute and chronic systemic toxicity (Akut ve kronik sistemik toksisiteyi tahmin etmek için QSAR modellerinin ve yazılım araçlarının gözden geçirilmesi). JRC raporu EUR 24639 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi. Erişim adresi: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC61930>

R.7.6 Üreme sistemi toksisitesi

R.7.6.1 Giriş

Kimyasalların üreme sistemine zararlılıkları, genel nüfus için açık bir endişe kaynağıdır. Benzer şekilde, birey için, üreme kapasitesindeki bir bozukluk ve gelişimsel bozuklukların ortaya çıkması, açık bir şekilde ciddi sağlık kısıtlamalarıdır. Bu nedenle, maddeler için üremeyle ilgili potansiyel olarak zararlı özelliklerin ve risklerin belirlenmesi önemlidir. KKDİK bilgi gerekliliklerinin iki temel amacı vardır:

- üreme için toksik madde olarak kategorize etme dahil, sınıflandırma ve etiketlemenin gerekip gerekmediğine karar vermek için yeterli bilgiye sahip olmak;
- risk değerlendirmesi için yeterli bilgiye sahip olmak.

Üreme toksisitesi için bilgi gereklilikleri REACH Tüzüğü'nde 2015'te¹¹³ değiştirilmiştir (KKDİK Yönetmeliği'nde de bu değişiklikler yer almaktadır) ve bu değişikliğin beyanları düzenlemeyi oluşturanların motivasyonunu açıklamaktadır. Beyanlar, mevzuatın amaçlarının kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına olanak sağlamayı amaçlayan şekilde rehberin tamamlayıcı bir parçası olarak kabul edilir. Bunlardan bazılarında bu rehberde gereken şekilde atıfta bulunmaktadır.

Çeşitli mevzuatlarda ve üreme sistemi toksisitesiyle ilgili bağlamda kullanılan terminoloji farklılık gösterir. Bu rehber dokümanda "üreme sistemi toksisitesi" terimi, doğurganlık ve gelişim üzerindeki etkileri kapsamak için kullanılmaktadır. Doğurganlık, gelişimsel toksisite dışında üreme döngüsü üzerindeki tüm etkileri kapsayan geniş bir kavram olarak görülmektedir. "Gelişimsel toksisite" olarak anılan gelişim, aşağıdaki metinde tanımlanmıştır.

KKDİK içerisinde, Kimyasal Güvenlik Raporu (KGR) formatı, "üreme sistemi toksisitesi" ana başlığı altında "doğurganlık üzerindeki etkiler" ve "gelişimsel toksisite" terimlerini içerir. KKDİK Eklerinde olduğu gibi, KKDİK Yönetmeliğindeki diğer metinlerde de üreme sistemi toksisitesi doğurganlık ve gelişim toksisitesi olarak ikiye ayrılır¹¹⁴. KKS'de üreme sistemi toksisitesi için ana başlığın (7.8) "Üreme toksisitesi", doğurganlık alt başlığının (7.8.1) "Üreme toksisitesi" ve gelişimsel toksisite alt başlığının "Gelişimsel toksisite / teratojenite" (7.8.2) olduğu belirtilmelidir.

Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik içerisinde (SEA Yönetmeliği), SEA Ek 1'de tanımlanan "*üreme sistemi toksisitesi*" terimi yetişkin erkek ve kadınlarda cinsel fonksiyon ve doğurganlık, yavruların gelişimi üzerinde (bir madde tarafından) tetiklenen olumsuz etkileri ve anne sütü üzerine veya anne sütü ile geçen olumsuz etkileri tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu nedenle, SEA Yönetmeliğinde üreme sistemi toksisitesi içindeki farklılaşma, KKDİK Yönetmeliğinde öngörülenden farklıdır, yani anne sütü etkileri ayrı olarak değerlendirilir.

Bu nedenle, sınıflandırma amacıyla, üreme sistemi toksisitesi, (i) erkek ve dişi üreme fonksiyonlarının veya kapasitesinin bozulması (doğurganlık), (ii) soy üzerinde kalıtsal olmayan zararlı etkilerin tetiklenmesi (gelişimsel toksisite) ve (iii) anne sütü üzerine veya anne sütü ile geçen etkiler ile ilgili olarak üç ana bölüme ayrılır.

Bir madde için doğurganlık ve gelişimsel toksisite üzerindeki olası etkilerin mümkün olduğunca ayırt edilmesi gerekir ve her iki tür etki hakkında bilgi, belirli tonaj seviyelerinin üzerinde KKDİK tarafından istenir. KKDİK içerisinde kullanılan terminolojiyi takip etmek için, yukarıda açıklandığı gibi "*cinsel fonksiyon ve doğurganlık*" yerine bu kılavuz belgede "*doğurganlık*" terimi kullanılmıştır.

¹¹³ Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasıyla ilgili olarak Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında 1907/2006 (EC) Sayılı Tüzüğü'nün (REACH) VIII, IX ve X Eklerini değiştiren 20 Şubat 2015 tarihli 2015/282 (AB) sayılı Komisyon Yönetmeliği

¹¹⁴ Sütun 2'de (bkz. KKDİK Ek 8, 9 ve 10, 8.7.1, Sütun 2).

KKDİK Yönetmeliğinde "*cinsel fonksiyon ve doğurganlık*" terimi kullanılmamaktadır, ancak, sınıflandırma ve etiketlenmenin tartışıldığı belirli yerlerde, "*cinsel fonksiyon ve doğurganlık*" tek başına kullanılan "*doğurganlık*" ile aynı bağlamda bir zararlılık sınıfı olarak kullanılır. Doğurganlığın (bir KKDİK sonlanma noktası olarak) erkeklerde ve kadınlarda üreme organları ile ilgili fonksiyonel doğurganlığı, morfolojik ve histolojik değişiklikleri ve ayrıca yavru üretme ve onları emzirme yeteneğini kapsadığına dikkat edilmelidir.

Aşağıdaki metinde, doğurganlık ve gelişimsel toksisite için sonlanma noktaları, SEA Yönetmeliğinde sağlanan tanımlamaya göre açıklanmaktadır. Pratik terimlerle, üreme toksisitesi, erkek ve kadın üreme fonksiyonlarının veya kapasitesinin (doğurganlık) bozulması, soy üzerinde kalıtsal olmayan zararlı etkilerin tetiklenmesi (gelişimsel toksisite) ve anne sütü üzerine veya anne sütü ile geçen etkiler ile ilgili çok sayıda farklı sonlanma noktası ile karakterize edilir.

Cinsel fonksiyon ve doğurganlık üzerindeki olumsuz etkiler, cinsel fonksiyon ve doğurganlığa müdahale etme potansiyeline sahip bir maddenin herhangi bir etkisini içerir. Bu, kadın ve erkek üreme sistemindeki değişiklikleri, ergenlik başlangıcındaki olumsuz etkileri, gamet üretimi ve taşınmasını, üreme (östrus) döngüsü normalliğini, cinsel davranışları, doğurganlığı, gebelik süresini, doğum, gebelik sonuçlarını, erken üreme yaşlanması veya üreme sisteminin bütünlüğüne dayalı olan diğer fonksiyonlardaki değişiklikleri içerir, ancak bunlarla sınırlı değildir.

Gelişimsel toksisite, en geniş anlamıyla, doğumdan önce veya sonra organizmanın normal gelişimine müdahale eden ve gebe kalmadan önce ebeveynin maruz kalmasından veya gelişmekte olan organizmanın doğum öncesi gelişimi veya doğum sonrası gelişimi sırasında cinsel olgunlaşma zamanına kadar maruz kalmasından kaynaklanan herhangi bir etkiyi içerir, bu nedenle genel olarak konuşursak, bu etkiler organizmanın yaşam süresinin herhangi bir noktasında ortaya çıkabilir.

Bununla birlikte, gelişimsel toksisite başlığı altındaki sınıflandırmanın öncelikle hamile kadınlar ve üreme kapasitesine sahip erkekler ve kadınlar için bir zararlılık uyarısı sağlamayı amaçladığı düşünülmektedir. Gelişimsel toksisitenin başlıca belirtileri arasında (1) gelişmekte olan organizmanın ölümü, (2) yapısal anormallik, (3) büyümede değişiklik ve (4) fonksiyonel eksiklik bulunur.¹¹⁵

Bu rehber, kayıt ettirenin maddenin üreme toksisitesini nasıl ele alabileceği ve KKDİK bilgi gerekliliklerinin nasıl karşılanabileceği konusunda tavsiyeler sağlar, böylece sınıflandırma amaçları için ve risk değerlendirmesinde kullanılacak zararlı özellikler hakkında veri sağlar.

R.7.6.2 Üreme sistemi toksisitesi için bilgi gereklilikleri ve test yaklaşımları

KKDİK Madde 11 genel kayıt amaçları için sunulacak bilgileri belirtir. Bu bilgiler, maddenin tonajına bağlı olan fizikokimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik özelliklere ilişkin asgari bilgi gerekliliklerini içerir (Madde 11(a) (6) ve (7) ile KKDİK Madde 13(1) birlikte okunması).

En düşük tonaj seviyesi için standart bilgi gereklilikleri KKDİK Ek 7'de verilmiştir. Daha yüksek bir tonaj seviyesine ulaşıldığında, önceki KKDİK Eklerindeki (bkz. KKDİK Ek 6) olanlara ek olarak, karşılık gelen KKDİK Ekinin (yani daha yüksek tonaj seviyesine ilişkin KKDİK Ekinin) minimum gereklilikleri yerine getirilmelidir.

Üreme sistemi toksisitesi için, herhangi bir sonlanma noktası için olduğu gibi, literatür taramalarından elde edilen veriler dahil olmak üzere tüm mevcut bilgiler toplanmalıdır.

¹¹⁵ SEA Yönetmeliği Ek 1 3.7.1.3 ve 3.7.1.4 içerisinde belirtildiği gibi (gelişimsel toksisite tanımı burada kısaltılmıştır).

Bu daha sonra, güvenilirliği ve ilgi düzeyi ve bilgi gerekliliklerini ve uyarlamalarını (tetikleyiciler ve feragatlar) yerine getirip getirmediği ve ayrıca sınıflandırma, risk değerlendirmesi ve risk yönetimi önlemleri amacıyla kullanımı açısından değerlendirilmelidir.

R.7.6.2.1 KKDİK bilgi gereklilikleri

Üreme üzerindeki etkileri incelemek için, KKDİK Yönetmeliği, ilgili KKDİK Eklerinin 1. Sütununda belirtilen "standart bilgi gereklilikleri" aracılığıyla doğurganlık ve gelişimsel toksisite hakkında bilgi gerektirir.

Bu standart bilgi gereklilikleri, minimum bilgi gereklilikleridir. Endişeler ("tetikleyiciler" veya "koşullar") varsa, kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygun bilgilerin (risk karakterizasyonu, sınıflandırma ve etiketleme ve diğer risk yönetimi önlemleri dahil) kullanılabilirliğini sağlamak için daha fazla test gerekebilir.

Burada "tetikleyiciler" terimi, KKDİK Yönetmeliğinde kullanılan çeşitli diğer olası terimler (uyarı, koşul, gösterge, endişe belirtisi, ciddi endişe veya özel endişe gibi) yerine genel bir terim olarak kullanılmaktadır ve bunlardan bazıları bu Rehber belgede aşağıda açıklandığı gibi kullanılmaktadır. Tetikleyicilerin değerlendirilmesi ile ilgili bir tartışma bu Rehberin [Ek R.7.6-5](#)'inde verilmektedir. Bu Rehber dokümanının okunmasında, netleştirme amacıyla, terimler aşağıdaki şekilde kullanılır:

- tetikleyiciler: endişe oluşturan bulguları/koşulları tanımlayan diğer tüm terimleri kapsayan genel terim;
- uyarılar: bu rehberde kullanılan önceki terim; tetikleyicilerle aynı anlama gelir ancak feragat ile ilgili hususları da içerebilir;
- koşullar: örneğin KKDİK 9/10'da Kohort 1B'nin genişlemesini tetiklemek için ve bulgu olmayan yönleri içeren, kullanılan özel bir terim.

Üreme toksisitesi için Sütun 2'de açıklanan belirli özel uyarılama kuralları, daha fazla testin ne zaman gerekli olduğunu veya bu tonaj seviyesinde ne zaman gerekli olabileceğini belirtir.

KKDİK bilgi gereklilikleri, test gerekliliğini azaltan uyarlamalarla da yerine getirilebilir. Uyarılama olasılıkları, bilgi gerekliliğinin 2. Sütununda veya KKDİK Ek 11'de belirtilmiştir.

Bilgi gerekliliklerinin nasıl yerine getirileceğine ilişkin bir yaklaşım bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3](#)'te "Uyarılama ve test yaklaşımları" içerisinde sunulmuştur.

Sütun 1'de belirtilen bilgi gereklilikleri (standart bilgi gereklilikleri) genellikle artan tonaj seviyeleri ile birikerek artar. Sütun 2 uyarlamaları, ilgili KKDİK Ekindeki ilgili Sütun 1 gerekliliği ile bağlantılıdır ve Sütun 1 gerekliliği ile birlikte düşünülmelidir. Üreme sistemi toksisitesi için, standart bilgi gereklilikleri (Sütun 1), farklı veya daha ileri testler gerektiren özel Sütun 2 uyarlamaları ile birlikte aşağıdaki gibidir:

KKDİK Ek 8 (yılda 10 ton veya üzerinde herhangi bir kayıt için geçerlidir)

- Üreme / gelişimsel toksisite için tarama¹¹⁶, yapısal olarak ilgili maddeler hakkında mevcut bilgilerden, (Q)SAR tahminlerinden veya in vitro yöntemlerden, maddenin gelişimsel açıdan toksik olabileceğine dair kanıt yoksa bir tür (OECD Test Rehberi 421 veya 422¹¹⁷);

Doğurganlık veya gelişim üzerindeki potansiyel olumsuz etkilere ilişkin ciddi endişeler varsa, kayıt ettiren şunları önerebilir:

doğurganlık veya doğum sırasındaki-sonrasındaki gelişim üzerinde olumsuz etkiler potansiyeli hakkında ciddi endişeler varsa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.56 veya OECD Test Rehberi 443);

veya

doğum öncesi gelişim¹¹⁸ üzerindeki olumsuz etkilerin potansiyeli hakkında ciddi endişeler varsa, doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışması (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.31 veya OECD Test Rehberi 414);

KKDİK Ek 9 (yılda 100 ton veya üzerindeki herhangi bir kayıt için geçerlidir)

- Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması, bir tür, insan maruz kalmasının muhtemel yolu dikkate alınarak en uygun uygulama yolu¹¹⁸ (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.31 veya OECD Test Rehberi 414);

ve KKDİK Ek 9 Sütun 2, Bölüm 8.7.2 ikinci bir tür için geçerliyse:

- Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması, ikinci tür (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.31 veya OECD Test Rehberi 414);
- Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.56 veya OECD 443), temel test tasarımı (bir F2 nesli içerecek şekilde genişletme olmadan kohort 1A ve 1B), bir tür, insan maruz kalmasının muhtemel yolu göz önünde bulundurularak en uygun uygulama yolu¹², eğer mevcut tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları (örn., 28 günlük veya 90 günlük çalışmalar, OECD Test Rehberi 421 veya 422 tarama çalışmaları) üreme organları veya dokuları üzerinde olumsuz etkiler gösteriyorsa veya üreme sistemi toksisitesiyle ilgili diğer endişeleri ortaya çıkarıyorsa.

F1 hayvanlarını çiftleştirmek ve F2 neslini üretmek için Kohort 1B'nin ne zaman genişletileceğine ilişkin tetikleyiciler (koşullar) için ve Kohort 2A/2B'nin ne zaman dahil edileceğine ilişkin tetikleyiciler (koşullar) için KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.3, Sütun 2 incelenmelidir. Çalışma tasarımı hakkında daha fazla bilgi için bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) incelenmelidir.

ve KKDİK Ek 9 Sütun 2, Bölüm 8.7.3 ikinci bir tür/suş için geçerliyse:

- İkinci bir suş veya ikinci bir tür üzerinde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (yalnızca istisnai durumlar).

İkinci bir türün gerekliliği ile ilgili olarak, B.56, OECD Test Rehberi 443'ün sıçanı tercih ettiği ve başka bir tür kullanılacaksa, gerekçelerin verilmesi gerektiği ve protokole uygun değişikliklerin gerekli olacağı belirtilmelidir.

¹¹⁶ İkinci, tarama çalışması olarak da anılır.

¹¹⁷ Bugüne kadar, karşılık gelen bir test yöntemi mevcut değildir.

¹¹⁸ Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması yapılmazsa, kayıt ettirenin, doğurganlığı ve doğum sırası/sonrasındaki erken gelişimi kapsayacak şekilde doğum öncesi gelişim toksisite çalışmasına ek olarak bir tarama çalışması yürütmeyi düşünmesi şiddetle tavsiye edilir.

Şu anda (Temmuz 2015 tarihinde), protokolle ilgili hala çok sınırlı deneyim vardır ve sadece sıçanlarda bulunmaktadır. Bu elbette gelecekte değişecektir ve kayıt ettirenler yeni protokolleri ve güncellemeleri kontrol etmelidir. OECD Test Rehberi 443 paragraf 9 şu ifadeyi içerir: "Bu yeni çalışma tasarımının etkisini tespit etmek için yeterli sayıda çalışma mevcut olduğunda, Test Rehberi gözden geçirilecek ve gerekirse kazanılan deneyimler ışığında revize edilecektir."

KKDİK Ek 10 (yılda 1000 ton veya üzerindeki herhangi bir kayıt için geçerlidir)

- *Gelişimsel toksisite çalışması, bir [ek] tür, insan maruz kalmasının muhtemel yolu dikkate alınarak en uygun uygulama yolu (OECD Test Rehberi 414);*
- *Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (Madde 14(3)'te belirtildiği gibi Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik B.56 veya OECD 443), temel test tasarımı (bir F2 neslini içerecek şekilde genişletme olmadan kohort 1A ve 1B), bir tür, KKDİK Ek 9 gerekliliklerinin bir parçası olarak halihazırda belirtilmediği sürece, insan maruz kalmasının muhtemel yolu dikkate alınarak en uygun uygulama yolu.*

F1 hayvanlarını çiftleştirmek ve F2 neslini üretmek için Kohort 1B'nin ne zaman genişletileceğine ilişkin tetikleyiciler (koşullar) için ve Kohort 2A ve 2B'nin ve/veya Kohort 3'ün ne zaman dahil edileceğine ilişkin koşullar için KKDİK Ek 10, Bölüm 8.7.3, Sütun 2 incelenmelidir. Çalışma tasarımı hakkında daha fazla bilgi için bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) incelenmelidir.

ve KKDİK Ek 9 Sütun 2, Bölüm 8.7.3 ikinci bir tür/suş için geçerliyse:

- *KKDİK Ek 9 gerekliliklerinin bir parçası olarak henüz sağlanmadıysa, istisnai durumlarda, ikinci bir suş veya ikinci bir tür üzerinde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması. (daha fazla açıklama için yukarıda KKDİK Ek 9 incelenmelidir).*

Üreme sistemi toksisitesi için bilgi gerekliliklerinin basitleştirilmiş bir özeti aşağıdaki [Tablo R.7.6-1](#)'de sunulmuştur. KKDİK Ek 8 ila 10, Bölüm 8.7 Sütun 1'in standart bilgi gereklilikleri, farklı veya ileri testler gerektiren özel Sütun 2 uyarlamaları ile birlikte belirtilmiştir.

Tablo R.7.6-1 KKDİK Yönetmeliğindeki üreme sistemi toksisitesi için bilgi gerekliliklerinin özeti (Ek 7 ila 10).

Çalışma	Ek 7 (<10 t/yıl)	Ek 8 (≥10 t/yıl)	Ek 9 (≥100 t/yıl)	Ek 10 (≥1000 t/yıl)
Üreme/gelişimsel toksisite için tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422)		Gereklidir. Bir doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması varsa veya öneriliyorsa, doğum öncesi gelişimsel toksisite ¹ çalışmasına ek olarak bir tarama çalışmasının yapılması şiddetle tavsiye edilir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması mevcutsa veya öneriliyorsa, bir tarama çalışmasının yapılması gerekmebilir.	Doğurganlık ve doğum sırasında/sonrasında ki gelişimi ele almak için daha yüksek kademeli bir çalışma (OECD Test Rehberi 443 gibi) mevcut değilse/olmayacaksa şiddetle tavsiye edilir	(daha yüksek kademeli bir çalışma gereklidir)
Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414)		Tarama çalışması yerine doğum öncesi gelişimsel toksisite için ciddi endişe ² olması durumunda önerilebilir	Bir türde gereklidir; ikinci tür tetiklenebilir ³	İki türde gereklidir
Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) ⁴		Tarama çalışması yerine ciddi doğurganlık endişesi olan durumlarda önerilebilir ²	Tetiklenirse bir türde gereklidir ⁵ ; istisnai durumlarda ikinci tür/suş tetiklenebilir	Daha önceki Ek düzeyinde gerçekleştirilmediği sürece bir türde gereklidir; istisnai durumlarda ikinci tür/suş tetiklenebilir

Tablo R.7.6-1 için NOTLAR

¹ Bu Rehberde Bölüm R.7.6.2.3.2 altında Aşama 4.3 (i) üreme/gelişimsel toksisite tarama testindeki tartışma incelenmelidir.

² KKDİK Ek 8, 8.7.1'deki Sütun 1 ve Sütun 2 hükümlerinin birlikte değerlendirilmesi gerekir. Ciddi endişe, üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerin yüksek olasılıkla olduğunu yansıtır.

³ Tetikleyicilerle ilgili tartışma için bu Rehberde Bölüm R.7.6.2.3.2 altındaki Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasında Aşama 4.4 (ii) incelenmelidir.

⁴ Kohort 1B'nin genişletilmesi olmadan Kohort 1A ve Kohort 1B ile doğurganlığı ve doğumdan sonra ortaya çıkan gelişimsel toksisite etkilerini ele alan temel çalışma tasarımı, genel bir bakış için bu Rehberde Bölüm R.7.6.2.3.2 altında Aşama 4.4 (iii) ve Aşama 4.5 (ii) Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması ve ayrıntılar ve çalışmanın ne zaman genişletilmesi gerektiği için Ek R.7.6-2 ve Ek R.7.6-3 incelenmelidir.

⁵ Tetikleyicilerin açıklaması için, bu Rehberde Bölüm R.7.6.2.3.2'deki Aşama 4.4 (iii), Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması incelenmelidir.

R.7.6.2.2 KKDİK Yönetmeliğinde atıfta bulunulan test yöntemleriyle üretilen temel hedefler ve bilgiler

KKDİK Yönetmeliğinde üreme sistemi toksisitesi için atıfta bulunulan test yöntemleriyle üretilen anahtar hedefler ve bilgiler, aşağıda kısa olarak metinde ve [Tablo R.7.6-2](#)'de açıklanmıştır. Bu çalışmaların bir KKDİK Yönetmeliği bağlamında nasıl kullanılacağına ilişkin daha fazla bilgi ve planlama ve değerlendirme sırasında dikkate alınması gereken önemli hususlar, bu Rehberin [R.7.6.4.2](#) Bölümünde açıklanmaktadır.

KKDİK Ek 9 ve KKDİK Ek 10 seviyesi çalışmaları ve tarama seviyesi çalışmaları olmadığı düşünülen diğer çalışmalar, bir test önerisi gerektirir.

R.7.6.2.2.1 Üreme/Gelişimsel Toksikite Tarama Testi

Üreme/gelişimsel toksisite tarama testlerinin (OECD Test Rehberi 421 ve 422) amacı, gonadal fonksiyon, çiftleşme davranışı, gebe kalma ve doğum gibi erkek ve dişi üreme performansı üzerindeki etkilere ilişkin ilk bilgileri ve üreme organları üzerindeki histopatolojik bilgileri sağlamaktır. Yavrulara ilişkin ilk bilgiler, ölüm oranı, doğumdan sonra yavruların anormal davranışları ve vücut ağırlığı, makroskopik bir inceleme ve revize edilmiş Test Rehberlerinde (2015) verilen şekilde endokrin bozucu etki şekilleri için ek parametrelerle sınırlıdır¹¹⁹. Bu tarama testleri, üreme ve gelişmenin tüm yönleri hakkında tam bilgi sağlamayı amaçlamaz.

R.7.6.2.2.2 Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414), yalnızca doğumdan önce ortaya çıkan etkiler tespit edilebilmesine rağmen, doğum öncesi maruz kalmanın ardından potansiyel etkilerin odaklanmış bir değerlendirmesini sağlar. Daha özel olarak, bu çalışma, fetüslerin büyümesi ve hayatta kalması üzerindeki madde kaynaklı etkiler ve fetüslerdeki dış, iskelet ve yumuşak doku bozuklukları ve değişkenliklerinde artan oranlar hakkında bilgi sağlamak için tasarlanmıştır.

R.7.6.2.2.3 Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (EOGRS, B.56, OECD Test Rehberi 443), test maddesinin yetişkin erkek ve dişi üreme sisteminin bütünlüğü ve performansı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine, doğum sonrasında gösterilen doğum öncesi etkilerin ve maddelerin gelişim üzerindeki doğum sonrası etkilerin ve hamile ve emziren kadınlarda ve genç ve yetişkin yavrularda sistemik toksisitenin kapsamlı bir değerlendirmesine izin verir. Çalışma ayrıca endokrin bozucu etki şekilleri için belirli parametreleri içerir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, çeşitli araştırma seçeneklerine sahip modüler bir çalışma tasarımıdır.

¹¹⁹ OECD Test Rehberi 421 ve 422 revize edilme sürecindedir: 2015 sonunda kabul edilmesi ve yayınlanması beklenmektedir.

KKDİK Ek 9 ve 10¹²⁰ içerisindeki standart bilgi gerekliliği olan temel çalışma tasarımı, ebeveyn hayvanların (F0 hayvanlar) doğurganlığının ve F1 hayvanlarının yetişkinliğe kadar doğum sonrası gelişimine ilişkin tanımlanmış parametrelerin değerlendirilmesine odaklanır (bkz. test yöntemi, B.56, OECD Test Rehberi 443). Temel çalışma tasarımı, F1 hayvanlarının çiftleştirilmesini (Kohort 1B'nin genişletilmesi) veya gelişimsel nörotoksosite (Kohort 2A ve 2B) veya gelişimsel immünotoksosite (Kohort 3) için kohortları içermez. Kohort 1B ve Kohort 2 ve 3'ün genişletilmesini tetikleme koşulları, standart bilgi gerekliliğine yapılan uyarlamalardır ve Sütun 2'de açıklanan tetikleyiciler (koşullar) karşılanırsa kayıt ettiren tarafından önerilmelidir. Kohort 1B'nin uzatılmasına ve Kohort 2 ve/veya Kohort 3'ün dahil edilmesine ilişkin genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için çalışma tasarımını belirten koşulların ve tetikleyicilerin varlığını veya yokluğunu tespit etme üzere dosyada sunulması gereken bilgilerin kontrol listesi bu Rehberde [Ek R.7.6-1](#)'de verilmiştir. Kohort 1B'nin genişletilmesi ve Kohort 2 ve/veya Kohort 3'ü dahil etme ihtiyacı için tetikleyiciler ve koşulların daha ayrıntılı bilgileri ve örnekleri, bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#)'de sunulmuştur.

KKDİK Eklerinde çalışmanın odak noktası, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımında dikkate alınması gereken doğurganlık¹²¹ üzerinedir. Bu nedenle, başlangıç noktası olarak, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının tüm değişik çalışma tasarımları için bir miktar toksite tetiklemek amacıyla on haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve en yüksek doz seviyesi önerilmelidir. Bununla birlikte, maddeye özgü gerekçelere göre, çiftleşme öncesi maruz kalma süresi on haftadan daha kısa olabilir, ancak iki haftadan kısa olmamalıdır (bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#)). En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, her iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir.

Kohort 1B'nin genişletilmesi (Kohort 1B hayvanlarının F2 neslini üretmek için çiftleşmesi), ilk eşey hücre ve eşey hücre hattı oluşumu, implantasyon öncesi, rahim içi (*in utero*) ve doğum sonrası dönemler sırasında zaten maruz kalmış olan yavruların (yani F1 nesli) doğurganlığı hakkında bilgi sağlar. Kohort 1B hayvanlarının doğurganlığı, çiftleştirildiyse, tam spermatogenez maruz kaldıktan sonra değerlendirilir.

Kohort 2A ve 2B gelişimsel nörotoksosite ve Kohort 3 gelişimsel immünotoksosite hakkında bilgi sağlar; bu bilgiler KKDİK gereklilikleri kapsamındaki başka herhangi bir çalışma kapsamında değildir, ancak daha fazla zararlılık ve risk değerlendirmesi için faydalı olabilir.

¹²⁰ KKDİK Yönetmeliği Ek 9 ve 10 içerisindeki standart bilgi gerekliliği, Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının temel yapılandırmasıyla sınırlı olmalıdır. Bununla birlikte, gerekçelendirilen belirli özel durumlarda F2 neslinin yanı sıra DNT ve DIT kohortlarının da yürütülmesini kayıt ettiren teklif verebilmeli ve ÇŞB talep edebilmelidir. "

¹²¹ KKDİK Yönetmeliği Ek 9 ve 10'un 8.7.3 maddesi kapsamında yürütülen üreme sistemi toksisitesi çalışmasının, doğurganlık üzerindeki olası etkilerin yeterli değerlendirmesine izin vermesi sağlanmalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seçimi, KKDİK Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliği uyarınca risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamaya uygun olmalıdır. "

Tablo R.7.6–2 KKDİK içerisinde atıfta bulunulan üreme sistemi toksisitesine yönelik *in vivo* AB Test yöntemlerine ve OECD test rehberlerine genel bakış

Test	Tasarım	İncelemenin odak noktası
Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421 ve 422)	Çiftleşmeden 2 hafta öncesinden (P) belirli bir doğum sonrası güne (F1) kadar maruz kalma 3 doz seviyesi artı kontrol Tercih edilen tür sıçan Tercih edilen yol oral ¹ Doz grubu başına N = 10 çiftleşme çifti	<i>Ebeveyn (P) nesil:</i> Büyüme, hayatta kalma, doğurganlık (sınırlı) Gebelik süresi ve kardeş grubunun boyutu Üreme organlarının histopatolojisi ve ağırlığı Üreme dışı ana organların histopatolojisi ve ağırlığı (yalnızca OECD Test Rehberi 422) <i>Yavrular (F1):</i> Doğum sonrası belirli bir güne kadar büyüme ve hayatta kalma Endokrin etki şekilleri için belirli parametreler. ¹²²
Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414)	İmplantasyondan itibaren en az beklenen doğumdan bir veya iki gün öncesine kadar annenin maruz kalması 3 doz seviyesi artı kontrol Tercih edilen tür sıçan ve tavşan Tercih edilen yol oral ¹ Doz grubu başına N = 20 gebe dişi	<i>Anne hayvanlar:</i> Büyüme, sağkalım, (implantasyondan önce dozlamaya başlanırsa sadece implantasyon üzerindeki etkiler), gebeliğin sürdürülmesi <i>Yavru:</i> Rezorpsiyonlar, fetüs ölümleri, fetüs büyümesi Morfolojik değişiklikler ve bozukluklar (dış, iskelet ve iç organ)
Genişletilmiş teknesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) KKDİK, doğurganlığa odaklanan bir "temel çalışma tasarımı" gerektirir ve Kohort 1B'nin genişletilmesi ve/veya Kohort 2A ve 2B ve/veya Kohort 3'ün dahil edilmesi için belirli koşulları tanımlar (bkz. bu Rehberde Bölüm R.7.6.4.2.3 ve Ek R.7.6-2)	Çiftleşmeden ² öncesinden (P) doğum sonrası 90-120 güne kadar (Kohort 1A ve 1B) 10 hafta boyunca maruz kalma. Kohort 1B'nin genişletilmesi tetiklenirse, doğum sonrası 4. veya 21. güne (F2) ³ kadar. 3 doz seviyesi artı kontrol; bir miktar toksisiteye neden olmak amacıyla en yüksek doz seviyesi seçilmelidir. Tercih edilen tür sıçan Tercih edilen yol oral ¹ N = doz grubu başına 20 gebe hayvan üretmek için yeterli çiftleşme çifti (P nesli)	<i>Ebeveyn (P) nesil:</i> Büyüme, hayatta kalma, doğurganlık Östrus döngüsü ve sperm kalitesi Gebelik süresi ve kardeş grubunun boyutu Üreme organlarının ve üreme sistemine ait olmayan organların histopatolojisi ve ağırlığı Hematoloji ve klinik kimya: <i>Yavrular (F1):</i> Büyüme, hayatta kalma ve cinsel olgunlaşma Üreme organlarının ve üreme sistemine ait olmayan organların histopatolojisi ve ağırlığı (Kohort 1A) Üreme organlarının ağırlığı ve isteğe bağlı histopatoloji (Kohort 1B) Hematoloji ve klinik kimya:

¹²² OECD Test Rehberi 421 ve 422 revize edilme sürecindedir: 2015 sonunda kabul edilmesi ve yayınlanması beklenmektedir.

	<p>N = 20 çiftleşme çifti (eğer tetiklenirse Kohort 1B'nin genişletilmesi)</p> <p>N = doz grubu başına 10 erkek ve 10 dişi (tetiklenirse Kohort 2A, 2B ve 3)</p>	<p>F1 hayvanlarının belirli koşullar altında F2 nesli üretmek üzere doğurganlığı (Kohort 1B'nin genişletilmesi)</p> <p>Belirli bir endişe durumunda gelişimsel nörotoksisite (Kohort 2A ve 2B veya ayrı bir çalışma)</p> <p>Belirli bir endişe durumunda gelişimsel immünotoksisite (Kohort 3 veya ayrı bir çalışma)</p> <p>Endokrin etki şekilleri için belirli parametreler</p>
--	--	---

Tablo R.7.6-2 için NOTLAR

- 1 Uygulama yoluna ilişkin tartışma için Aşama 4.1 (iv) incelenmelidir (bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#)).
- 2 Veriler daha kısa bir çiftleşme öncesi dönemi desteklemediği sürece (bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) 'teki tartışma).
- 3 B.56 (OECD Test Rehberi 443) test yöntemine göre, F2 nesli doğum sonrası 4. veya 21. günde sonlandırılabilir. Daha fazla ayrıntı için, bu Rehberde "Diğer hususlar" altında Bölüm [R.7.6.4.2.3](#) incelenebilir.

R.7.6.2.3 Uyarılama ve test yaklaşımları

R.7.6.2.3.1 Genel bakış

Bu bölüm, bilgi gerekliliklerini karşılamak ve maddelerin güvenli kullanımını sağlamak için gerekli potansiyel eylemleri tasarlamak üzere ve toplanan bilgilerin etkin kullanımı ile KKDİK Yönetmeliğinin temel hedeflerine ulaşmak amacıyla (yeterli risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçları için bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için) test yaklaşımlarının ve uyarlamalarının nasıl kullanılacağını açıklar.

Sütun 1, standart bilgi gerekliliklerini açıklarken, Sütun 2, daha fazla veya farklı bilgi gerekliliklerini veya feragat kurallarını belirler, böylelikle Sütun 2'de özel uyarılama kuralları, Sütun 1 standart bilgi gereklilikleri ile birlikte dikkate alınmalıdır. Uyarılama, Sütun 1'de belirtilenden daha fazla veya daha az bilgi ihtiyacı anlamına gelebilir.

Sütun 2'deki özel uyarılama kurallarının veya KKDİK Ek 11'deki genel uyarılama kurallarının karşılanmaması durumunda, standart bilgi gereklilikleri karşılanmalıdır.

Kayıt ettiren, imalat tonajı dahilinde bilgi gerekliliklerinin nasıl karşılanacağı ve tetikleyicilerden (veya koşullardan) nasıl etkileneceği konusunda adım adım kademeli bir şekilde yönlendirilir. Bunlar, standart bilgi gerekliliklerinin değiştirilmesi, çıkarılması veya başka bir şekilde uyarlanmasına izin verebilecek bilgi veya koşullara olan ihtiyacı artırabilir. Bilgi gerekliliklerinin uyarlamaları her zaman açıkça belirtilmeli ve KKDİK tarafından belirlenen uygulanabilir koşulların yerine getirildiğini gösteren yeterli gerekçelerle desteklenmelidir.

İlk adım olarak, üreme sistemi toksisitesiyle ilgili tüm mevcut bilgiler ≥ 1 ton/yıl tonaj seviyelerinde imal veya ithal edilen maddeler için toplanmalıdır (KKDİK Ek 7-10) (bkz. KKDİK Ek 6, Adım 1). Literatürdeki bilgiler, maddenin zararlı özelliklerinin bulunduğunu veya bulunmadığını belirlenmesine yardımcı olabilir. Ek olarak, maruz kalma, kullanımlar ve risk yönetimi önlemleri hakkında bilgi toplanmalıdır. Bu bilginin uygunluk ve güvenilirlik açısından değerlendirilmesi ve sınıflandırma kriterleri (SEA Ek 1) ile karşılaştırma dahil olmak üzere üreme sistemi toksisitesi için risk değerlendirme ve sınıflandırma amaçları için yeterli olup olmadığına karar verilmesi gerekir; (ayrıca bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) ve [BG ve KGD Rehberi](#) Bilgi toplama hakkında Bölüm R.3 ve mevcut bilgilerin Değerlendirilmesine dair Bölüm R.4).

Tüm bilgiler bir arada değerlendirildiğinde, kayıt ettiren, bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için daha fazla bilgi üretme ihtiyacını belirleyebilecektir.

KKDİK Ek 7 ile 10'da tanımlanan bilgi gereklilikleriyle tutarlı olarak, üreme sistemi toksisitesi testi, yılda 10 tonun altındaki tonaj seviyelerinde imal veya ithal edilen kimyasalların kaydına ilişkin standart bir yaklaşım olarak gerekli değildir (KKDİK Ek 7). Daha yüksek imalat hacimlerinde (yani ≥ 10 ton/yıl, ≥ 100 ton/yıl veya ≥ 1000 ton/yıl), standart bilgi gereklilikleri, kayıtların tonaj seviyelerine göre kademelendirilir. Tek bir madde için en uygun test rejimini kullanma esnekliği, Sütun 2 ve KKDİK Ek 6 tarafından sağlanan uyarılama kuralları kullanılarak korunur. Uyarılama kuralları, test yaklaşımlarının anahtar bileşenleridir.

Bununla birlikte, tonaj seviyesinden bağımsız olarak, herhangi bir test yapılmadan önce kayıt ettirenler tarafından aşağıdakilerin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekir: mevcut tüm toksikolojik veriler, üreme sistemi toksisitesi için sınıflandırma, karsinojenite ve eşey hücre mutajenitesi (AB uyumlaştırılmış veya tedarikçi sınıflandırması), insan maruz kalma özellikleri ve mevcut risk yönetimi prosedürleri; bunlar bilgi gerekliliklerinin halihazırda karşılanıp karşılanamayacağını belirlemek için gereklidir (bkz. *Bilgi gerekliliklerinin uyarlanması* hakkındaki [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.5) Tetikleyiciler, uyarlanamayan veri boşlukları (sınıflandırma ve/veya risk değerlendirmesi amacıyla) veya KKDİK Ek güncellemesi ile sonuçlanan imalat hacimlerindeki artışlar gibi nedenlerle bilgi gerekliliklerini karşılamak için testin gerekli olduğu sonucuna varılırsa; uygun bir test programının kapsamını şekillendirmeye yardımcı olmak için aşağıda bir dizi karar noktası tanımlanmış ve açıklanmıştır. KKDİK yaklaşımı, tüm tonaj seviyeleriyle ilgili, net karar verme için dört aşamalı bir süreç sağlar.

1. Aşama: Daha fazla üreme sistemi toksisitesi testi ihtiyacına karar vermek için Kategori 1A veya 1B'ye sınıflandırma kriterlerini karşılayan zararlı kanserojen, mutajen, üreme sistemine toksik özellikler göz önünde bulundurulur. KKDİK Eklerinde Bölüm 8.7'deki Sütun 2 uyarılmasına dayanılarak, üreme sistemi toksisitesi hakkında daha fazla bilgi Sütun 2'de açıklanan belirli koşullarda ihmal edilebilir. Bu nedenle, bu analizin sonucuna bağlı olarak, bazı kimyasalların Aşama 1'in ötesine geçememesi mümkündür.

2. Aşama: Tek bir kayıt ettirenin veya bir MBDF'nin¹²³ imal/ithal edilen tonaj seviyesi ile ilgili standart bilgi gereklilikleri açıklığa kavuşturulur.

3. Aşama: Mevcut toksikoloji veri tabanı değerlendirilir ve tetikleyici olarak görev alabilecek veya daha fazla araştırmanın atlanmasına izin verebilecek üreme sistemi toksisitesi bulguları ve koşulları göz önünde bulundurulur. Bu değerlendirme aynı zamanda benzer yapıya sahip veya benzer etki mekanizmaları/şekilleri yoluyla toksisiteye neden olan maddelerden gelen bilgileri de dikkate almalıdır. Bu aşamanın amacı, uygulanabilir KKDİK bilgi gerekliliklerinin tanımlanmasını sağlamak ve üreme sistemi toksisitesi özelliklerini yeterince açıklığa kavuşturmak için gerekli olan üreme sistemi toksisite testlerinin kapsamını belirlemektir. Aşama 1'deki analizle bağlantılı olarak bu incelemeyi takiben veya risk değerlendirmesi/risk yönetimi ve sınıflandırma amaçları için Sütun 2 veya KKDİK Ek 11 uyarılama kurallarına dayanılarak uyarlamaya izin veren yeterli veri mevcutsa, başka testlerin gerekli olmaması mümkündür.

Sütun 2'deki özel uyarılama kurallarının veya KKDİK Ek 11'deki genel uyarılama kurallarının karşılanmaması durumunda, standart bilgi gereklilikleri karşılanmalıdır. Bu nedenle, uyarılama için herhangi bir bilimsel veya diğer maddeye özgü gerekçeler Sütun 2 veya KKDİK Ek 11 uyarılama kurallarına uymalıdır.

4. Aşama: Bir tarama çalışması planlanır ve yürütülür veya bir doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması veya istisnai durumlarda belirli başka çalışmalar planlanır ve önerilir. KKDİK Madde 13.1d-e/Madde 22.1g uyarınca, ÇŞB'a bir test önerisi sunulmalıdır.

¹²³ MBDF, madde bilgi değişim forumudur.

R.7.6.2.3.2 Uyarlamalar ve test yaklaşımları için prosedür

Verilerin toplanması

Tüm KKDİK Ek seviyelerinde, değerlendirilmesi ve belgelenmesi gereken, literatür araştırmalarından elde edilen veriler dahil olmak üzere, insan, hayvan ve hayvan dışı çalışmalar ve test yaklaşımlarından elde edilen mevcut bilgilerin toplanması gerekir (bkz. KKDİK Ek 1, Adım 1).

1. Aşama: Üreme toksisitesi potansiyeli için herhangi bir testin gerekli olup olmadığına karar vermeden önce dikkate alınacak genotoksik kanserojenite, eşey hücre mutajenitesi ve üreme sistemi toksisitesi (CMR- özellikleri) (tüm tonaj seviyeleri için ilgili)

Aşama 1.1 ve / veya Aşama 1.2'deki cevap evet ise, yani madde CMR özelliklerinden herhangi biri için (aşağıda açıklandığı gibi) Kategori 1'e zaten sınıflandırılmışsa, koşullar yerine getirilmiş ve uygun risk yönetimi önlemleri mevcut ise üreme sistemi toksisitesi için başka bir teste gerek olmayabilir.

Aşama 1.1

Madde, cinsel fonksiyon ve doğurganlık üzerindeki etkiler ve gelişimsel toksisite için halihazırda sınıflandırılmış mı¹²⁴ (Üreme sistemi toksisitesi Kategori 1A veya 1B (H360FD))?

Cevap hayır ise, Aşama 1.2'ye ilerlenir: cevap evet ise ve mevcut veriler kapsamlı bir risk değerlendirmesini desteklemek için yeterliyse, daha fazla test gerekli olmayabilir. Bununla birlikte, madde sadece doğurganlık için sınıflandırılmışsa, gelişimsel toksisite için daha ileri testler düşünülmelidir ve eğer madde sadece gelişimsel toksisite için sınıflandırılmışsa, doğurganlık için daha ileri testler düşünülmelidir; ardından Aşama 1.2 aracılığıyla Aşama 2'ye ilerlenir. Mevcut veriler kapsamlı bir risk değerlendirmesini desteklemek için yeterli değilse, Aşama 2'ye geçilir.

Aşama 1.2

Madde bir genotoksik kanserojen (Kanserojenite Kategori 1A ve en azından Eşey hücre mutajenitesi Kategori 2 veya Kanserojenite Kategori 1B ve en azından Eşey hücre mutajenitesi Kategori 2) veya bir eşey hücre mutajeni (Eşey hücre mutajenitesi Kategori 1A veya 1B) olarak biliniyor mu¹²⁵ ve uygun risk yönetimi önlemleri uygulanıyor mu?

Cevap hayır ise, 2. Aşama'ya geçilir. Cevap evet ise, potansiyel kanserojenite, genotoksisite ve üreme sistemi toksisitesini ele alan uygun risk yönetimi önlemlerinin uygulandığını ve bu nedenle üreme ve/veya gelişimsel toksisite için ilave özel testlerin gerekli olmayacağını tespit etmek önemlidir.

2. Aşama: Standart bilgi gereklilikleri netleştirilir

Bu aşamada, kayıt ettirenle ilgili tonaj seviyesinde standart bilgi gerekliliklerinin ne olduğunun anlaşılması gerekir. Çalışmayı ihmal etmek için Sütun 2 veya KKDİK Ek 11 uyarılma kuralları karşılanmadıkça, kayıt ettiren standart bilgi gerekliliklerini karşılamalıdır. Sütun 1'de sunulan standart bilgi gerekliliklerine ek olarak, Sütun 2 uyarılma kuralları daha sonraki çalışmalar için tetikleyicileri (veya koşulları) veya belirli bir çalışma tasarımının önerilmesinin gerekip gerekmediğini gösterebilir.

3. Aşama: Üreme sistemi toksisitesine ilişkin standart bilgi gerekliliklerini uyarlamak üzere koşulları belirlemek için mevcut ilgili toksikolojik verilerin ayrıntılı bir incelemesi yapılır

¹²⁴ Sınıflandırma kriterlerini karşılayan uyumlaştırılmış sınıflandırma veya tedarikçi sınıflandırması.

¹²⁵ Sınıflandırma kriterlerini karşılayan uyumlaştırılmış sınıflandırma veya tedarikçi sınıflandırması.

3. Aşamada, 1. Aşamada açıklanan "CMR sınıflandırma uyarlamaları" dışındaki uyarlama kurallarından herhangi birinin karşılanıp karşılanmadığını doğrulamak için mevcut ilgili veriler incelenir. Uyarlama kuralları çalışmanın atlanmasına izin verebilir veya ne zaman daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulabileceğini veya önerilmesi gerektiğini gösterebilir.

Herhangi bir test yapılmadan önce, kapsamlı bir veri incelemesi yapılmalıdır.

1. Aşamada dikkate alınan CMR sınıflandırmasına dayalı uyarlamayı takiben, KKDİK Ek 11'in diğer genel uyarlama olasılıkları ve KKDİK Ekleri Sütun 2'de sağlanan testin atlanması için özel uyarlama olanakları araştırılmalıdır. Bu uyarlama kuralları, bu Rehberde [Ek R.7.6-4](#)'te Aşama 3.1'de açıklanmaktadır. Bu uyarlama kuralları, 1. Aşamayı geçtikleri için standart bilgi gerekliliklerinin geçerli olduğu maddeler için geçerlidir.

Hem Sütun 2 hem de KKDİK Ek 11 uyarlama olasılıklarının dikkate alınması önemlidir, çünkü omurgalılar üzerinde yeni testler yalnızca diğer tüm veri kaynakları tükendiğinde son çare olarak gerçekleştirilmeli veya önerilmelidir (KKDİK Ek 6, Adım 4).

Sütun 2 ve/veya KKDİK Ek 11 kurallarına göre bir uyarlamaya izin vermek için yeterli veri mevcutsa, başka testlere gerek yoktur. Sütun 2 veya KKDİK Ek 11'e göre uyarlama kuralları karşılanmazsa ve bir veri boşluğu varsa, 4. Aşamadaki üreme ve/veya gelişimsel toksisite için test stratejisi izlenmelidir.

Standart bilgi gereklilikleri, her KKDİK Ekinde Sütun 1'de açıklanmıştır. KKDİK Ek 9'da, üreme sistemi toksisitesi (doğurganlık ve doğum sonrası gelişim) için tetikleyiciler varsa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması önerilmelidir. Tetikleyicilerin tanımı ve bunların nasıl değerlendirileceği için, bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) incelenmelidir. KKDİK Ek 9'daki genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için tetikleyicilere ait örnekler, bu Bölümde Aşama 4.4 (iv), genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması altında açıklanmaktadır.

Veriler yetersizse, hangi çalışma (veya çalışmalar) en uygundur? Bu karar, hem tonajla ilgili standart bilgi gerekliliklerini, tetikleyici/tetikleyicilerin yapısını ve verilerin toplam değerlendirmesini dikkate almalıdır.

KKDİK standart bilgi gereklilikleri minimum bilgi gereklilikleridir ve üreme sistemi toksisitesi için tetikleyiciler, daha fazla bilgiye ihtiyaç olduğunu gösterebilir. Doldurulması gereken bir bilgi boşluğu olduğunda, yeni veriler oluşturulmalıdır (KKDİK Ek 7 ve 8) veya bir test yaklaşımı önerilmelidir (KKDİK Ek 9 ve 10). Diğer veri kaynaklarının araştırılması gerektiği ve omurgalılar üzerinde yeni testlerin yalnızca diğer tüm veri kaynakları tükendiğinde son çare olarak yapılması veya önerilmesi gerektiği unutulmamalıdır (KKDİK Ek 6, Adım 4).

Kayıt ettirenin standart bilgi gerekliliklerinin ötesinde daha fazla bilgi önerip/yürütmesi gerekip gerekmediği, zorunlu olduğu veya yapabileceği, KKDİK Ek seviyesine ve Sütun 2'deki hükümlere ve diğer endişelere bağlıdır. Bunlar, bu Rehberde Aşama 3.2 ve [Ek R.7.6-5](#) içerisinde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Aşama 3.1 Aşama 1'den sonra standart bilgi gerekliliklerinin geçerli olduğu maddeler - yeni çalışmalar yapmak yerine uygulanabilecek uyarlama kuralları için seçenekler

Bunlar, 1. Aşamada açıklandığı gibi CMR özellikleri için Kategori 1 olarak sınıflandırılmayan maddelerdir (yani, genotoksik Kategori 1 kanserojenler, eşey hücre Kategori 1 mutajenleri veya Kategori 1 üreme sistemi toksik maddeleri (doğurganlık ve gelişme) değildir). Bu maddeler için uyarlama olasılıklarının ayrıntıları için bu Rehberde [Ek R.7.6-4](#) incelenmelidir. [Ek R.7.6-4](#)'te Aşama 3.1.1-3.1.7, aşağıdakilere dayalı olarak KKDİK Ek 11 uyarlamalarını açıklar:

- 1) İLU dışı veya test yöntemleri hakkında yönetmelikte bahsedilmeyen test yöntemlerinden elde edilen mevcut bilgiler;
- 2) mevcut geçmiş insan verileri;
- 3) *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımındaki mevcut bilgiler;

- 4) QSAR yaklaşımları ve *in vitro* yöntemler gibi hayvan dışı yaklaşımlar;
- 5) gruplandırma ve çapraz okuma;
- 6) teknik nedenler ve maddeye özel maruz kalmaya dayalı testler.

Aşama 3.1.8, 1. Aşamada açıklanan CMR sınıflandırmasına dayalı olanlar dışında Sütun 2 kurallarına dayalı uyarlamaları açıklar.

Aşama 3.2 Standart bilgi gerekliliklerinin ötesinde daha fazla bilgi ihtiyacı için tetikleyiciler bulunan maddeler (Sütun 1)

Sütun 1 standart bilgi gerekliliklerini (ve bunlar için tetikleyicileri) açıklarken, Sütun 2 daha fazla bilgi ihtiyacı için tetikleyicileri içerir (bu Rehberde [Ek R.7.6-4](#) Aşama 3.1.8'de açıklanan çalışmaları atlamak için hükme ek olarak).

Sütun 2 tetikleyicilerinin çeşitli gereklilikleri/sonuçları olabilir:

- 1) kayıt ettiren harekete geçmelidir;
- 2) kayıt ettirenin harekete geçmesi gereklidir;
- 3) kayıt ettiren harekete geçebilir.

Sonuç seviyesi, Sütun 2'deki ifadeye bağlıdır. Bilgi gerekliliklerinin (Sütun 1 ve 2 hükümleri) ötesinde üreme sistemi toksisitesi konusunda daha fazla endişe varsa, bu maddenin güvenli kullanımını sağlamak için endişenin nasıl ele alınacağını değerlendirmek kayıt ettirenin sorumluluğundadır. Üreme sistemi toksisitesi ile ilgili çeşitli tetikleyiciler ve bunların nasıl değerlendirileceği bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) Tetikleyicilerin Değerlendirilmesi içerisinde açıklanmıştır, ve standart bilgi gerekliliklerinin ötesinde daha fazla bilgi ihtiyacı vardır.

4. Aşama. Tonaj seviyesi tarafından tetiklenen üreme sistemi toksisitesi testleri veya 1-3. Aşamalarda tanımlanan diğer çalışmalar için endişe oluşturan bulgular/koşullar

Aşama 4.1 Ön hususlar

(i) Giriş

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması gibi KKDİK Ek 9 ve 10'da listelenen çalışmaların gerçekleştirilmesi amaçlanıyorsa, ÇŞB'a bir test önerisinin sunulması gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca, ÇŞB'a bir test teklifinin sunulduğu bir çalışmanın sonucu mevcut olmadan önce, risk yönetimi önlemleri uygulamaya konulmalı, kimyasal güvenlik raporuna kaydedilmeli ve KKDİK Ek 1, 0.5 uyarınca alt kullanıcılara tavsiye edilmelidir.

KKDİK Eklerinde listelenen çalışmalar için protokollerin kısa bir açıklaması, kayıt tonaj seviyelerine göre Aşama 4.2, 4.3 ve 4.4'te sunulmaktadır. Herhangi bir üreme sistemi toksisitesi çalışması planlanırken, maddenin özellikleri, doz seviyeleri, taşıyıcı, yeterli çalışma tasarımı, uygulama yolu ve hayvan türleri gibi hususlara ihtiyaç vardır. Üreme sistemi toksisitesi testi için özellikle ilgili olan bu hususlardan bazıları aşağıda sunulmuştur.

(ii) Aralık bulma çalışmaları

Test için seçilen dozlar için yeterli bilgi ve gerekçelendirme sağlamak üzere doz aralığı bulma çalışmalarının ana çalışmalarla (KKS'de) birlikte raporlanması önerilir. Aralık bulma çalışmasından elde edilen bulgular, ana çalışmadan elde edilen sonuçların yorumlanmasını da destekleyebilir.

(iii) Taşıyıcı seçimi

Test yöntemlerinin çoğu, gerekirse taşıyıcı seçiminde rehberlik eder. Su haricindeki diğer tüm taşıyıcıların kullanımı için bir gerekçeye ihtiyaç vardır ve belgelenmelidir. Taşıyıcı, sonuçların yorumlanmasına müdahale edebileceği ve çalışmayı geçersiz kılabileceği için herhangi bir olumsuz etkiye neden olmamalıdır.

Ayrıca taşıyıcı, maddeyle tepkimeye girmemeli veya maddenin toksikokinetiğine girişimde bulunmamalı veya hayvanların beslenme durumunu önemli ölçüde etkilememelidir. Kontrol grubu, madde uygulanan gruplarla aynı taşıyıcı ve aynı dozlama hacmini almalıdır.

(iv) Üreme sistemi toksisitesi çalışmaları için uygulama yolu

KKDİK Yönetmeliği, üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının "*insan maruz kalmasının muhtemel yolu dikkate alınarak en uygun uygulama yolu*" ile yürütülmesi gerektiğini belirtir. KKDİK kapsamındaki "*insan maruz kalmasının olası yolları*" oral, soluma ve deri yoludur. "En uygun uygulama yolu" seçimi, zararlılıkların tanımlanmasına odaklanır (bkz. bu R7a Rehberinde Giriş ve [R.7.2 İnsan sağlığı özellikleri ve zararlılıkları](#)" altında "Toksosite testleri için uygun uygulama yolunun seçimi" alt bölümü) ve üreme sistemine zararlılık için maddenin kendine özgü özelliklerinin belirlenmesi amacıyla en uygun yola dayanır.

Üreme sistemi zararlılıklarının saptanmasına odaklanan üreme sistemi toksisitesi için test yöntemlerine göre, oral yol (gavaj, beslenmede veya içme suyunda), gazlar dışında "varsayılan" yoldur. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için (B.56, OECD Test Rehberi 443), beslenmeyle uygulama, insan maruz kalmasını modellemek için uygun bir yol olabilir. Oral yol dışında başka bir uygulama yolu kullanılıyorsa, kayıt ettiren seçilmesi için doğrulama ve gerekçe sunmalıdır. Uygulamada, oral yolla test genellikle sıvılar ve tozlarla yapılır ve soluma yoluyla test genellikle gazlar ve çok yüksek buhar basıncına sahip sıvılarla yapılır. Dermal yol ile test, belirli koşullar altında gerekli olabilir (örn. cilde yüksek nüfuza sahip maddeler ve cilde emilimi takiben belirli bir toksositeye ilişkin göstergeler için). Dermal uygulama veya yalnızca burundan yapılan uygulama kullanılan soluma yolu, uygulamanın, örneğin gebe hayvanlarda ek strese neden olmak üzere, kafa karıştırıcı faktörlere neden olmadan yeterince gerçekleştirilebilmesini sağlamak için özel hususlara ihtiyaç duyabilir. Örneğin, maddenin ağızdan uygulanmasının, maruz kalmanın ana yolu olacak soluma yoluyla insan sağlığına zararlılığın değerlendirilmesiyle ilgili olmayacağını gösteren uygulama yoluna özgü toksosite veya toksikokinetikle ilgili mevcut bilgiler gibi, varsayılan yaklaşımdan duruma özgü sapmalar gerekçelendirilmelidir.

Aşındırıcı veya yüksek derecede tahriş edici maddelerin tercihen oral yolla test edilmesi gerektiğine dikkat edilmelidir, ancak aşındırıcılığa neden olan konsantrasyon/doz seviyelerinde aşındırıcı maddelerle in vivo testlerden kaçınılması gerektiğine dikkat edilmelidir (bkz. KKDİK Ek 7-10 önsözü). Taşıyıcı, sindirim yolu tahrişini en aza indirecek şekilde seçilmelidir. Bazı maddeler için beslenme yoluyla uygulama, oral gavaj yoluyla dozlamaya kıyasla tahriş olmadan yeterli dozlamaya izin verebilir. Bazı durumlarda, alkali veya asidik maddelerin nötr tuzlarının test edilmesi uygun olabilir ve yeterli doz seviyelerinde iç özelliklerin araştırılmasına izin verir. Bir maddenin anında hidrolizi meydana gelirse, tüm parçalanma ürünleri hakkında bilgi sağlamak mümkün olabilir. Bu çapraz okuma yaklaşımı için KKSİK Ek 11, 1.5'e göre yeterli gerekçelendirme ve belgelendirme gereklidir. Oral testin mümkün olmadığı aşındırıcı veya tahriş edici buharlar veya gazlar için, bir miktar toksositeye (veya hafif tahrişe) neden olmak için en yüksek soluma konsantrasyonu dikkatlice seçilmelidir.

(v) Türlerin seçimi

Üreme sistemi toksisitesi testleri için kullanılan en yaygın tür sıçandır. Sonuçların yorumlanmasını desteklemek için kullanılacak çeşitli sıçan suşları için iyi düzeyde geçmişe ait temel bilgiler mevcuttur. Seçilen suş, yeterli doğurganlığa sahip olmalı ve doğal malformasyon oranı çok yüksek olmamalı veya suşun söz konusu maddenin üreme sistemi toksisitesini incelemek için yeterliliğini azaltabilecek başka herhangi bir belirli özellik olmamalıdır. Diğer çalışmalardan gelen bilgiler dahil olmak üzere bütünleşik veri yorumlaması yapmak için, aynı suşun hem üreme sistemi toksisitesi testlerinde hem de tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında kullanılması önerilir.

Doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmaları için, iki türde test, yılda 1000 ton veya üzerindeki kayıtlar için standart bir bilgi gerekliliğidir (ve daha düşük tonaj seviyelerinde tetiklenebilir).

Test yöntemlerine göre (B.31, OECD Test Rehberi 414), sıçan tercih edilen kemirgen türüdür ve tavşan tercih edilen kemirgen dışı türdür. Belirli istisnai durumlarda ikinci bir suş veya tür kullanılarak genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının yapılması gerekebilir. (Ayrıntılar için, bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#) altındaki Aşama 4.5 (ii)). En hassas tür /veya suş, biliniyorsa insanlarla ilgisi dikkate alınarak ilk tür olarak kullanılmalıdır.

Bununla birlikte, uygun hayvan tür veya suşunu seçerken, tür ve suşun test protokolü için uygunluğu ve test protokolü için tür ve suş hakkında temel bilgilerinin mevcudiyeti dikkate alınmalıdır. Bir test yönteminde atıfta bulunulan varsayılan türler kullanılmıyorsa tür/suş seçimi gerektendirilmelidir.

(vi) Doz seviyesi seçimi

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında olduğu gibi, maddenin fiziksel veya kimyasal özellikleriyle sınırlandırılmadıkça (örn. alevlenirlik ve patlayıcılık sınırları) bir miktar toksisiteye neden olmak amacıyla en yüksek doz seviyesi seçilmelidir. En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir. Bir sınır testinin (genellikle oral sınır doz seviyesi olarak anılan 1000 mg/kg va/gün) yapıldığı durumlar dışında, genellikle en az üç doz seviyesi ve eşzamanlı bir kontrol kullanılmalıdır. Beklenen insan maruz kalması, 1000 mg/kg va/gün seviyesinden daha yüksek bir doz seviyesinin kullanılması gerektiğini gösterebilir¹²⁶. Bir sınır testinin uygulanabilirliği için koşullar, üreme sistemi toksisitesi için ayrı test yöntemlerinde sağlanır. Soluma yoluyla maruz kalma için OECD Rehber Doküman 39 kullanılabilir.

Doz seviyesi seçimi, mevcut çalışmalardan ve yapılması gerekebilecek özel doz aralığı bulma çalışmalarından elde edilen bilgilerle desteklenir. Toksikokinetik bilgiler, örneğin dozlama yolunu ve rejimini ayarlamak için nedenler sağlayabilir. İlave olarak, gebe hayvanlarda toksisite ve toksikokinetiğin gebe olmayan hayvanlardan farklı olabileceği dikkate alınmalıdır. Bu, çalışmanın çeşitli aşamalarında hayvanların hassasiyeti farklı olabileceğinden, çalışma için en yüksek doz düzeyinin seçilmesinde zorluklara neden olabilir.

Doğurganlık ve gelişimsel toksisite için, bu üreme sistemi toksisitesi etkilerinin, üreme sistemine etkiler ile aynı doz seviyesinde meydana gelebilecek anneden gelen toksisite gibi gözlenen diğer toksik etkilerin ikincil özel olmayan bir sonucu olup olmadığının araştırılması önemlidir. Bununla birlikte, genel olarak, üreme sistemi toksisitesi ile ilgili tüm bulgular, ebeveyn toksisitesi varlığında görülseler bile, sınıflandırma amacıyla dikkate alınmalıdır. Doğurganlık/gelişme üzerindeki etkilerin ciddiyeti ile diğer toksikolojik bulguların ciddiyeti arasında bir karşılaştırma yapılmalıdır¹²⁷.

¹²⁶ SEA Yönetmeliği, Ek 1, Bölüm 3.7.2.5.7 - 3.7.2.5.9, sınır doz ve çok yüksek doz seviyeleri hakkında aşağıdakileri belirtir: "Üzerine çıkıldığında bir olumsuz etki üretiminin sınıflandırmaya neden olan kriterin dışında olduğu düşünülen, ancak bir sınır doz olarak belirli bir doz kriterleri dahilinde olup olmadığına bakılmadan, sınır doz kavramı konusunda genel bir fikir birliği söz konusudur. Bununla birlikte, test yöntemlerine ilişkin bazı rehberlerde bir sınır doz belirtilirken; diğerlerinde, sınır doz, insanlarda beklenen maruz kalmanın yeterli bir maruz kalma sınırına erişilmeyecek şekilde anlamlı şekilde yüksek olması durumunda daha yüksek dozların gerekli olabileceği yönünde bir uyarıyla belirtilir. Ayrıca toksikokinetikteki türlere özgü farklılıklar nedeniyle, insanların hayvan modelinden daha hassas olduğu durumlar için belirli bir sınır doz belirlenmesi yeterli olmayabilir." Bölüm 3.7.2.5.8: "Genel olarak, sadece yüksek dozlardaki hayvan çalışmalarında görülen üreme üzerine olumsuz etkiler (örn. bitkinlik, şiddetli zayıflık, aşırı mortaliteye neden olan dozlar), sınıflandırma yapılmasının uygun olacağını düşündüren diğer bilgiler mevcut olmadığı sürece (örn, insanların hayvanlardan daha duyarlı olduğunu gösteren toksikokinetik bilgiler), sınıflandırmaya yol açmaz Bu alandaki ilave açıklamalar için anneden gelen toksisite bölümüne bakınız (üçüncü bölüm başlık 3.7.2.4). " Ve Bölüm 3.7.2.5.9 aşağıda belirtilen şekilde devam etmektedir: "Bununla birlikte gerçek "sınır doz" tayini, insanlardan elde edilmesi beklenen cevaplar daha yüksek bir doz seviyesini gerektirmediği sürece, test sonucunun elde edilmesi için kullanılan test yöntemine bağlıdır (örn, OECD Test Rehberinde tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için ağız yoluyla 1000 mg/kg dozu bir sınır doz olarak önerilmiştir)."

¹²⁷ [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), yani 3.7.2.2.1.1 "Belirgin sistemik etkilerin varlığında dikkate alınacak etkiler" bölümünde giriş kısmı incelenmelidir.

Bu nedenle, farklı doz seviyelerine ilişkin üreme sistemi toksisitesi etki yelpazesi dahil olmak üzere bir maddenin üreme toksisitesi profili hakkında bilgi almak ve bir maddenin üreme sistemi toksisitesi etki gücünün değerlendirilmesine izin vermek için bilgi edinmek önemlidir. Bu nedenle, en yüksek doz seviyesinin, hem sınıflandırma (Üreme sistemi toksisitesi zararlılık sınıfı dahilinde kategorizasyon dahil) hem de risk değerlendirmesi amacıyla üreme sistemi toksisitesi hakkında yeterli bilgi sağlamak üzere bir miktar toksisite üretmesi amaçlanmalıdır. Daha fazla bilgi ve açıklama için SEA sınıflandırma kriterleri (Bölüm 3.7, SEA Ek 1) ve [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.7 incelenmelidir.

Üreme sistemi toksisitesi çalışmalarında, uygulama yerindeki lokal tahriş edici etkiler, sistemik toksisite ile ilişkili olarak üreme sistemi toksisitesinin araştırılmasına izin vermeyebilir. Ayrıca tahriş, hayvanların davranışlarını etkileyerek yorumu karıştırabilir. Bu nedenle, aşındırıcı veya tahrişe neden olan doz seviyelerinde aşındırıcı veya yüksek derecede tahriş edici maddelerin testinden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır (bkz. KKDİK Ek 7-10 önsözü).

Doz seviyesi seçimi (ve kullanılan taşıyıcı), yapılan seçimin bağımsız bir şekilde değerlendirilebilmesi için gerekçelendirilmeli ve belgelenmelidir.

Aşama 4.2 Yıllık 1 ila 10 tonluk kayıtlar (KKDİK Ek 7)

≥1- <10 ton/yıl tonaj seviyelerinde imal veya ithal edilen maddeler için (KKDİK Ek 7) üreme toksisitesi için özel standart bilgi gerekliliği yoktur. Bununla birlikte, mevcut ilgili bilgilerin değerlendirilmesi gereklidir ve sınıflandırma kriterleri karşılanıyorsa üreme sistemi toksisitesi sınıflandırması dikkate alınmalı ve uygulanmalıdır. Üreme sistemi toksisitesi hakkında herhangi bir bilgi mevcut değilse, onaylanmış *in vitro* testler gibi ilgili hayvan dışı yaklaşımlar, (Q)SAR tahminleri veya maddeyle veya yapısal olarak ilgili maddelerle yapılan diğer *in vivo* çalışmalar, üreme sistemi toksisitesi için tetikleyiciler olup olmadığını değerlendirmek için kullanılabilir. Mevcut bilgiler üreme sistemi toksisitesi için bir endişeyi (tetikleyici) gösteriyorsa ve ilgili insan maruz kalması ortaya çıkarsa, bir seçenek olarak endişeyi ele almak için üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422) gibi bir hayvan çalışmasının gerçekleştirilmesi düşünülmelidir. Endişeyi ele almak için doğum öncesi gelişim toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414) veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) gibi bir KKDİK Ek 9 veya 10 seviyesi çalışması gerekli görülüyorsa, ÇSB'a bir test önerisi sunulmalıdır. Endişenin nasıl ele alındığına dair kapsamlı bir bilimsel gerekçelendirme, yeterince belgelenmelidir.

Aşama 4.3 Yıllık 10 ila 100 tonluk kayıtlar (KKDİK Ek 7 ve 8)

Bu tonaj seviyesinde 1-3. Aşamaların ötesine ilerleme, üreme/gelişimsel toksisite tarama testini (OECD Test Rehberi 421) veya üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışmasını (OECD Test Rehberi 422) tetikleyecektir.

(i) Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi

28 günlük bir çalışma (B.7, OECD Test Rehberi 407) halihazırda mevcut değilse, üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışmasının (OECD Test Rehberi 422) yürütülmesi, üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421) yerine tercih edilir. OECD Test Rehberi 422, aynı zamanda KKDİK Ek 8, 8.7.1 ve KKDİK Ek 8, 8.6.1 bilgi gerekliliklerini karşılayabildiğinden, bu yaklaşım 28 günlük bir çalışma yürütmekten kaçınma imkanı sunar.

Mevcut bilgiler, bir maddenin doğurganlık veya gelişim üzerinde olumsuz etki potansiyeli hakkında ciddi endişelere¹²⁸ işaret ediyorsa (tetikleyiciler), bir tarama testinin (OECD Test Rehberi 421 veya 422; KKDİK Ek 8, Bölüm 8.7.1) yapılması gerekmeyebilir.

¹²⁸ Ciddi endişe, üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerin yüksek olasılıkta olduğunu yansıtır.

Bunun yerine, bir doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414; KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.2) veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443; KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.3), tetikleyicilerin türüne bağlı olarak ÇŞB'a sunulabilir. Maddenin üreme için toksik olabileceğine dair ciddi endişeleri belirten tetikleyici/tetikleyiciler, hayvan dışı yaklaşımlardan¹²⁹ veya söz konusu maddeyle ilgili *in vivo* bilgilerden veya yapısal olarak ilgili maddelerden kaynaklanabilir. Doğurganlık için tetikleyiciler (tetikleyicilerle ilgili tartışma için bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)), örneğin, gonadlarda histopatolojik değişiklikleri ve/veya sperm parametrelerindeki etkileri gösteren mevcut tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından da kaynaklanabilir. Önerilecek doğru çalışma, endişeye bağlıdır: doğurganlık ve/veya gelişim üzerinde, doğumdan sonra ortaya çıkan gelişimsel toksisite etkilerine yol açan zararlı etkilerle ilgili bir endişe varsa, genişletilmiş tek nesil çalışması önerilmelidir; embriyonik veya fetal gelişim üzerinde zararlı etkilere dair bir endişe varsa, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması önerilmelidir. Bununla birlikte, doğurganlık ve üreme performansı ve doğumdan kısa bir süre sonra ortaya çıkan gelişimsel toksisite, doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasında değerlendirilmediğinden, daha önce tartışıldığı gibi bir OECD Test Rehberi 421 veya 422 tarama çalışmasının yapılması da şiddetle tavsiye edilir (bir tarama çalışması için test önerisi gerekli değildir). Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması öneriliyorsa (tüm çeşitli çalışma tasarımları), o zaman tarama çalışmasına kıyasla aynı parametreleri, maruz kalma süresini ve istatistiksel gücü kapsar ve bu nedenle ek bir tarama çalışmasına gerek yoktur.

KKDİK Ek 8 için maddenin üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422) üreme ve gelişim toksisitesi için tetikleyici sağlamazsa, bu tonaj seviyesinde üreme sistemi toksisitesi için daha fazla test yapılması gerekli değildir. Benzer şekilde, üreme sistemi toksisitesi ve risk değerlendirmesi için 1B'ye sınıflandırma ve kategorize etme konusunda bilimsel olarak kapsamlı bir karara izin vermek için yeterli kabul edilen bir tarama testinde açık ve kesin bir üreme ve/veya gelişimsel toksisite etkisi gözlenirse, bu tonaj seviyesinde tarama testi dışında başka test yapılması tavsiye edilmez.

Bununla birlikte, tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422), sınıflandırma ve risk değerlendirmesi konusunda bilimsel olarak kapsamlı bir karar vermek için yeterli olmadığı düşünülen etkiler gösteriyorsa, daha ileri çalışmalar düşünülebilir. Tetikleyicinin türüne bağlı olarak, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.2) veya genişletilmiş tek nesil çalışması (KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.3) için bir test önerilebilir. Özel olarak, üreme sistemi toksisitesi için Kategori 2'de sınıflandırma için yeterli kabul edilen şekilde bir tarama testinde açık ve kesin bir üreme ve/veya gelişimsel toksisite etkisi gözlemlenirse, bu ciddi bir endişedir ve doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (KKDİK Ek 9 Bölüm 8.7.2) veya genişletilmiş tek nesil çalışması (KKDİK Ek 9, Bölüm 8.7.3) önerilebilir.

Aşama 4.4 Yıllık 100 ila 1000 tonluk kayıtlar (KKDİK Ek 7 ila 9)

Bu tonaj düzeyinde, 1-3. Aşamanın ötesine geçme, bir ilk türde doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasını tetikleyecektir (B.31, OECD Test Rehberi 414) ve eğer mevcut tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları üreme organları veya dokuları üzerinde olumsuz etkilere işaret ederse veya üreme toksisitesi ile ilgili diğer endişeleri ortaya çıkarırsa, aynı zamanda genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasını da tetikleyecektir (B.56, OECD Test Rehberi 443). KKDİK Ek 9 seviyesinde genişletilmiş tek nesil toksisite çalışması için tetikleyiciler hakkında daha fazla bilgi için aşağıdaki (iii) maddesi incelenmelidir.

¹²⁹ "Ciddi endişe" oluşturduğunun kabul edilmesi için, hayvan dışı yaklaşımlardan gelen bilgilerin güvenilir, ilgili olması ve uygun uygulanabilirlik alanıyla doğrulanmış çalışmalardan elde edilmesi gerekir (QSAR modelleri için resmi bir doğrulama süreci gerekli değildir). Doğrulanmamış çalışmalardan ve rehber dışı testlerden durum bazında bilimsel gerekçelendirme sonuçlarına dayalı olarak, kabul edilebilir. Genellikle birkaç bilgi kaynağına ihtiyaç duyulabilir.

Mevcut çalışmalardan elde edilen sonuçlar (doğum öncesi gelişimsel toksisite testi veya tekrarlı doz çalışmaları) gelişimsel toksisite ve/veya cinsel fonksiyon ve doğurganlık üzerindeki etkiler ve risk değerlendirmesi için Kategori 1B'ye sınıflandırmayı desteklemek için yeterliyse, KKDİK Ek 9, Madde 8.7 için Sütun 2 uyarlama kuralları takip edilmelidir. Cinsel fonksiyon ve doğurganlık için sınıflandırma kriterleri karşılanırsa, gelişimsel toksisite için daha ileri testler düşünülmelidir ve bunun tersi de geçerlidir. Ayrıntılar için 1. Aşama incelenmelidir.

(i) Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi

Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422), KKDİK Ek 8 seviyesinde standart bir bilgi gerekliliğidir. KKDİK Eklerindeki Sütun 1 gereklilikleri birikerek arttığı için, KKDİK Ek 9 ve 10 seviyesinde bir tarama testi de mevcut olmalıdır. Bununla birlikte, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması, iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması veya genişletilmiş tek nesil çalışması mevcutsa, tarama çalışması KKDİK Ek 8, Bölüm 8.7.1, Sütun 2 uyarlama kurallarına göre çıkarılabilir (bkz. KKDİK Ek 8).

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasına dayalı olarak bir tarama testinin çıkarılması ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının KKDİK Ek 9 seviyesinde tetiklenmemesi durumunda, doğurganlığa ilişkin bilgiler, bu çalışmalar mevcutsa tekrarlı dozlamadan sonra üreme organlarının değerlendirilmesi ile sınırlı olacaktır. Doğurganlık sonlanma noktasını ele alan bir üreme sistemi toksisitesi çalışmasından elde edilen bilgilerin mevcut olmadığı durumlarda, bu sonlanma noktasını karşılamak için bir tarama çalışmasının düşünülmesi şiddetle tavsiye edilir.

(ii) Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması

Bir türde yürütülen doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414), KKDİK Ek 9 seviyesinde standart bir veri gerekliliğidir.

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması için uygun türlerin seçilmesi amacıyla mevcut bilgilerin ve test yaklaşımının dikkate alınması gerekir (bkz. özellikle yukarıdaki Aşama 4.1(v)). Test yöntemlerine göre (B.31, OECD Test Rehberi 414), sıçan tercih edilen kemirgen türüdür ve tavşan tercih edilen kemirgen dışı türdür. Toksisite çalışmalarının çoğu (örn. akut, tekrarlı doz ve toksikokinetik çalışmalar) sıçanlarda yapıldığından, ilk doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının da bu türde yapılması gerektiği düşünülebilir. Önceki çalışmalardan elde edilen bulgular, doz seçiminde veya değerlendirme için ek sonlanma noktalarının belirlenmesinde yararlı olabilir. İlave olarak, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının sonucu, genellikle sıçanın tercih edilen tür olduğu diğer üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının yorumlanmasında yardımcı olabilir.

Bazı durumlarda, tavşan, ilk doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması için tür olarak seçilebilir. Bu, örneğin tavşanın o belirli madde için sıçandan daha hassas bir tür olduğu düşünülürse yapılabilir. Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması için tür seçimi, maddeye özel hususlar dikkate alınarak yapılmalıdır. Sıçan ve tavşan dışında bir tür birinci veya ikinci tür olarak seçilirse, seçim gerekçelendirilmelidir.

KKDİK Ek 9 düzeyinde ikinci bir tür üzerinde çalışma yapma ihtiyacına ilişkin karar, ilk çalışmanın sonucuna ve diğer tüm mevcut verilere dayanmalıdır. Mevcut veriler doğum öncesi gelişimsel toksisite için tetikleyiciler içeriyorsa, ikinci bir tür üzerinde bir çalışma gerekli olabilir. Örneğin, ikinci bir türde doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının gerçekleştirilmesi, ilk türle doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasında Kategori 1B üreme sistemine toksik madde için sınıflandırma kriterlerini karşılamak için yeterli olmayan (ancak Kategori 2 üreme sistemine toksik madde için yeterli olabilir) gelişimsel etkiler gözlemlendiğinde gerekçelendirilebilir. Diğer tetikleyiciler, hayvan dışı yaklaşımlardan, yapısal olarak benzer maddelerden, etki mekanizmalarından/şekillerinden veya bir tarama çalışmasının sonuçlarından kaynaklanabilir. Bununla birlikte, ilk doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasında tetikleyici yoksa ve doğum öncesi gelişimsel toksisite belirtisi yoksa, KKDİK Ek 9 seviyesinde ikinci bir tür üzerinde çalışmaya gerek yoktur.

Kayıt ettiren tarafından ikinci bir tür üzerinde çalışma yapılması gerekli görülürse, bir test önerisinin sunulması gerekir. İkinci türdeki testler, ilk tür bir kemirgen türü (sıçan) ise kemirgen dışı türlerde (tavşan) yapılmalıdır ve bunun tersi de geçerlidir. Tür seçimi ile ilgili diğer hususlar, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.2](#) içerisinde verilmektedir.

(iii) Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması

Mevcut tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları (örn. 28 veya 90 günlük çalışmalar veya OECD Test Rehberi 421 veya 422 tarama testleri) üreme organları veya dokuları üzerindeki olumsuz etkileri belirtirse veya üreme sistemi toksisitesiyle ilgili diğer endişeleri ortaya çıkarırsa KKDİK Ek 9 seviyesinde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) gereklidir. Hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilen bilgiler, bu nedenle KKDİK Ek metninde KKDİK Ek 9 düzeyinde bu çalışma için tetikleyiciler olarak listelenmemiştir. Bununla birlikte, hayvan dışı yaklaşımlardan veya yapısal olarak benzer maddelerden elde edilen mevcut bilgilere dayalı ciddi bir endişe varsa, çalışma tetiklenebilir.

KKDİK Ek 9 seviyesinde çalışma için tetikleyiciler

Herhangi bir üreme sistemi toksisitesi tetikleyicisini belirlemek için mevcut verilerin ayrıntılı bir incelemesi gereklidir (tetikleyicilerin değerlendirilmesi ve belirlenmesi için bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)), ayrıca KKDİK Ek 9 seviyesinde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için tetikleyici örnekleri aşağıda verilmiştir.

Yasal metin, olumsuz etkilerin sağlam hayvanlarda görülmesi gerektiğini özellikle belirtmemektedir, ancak, sağlam olmayan hayvanlarda gözlemlenen bulguların, bulguların sağlam hayvanlar ve/veya insanlar için ilgili olmayacağına dair kanıt olmadıkça, genellikle tetikleyici olarak kullanılması gerektiği düşünülmektedir. Sağlam olmayan hayvanlarla yapılan deneyler, yumurtalık (ovarietomi) gibi bir endokrin organın çıkarıldığı hayvanları içerebilir. Diğer bir olasılık, örneğin organ ağırlığının azalmasına veya artmasına yol açan hormonal değişikliklerdir. Bu hayvan modelleri, hormonal cevaptaki bir değişikliği tespit etmek için çok hassas olabilir, ancak aynıısının sağlam hayvanlar için geçerli olup olmadığı dikkate alınmalıdır.

KKDİK Ek 9 düzeyinde (olumsuz olarak kabul edilen ve diğer verilerle uyumlu olan ve sistemik veya anneden gelen toksisiteye ikincil olarak kabul edilmeyen) genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması yürütmek için tetikleyici örnekleri aşağıdaki gibidir (kapsamlı bir liste değildir):

Bir tarama çalışmasından veya eşdeğerinden:

- Sağlam hayvanlarda üreme veya diğer endokrin organ ağırlığındaki değişiklikler;
- Spermatogenez veya folikülogenezdeki *in vivo* etkiler ve/veya üreme organlarında ve/veya yardımcı cinsel organlarda histopatolojik bulgular;
- Tiroid histopatolojisindeki etkiler;
- Sperm parametreleri analizi veya östrus döngüsü üzerindeki etkiler;
- *İn vivo* hormon seviyelerinde biyolojik olarak ilgili değişiklikler (üreme toksisitesiyle ilgili);
- Azalmış çiftleşme, doğurganlık veya kardeş grubu boyutu;
- Kontrollere kıyasla artan düşük oranı;
- Gebelik uzunluğundaki değişiklikler;
- Yavruların hayatta kalmasında azalma;
- Kardeş grubu boyutundan bağımsız olarak yavruların vücut ağırlığında azalma;
- Azalmış anne bakımı;
- Vücut ağırlığı/büyükülüğü ile ilgisi olmayan anogenital mesafedeki değişiklikler;

- Meme ucu tutulumundaki değişiklikler;
- Üreme toksisitesi ile ilgili diğer endokrin bozucu etki şekillerinin göstergesi.

Bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından:

- Sağlam hayvanlarda üreme veya diğer endokrin organ ağırlığındaki değişiklikler;
- Spermatogenez veya folikülogenezdeki *in vivo* etkiler ve/veya üreme organlarında ve/veya yardımcı cinsel organlarda histopatolojik bulgular;
- Sperm parametreleri analizi veya östrus döngüsü üzerindeki etkiler
- Hormon seviyelerinde biyolojik olarak ilgili değişiklikler (üreme sistemi toksisitesiyle ilgili);
- Üreme toksisitesi ile ilgili diğer endokrin bozucu etki şekillerinin göstergesi.

Sağlam olmayan hayvanlarda in vivo çalışmalardan (eğer bulgular sağlam hayvanlar/insanlar için ilgili kabul edilirse):

- Üreme veya diğer endokrin organ ağırlığındaki değişiklikler;
- Üreme sistemi toksisitesi ile ilgili diğer endokrin bozucu etki şekillerinin göstergesi.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için çalışma tasarımı

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının gerçekleştirilmesini gerektiren tetikleyiciler tespit edilirse, uygun çalışma tasarımının tanımlanması, gerekçelendirilmesi ve belgelenmesi gerekir. Özel durumlar, 1) çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğu ve doz seviyesi seçimi, 2) Kohort 1B'yi ve F2 nesli için sonlandırma süresini uzatma ihtiyacı, 3) Kohort 2A ve 2B'yi dahil etme ihtiyacı ve 4) Kohort 3'ü dahil etme ihtiyacı için gereklidir.

KKDİK Sütun 1'de standart bir bilgi gerekliliği olarak belirtilen genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının (B.56, OECD Test Rehberi 443) çalışma tasarımı, "temel" çalışma tasarımı olarak adlandırılır ve Kohort 1A ve 1B'yi içeren bir tek nesil çalışmasıdır. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doğurganlığın yeterli değerlendirmesine izin vermeli ve çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyelerinin risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını (kategorizasyon dahil) karşılamak için uygun olmalıdır¹³⁰.

KKDİK Eklerinde çalışmanın odak noktası, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımında göz önünde bulundurulması gereken doğurganlık üzerinedir, dolayısıyla, başlangıç noktası olarak, on haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve en yüksek doz seviyesi, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının tüm çeşitli çalışma tasarımları için bir miktar toksisiteye neden olmak amacıyla önerilmelidir. En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir. Bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) 'e göre çiftleşme öncesi maruz kalma süresi dahil olmak üzere temel çalışma tasarımı, Sütun 2'de belirtilen koşullar karşılanmadığı sürece kayıt ettirenler tarafından önerilmelidir.

Kohort 1B'nin uzatılması (F2 neslini üretmek için Kohort 1B hayvanlarının çiftleşmesi) Sütun 2'de belirtilen koşullar karşılanırsa kayıt ettiren tarafından önerilmelidir.

¹³⁰ KKDİK Yönetmeliği Ek 9 ve 10 madde 8.7.3 kapsamında yürütülen üreme sistemi toksisitesi çalışmasının, doğurganlık üzerindeki olası etkilerin yeterli değerlendirmesine izin vermesi sağlanmalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seçimi, KKDİK Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliği uyarınca risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamaya uygun olmalıdır. "

Sütun 2'de tanımlanan nörotoksisite için özel tetikleyicilere dayalı olarak, gelişimsel nörotoksisite kohortları (Kohort 2A ve 2B) kayıt ettiren tarafından önerilmelidir. Sırasıyla, Sütun 2'de tanımlanan immünotoksisite için özel tetikleyicilere dayalı olarak, gelişimsel immünotoksisite kohortu (Kohort 3) kayıt ettiren tarafından önerilmelidir.

Kayıt ettiren ayrıca gelişimsel nörotoksisite ve/veya gelişimsel immünotoksisite için kohortlar yerine ayrı bir gelişimsel nörotoksisite ve/veya gelişimsel immünotoksisite çalışması önerebilir.

Çalışma tasarımını belirleyen koşullar KKDİK Ek 9, 8.7.3, Sütun 2'de listelenmiştir ve bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) içerisinde daha ayrıntılı olarak açıklanmış ve Bölüm [R.7.6.4.2.3](#) "Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması" içerisinde tartışılmıştır. Bu Rehberde [Ek R.7.6-1](#), çalışma tasarımını belirleyen koşulların (tetikleyiciler) bulunduğunu veya bulunmadığını tespit etmek için dikkate alınması ve dosyada mevcut olduğunda sunulması gereken bilgileri listeler. KKDİK Ek 9/10, 8.7.3 Sütun 2'de açıklanan koşullara uygun olarak tüm mevcut bilgileri değerlendirmek ve standart bilgi gerekliliğinin bir uyarlamasını önermek kayıt ettirenin sorumluluğundadır.

Bir maddenin üreme sistemine toksisitesinin değerlendirilmesi için en uygun olan çalışma tasarımının gerekçeleri, yeterli şekilde belgelendirilmelidir. Bu belgelendirme, kayıt ettirenin mevcut tüm bilgiler dikkate alınarak karşılanmayacak olan temel çalışma tasarımından sapma koşullarını neden taşıdığına dair gerekçeleri içermelidir.

İkinci bir tür veya suş üzerine bir çalışma

KKDİK Ek 9 özel uyarılma kuralları, bu tonaj seviyesinde veya bir sonrakinde ikinci bir suşta veya ikinci bir türde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56; OECD Test Rehberi 443) yapma ihtiyacının dikkate alınabileceğini ve kararın, ilk testin sonucuna ve diğer ilgili mevcut verilere dayandırılması gerektiğini belirtir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının sıçanlarda gerçekleştirilmek üzere tasarlandığı ve diğer türleri kullanmanın zor olabileceği kabul edilmektedir. Böylece, ikinci bir tür yerine başka bir sıçan suşu kullanılarak ikinci bir çalışma yapılması mümkün hale getirilmiştir. Çalışmayı ikinci bir tür veya suş kullanarak yürütme ihtiyacı sadece istisnai durumlarda olacaktır.

Mevcut veriler, birinci tür üzerindeki çalışmada ele alınmayan tetikleyicileri içeriyorsa, ikinci bir suş veya tür üzerinde bir çalışma gerekli olabilir. Örneğin, ikinci bir suş veya türdeki bir çalışmanın gerçekleştirilmesi, ilk türle yapılan çalışmada gözlemlenen etkiler daha ciddi endişelere neden olursa, ancak Kategori 1B üreme sistemine toksik maddeler için sınıflandırma kriterlerini karşılamak üzere yeterli değilse haklı görülebilir. Diğer tetikleyiciler, onaylanmış¹³¹ hayvan dışı yaklaşımlardan, yeterli uygulanabilirlik alanına sahip güvenilir ve ilgili QSAR modellerinden, yapısal olarak benzer maddelerden, etki şekillerinden veya bir tarama çalışmasının sonuçlarından kaynaklanabilir. Bununla birlikte, ilk çalışmada ve diğer mevcut verilerde üreme sistemi toksisitesi üzerinde herhangi bir tetikleyici ve olumsuz etki göstergesi yoksa, KKDİK Ek 9 seviyesinde ikinci bir tür veya suş üzerine çalışma gerekli değildir.

Kayıt ettiren tarafından ikinci bir tür veya suş üzerinde bir çalışma gerekli görülürse, bir test önerisi sunulmalıdır.

Aşama 4.5 Yıllık 1000 ton veya üzerindeki kayıtlar (KKDİK Ek 7 - 10)

1-3. Aşamanın ötesine geçilmesi, önceki tonaj düzeyinde yürütülmemişse ikinci bir tür üzerinde doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasını (B.31, OECD Test Rehberi 414) ve önceki tonaj seviyesinde gerçekleştirilmemişse genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasını (B. 56, OECD Test Rehberi 443) tetikleyecektir.

¹³¹ Doğrulanmamış veya rehber dışı yöntemler kullanıldığında, duruma göre bilimsel gerekçelendirme sağlanmalıdır.

(i) Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması

KKDİK Ek 10 seviyesinde, ikinci bir tür üzerinde yürütülen bir doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (AB B.31, OECD Test Rehberi 414), KKDİK Ek 9 seviyesinde gerçekleştirilen ilk tür üzerinde doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasına ek olarak standart bir bilgi gerekliliğidir.

İki türe ilişkin bilgilerin mevcudiyeti, doğum öncesi gelişimsel toksisitenin daha kapsamlı bir değerlendirmesine izin verir. KKDİK Ek 10, Bölüm 8.7, Sütun 2 veya KKDİK Ek 11 uyarınca bir uyarılma gerekçelendirilebilirse, ilk testin sonucu ve diğer tüm mevcut veriler dikkate alındığında, ikinci bir türdeki doğum öncesi gelişim toksisite çalışması yapılmayabilir.

Test yöntemlerine göre (B.31, OECD Test Rehberi 414), sıçan tercih edilen kemirgen türüdür ve tavşan tercih edilen kemirgen dışı türdür. Sıçan veya tavşanın birinci tür olarak seçilip seçilmediğine ve/veya halihazırda mevcut olmasına bağlı olarak, diğeri tercih edilen ikinci tür olmalıdır. Bazı durumlarda, tavşan, ilk doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması için tür olarak seçilebilir. Bu, örneğin tavşanın o belirli madde için sıçandan daha hassas tür olduğu düşünülürse yapılabilir. Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması için türlerin seçimi, maddeye özel hususlar dikkate alınarak yapılmalıdır. Sıçan ve tavşan dışında bir tür birinci veya ikinci tür olarak seçilirse, seçimin gerekçelendirilmesi gerekir.

(ii) Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56; OECD Test Rehberi 443), KKDİK Ek 10 seviyesinde standart bilgi gerekliliğidir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için çalışma tasarımı

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için çalışma tasarımı kriterleri, KKDİK Ek 9 ve 10 seviyelerinde aynıdır. Bu nedenle, buradaki çalışma tasarımının açıklaması KKDİK Ek 9 seviyesindekiyle (Aşama 4.4 (iii)) aynıdır.

Uygun çalışma tasarımının tanımlanması, gerekçelendirilmesi ve belgelenmesi gerekir. Özel durumlar, 1) çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğu ve doz seviyesi seçimi, 2) Kohort 1B'yi ve F2 nesli için sonlandırma süresini uzatma ihtiyacı, 3) Kohort 2A ve 2B'yi dahil etme ihtiyacı ve 4) Kohort 3'ü dahil etme ihtiyacı için gereklidir.

KKDİK Sütun 1'de standart bir bilgi gerekliliği olarak belirtilen genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının (B.56, OECD Test Rehberi 443) çalışma tasarımı, "temel" çalışma tasarımı olarak adlandırılır ve Kohort 1A ve 1B'yi içeren bir tek nesil çalışmasıdır. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doğurganlığın yeterli değerlendirmesine izin vermesi gerektiğini ve çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyelerinin risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamak için uygun olması gerektiğini belirtir¹³².

¹³² KKDİK Yönetmeliği Ek 9 ve 10 girdi 8.7.3 kapsamında yürütülen üreme sistemi toksisitesi çalışmasının, doğurganlık üzerindeki olası etkilerin yeterli değerlendirmesine izin vermesi sağlanmalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seçimi, KKDİK Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliğiuyarınca risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamaya uygun olmalıdır. "

KKDİK Eklerinde çalışmanın odak noktası, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımında dikkate alınması gereken doğurganlık üzerinedir. Bu nedenle, başlangıç noktası olarak, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının tüm değişik çalışma tasarımları için bir miktar toksisite tetiklemek amacıyla on haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve en yüksek doz seviyesi önerilmelidir. En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir. Bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) 'e göre çiftleşme öncesi maruz kalma süresi dahil olmak üzere temel çalışma tasarımı, Sütun 2'de belirtilen koşullar karşılanmadığı sürece kayıt ettirenler tarafından önerilmelidir.

Kohort 1B'nin uzatılması (F2 neslini üretmek için Kohort 1B hayvanlarının çiftleşmesi) Sütun 2'de belirtilen koşullar karşılanırsa kayıt ettiren tarafından önerilmelidir. Sütun 2'de tanımlanan nörotoksosite için özel tetikleyicilere dayalı olarak, gelişimsel nörotoksosite kohortları (Kohort 2A ve 2B) kayıt ettiren tarafından önerilmelidir. Sırasıyla, Sütun 2'de tanımlanan immünotoksosite için özel tetikleyicilere dayalı olarak, gelişimsel immünotoksosite kohortu (Kohort 3) kayıt ettiren tarafından önerilmelidir.

Kayıt ettiren ayrıca gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite için kohortlar yerine ayrı bir gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite çalışması önerebilir.

Çalışma tasarımını belirleyen koşullar KKDİK Ek 10, 8.7.3, Sütun 2'de listelenmiştir ve bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) içerisinde daha ayrıntılı olarak açıklanmış ve Bölüm [R.7.6.4.2.3](#) "Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması" içerisinde tartışılmıştır. Bu Rehberde [Ek R.7.6-1](#) , çalışma tasarımını belirleyen koşulların (tetikleyiciler) bulunduğunu veya bulunmadığını tespit etmek için dikkate alınması ve dosyada mevcut olduğunda sunulması gereken bilgileri listeler. KKDİK Ek 9/10, 8.7.3 Sütun 2'de açıklanan koşullara uygun olarak tüm mevcut bilgileri değerlendirmek ve standart bilgi gerekliliğinin bir uyarlamasını önermek kayıt ettirenin sorumluluğundadır.

Bir maddenin üreme sistemine toksisitesinin değerlendirilmesi için en uygun olan çalışma tasarımının gerekçeleri, yeterli şekilde belgelendirilmelidir. Bu belgelendirme, kayıt ettiren mevcut tüm bilgiler dikkate alınarak karşılanmayacak olan temel çalışma tasarımından sapma koşullarını neden taşıdığına dair gerekçeleri içermelidir.

İkinci bir tür veya suş üzerine bir çalışma

KKDİK Ek 9 özel uyarılma kuralları, KKDİK Ek 9 tonaj seviyesinde veya KKDİK Ek 10 tonaj seviyesinde ikinci bir suşta veya ikinci bir türde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56; OECD Test Rehberi 443) yapma ihtiyacının dikkate alınabileceğini ve kararın, ilk testin sonucuna ve diğer ilgili mevcut verilere dayandırılması gerektiğini belirtir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının sıçanlarda gerçekleştirilmek üzere tasarlandığı ve diğer türleri kullanmanın zor olabileceği kabul edilmektedir. Böylece, ikinci bir tür yerine başka bir sıçan suşu kullanılarak ikinci bir çalışma yapılması mümkün hale getirilmiştir. İkinci bir tür veya suş üzerinde çalışma yalnızca istisnai durumlarda gereklidir.

Mevcut veriler, birinci tür üzerindeki çalışmada ele alınmayan tetikleyicileri içeriyorsa, ikinci bir suş veya tür üzerinde bir çalışma gerekli olabilir. Örneğin, ikinci bir suş veya türdeki bir çalışmanın gerçekleştirilmesi, ilk türle yapılan çalışmada gözlemlenen etkiler daha ciddi endişelere neden olursa, ancak Kategori 1B üreme sistemine toksik maddeler için sınıflandırma kriterlerini karşılamak üzere yeterli değilse haklı görülebilir. Diğer tetikleyiciler, onaylanmış¹³³ hayvan dışı yaklaşımlardan, yeterli uygulanabilirlik alanına sahip güvenilir ve ilgili QSAR yöntemlerinden, yapısal olarak benzer maddelerden, etki şekillerinden veya bir tarama çalışmasının sonuçlarından kaynaklanabilir.

¹³³ Doğrulanmamış veya rehber dışı yöntemler kullanıldığında, duruma göre bilimsel gerekçelendirme sağlanmalıdır.

Bununla birlikte, ilk çalışmada ve diğer mevcut verilerde üreme sistemi toksisitesi üzerinde herhangi bir tetikleyici ve olumsuz etki göstergesi yoksa, KKDİK Ek 10 seviyesinde ikinci bir tür veya suş üzerine çalışma gerekli değildir.

Kayıt ettiren tarafından ikinci bir tür veya suş üzerinde bir çalışma gerekli görülürse, bir test önerisi sunulmalıdır.

R.7.6.3 Üreme sistemi toksisitesi üzerine bilgi kaynakları

Üreme toksisitesi ile ilgili bilgiler, aşağıda belirtilen çeşitli kaynak kategorilerinden elde edilebilir. Her kaynak kategorisinden örnekler sağlanmıştır. Bu bilgilerin değerlendirilmesi, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4](#) içerisinde açıklanmaktadır. *In vivo* testin gerekli olduğu durumlarda, kayıt ettirenler, en az hayvan gerektiren ve en az acı çekme içeren test/testleri seçerken Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmeliği takip etmelidir.

R.7.6.3.1 Üreme sistemi toksisitesi üzerine hayvan dışı yaklaşımlardan bilgiler

Destekleyici nitelikteki sınırlı bilgiler, hayvan dışı yaklaşımlardan (belirli bir gelişim aşamasından sonra embriyolar ve fetüsler dahil olmak üzere bütün hayvanları kullanmayan testler) çıkarılabilir. Bilginin kalitesinin değerlendirilmesi için, mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin ÇŞB rehberine atıfta bulunulan bu Rehberin Bölüm [R.7.6.4](#)'ü incelenmelidir (*BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.4 "Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi"*):

- bir maddenin fiziko-kimyasal özellikleri (dağılım, birikim);
- yapısal olarak analog maddeler ve (Q)SAR modelleri hakkında bilgi;
- *in silico* ve *in chemico* modelleri (yeterli uygulanabilirlik alanıyla);
- üreme sistemi toksisitesi üzerindeki *in vitro* testler (ilgili konsantrasyonlarda) veya ilgili etki şekilleri; örneğin:
 - Östrojen reseptörü agonistlerini tespit etmek için *in vitro* testlerde kararlı şekilde transfekte edilmiş transaktivasyon için performans dayalı test rehberi (OECD Test Rehberi 455, güncelleme 2012);
 - Östrojen reseptörü agonistlerini ve antagonistlerini tanımlamak için BG1Luc Östrojen reseptörü transaktivasyon test yöntemi (OECD Test Rehberi 457);
 - H295R steroidogenez deneyi (B.57, OECD Test Rehberi 456);
 - *in vitro* embriyotoksosite testleri;
 - *in vitro* organ ve hücre kültürleri.
- Mümkün olduğunda, biyoaktif kan konsantrasyonlarına ulaşmak için gereken maruz kalmayı tahmin etmek üzere *in vitro* testlerden elde edilen sonuçları desteklemek için iyi geliştirilmiş ve gerekçelendirilmiş ters toksikokinetik modeller kullanılabilir.

Çeşitli metodolojileri birleştiren yaklaşımlar (örn. olumsuz etki oluşum yolları (AOP) kavramından) (OECD Rehberi 184).

R.7.6.3.2 İnsanlarda üreme sistemi toksisitesi üzerine bilgiler

İnsan bilgileri mevcutsa, KKDİK Ek 1, 1.2'de belirtildiği gibi sunulmalı ve mümkünse bir tablo şeklinde verilmelidir.

Bilgiler epidemiyolojik ve/veya mesleki çalışmalardan, tıbbi kayıtlardan, vaka incelemelerinden ve kazalardan kaynaklanabilir. Bilginin kalitesinin değerlendirilmesi için, mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin ÇŞB rehberine atıfta bulunulan bu Rehberin Bölüm [R.7.6.4](#)'ü incelenmelidir (*BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.4 "Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi"*):

R.7.6.3.3 Üreme sistemi toksisitesi üzerine *in vivo* hayvan çalışmalarından bilgiler

Veriler, bir maddenin potansiyel üreme sistemi toksisitesi hakkında farklı miktarlarda doğrudan veya dolaylı bilgi veren standart veya standart dışı çalışma tasarımına sahip çok çeşitli hayvan çalışmalarından elde edilebilir. Bilginin kalitesinin değerlendirilmesi için, mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin ÇŞB rehberine atıfta bulunulan bu Rehberin Bölüm [R.7.6.4](#)'ü incelenmelidir (*BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.4 "Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi"*):

KKDİK Yönetmeliği içerisinde atıfta bulunulan ve üreme sistemi toksisitesi hakkında bilgi sağlayan *in vivo* çalışmalar:

- Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443);
- İki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.35, OECD Test Rehberi 416);¹³⁴
- Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414).

KKDİK Yönetmeliği içerisinde atıfta bulunulan ve üreme sistemi toksisitesi hakkında ön bilgi sağlayan *in vivo* çalışmalar:

- Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi (OECD Test Rehberi 421);¹³⁵
- Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışması (OECD Test Rehberi 422)¹³⁶.

ÇŞB ve OECD test rehberleri ile üreme sistemi toksisitesi üzerine diğer *in vivo* çalışmalar:

- Tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.34, OECD Test Rehberi 415).

Üreme sistemi toksisitesi ile ilgili parametreleri içerebilecek tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları:

- 28 ve 90 günlük tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları (B.7; B.10), ilgili parametrelerin dahil edildiği durumlarda (örn. sperm analizi, östrus döngüsü, üreme organlarının ve yardımcı cinsel organların organ ağırlıkları ve/veya üreme organı histopatolojisi).

Sağlam veya sağlam olmayan hayvanlarda endokrin bozucu etki şekilleri üzerine kısa süreli *in vivo* testler, örn.:

- Kemirgenlerde uterotrofik biyoanaliz: östrojenik özellikler için kısa süreli bir tarama testi (B.54, OECD Test Rehberi 440; anti-östronisite için OECD Rehberi 71);
- Sıçanlarda Hershberger biyoanalizi: (anti)androjenik özellikler için kısa süreli bir tarama testi (B.55, OECD Test Rehberi 441 ve Rehber 115);
- Yavru/ergenlik çağındaki hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar.

İlgili bilgileri sağlayabilecek diğer çalışmalar, örneğin:

- Chernoff/Kavlock testleri (bkz. Hardin ve ark., 1987);
- NTP (Ulusal Toksikoloji Programı, ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bakanlığı (<http://ntp.niehs.nih.gov/testing/types/mog/index.html>) tarafından değiştirilmiş bir tek nesil çalışma

¹³⁴ Mevcut iki nesil üreme toksisitesi çalışmaları (B.35, OECD Test Rehberi 416), Ek 9/10, 8.7.3 için standart bilgi gerekliliğini karşılar, ancak KKDİK için yeni çalışmaların Ek 9/10, 8.7.3'te açıklandığı gibi genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına (B.56, OECD Test Rehberi 443) göre önerilmesi gereklidir.

¹³⁵ Bugüne kadar, karşılık gelen bir test yöntemi mevcut değildir.

¹³⁶ Bu belgenin yayınlanma tarihinde karşılık gelen bir AB test yöntemi mevcut değildir.

- Sürekli Üreme ile Üreme Sistemi Değerlendirmesi (RACB) protokolü (örn. Chapin ve Sloane 1997);
- doğum sırası-sonrası çalışmaları;
- standart dışı tasarıma sahip erkek veya dişi doğurganlık çalışmaları;
- baskın öldürücü analiz (B.22, OECD Test Rehberi 478);
- mekanik çalışmalar;
- toksikokinetik çalışmalar (B.36, OECD Test Rehberi 417);
- balıklardaki çalışmalar (örn. Balık Cinsel Gelişim Testi (OECD Test Rehberi 234));
- amfibilerdeki çalışmalar (örn. Amfibi Metamorfoz Testi (OECD Test Rehberi 231) veya Larva Amfibi Büyüme ve Gelişim Testi (geliştirme aşamasında));
- diğer memeli dışı türlerde yapılan çalışmalar.

Gelişimsel nörotoksisite ve gelişimsel immünotoksisiteye odaklanan çalışmalar:

- gelişimsel nörotoksisite çalışmaları (örneğin B.53, OECD Test Rehberi 426);
- gelişimsel immünotoksisite çalışmaları (referanslar için bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.7](#)).

R.7.6.4 Üreme sistemi toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Bu bölüm, çalışma tasarımlarını etkileyen yönler dahil olmak üzere mevcut verilerin değerlendirilmesi hakkında bilgi sağlar. Hem insan dışı (hayvan dışı yaklaşımlar ve *in vivo* hayvan çalışmaları) hem de insan verileri dikkate alınır. Bu bölümde, standart bilgi gereklilikleri olarak gerekli çalışmalar tanımlanıp, ayrıca bir çalışmayı tetiklemek veya çalışma tasarımını uyarlamak için Sütun 2'de açıklanan koşulların nasıl değerlendirileceği açıklanmaktadır. İlave olarak, uluslararası kabul görmüş diğer *in vivo* çalışmalardan elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi kısaca açıklanmıştır.

KKDİK Ek 6-11 bağlamında toplanan mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin genel rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.4 "*Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi*" içerisinde sağlanmıştır. Bilgiler, KKDİK amacıyla eksiksizliği ve kalitesi açısından aşağıda belirtilenlere ilişkin olarak incelenmek amacıyla değerlendirilmelidir (Bölüm R.4'teki ayrıntılı ifadeye bakınız):

- Bilgi gerekliliklerini karşılaması;
- Zararlılık sınıflandırması ve risk değerlendirmesi için uygun olması.

Mevcut verilerin uygunluğu, güvenilirliği ve yeterliliği açısından değerlendirilmesi ve derecelendirilmesiyle veri kalitesinin değerlendirme süreci Bölüm R.4'te verilmektedir. Bölüm R.4 insan, hayvan ve hayvan dışı kaynaklar olmak üzere her türlü bilgi için geçerlidir ve üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktası hakkında bilgiler için de geçerlidir. Üreme ve nörotoksisite sonuçlarının yorumlanmasına yardımcı olması için OECD rehber dokümanı 43 incelenebilir (bkz. histolojik değerlendirme için OECD Rehberi 106, tiroid hormon modülasyon testleri için OECD Rehberi 57 ve 207 ve gelişimsel nörotoksisite için geçmişe dönük OECD performans testi, No 89 (OECD, 2008)).

Bu belgede üreme sistemi toksisitesi ile ilgili bazı ek bilimsel yönler, ilgili bilgi kaynakları bağlamında vurgulanmıştır.

İnsan dışı bilgilerin değerlendirilmesinin ana ilkeleri (hayvan çalışmalarından ve hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilen bilgiler) KKDİK Ek 1, 1.1'de sunulmuştur ve aşağıdakilerden oluşmalıdır:

- İnsan dışı mevcut tüm bilgilere dayanarak etkiye yönelik zararlılık tanımlanması
- Nicel doz (konsantrasyon) cevap (etki) ilişkisinin kurulması.

Üreme sistemi toksisitesi hakkındaki anahtar veriler için kapsamlı çalışma özetleri gereklidir. Mümkünse bilgiler tablo/tablolarda halinde verilmelidir (daha fazla ayrıntı için bkz. KKDİK Ek 1, 1.1.3).

R.7.6.4.1 Hayvan dışı veriler

Üreme sistemi toksisitesi için, üreme toksisitesine ilişkin (standart) bilgi gerekliliklerini uyarlamak üzere şu an için hayvan dışı yaklaşımlara ait bir gruplandırma ve kategori yaklaşımı ve kanıt ağırlığı en iyi amaca uygun araçlardır. Ancak, uygun gerekçeler ve belgeler sağlanmalıdır. Ek olarak, kimyasal envanterlerin önceliklendirilmesi ve taranması için hayvan dışı yaklaşımlar kullanılabilir.

In vitro testler ve metodolojideki güncel gelişmeler hakkında bilgiler ECVAM web sitesinde (http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam) ve alternatif yöntemlerin doğrulanması için diğer uluslararası merkezlerde bulunabilir. ECHA'nın web sitesi aynı zamanda yeni uluslararası kabul görmüş hayvan dışı yaklaşımlarla (<http://www.echa.europa.eu/support/oecd-eu-test-guidelines>) güncellenmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmaların ve üreme sistemi toksisitesi için hayvan testlerinin yerini alacak yaklaşımların düzenleyici kabulü, eşdeğer bilgi sağlamadıkları ve bu nedenle sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için tek başına kullanılamayacakları için sağlanamamıştır. Buna rağmen, kategoriler/çapraz okumada ve kanıt ağırlığı uyarlamasında öğeler olarak görev alabilirler. Ayrıca, etki mekanizmaları ve şekilleri hakkında önemli bilgiler veya daha ileri testlerin planlanmasında kullanılacak ön tarama bilgileri de sağlayabilirler.

R.7.6.4.1.1 Fiziko-kimyasal özellikler

Bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerinden belirli bir yolla maruz kalmadan sonra emilip emilmeyeceği ve ayrıca maddenin (veya aktif bir metabolitin) plasenta, kan-beyin veya kan-testis bariyerini geçip geçmeyeceği veya süte salgılanıp salgılanmayacağı sonucuna varmak mümkün olabilir. Fiziko-kimyasal özellikler hakkındaki bilgiler, Sütun 2 uyarlamasına (örneğin, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında Kohort 1B'nin uzatılmasını tetikleyen koşulların bir parçası olan kararlı hale ulaşmadan önce uzun süreli fazla ilgili endişelerin belirtilmesi) veya KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre kanıt ağırlığı uyarlamasına katkıda bulunabilir.

R.7.6.4.1.2 (Q)SAR

Mevcut bilgiler temelinde, normal olarak QSAR modellerinden oluşan bir seri tarafından yeterince kapsanamayan üreme sistemi toksisitesiyle ilişkili çok sayıda potansiyel hedef/mekanizma vardır. Prensipte QSAR modelleri, KKDİK Ek 11, 1.3'e göre potansiyel uyarlama olasılıklarıdır, ancak söz konusu sonlanma noktasını yeterince kapsamalılar - tüm temel hususlar/parametreler kapsamalılar.

QSAR modelleri genellikle ikili sonuçlar verecek şekilde oluşturulur(geliştirilir); maddenin belirli bir özelliğe (örn. gelişimsel toksisite) sahip olduğu veya olmadığı tahmin edilir. Maddenin bu özelliğe sahip olduğu tahmin ediliyorsa, QSAR tahmininin sonucu pozitif olarak kabul edilir.

Benzer şekilde, maddenin belirli bir özelliğe sahip olmadığı tahmin edilirse, QSAR tahmininin sonucu negatif kabul edilir. QSAR yaklaşımları şu anda üreme sistemi toksisitesi için amaca uygun değildir ve dolayısıyla bu alandaki bir test stratejisinde rutin kullanımlarına ilişkin kesin tavsiyelerde bulunulamaz. Bu sonlanma noktası için özel bir güçlük, üreme üzerindeki etkileri değerlendirmek için çeşitli fonksiyonlardan ve parametrelerden ihtiyaç duyulan bilginin karmaşıklığı ve miktarıdır. Gerekli tüm hususlar bir QSAR tahmini kapsamında ele alınamaz. Bu nedenle, maddenin belirli bir özelliğe sahip olmadığını öngören mevcut QSAR modellerinden elde edilen olumsuz bir sonuç, başka destekleyici kanıtlar olmadıkça üreme sistemine zararlılığın bulunmadığını gösterdiği şekilde yorumlanamaz. QSAR modellemesinin diğer bir sınırlaması, risk değerlendirmesi için gerekli olan N(L)OAEL gibi doz cevap bilgilerinin sağlanmamasıdır.

Bununla birlikte, maddenin belirli bir özelliğe sahip olduğunu öngören uygun bir uygulanabilirlik alanına sahip güvenilir ve ilgili bir QSAR modelinden elde edilen pozitif bir sonuç, standart bilgi gerekliliğinin ötesinde daha ileri testler için bir tetikleyici sağlayabilir (örn. genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında Kohort 1B uzatılmasını tetiklemek için bir unsur). Tetikleyicilerin değerlendirilmesi için bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) incelenmelidir. Bu yaklaşıma olan sınırlı güven nedeniyle, böyle bir sonuç normalde kendi başına sınıflandırma hakkında bir karar vermek için yeterli olmayacaktır. Normalde kullanılsa da, uygun sınıflandırmaya karar verirken kullanılacak destekleyici bilgiler sağlayabilir (bkz. 3.7.2.5.4, Ek 1, SEA).

Uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, QSAR modellerinin kullanımından elde edilen sonuçlar, bu tür verilerin diğer ilgili verilerle birlikte dikkate alındığı bir kanıt ağırlığı analizinde kullanılabilir (sınıflandırma ve etiketleme için ve KKDİK Ek 11, 1.2 uyarınca kanıt ağırlığı uyarlama yaklaşımı için bir unsur olarak). Ayrıca, QSAR modellerinin kullanımından elde edilen sonuçlar, uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, bir gruplandırma yaklaşımında çapraz okuma ile toksikolojik özellikleri değerlendirirken destekleyici kanıt olarak kullanılabilir. Sırasıyla belirli bir özelliğin varlığı veya yokluğuyla ilgili pozitif ve negatif QSAR modellemesi tahmin sonuçları, çapraz okuma değerlendirmesini desteklemede değerli olabilir.

R.7.6.4.1.3 *In vitro* veriler ve Olumsuz Etki Oluşum Yolları

Üreme sistemi toksisitesi için *in vivo* testlere alternatiflerin tasarımı, üreme sürecinin karmaşıklığı ve bu geniş toksisite alanıyla ilişkili çok sayıda potansiyel hedef/mekanizma açısından özellikle zordur. İlave olarak, birçok *in vitro* yaklaşım, ayrıca organa bağlı şekilde farklılık gösterebilen biyodönüşüm unsurlarını içermez.

Şu anda, üreme sistemi toksisitesi için etki şekilleriyle ilgili *in vitro* testlere ilişkin resmi olarak kabul edilmiş yalnızca üç AB test yöntemi veya OECD test rehberi bulunmaktadır: ikisi östrojenite ölçer (OECD Test Rehberi 455 ve OECD Test Rehberi 457) ve diğeri steroidogenez ölçer (AB B.57, OECD Test Rehberi 456). Geliştirme ve uluslararası geçerlilik aşamasındaki çoğu test, bir steroid (veya bir tiroid) hormon reseptörünü bağlayarak ve aktive ederek veya bloke ederek ölçülen agonist/antagonistik özelliklere odaklanmaktadır.

Gelişimsel toksisiteyi tahmin etmek için üç *in vitro* embriyotoksisite testi doğrulanmıştır, ancak düzenleyici kullanım için kabul edilmemiştir (Genschow *ve ark.*, 2002, Piersma *ve ark.*, 2004, Spielmann *ve ark.*, 2004 ve 2006). Bu üç test, embriyonik kök hücre testi, uzuv cisimciği mikro kütle kültürü ve tam embriyo kültürü, bazı güçlü embriyotoksik kimyasallar için yüksek tahmin gücü göstermiştir. Bununla birlikte, yöntemlerin doğası ve tahminlerindeki sınırlamalar nedeniyle, gelişimsel toksisiteyi tahmin etmek için diğer daha güvenilir verilerle birlikte yalnızca destekleyici bilgiler olarak kullanılabilirler. Bu doğrulanmış yöntemlerin değeri, proteomik ve toksikojenik yaklaşımların uygulanması yoluyla moleküler tabanlı belirteçlerin dahil edilmesiyle artırılabilir (Piersma, 2006; van Dartel *ve ark.*, 2010). Embriyonik kök hücre yöntemi, *in vitro* nicel çıkış noktalarını türetmek için Fizyolojik Tabanlı Biyokinetik modelleme ile birleştirilebilir ve bunlar daha sonra risk değerlendirmesinde kullanılmak üzere *in vivo* çıkış noktalarına ekstrapole edilir (Worth *ve ark.*, 2014).

Kademeli ve/veya seri yaklaşımında analizlerin birleştirilmesi tahmin gücünü geliştirebilir, ancak *in vivo* durum, bir dizi *in vitro* analiz ile modellenen alanların toplamından daha fazlası olarak kalır (inceleme için bkz. Piersma, 2006). Bu nedenle, destekleyici bilgi içermeyen bir madde için belirli bir özelliğin olmadığını öngören olumsuz bir sonuç, bir hayvan çalışmasıyla aynı güvene sahip şekilde üreme sistemine zararlılığın bulunmadığını gösterdiği şeklinde yorumlanamaz. *In vitro* testlerin diğer bir sınırlaması, N(L)OAEL ve bir risk değerlendirmesi için gerekli olan diğer doz-cevap bilgilerinin sağlanmamasıdır.

Bununla birlikte, doğrulanmış bir *in vitro* testte üreme sistemine belirli bir zararlılığı öngören pozitif bir sonuç, standart bilgi gerekliliğinin ötesinde, etkin konsantrasyona bağlı olarak ve maddenin toksikokinetik profili hakkında bilinenleri hesaba katarak daha ileri testlere ihtiyaç duyulması için bir gerekçe sağlayabilir.

Ancak, şu anda bu yaklaşıma duyulan güvenin sınırlı olmasından dolayı, kendi başına böyle bir sonuç zararlılık sınıflandırmasını desteklemek için yeterli olmayacaktır.

Buna ek olarak, uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, doğrulanmış ve doğrulanmamış *in vitro* testler, zararlı özellikler hakkında bilgi toplamak için KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre bir kanıt ağırlığı uyarlamasında diğer verilerle birlikte kullanılabilir. Mekanik araştırmalarda *in vitro* teknikler kullanılabilir ve bu da düzenleyici kararlar için destek sağlayabilir. Ayrıca *in vitro* testler, uygulanabilirlik alanının uygun olması koşuluyla, bir madde gruplandırma yaklaşımı içinde çapraz okuma yoluyla toksikolojik özellikleri değerlendirirken destekleyici kanıt olarak kullanılabilir. Pozitif ve negatif *in vitro* test sonuçları çapraz okuma değerlendirmesinde ve kategori yaklaşımında tek bir unsur olarak değerli olabilir.

Başlayan moleküler bir olaydan olumsuz bir sonuca kadar anahtar olayları kapsayacak çalışma ve araştırmaların birleşimini oluşturmak için olumsuz etki oluşum yollarındaki (AOP) güncel gelişmeler, özellikle gelişimsel toksisitede belirli malformasyonlar için olmak üzere belirli yollar hakkında bilgi sağlayabilir. Yaklaşımlar çeşitli farklı yöntemleri birleştirebilir (örn. *in vitro* testler, QSAR, *in chemico* testler vb.). Bu yollar tüm potansiyel etki mekanizmaları/şekillerini kapsamadığından, bu yaklaşımlardan belirli bir özelliğin bulunmadığını öngören olumsuz sonuçlar, üreme sistemine zararlılığın olmadığını göstermek üzere düzenleyici karar verme için yeterli güven sağlamaz. İlave olarak, şu anda risk değerlendirmesi için bir N(L)OAEL değeri veya diğer doz-cevap bilgileri sağlamamaktadırlar. Ancak, çapraz okuma gerekçeleri ve kategorileri için gerekli desteği sağlayabilirler ve KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre bir kanıt ağırlığı uyarlamasına katkıda bulunabilirler.

R.7.6.4.2 Hayvan verileri

Genel olarak, üreme sistemi toksisitesine ilişkin tüm bulgular, eşzamanlı ebeveyn toksisitesi düzeyine bakılmaksızın, sınıflandırma amaçları için dikkate alınmalıdır, bu konuda [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) incelenebilir (Bölüm 3.7.2.2.1, ebeveyn toksisitesi varlığında sınıflandırma).

Bir üreme sistemi toksisitesi çalışmasının sonuçlarının değerlendirilmesi için, mümkün olduğunda, maddenin kendine özel bir özelliğinin bir sonucu olarak üreme üzerindeki belirli bir etkiyi (doğurganlık ve/veya doğum öncesi ve sonrası gelişme) ve genel toksisiteye özgü olmayan ikincil bir sonuç olan üreme üzerindeki olumsuz bir etkiyi ayırt etmek önemlidir. Genel toksisite için ek parametrelerin dahil edilmesi bu yorumu güçlendirebilir. Sınıflandırma kriterlerine göre, üreme sistemine toksik etkiler, diğer (sistemik) toksik etkilerin yokluğunda ortaya çıkması veya diğer toksik etkilerle birlikte ortaya çıkması durumunda, diğer toksik etkilerin özel olmayan ikincil bir sonucu olmadığı düşünülmelidir (bkz. SEA 3.7.2, Ek 1).

R.7.6.4.2.1 Üreme/gelişimsel toksisite tarama testi

Tarama çalışmaları, erkek ve dişi üreme performansı üzerindeki etkiler ile doğum sırasında ve doğumdan kısa bir süre sonra gelişimsel toksisite üzerine ilk bilgileri ve ayrıca revize Test Rehberleri¹³⁷ (2015) içerisinde verilen şekilde anogenital mesafe, meme başı/areola tutulumu, tiroid hormonu seviyeleri dahil olmak üzere endokrin bozucu etki şekli için belirli ek parametreler sağlar. Bu tarama testleri, üreme ve gelişmenin tüm yönleri hakkında tam bilgi sağlamayı amaçlamaz. Bununla birlikte, tarama testi (OECD Test Rehberi 421 veya 422) KKDİK Ek 8 seviyesinde üreme sistemi toksisitesi için standart bir bilgi gerekliliğidir. Bu nedenle, KKDİK Ek 8'deki negatif bir çalışma sonucu yeterli kabul edilir, ancak tarama çalışması üreme sistemi toksisitesi hakkında daha kapsamlı çalışmalardan daha fazla benzer güven sağlamaz.

¹³⁷ OECD Test Rehberi 421 ve 422 revize edilme sürecindedir: 2015 sonunda kabul edilmesi ve yayınlanması beklenmektedir.

Tarama testlerinin bir değerlendirmesi (OECD Test Rehberi 421 veya 422), bu testlerin ilk zararlılık değerlendirmesi için yararlı olduğunu ve ileri test gereksinimlerine ilişkin kararlara katkıda bulunabileceğini doğrulamıştır (Reuter ve ark., 2003, Gelbke ve ark., 2004, Beekhuijsen ve ark., 2014).

Erkek üreme verimliliği ve kadın doğurganlığı ile ilgili olarak, araştırılan parametrelerin sayısı, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) veya iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.35, OECD 416) gibi daha kapsamlı nesil çalışma tasarımlarından daha azdır ve istatistiksel güç, doz grubu başına düşen hayvan sayısının daha düşük olması nedeniyle çok daha düşüktür. Ayrıca, bu tarama çalışmalarındaki çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, spermatogenik döngü veya folikülogenez üzerindeki tüm etkileri saptamak için yeterli olmayabilir. Bu çalışmada kullanılan iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, olgunlaşan spermatozoanın epididimal geçiş süresine eşittir ve bu nedenle, çiftleşmede sperm üzerindeki post-testiküler etkilerin saptanmasına izin verir (spermleşme ve epididimal sperm olgunlaşmasının son aşamalarında). Dişiler için iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi 2-3 östrus döngüsünü kapsar ve döngüsellik üzerindeki etkiler tespit edilebilir. Bu nedenle, tam spermatogenez ve folikülogenez, sıçanlarda sırasıyla 70 ve 62 gün sürdüklerinden, çiftleşme sırasında veya çiftleşmeden önce ve sonra birlikte kapsamaz.

Tam spermatogenik dönem ve folikülogenez sırasındaki maruz kalma çiftleşme anında kapsamadığından, spermatogenezin ve folikülojenin erken aşamalarındaki etkiler fonksiyonel doğurganlık incelemesine yansıtılamaz. Örneğin, spermatogenezin (spermatogoni) ve/veya belirli hücre tiplerinin (Sertoli hücresi ve Leydig hücreleri) erken aşamaları, birçok kimyasala karşı hassastır (örneğin, bkz. Bonde tarafından yapılan inceleme, 2010). İki haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma ile, spermatozoa gelişiminin bu erken aşamalarında maruz kalmanın fonksiyonel doğurganlık üzerindeki etkileri kapsamayacaktır. İlave olarak, kararlı duruma tüm organlarda ulaşamayabilir (bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) içerisindeki tartışma). Histopatolojik veriler sınırlı olacaktır, çünkü çalışmanın süresi tam spermatogenez veya folikülogenez kapsamaz. Tonaj seviyesine bağlı olarak, 90 günlük çalışmadan elde edilen sonuçlar gonadların histopatolojisinin araştırılmasıyla elde edilebilir, ancak sperm parametreleri veya östrus döngüleri genellikle araştırılmaz. Gonadların histopatolojisi, erkek doğurganlığı üzerindeki olumsuz etkileri tespit etmek için en hassas parametreler arasında olabilir ve en hassas parametre NOAEL türetmek üzere kullanılabilir. Ancak, sınıflandırma ve etiketleme için gözlemlenen etkilerin hassasiyetinden ziyade etkilerin netliği önemlidir ve maddenin sınıflandırıldığı kategoriyi etkileyecektir. Bu nedenle, doğurganlığı kategorizasyon da dahil olmak üzere sınıflandırma ve etiketleme amaçları için ele almak üzere, mevcut tüm parametrelerin doğurganlık sonlanma noktasını ne kadar iyi ele aldığını değerlendirmek gerekir.

Sınırlamaları nedeniyle, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının bilgi gerekliliklerini karşılamak için bir tarama çalışması kullanılamaz (B.56, OECD Test Rehberi 443). Ayrıca, bu tarama çalışmalarının, tek veya iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmaları (B.34/OECD 415 veya B.56/OECD Test Rehberi 443 veya B.35 / OECD 416) gibi doğum sonrası gelişimsel toksisite hakkında ilgili bilgiler sağlamadığı da unutulmamalıdır, çünkü tarama çalışmaları, bu daha kapsamlı çalışmalardan daha erken bir gelişim aşamasında zaten sonlandırılmaktadır.

Gelişimsel toksisite ile ilgili olarak, bu tarama testleri doğum öncesi gelişimsel toksisite hakkında yeterli bilgi sağlamaz çünkü yavrular, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasında (B.31, OECD Test Rehberi 414) olduğu gibi dış, iskelet ve iç organ anomalileri açısından incelenmezler. Ayrıca tarama çalışmalarındaki yavrular doğal yollarla doğurtulmakta ve anneler malformasyonlu yavruları yiyebilmektedir. Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasında, yavruların yenmesini önlemek ve fetüslerin uygun bir şekilde değerlendirilmesini sağlamak için sezaryen yapılır. İlave olarak, tarama çalışmasının istatistiksel gücü, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasınkinden daha düşüktür. Bu nedenle, doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasının standart bilgi gerekliliğini karşılamak için bir tarama çalışması kullanılamaz (B.31, OECD Test Rehberi 414).

Tonaj düzeyine veya uyarlamalara dayalı olarak, tarama çalışması mevcut tek üreme sistemi toksisitesi çalışması olabilir. Bununla birlikte, tarama çalışmaları, daha yüksek aşamalı üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının bir alternatifi veya ikamesi olarak tasarlanmamıştır (B.31, OECD Test Rehberi 414 ve B.56, OECD Test Rehberi 443).

Bu nedenle, bir tarama çalışmasının sonuçları dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan etkiler bile, üreme bozukluğunun göstergesi olabilir. OECD Test Rehberi 421 veya 422 tarama testinde hiçbir etki göstermeyen bir sonuç, üreme sistemi toksisitesi için herhangi bir zararlı özelliğin bulunmadığına dair güvence sağlamaz. Sonuçların yorumlanmasına yardımcı olmak için üreme sistemi toksisitesi hakkında daha fazla bilgi mevcut olabilir.

Bu testlerde üreme veya üreme organları üzerindeki olumsuz etkilere dair net kanıtların gözlemlenmesi, sınıflandırma, etiketleme ve risk değerlendirmesi için bilgi ihtiyaçlarını karşılamak üzere yeterli olabilir (uygun bir değerlendirme faktörü kullanılarak) ve DNEL tanımlanabilecek bir N(L)OAEL sağlayabilir (daha kapsamlı çalışmalardan daha yüksek belirsizlik nedeniyle ek bir değerlendirme faktörü ekleyerek).

Tarama çalışmasında gözlemlenen etkiler, tetikleyici olarak görev alarak daha kapsamlı üreme sistemi toksisitesi çalışmalarına yol açabilir veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımını belirleyen koşullar oluşturabilir. Örneğin, B.56 (OECD Test Rehberi 443), üreme sistemi toksisitesi ile ilgili endişeleri gösteren kanıtlara dayalı olarak tetiklenebilir (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#), Aşama 4.4 KKDİK Ek 9, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması). Bir tarama çalışması, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için doz seviyesi seçimi düşünülürken faydalı bilgiler sağlayabilir.

R.7.6.4.2.2 Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması (B.31, OECD Test Rehberi 414), yalnızca doğumdan önce ortaya çıkan etkiler tespit edilebilmesine rağmen, doğum öncesi gelişim üzerine potansiyel etkilerin odaklanmış bir değerlendirmesini sağlar. Dış, iskelet ve iç organ bozuklukları ve değişkenlikleri ve diğer gelişimsel etkiler hakkında ayrıntılı bilgi sağlanır. Sezaryen, etkilenen fetüs sayısının kesin olarak değerlendirilmesine olanak sağlar.

Doğum öncesi gelişimsel toksisitenin kapsamlı bir değerlendirmesi için, biri kemirgen (genellikle sıçan) ve biri kemirgen dışı (genellikle tavşan) olmak üzere iki türden elde edilen bilgiler değerlendirilir. Bununla birlikte, KKDİK tonaj seviyesine bağlı olarak, doğum öncesi gelişimsel toksisite için standart bir bilgi gerekliliği yalnızca bir türde (KKDİK Ek 9) olabilir veya hiçbirinde (KKDİK Ek 7 ve 8) olmayabilir. Bu tür durumlarda, standart bilgi gerekliliğinin ötesinde testler tetiklenirse değerlendirilmesi gerekir. Varsayılan türlerin her ikisi veya biri (sıçan veya tavşan) doğum öncesi gelişimsel toksisite testi için uygun türler değilse, test için insan ilgisini dikkate alan daha uygun bir tür seçilmelidir. Sıçan ve tavşan dışındaki diğer türler için yeterli bir gerekçe sağlanmalıdır. Aksini gösteren maddeye özel toksikokinetik veya toksikodinamik kanıtlar olmadıkça, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmalarından elde edilen sonuçların insanlarla ilgili olduğu kabul edilir.

Değerlendirme için, ebeveynlerde meydana gelen olumsuz etkilerle ilgili olarak gelişimsel etkiler dikkate alınmalıdır, daha fazla bilgi için [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) (Bölüm 3.7) incelenmelidir.

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının (B.31, OECD Test Rehberi 414) doğum sonrası gelişim hakkında bilgi veya dişi doğurganlığı hakkında yeterli bilgi sağlamadığı unutulmamalıdır. Ancak bazı bulgular endişe yaratabilir; maruz kalma, gebeliğin 0. gününde başladıysa, implantasyon öncesi veya implantasyon üzerindeki etkiler, dişi doğurganlığı üzerindeki etkileri gösterebilir. Ayrıca, önemli ölçüde etkilenirse, gebeliğin sürdürülmesi ve potansiyel olarak gebelik süresi üzerindeki etkiler tanımlanabilir.

Bir çalışma eski bir test yöntemine göre yürütülüyorsa ve bu nedenle mevcut test yöntemlerinden daha kısa bir uygulama süresi kullanıyorsa, kullanılan maruz kalma süresini zorlayan herhangi bir gösterge olmaması önemlidir. Bu nedenle, daha uzun bir maruz kalma süresinin gelişimsel toksisiteyi ortaya çıkaracağını veya daha kısa maruz kalma süresi kullanıldığında gözlenmeyen daha düşük doz seviyelerini etkileyen daha derin bulguları ortaya çıkaracağını düşündüren bir endişe varsa, bu ele alınmalıdır (örn. NOAEL değerini bir sonraki daha düşük doz seviyesine düşüren veya daha düşük bir doz seviyesi yoksa ikiye bölen ek bir değerlendirme faktörü kullanarak) veya ciddi bir endişe varsa, daha uzun maruz kalma süreli yeni bir çalışma önerilmelidir.

Kullanılan maruz kalma süresini zorlayan bu göstergeler, tarama çalışmaları (OECD Test Rehberi 421 veya 422) gibi doğurganlık çalışmalarından veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından veya etki mekanizmaları/şekilleri veya yapısal olarak benzer maddeler hakkındaki bilgilerden kaynaklanabilir. Tarama çalışmalarının (OECD Test Rehberi 421 veya 422) veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının, doğum öncesi gelişimsel toksisite hakkında, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasındakine eşdeğer bilgi sağlamadığı belirtilmelidir. Bu nedenle, maruz kalma süresinin zorlanmasının diğer mevcut verilerden ortaya çıkması durumunda, bu doğurganlık çalışmalarından elde edilen sonuçlar, duruma bağlı olarak doğum öncesi gelişimsel toksisite olmadığı sonucuna varmak için her zaman yeterli güven sağlayamayabilir.

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmaları, örneğin fetotoksisite veya fetüs bulguları şeklinde daha ileri üreme sistemi toksisitesi çalışmaları için tetikleyiciler sağlayabilir. İlave olarak, artmış fetüs ağırlığı veya plasenta ağırlığı gibi kardeş grubu boyutunun ışığında değerlendirilen bazı bulgular, endokrin bozucu bir etki şeklini gösterebilir. Endokrin bozucu etki şekillerini gelişimsel toksisite için diğer etki şekillerinden ayırmak üzere toksikolojik bir ihtiyaç olmamasına rağmen, KKDİK Yönetmeliğinde üreme sistemi üzerindeki etkiler KKDİK Ek 9'da genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasını tetikleyebilir ve endokrin bozucu etki şekillerinin göstergesi genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında Kohort 1B'nin uzatılmasını tetikleyen bir unsurdur.

R.7.6.4.2.3 Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması

Giriş

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının test yöntemi (EOGRTS, B.56, OECD Test Rehberi 443), her bir yetki alanının ilgili düzenleyici bağlam için gerekli çalışma tasarımına karar vermesine olanak tanıyan çeşitli araştırma seçenekleriyle esnek bir modüler çalışma tasarımını açıklar. KKDİK için çalışma tasarımı, bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) içerisinde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, test maddesinin yetişkin erkek ve dişi üreme sistemi bütünlüğü ve performansı ve yavru canlılığı, sağlığı ve yetişkinliğe kadar fiziksel ve fonksiyonel gelişimin bazı yönleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine olanak tanır. Kohort 1B'nin genişletilmesi (F2 neslini üretmek üzere F1 hayvanlarını çiftleştirmek için) ayrıca yavruların (F1 nesli) doğurganlığı hakkında bilgi sağlar, böylece en hassas yaşam evrelerinin (yani rahim içi (*in utero*) ve erken doğum sonrası dönem) maruz kalmasından sonraki potansiyel etkileri ele alır. Bu nedenle, Kohort 1B hayvanlarının çiftleşmesi, tam üreme döngüsü hakkındaki bilgileri kapsayacaktır.

KKDİK Yönetmeliğinde standart bilgi gerekliliği üreme sistemi toksisitesi için yalnızca Kohort 1A ve 1B'yi içerir (F2 neslini üretmek için genişletme olmadan). Bu nedenle, temel çalışma tasarımı, ebeveyn hayvanların (P0 veya F0 hayvanları) doğurganlığı ve F1 hayvanlarının genişletilmiş doğum sonrası gelişimi hakkında bilgi sağlayan tek nesilli bir çalışmadır. İlave olarak, KKDİK amaçları için, çalışma tasarımının, kategorizasyon da dahil olmak üzere risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçları için doğurganlık üzerindeki olası etkilerin yeterli değerlendirmesine izin vermesi gereklidir. Çalışma tasarımının doğurganlık sonlanma noktasını yeterli bir şekilde ele aldığından emin olmak için, çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve en yüksek doz seviyesinin seçimi dikkate alınması gereken anahtar hususlardır, daha fazla ayrıntı için bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) incelenmelidir. En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir.

KKDİK Ek 9/10 içerisindeki Sütun 2 koşulları karşılanırsa, (daha fazla bilgi için bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#)) Kohort 1B genişletilmelidir, bu da F2 neslinin Kohort 1B hayvanlarının çiftleştirilmesiyle üretildiği anlamına gelir. Bu genişletme ayrıca F1 hayvanlarının çiftleşme, doğurganlık ve üreme performansı hakkında bilgi sağlar. F1 hayvanları rahim içinde (*in utero*) ve doğum sonrası erken dönemde maruz bırakılır ve bu hassas yaşam aşamalarında tetiklenen etkilerin kapsamlı bir değerlendirmesine izin verir. Benzer şekilde, temel çalışma tasarımının bu şekilde genişlemesi için tetikleyiciler (KKDİK Ek 9/10, 8.7.3 Sütun 2'de sağlananlar) yerine getirilirse, gelişimsel nörotoksisite (Kohort 2A ve 2B) ve/veya gelişimsel immünotoksisite (Kohort 3) kohortlarının yürütülmesi gerekir.

Bu kohortlar, hassas yaşam evrelerinde maruz kaldıktan sonra maddelerin nörotoksik veya immünotoksik potansiyeli hakkında bilgi sağlar. Gelişimsel nörotoksisite için tetikleyiciler olduğunda, hem Kohort 2A hem de 2B tamamlayıcı bilgi sağladıkları için yürütülecektir. Gelişimsel nörotoksisite ve gelişimsel immünotoksisitenin değerlendirilmesiyle ilgili hususlar bu bölümde ileride verilmektedir (bkz. bu Rehberde [R.7.6.4.2.6](#) and [R.7.6.4.2.7](#) Bölümleri).

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için aralık bulma çalışmasından (veya aralık bulma çalışmalarından) elde edilen sonuçların ana çalışma ile birlikte bildirilmesi önerilir. Bu, doz seviyesi seçimlerinin gerekçelerini ve çalışma sonuçlarının yorumlanmasını destekleyecektir.

Aralık bulma çalışması doğurganlık üzerinde olumsuz etkilere işaret ediyor, ancak etkiler Üreme toksisitesi Kategori 1B kriterlerini karşılamıyorsa, ana çalışmanın aralık bulma çalışmasından elde edilen bulguları doğrulayacak şekilde tasarlanması önerilir. Bununla birlikte, aralık bulma çalışmasının sonuçları Üreme sistemi toksisitesi Kategori 1B üreme sistemine toksik kriterlerini karşılıyorsa, Sütun 2'nin uyarlanması geçerli olabilir ve daha fazla çalışmaya (ana çalışma dahil) ihtiyaç olmayabilir.

(Gelişimsel) nörotoksisite ve/veya immünotoksisite araştırmasıyla ilgili genel hususlar

KKDİK Ek 8 veya 9 seviyesinde nörotoksisite veya immünotoksisite için tetikleyiciler tanımlanırsa ancak genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması tetiklenmezse, gelişmekte olan organizmada veya yetişkinlerde ayrı bir nörotoksisite veya immünotoksisite çalışması, KKDİK Ek 8 Bölüm 8.6.1 veya KKDİK Ek 9 Bölüm 8.6.2 Sütun 2 ye uygun olarak uyarlanması önerilmelidir¹³⁸.

Durumlara bağlı olarak, henüz yürütülmemişse, tekrarlı doz toksisitesi çalışmasına (tarama çalışması dahil) ilave parametrelerin dahil edilmesi, etkiyi daha da karakterize etmek için düşünülebilir.

Nörotoksik ve/veya immünotoksik özelliklerin yetişkinlerde veya gelişmekte olan organizmalarda KKDİK Ek 8 veya KKDİK Ek 9 düzeyinde araştırılması gerekip gerekmediği, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının tetiklenmemesi durumunda, kararı etkileyen çeşitli yönleri, örneğin hedef popülasyon, toksikokinetik ve etki şekli dikkate alınarak durum bazında değerlendirilmelidir. Genel olarak, gelişmekte olan organizmalara yönelik bir çalışma, daha koruyucu bir yaklaşım olarak önerilmektedir.

KKDİK Ek 10'da, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması standart bir bilgi gerekliliğidir ve (gelişimsel) nörotoksisite ve/veya (gelişimsel) immünotoksisite için Sütun 2, Bölüm 8.7.3'te açıklanan tetikleyicileri karşılayan tetikleyiciler varsa, kayıt ettiren gelişimsel nörotoksisite endişesini ele almak için Kohort 2A ve 2B'yi veya gelişimsel immünotoksisite endişesini gidermek için Kohort 3'ü önermelidir. Tetikleyicilerin genel değerlendirmesi bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)'te sunulmaktadır. Bu bölümde aşağıda "Gelişimsel nörotoksisite veya immünotoksisite çalışmaları için öneriler" başlığı altında açıklandığı gibi, kayıt ettiren bu kohortlar yerine bu endişeleri ele almak için ayrı gelişimsel toksisite çalışmaları önerebilir. Benzer şekilde, KKDİK Ek 9'da, eğer genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması tetiklenirse, söz konusu endişeyi ele almak için kayıt ettiren tarafından bu kohortlar veya ayrı çalışmalar önerilmelidir.

Yetişkin hayvanlarda gözlenen nörotoksisite ve/veya immünotoksisitenin,

¹³⁸ Ek 8, 8.6.1 ve Ek 9, 8.6.2'de Sütun 2: "Aşağıdaki durumlarda, kayıt ettiren tarafından daha fazla çalışma yapılması teklif edilebilir veya Bakanlık tarafından Madde 36 veya 37'e göre talep edilebilir:... - mevcut bulguların toksikolojik ve/veya risk özellikleri belirlemek için yetersiz olduğu etkinin belirtilerinin görülmesi. Bu gibi durumlarda ayrıca bu tür etkilerin araştırılması için tasarlanmış özel toksikolojik çalışmaların gerçekleştirilmesi de uygun olabilir (örneğin immünotoksisite, nörotoksisite), ... "

bu etkilerin veya etki şeklinin neden gelişmekte olan bir organizmada ilgili olmayacağına ilişkin olarak maddeye özel bilgi sağlanmadıkça, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında veya ayrı çalışmalarda gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite kohortlarını tetikleyebileceği unutulmamalıdır (tetikleyicilerin değerlendirilmesi için bkz. Aşama 3.2.1). İlave olarak, yetişkinlerdeki çalışmalara dayalı olarak BHOT için sınıflandırma kriterleri karşılanırsa, bu, gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite ile ilgili araştırmaların ihmal edilmesine izin veren bir uyarılma kuralı değildir. Bunun nedeni, gelişmekte olan organizmalarda beklenen daha yüksek hassasiyettir (bkz., Dietert, 2014), bu da daha düşük bir DNEL değerine yol açabilir. Ek olarak, Ürm. Sis. Tok. 1B veya 2 sınıflandırması, etkilerin gelişimsel kaynaklı olduğu düşünülürse (yani gelişim sırasında maruz kalma) gerekli olabilir. Hassasiyet, incelenen dokuz (immüno)toksik madde için hayvan çalışmalarında değerlendirilmiştir ve yazarlara göre, gelişmekte olan bağışıklık sisteminin genel (gelişimsel) toksisite parametreleriyle en azından eşit derecede hassas veya daha hassas olduğu bulunmuştur (Hessel ve ark., 2015).

Gelişimsel nörotoksosite veya immünotoksosite çalışmaları için öneriler

KKDİK Yönetmeliği, şu ifadeyi belirtir: "*Kayıt ettiren, gelişimsel toksisite endişelerini açığa çıkarmak için 2A/2B kohortları (gelişimsel nörotoksosite) ve/veya kohort 3 (gelişimsel immünotoksosite) içeren Genişletilmiş Tek-nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması yerine diğer gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite çalışmalarını teklif edebilir.*"

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına dahil edilen gelişimsel nörotoksosite ve gelişimsel immünotoksosite için kohortlar, bu sonlanma noktaları hakkında bilgi sağlar.

Gelişimsel nörotoksosite ve gelişimsel immünotoksosite hakkındaki bilgiler, KKDİK Yönetmeliğinde standart bilgi gereklilikleri değildir, ancak Sütun 2'de belirtilen özel endişeler karşılandığında önerilmelidir. Bu yaklaşımın bir avantajı, üç ayrı çalışma (üreme sistemi toksisitesi çalışması, gelişimsel nörotoksosite ve gelişimsel immünotoksosite çalışması) ile karşılaştırıldığında daha az hayvana ihtiyaç duyulmasıdır.

Gelişimsel nörotoksosite ile ilgili diğer çalışmalar

Kayıt ettiren, gelişimsel nörotoksosite için belirli bir endişenin koşulları karşılanırsa, Kohort 2A ve 2B yerine ayrı bir gelişimsel nörotoksosite çalışması önerme seçeneğine sahiptir. Endişe, özellikle gelişimsel nörotoksosite ile ilgili olmalıdır. Gelişimsel nörotoksosite için çalışma tasarımı, B.53 (OECD Test Rehberi 426) protokolüne uygun olmalıdır. Seçenekler arasındaki seçimin, hangi yöntemin bilimsel endişeyi en az sayıda hayvanla ve araştırmalarla yeterince ele aldığına ilişkin bilimsel ve maddeye özgü hususlara dayanması gerekir. Bununla birlikte, test laboratuvarlarındaki pratik sınırlamalar da ayrı çalışmalar önermek için bir neden olabilir. Bu hususların bazı örnekleri aşağıda sunulmuştur.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına dahil edilen gelişimsel nörotoksosite kohortu, sosyal veya bilişsel işlev bozuklukları (örn. otizm, dikkat eksikliği hiperaktivite bozuklukları, öğrenmede ve/veya hafızada azalma) için herhangi bir sonlanma noktası içermez, bu nedenle, yetişkin hayvan çalışmalarından davranışsal bozukluk belirtileri varsa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında gelişimsel nörotoksosite kohortunun tasarımının ayarlanması gerekebilir. İsteğe bağlı olarak B.53 (OECD Test Rehberi 426) tercih edilen çalışma tasarımı olabilir.

Gelişimsel nörotoksosite söz konusu olduğunda, gelişimsel nörotoksosite çalışmasının (OECD 426) sonucunun, farklı maruz kalma senaryoları dikkate alınarak, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi çalışmasında gelişimsel nörotoksosite Kohort 2A ve 2B'nin sonucundan farklı olabileceği akılda tutulmalıdır. Örneğin, son yayınlar, yavrunun beyin gelişimi için annenin hamilelik sırasında sağlıklı bir bağışıklık sisteminin önemine işaret etmektedir (Smith ve ark., 2007); başka bir deyişle, kohort çalışmasındaki sinir sistemi gelişimi üzerindeki anneden gelen etki, daha uzun maruz kalma süresi nedeniyle OECD 426 çalışmasındakinden (6. gebelik gününden doğum sonrası 21. güne maruz kalma) daha büyük olabilir ve etkinin boyutu genellikle bilinmemektedir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması başlatılmazsa veya standart bilgi gerekliliği karşılanmazsa ancak nörotoksosite için tetikleyiciler varsa, KKDİK Ek 8, 8.6.1, KKDİK Ek 9, 8.6.2 veya KKDİK Ek 10, 8.6.4 uyarınca ayrı çalışmalar önerilmelidir.

Geleşimsel immünotoksosite ile ilgili diğer çalışmalar

Kayıt ettiren, gelişimsel immünotoksosite için belirli bir endişenin koşulları karşılanırsa, Kohort 3 yerine ayrı bir gelişimsel immünotoksosite çalışması önerme seçeneğine sahiptir. Endişe, özellikle gelişimsel immünotoksosite ile ilgili olmalıdır. Gelişimsel immünotoksosite için şu anda uluslararası olarak kabul edilmiş bir protokol bulunmamaktadır ve bu nedenle kayıt ettiren, uluslararası kabul görmüş yöntemler mevcut olana kadar test teklifine önerilen protokolü dahil etmelidir. Gelişimsel immünotoksositeye ilişkin çalışma tasarımlarına yönelik referanslar için, bu rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.7](#) incelenmelidir. Seçenekler arasındaki seçimin, hangi yöntemin bilimsel endişeyi en az sayıda hayvanla ve araştırmalarla yeterince ele aldığına ilişkin bilimsel ve maddeye özgü hususlara dayanması gerekir. Bu hususların bazı örnekleri aşağıda sunulmuştur.

Tetikleyicilerin doğası ve/veya ciddiyeti, ayrı bir çalışma veya bir kohort arasında seçim yapmak için rehberlik sağlayabilir. Dikkate alınacak diğer hususlar arasında istatistiksel güç ve dahil edilen araştırmalar olabilir. Grupların veya ayrı bir çalışmanın tanımlanan belirli endişeleri en iyi şekilde ele alıp almadığı dikkate alınmalıdır (ayrıca bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)).

Ayrı bir gelişimsel immünotoksosite çalışmasının sonucu, maruz kalma senaryoları ve kurulumları farklıysa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi çalışmasında gelişimsel immünotoksosite Kohort 3'ün sonucundan farklı olabilir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması başlatılmazsa veya standart bilgi gerekliliği karşılanmazsa ancak immünotoksosite için tetikleyiciler varsa, KKDİK Ek 8, 8.6.1, KKDİK Ek 9, 8.6.2 veya KKDİK Ek 10, 8.6.4 uyarınca ayrı çalışmalar önerilmelidir.

Geleşimsel nörotoksosite ve immünotoksosite çalışmalarında ortak noktalar

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında doz seviyelerine ve çiftleşme öncesi maruz kalma süresine karar vermek için çatışmalar ortaya çıkabilir. Doğurganlık üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi için çalışma tasarımının yeterliliği sağlanmalıdır. Bu nedenle, doz seviyesi seçimi, aynı doz seviyelerinde test edilen gelişimsel nörotoksosite/immünotoksosite ile birlikte doğurganlık sonlanma noktasına dayanmalıdır. Doğurganlık sonlanma noktası, *in vivo* verilerin tipik olarak genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için doz seviyelerinin seçilmesine karar vermek üzere mevcut olduğu tek sonlanma noktasıdır.

Gelişimsel nörotoksosite/immünotoksosite için tetikleyici/tetikleyiciler olsa bile, doz seviyesi ayarı, doğurganlık sonlanma noktasının uygun bir araştırmasını tehlikeye atmamalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi için doz seviyelerine ve uzunluğuna karar vermedeki zorluk, doğurganlığın azalmasında, örneğin, tüm doz seviyelerinde potansiyel gelişimsel nörotoksosite/immünotoksitenin değerlendirilmesi için en yüksek doz seviyesinde yeterli yavru üretilmeme riskinin olabilmesidir. Bununla birlikte, daha düşük doz seviyelerinden elde edilen sonuçlar yine de kullanılabilir. Diğer bir olasılık, ilave bir doz seviyesi eklemek veya gelişimsel nörotoksosite/immünotoksositeyi ayrı çalışma/çalışmalarda ele almaktır.

Geleşimsel nörotoksosite ve gelişimsel immünotoksosite kohortlarından elde edilen bulguların değerlendirilmesi

Halihazırda, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmalarına dahil edilen gelişimsel nörotoksosite (bkz. bu Rehberde [R.7.6.4.2.6](#) içerisindeki bazı hususlar) ve gelişimsel immünotoksosite kohortlarının sonuçlarının yorumlanması hakkında çok fazla deneyim yoktur. Daha fazla deneyim kazanıldıktan sonra rehberlik geliştirilecektir.

Bu kohortlarla ilgili daha fazla deneyim elde edilene kadar, gelişimsel nörotoksosite ve gelişimsel immünotoksosite ile ilgili mevcut protokollerden elde edilen deneyimler, hepsi henüz standartlaştırılmış ve uluslararası kabul edilebilir protokoller olmasalar da kullanılabilir. Aynı çalışmalardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için, bu Rehberde gelişimsel nörotoksosite için Bölüm [R.7.6.4.2.6](#) ve gelişimsel immünotoksosite için Bölüm [R.7.6.4.2.7](#) incelenmelidir.

Diğer yönler

OECD Rehberi 151, OECD seviyesinde (OECD 2013) kararlaştırılan genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının yürütülmesi için rehberlik sağlar, ancak örneğin Kohort 1B'nin uzatılması veya kohortların dahil edilmesi için çalışma tasarımı veya kriterlerini tanımlamaz. Bu nedenle, çalışma tasarımı KKDİK gerekliliklerini karşılayacak şekilde tanımlanmalıdır. OECD Rehberi 117, Kohort 1B'nin uzatılması için dahili tetikleyicileri içerir, ancak bu tetikleyiciler KKDİK Yönetmeliğinde bu şekilde kullanılmaz. Kayıt ettiren, ele alınması gereken bir endişeyi belirten yeni bilgilere dayanarak çalışmayı genişletebilir. Genişletmenin gerekçesi belgelenmelidir.

KKDİK amaçları için, çalışmanın odak noktası doğurganlık üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi olmalıdır ve bu nedenle, yukarıda açıklandığı gibi başlangıç noktası olarak toksisiteye dayalı on haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyesi ayarı gereklidir. Ek olarak, KKDİK Yönetmeliği için Kohort 1B'nin uzatılmasını ve Kohort 2A, 2B ve 3'ün dahil edilmesini belirten koşullar KKDİK Ek 9/10, 8.7.3 Sütun 2'de listelenmiştir. B.56 (OECD Test Rehberi 443) ve OECD Rehberi 151 yalnızca çalışma modüllerinin yürütülmesinde izlenmelidir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için aralık bulma çalışmasından (veya aralık bulma çalışmalarından) elde edilen sonuçların ana çalışma ile birlikte bildirilmesi önerilir. Bu, doz seviyesi seçimlerinin gerekçelerini, çiftleşme öncesi maruz kalma süresini ve çalışma sonuçlarının yorumlanmasını desteklemelidir.

Seçilen B.56 (OECD Test Rehberi 443) çalışma tasarımı her durumda yeterince gerekçelendirilmeli ve belgelenmelidir¹³⁹.

Genel olarak, üreme sistemi toksisitesine ilişkin tüm bulgular, eşzamanlı ebeveyn toksisitesi düzeyine bakılmaksızın, sınıflandırma amaçları için dikkate alınmalıdır, bu konuda [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) (Bölüm 3.7) incelenebilir.

90 günlük çalışmada araştırılan parametrelerin çoğu, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına da dahil edilmiştir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar birkaç nedenden ötürü eşdeğer olmayabilir ve 90 günlük bir çalışmanın bilgi gerekliliğini, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından elde edilen bilgilerle uyarlamak yeterli olmayabilir. Bunun nedeni, 90 günlük çalışmanın ve genişletilmiş tek nesil çalışmanın farklı amaçlara sahip olmasıdır. 90 günlük çalışma, subkronik maruz kalmadan sonra sistemik ve organa özgü toksisite hakkında ilgili bilgileri sağlamayı amaçlamaktadır ve özellikle maruz kalma koşulları ve gebe olmayan hayvanlar dikkate alınarak ilgili yol kullanılacaktır. Genellikle 90 günlük bir çalışma için doz seviyesi seçimi, toksisiteye dayalı olduğunda, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında kullanılabilen doz seviyelerinden daha yüksektir. Bunun nedeni, maruz kalmanın daha uzun olması ve gebe hayvanların (ve yavruların) gebe olmayan hayvanlardan daha hassas olabilmesidir. İlave olarak, hematolojik, klinik kimya, üriner ve histolojik numuneler, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında (8-10 hafta), 90 günlük bir çalışmaya (13 hafta) göre daha kısa bir maruz kalma süresinden sonra toplanabilir ve F1 hayvanlarında yürütülürse, maruz kalma geçmişi ve hayvanların gelişim aşamaları, ayrı bir 90 günlük çalışmadakinden farklıdır. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından elde edilen bilgilerin 90 günlük bir çalışmanın bilgi gerekliliğini uyarlamak için kullanılıp kullanılmayacağı değerlendirilirken çok dikkatli bir değerlendirme gereklidir. Yeterli maruz kalma seviyeleri ve süreleri olan bazı durumlarda, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının sonuçları, örneğin daha eski ancak biraz sınırlı sonuçları olan 90 günlük bir çalışmayı destekleyebilir.

¹³⁹ KKDİK Madde 4 (1) t) şu ifadeyi belirtir: "kapsamlı çalışma özeti: çalışmanın bağımsız değerlendirmesini yapmak için yeterli bilgi içeren ve tam çalışma raporuna bakma gereğini en alt düzeye indiren tam çalışma raporunun amaçlarının, yöntemlerinin, sonuçlarının ve kararlarının detaylı özetlenmesine gelir;"

90 günlük bir çalışmadan elde edilen bilgiler, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doz seviyelerine karar vermede değerli olabilir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, doğum sırası ve sonrası gelişim hakkında bilgi sağlar ancak doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasındakilerle aynı parametreleri ele almaz ve bu nedenle eşdeğer bilgi sağlamaz.

R.7.6.4.2.4 İki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışması

İki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmaları KKDİK Yönetmeliği standart bilgi gereklilikleri değildir (AB B.35, OECD Test Rehberi 416) ancak 13 Mart 2015 öncesinde başlatılan çalışmalar, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3. için standart bilgi gerekliliğini ele almak üzere uygun kabul edilmektedir. Yukarıda belirtilen tarihten önce başlatılan iki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmaları, standart bilgi gerekliliğini karşılamak için uygun kabul edilir ve bu nedenle Sütun 1 gerekliliklerini karşılar, ancak Sütun 2'de açıklanan uyarılama kriterlerini otomatik olarak karşılamazlar. Mevcut bilgiler, Sütun 2'ye göre gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite için tetikleyiciler gösteriyorsa, bu özel endişeler, sırasıyla ayrı bir gelişimsel nörotoksosite ve/veya ayrı bir gelişimsel immünotoksosite çalışması önerilerek ele alınmalıdır (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#), "Gelişimsel nörotoksosite veya immünotoksosite çalışmaları için öneriler" ve [R.7.6.4.2.6](#) ve [R.7.6.4.2.7](#)).

İki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmasında, B.56'nın (OECD Test Rehberi 443) bir parçası olan bazı parametreler hakkındaki bilgiler bulunmasa da, iki nesilde doğurganlık sonlanma noktasını ele alır ve B.35'e (OECD Test Rehberi 416) göre yürütüldüğünde kategorizasyon dahil olmak üzere risk değerlendirmesi, sınıflandırma ve etiketleme için yeterlidir.

Düzenleyici metinden, mevzuatta belirtilen tarihten sonra başlatılan iki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının, Sütun 2 içerisinde tanımlanan çalışma tasarımı dahil olmak üzere KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'teki standart bilgi gerekliliğini ele almak için uygun olmadığı açıktır. Bu, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'teki (standart) bilgi gerekliliğini yerine getirmek amacıyla iki nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmaları için test önerilerinin kabul edilemeyeceği anlamına gelir. Çalışma halihazırda mevcutsa ve 13 Mart 2015'ten sonra başlatılmışsa, kayıt ettiren KKDİK Ek 11 uyarılama kurallarına göre maddeye özgü gerekçelerle bilgi gerekliliğini uyarılama olasılıklarını araştırabilir.

Doğurganlık sonlanma noktasını (KKDİK Ek 9/10, 8.7.3) ele almak için eski, rehber dışı uyumlu iki (çok) nesilli üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının uygunluğu dikkate alındığında, bu çalışmalar KKDİK Ek 11, 1.1.2 mevcut bilgiler için uyarılama kuralları doğrultusunda değerlendirilecektir. Bu nedenle, eski mevcut rehber dışı çalışmalar, Sütun 1 standart bilgi gerekliliğini karşılayabilir veya zararlı özellikleri tanımlamak veya bir kategori yaklaşımını desteklemek üzere KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre bir kanıt ağırlığı uyarılmasının unsurları olarak hizmet edebilir.

R.7.6.4.2.5 Tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması

Tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.34, OECD Test Rehberi 415), sınırlı doğum sonrası maruz kalma süresi ve temel hususların/parametrelerin yetersiz kapsamı nedeniyle genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için bilgi gerekliliğini yerine getirmek üzere uygun bir çalışma değildir (KKDİK Ek 11, 1.1.2).

Bu çalışma, herhangi bir KKDİK standart bilgi gerekliliğine karşılık gelmez, ancak tarama çalışmasının bilgi gerekliliğini yerine getirmek için belirli parametrelerle potansiyel olarak geliştirilebilir. Tarama çalışmasına göre daha yüksek istatistiksel güce sahiptir, çiftleşme öncesi spermatogenez ve folikülogenezi ve süttten kesilinceye kadar üreme performansını kapsayarak fonksiyonel doğurganlığı ele alır. Bununla birlikte, test yöntemi, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına kıyasla çeşitli önemli parametrelerden yoksundur. Mevcut çalışmalar, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'ün standart bilgi gerekliliğini diğer bilgilerle birlikte uyarlamak veya bir kategori yaklaşımını desteklemek için KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre kanıt ağırlığı yaklaşımında bir unsur olarak kullanılabilir.

Değiştirilmiş tek nesil çalışma protokolüne göre mevcut çalışmalar da uyarlama olanakları sağlayabilir. Değiştirilmiş tek nesil çalışma, ilgili OECD Test rehberi veya AB Test yöntemi bulunmayan NTP (Ulusal Toksikoloji Programı, ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bakanlığı) tarafından geliştirilen esnek bir çalışma tasarımıdır. Bu çalışma tasarımı, ebeveyn hayvanların 6. gebelik gününden F1 neslinin gebelik ortasına kadar maruz kalma sonrası üreme sistemi toksisitesi hakkında bilgi sağlar.

R.7.6.4.2.6 Gelişimsel nörotoksisite çalışmaları

Gelişimsel nörotoksisite çalışmaları standart bilgi gereklilikleri değildir, ancak Sütun 2 adaptasyon kurallarına dayalı olarak KKDİK Ek 8 madde 8.6.1 veya KKDİK Ek 11 madde 8.6.2 veya KKDİK Ek 10 girdi 8.6.4 tarafından tetiklenebilir¹⁴⁰. Burada, Sütun 2 uyarlaması, mevcut kanıtın toksikolojik değerlendirme ve / veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu bir etkinin göstergeleri varsa, kayıt ettirenin daha fazla çalışma önermesini gerektirir. Aynı bir gelişimsel nörotoksisite çalışması, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında, bu kohortlar tetiklenirse, gelişimsel nörotoksisite kohortları (Kohort 2A ve 2B) yerine kayıt ettiren tarafından önerilebilir.

Gelişimsel nörotoksisite çalışmaları (örn. B.53, OECD Test Rehberi 426), annenin gebelik ve emzirme sırasında maruz kalmasından doğan yavrularda sinir sisteminin potansiyel fonksiyonel ve morfolojik zararlılıkları hakkında bilgi sağlamak için tasarlanmıştır. Bu çalışmalar, kapsamlı nöropatoloji (yapı) ve davranışsal (fonksiyon) anketleri kullanarak merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) yapı ve işlevindeki değişiklikleri araştırır. İleri nöropatoloji, örneğin nitel olmaktan çok nicel nitelikte olabilen gecikmiş gelişimle ilgili hücre yapılarındaki değişiklikler olarak nicel yapısal önlemler dahil olmak üzere değerlendirilebilir. Bu tür nicel değişiklikler önemli olabilir, ancak yine de nicelik belirlenmeden tanımlanmayabilir (De Groot ve ark., 2005). Davranışı araştırmak için, sinir sisteminin farklı işlevlerini (alanları) ele alan davranışsal bir test dizisi, motor aktivite ve bilişsel davranışı ele alan daha gelişmiş testler gibi bir dizi parametre gerçekleştirilir. Davranış, karaciğer, böbrekler ve endokrin sistem gibi diğer organların işlevinden de etkilenebileceğinden, yavruda bu organlar üzerindeki toksik etkiler, aynı zamanda genel davranış değişikliklerine de yansiyabilir. Tek bir davranış, davranışın tüm karmaşık ve anlaşılması güç işlevini yansıtamaz ve bu nedenle, farklı testlerin bulgularının birleştirilmesi sonuçların maddeye maruz kalma ile ilgisini değerlendirmek için ilgili kabul edilir.

¹⁴⁰ Ek 8, 8.6.1, Ek 9, 8.6.2 ve Ek 10, 8.6.4 Sütun 2 aşağıdaki ifadeyi belirtmektedir: "Aşağıdaki durumlarda, kayıt ettiren tarafından daha fazla çalışma yapılması teklif edilebilir veya Bakanlık tarafından Madde 36 veya 37'e göre talep edilebilir:... - mevcut bulguların toksikolojik ve/veya risk özellikleri belirlemek için yetersiz olduğu etkinin belirtilerinin görülmesi. Bu gibi durumlarda ayrıca bu tür etkilerin araştırılması için tasarlanmış özel toksikolojik çalışmaların gerçekleştirilmesi de uygun olabilir (örneğin immünotoksisite, nörotoksisite), ... "

Benzer şekilde, nöropatoloji (yapısal) bulguları ışığında davranışsal (fonksiyonel) değişiklikleri gözden geçirmek yorum için faydalı olabilir.

Etkinin şiddeti ve doğası dikkate alınmalıdır. Genel olarak bir etki modeli (örneğin, birbirini takip eden birkaç araştırma sırasında öğrenme bozukluğu), gelişimsel nörotoksitenin bir veya birkaç ilgisiz değişiklikten daha ikna edici bir kanıtıdır. Etkilerin tersinirliği de dikkate alınmalıdır. Bu bağlamda belirtilmesi gereken önemli bir nokta, bir organizmanın "gelişiminin" *a priori* "normal" yapısal ve işlevsel değişikliklerle sürmesidir. Toksik veya patolojik koşullar altında bir madde veya hastalık "normal" gelişimi bozabilir ve "normal" gelişimsel değişikliklerin üzerine "toksik" değişiklikler yapılır. Sinir ve bağışıklık sistemleri doğumdan sonrasına kadar hala gelişme aşamasındadır. Ayrıca, gelişimsel büyüme hızı için farklı zaman aralıkları kabul edilmiştir ve bu da, gelişmekte olan sinir ve bağışıklık sistemlerinin farklı bölümleri ve yapıları için farklılık gösterebilir. Sonuç olarak, bu organ sistemlerinin savunmasızlığı, maruz kalmanın farklı zaman aralıklarında farklılık gösterir. Sinir sistemi, onarım için yedek kapasiteye sahiptir. Örneğin, yetişkin sinir sistemi sağlam görünürken, ergenlik döneminde sinir sisteminin bozulduğunu görebiliriz. Bununla birlikte, böyle bir durumda, kontrol ve maddeye maruz kalan bireyler arasında yalnızca doğumdan ergenliğe kadar olan gidişatın değil, aynı zamanda ergenlikten yetişkinliğe kadar olan gidişatın da farklı olduğunun farkına varılmalıdır. Dolayısıyla, gelişimsel bir nörotoksik madde, yetişkinde olumsuz etkiler göstermese bile, yetişkinliğe doğru gidişat etkilenmiştir ve bunun sonuçları şimdiye kadar bilinmemektedir. Sinir sistemi hasarı telafi edebilir, ancak yedek kapasitesindeki sonuçta ortaya çıkan azalma endişe vericidir ve gelişim sırasında ortaya çıkan nörotoksitenin bir olumsuz etki olarak kabul edilmelidir. Gelişimsel nörotoksitenin yalnızca yaşam süresinin bir kısmında görülürse, telafiden şüphelenilmelidir. Ayrıca, örneğin bir öğrenme görevinin başlangıcında gözlenen ancak sonunda gözlenmeyen etkiler, tersinir etkiler olarak yorumlanmamalıdır; bunun yerine sonuçlar öğrenme hızının azaldığını gösterebilir.

Yavruların özellikle bebeklik dönemindeki deneyimi, sonraki davranışlarını etkileyebilir. Örneğin, bebeklik döneminde sıçanlara sık sık müdahale edilmesi, strese verilen fizyolojik tepkiyi ve duygusallık ve öğrenme testlerindeki davranışı değiştirebilir. Çevresel deneyimleri kontrol etmek için, yavruların yetiştirildiği koşullar, gürültü seviyesi, muamele ve kafes temizliği gibi değişkenlere göre deneylerde standartlaştırılmalıdır. Davranış testi sırasında hayvanların performansı, örneğin günün saatinden ve hayvanların stres seviyesinden etkilenebilir. Bu nedenle, en güvenilir veriler, kontrol ve uygulama hayvanlarının alternatif olarak test edildiği ve çevresel koşulların standartlaştırıldığı çalışmalarda elde edilmektedir.

Sonuçları yorumlarken, yavruların gelişimi anneden gelen toksisiteden etkilenebileceği için anneden gelen toksisite dikkate alınmalıdır. Erken doğum sonrası dönemde, yavrular anne bakımına bağımlıdır ve örneğin MSS baskılanması gibi anneden gelen toksisite yavruların hayatta kalmasını ve gelişimini tehlikeye atabilir. Buna ek olarak, anneler ve yavrular, doğum sonrası ilk beş gün boyunca çok kısa süreler dışında ayrılmamalı (örn. doz uygulaması için) ve ayrıca sonrasında anneler kafeslerden gereğinden fazla hareket ettirilmemelidir (örn. soluma yoluyla maruz kalma için). Uygulamada, bu, soluma yoluyla maruz kalma için sadece burunla maruz kalma yerine tüm vücudun maruz bırakılmasını düşündürebilir.

Gelişimsel nörotoksitenin çalışmasında gözlenen olumsuz etkiler, bu çalışmalarda görülen etkilerin insanlarda meydana gelebileceğini gösteren bilgi olmadığı sürece, N(L)OAEL sağlayarak zararlılık sınıflandırması ve insan sağlığı risk değerlendirmesi ile ilgili olacaktır. Sonlanma noktasının karmaşıklığından dolayı, olumsuzluk tercihen benzer parametrelerin gruplandırılmasıyla verilerin bütüncül bir analizine dayanmalıdır.

Gelişimsel nörotoksitenin sonuçlarının nasıl yorumlanacağına dair daha ayrıntılı incelemeler için OECD Test Rehberi 426, OECD Rehberi 43 ve Tyl ve ark. (2008) çalışması incelenmelidir.

R.7.6.4.2.7 Gelişimsel immünotoksisite çalışmaları

Gelişimsel immünotoksisite çalışmaları standart bilgi gereklilikleri değildir ancak KKDİK Ek 8 girdi 8.6.1 veya KKDİK Ek 9 girdi 8.6.2 veya KKDİK Ek 10, girdi 8.6.4, Sütun 2 uyarlama kurallarına göre başlatılabilir¹⁴¹. Burada, Sütun 2 uyarlaması, mevcut kanıtın toksikolojik değerlendirme ve / veya risk karakterizasyonu için yetersiz olduğu bir etkinin göstergeleri varsa, kayıt ettirenin daha fazla çalışma önermesini gerektirir. Aynı bir gelişimsel immünotoksisite çalışması, bu kohortlar tetiklenirse, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında gelişimsel immünotoksisite kohortu (Kohort 3) yerine kayıt ettiren tarafından önerilebilir.

Gelişimsel immünotoksisite çalışmaları annenin gebelik ve emzirme sırasında maruz kalmasından doğan yavrularda bağışıklık sisteminin potansiyel fonksiyonel ve morfolojik zararlılıkları hakkında bilgi sağlamak için tasarlanmıştır. Şu anda, gelişimsel immünotoksisite testi için OECD test rehberi bulunmamaktadır. Son incelemeler mevcut yaklaşımlar ve düşünceler hakkında bilgi sağlar (Gupta (2011), sayfa 219-225; DSÖ, 2012; De Jong ve Van Loveren 2007; DeWitt *ve ark.*, 2012a ve 2012b; Dietert ve DeWitt, 2010; Dietert ve Holsapple, 2007; Holsapple *ve ark.*, 2005; Rooney *ve ark.*, 2009; Boverhof *ve ark.*, 2014).

Bu çalışmalar, doğuştan gelen veya edinilmiş bağışıklık sistemi üzerindeki etkiler nedeniyle bağışıklık tepkisindeki değişiklikleri araştırır. Bağışıklık cevabı, karaciğer, böbrekler ve endokrin sistem gibi diğer organların işlevinden de etkilenebileceğinden, yavruda bu organlar üzerindeki toksik etkiler, aynı zamanda bağışıklık cevabındaki değişikliklerle de yansiyabilir. Tek bir bağışıklık parametresi, bağışıklık sisteminin tüm karmaşık ve anlaşılması güç işlevini yansıtamaz ve bu nedenle, farklı testlerin bulgularının birleştirilmesi, sonuçların maddeye maruz kalma ile ilişkisini değerlendirmek için önemlidir.

Olumsuz olarak değerlendirilen etkiler, bu çalışmalarda görülen etkilerin insanlarda meydana gelebileceğini gösteren bilgi olmadığı sürece, N(L)OAEI sağlayarak zararlılık sınıflandırması ve insan sağlığı risk değerlendirmesi ile ilgili olacaktır. Sonlanma noktasının karmaşıklığından dolayı, olumsuzluk tercihen benzer parametrelerin gruplandırılmasıyla verilerin bütüncül bir analizine dayanmalıdır.

R.7.6.4.2.8 Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları

Doğrudan üreme sistemi toksisitesini araştırmayı amaçlamasa da, tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları standart bilgi gereklilikleridir (örn. 28 günlük çalışma B.7, OECD Test Rehberi 407 veya 90 günlük çalışma B.26, OECD Test Rehberi 408) ve yetişkin hayvanlarda üreme organları üzerinde net etkiler ortaya çıkarabilir. Üreme organlarının histopatolojisine ve organ ağırlıklarındaki değişikliklere ek olarak, sperm analizi ve östrus döngüsü ölçümleri gibi değerlendirilen parametreler üreme toksisitesi için ilgili bilgiler sağlayabilir veya bir endişeyi (tetikleyiciler) gösterebilir.

Bununla birlikte, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında doğurganlığı öngören ölçülen parametrelerde gözlemlenen etki olmaması, maddenin doğurganlığı etkileme kapasitesine sahip olma olasılığını ortadan kaldırmaz. KKDİK Ek 9 seviyesinde, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından üreme sistemi toksisitesi için tetikleyiciler, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasını tetikler (B.56, OECD Test Rehberi 443). KKDİK Ek 8 seviyesinde, kayıt ettiren, 28 günlük bir çalışmadan gelen tetikleyicilere dayalı olarak bir tarama çalışması yerine genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması önermeyi düşünebilir.

¹⁴¹ Ek 8, 8.6.1, Ek 9, 8.6.2 ve Ek 10, 8.6.4 Sütun 2 aşağıdaki ifadeyi belirtmektedir: "Aşağıdaki durumlarda, kayıt ettiren tarafından daha fazla çalışma yapılması teklif edilebilir veya Bakanlık tarafından Madde 36 veya 37'e göre talep edilebilir:... - mevcut bulguların toksikolojik ve/veya risk özellikleri belirlemek için yetersiz olduğu etkinin belirtilerinin görülmesi. Bu gibi durumlarda ayrıca bu tür etkilerin araştırılması için tasarlanmış özel toksikolojik çalışmaların gerçekleştirilmesi de uygun olabilir (örneğin immünotoksisite, nörotoksisite), ...".

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında üreme organları üzerindeki etkilerin gözlemlenmesi, sınıflandırma ve etiketleme için ve risk değerlendirmesinde kullanılmak üzere N(L)OAL tanımlamak için de yeterli olabilir. Bununla birlikte, üreme organları üzerindeki etkilerin saptanması için tekrarlı doz toksisite çalışmalarının hassasiyetinin, grup başına daha düşük hayvan sayısı (daha düşük istatistiksel güç) olması nedeniyle üreme sistemi toksisitesi çalışmalarından daha az olabileceği belirtilmelidir. İlave olarak, birkaç vaka, üreme sistemi üzerindeki etkilerin, hayvanlar gelişim sırasında veya yetişkinler yerine genç hayvanlar olarak maruz kaldıklarında daha düşük dozlarda ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının yokluğunda yetişkin hayvanlarda üreme organları üzerinde olumsuz etkiler varsa, KKDİK Ek 7-8 seviyelerinde risk değerlendirme sürecinde değerlendirme faktörü artırılması düşünülebilir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443), daha düşük tonajlı KKDİK Eklerinde tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından elde edilen bulgulara dayalı olarak tetiklenebilir ve KKDİK Ek 9 içerisinde önerilmelidir.

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında görülen bazı etkilerin olumsuzluklarını yorumlamak zor olabilir (örneğin cinsiyet hormonu seviyelerindeki değişiklikler) ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının hemen yürütülmesi için bir tetikleyici olarak görev almak yerine standart KKDİK bilgi gerekliliklerini karşılamak için gerekli olabilecek çalışmaların bir parçası olarak daha fazla araştırılması gerekebilir (örn. B.26 (OECD Test Rehberi 408) veya diğer tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları). Bir bulgunun tetikleyici olarak işe yarayıp yaramayacağı, bulgunun güvenilirliğine ve olumsuz olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğine bağlıdır (bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) içerisindeki tartışmalar). İlgili çalışmalardan istatistiksel olarak anlamlı değişikliklerin tetikleyici olarak kabul edilebileceği düşünülebilir; ancak bazen istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir değişiklik, diğer mevcut bilgilerle çelişmiyorsa, biyolojik olarak da ilgili olarak kabul edilebilir.

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, gelişimsel nörotoksosite veya gelişimsel immünotoksosite sonlanma noktalarının araştırılması ihtiyacını değerlendirmek için belirli bir endişenin göstergelerini de sağlayabilir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında veya ayrı çalışmalarda bu kohortlar için potansiyel tetikleyiciler, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması bağlamında açıklanmıştır (Bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#)).

R.7.6.4.2.9 Endokrin bozukluğu etki şekli için *in vivo* analizler

Endokrin sistem, üreme döngüsünün tüm yönlerinin kontrolünde kritik bir role sahiptir ve bu nedenle endokrin bozukluğu, üreme toksisitesi için potansiyel bir mekanizmadır. Uterotrofik analiz (B.54, OECD Test Rehberi 440) ve Herschberger analizi (B.55, OECD Test Rehberi 441) gibi yalnızca endokrin bozucu etki gücünün tanımlanmasına odaklanan *in vivo* testlerin hiçbirisi standart KKDİK bilgi gerekliliklerine karşılık gelmez. Bu çalışmalar, olgunlaşmamış veya yumurtalıkları alınmış/kısırlaştırılmış hayvanların dozlanmasını ve östrojen/androjene bağımlı dokuların (örn. rahim veya prostat) tartılmasını içerir. Yöntemler, (anti)östrojenik veya (anti)androjenik etki şekillerini tanımlamak için kullanılabilir ve sonuçlar, belirli durumlarda daha ileri çalışmalar için tetikleyici görevi görebilir. Bu hayvan modelleri, hormonal etki şeklini tespit etme konusunda hassastır. Bununla birlikte, sadece sağlam hayvanlarda yapılan araştırmalar, etki şeklinin manipüle edilmemiş koşullarda ilgili olup olmadığını kanıtlar. Endokrin bozucu kimyasallar için tarama testleri ve testlerin kapsamlı bir koleksiyonu OECD Rehberi 150 içerisinde sunulmuştur ve "*Endokrin Bozucu Kimyasalların Taranması ve Test Edilmesi için OECD Kavramsal Çerçevesi*" kapsamında yer almaktadır.

İyi yürütülmüş bir doz-cevap çalışmasında uterotrofik analizdeki bir sonucun etki göstermemesi, test maddesinin *in vivo* koşullarda bir östrojen reseptörü (ER)-ligandı olmadığını gösterir. Aynı şekilde, Herschberger analizinde hiçbir etki göstermeyen bir sonuç, test maddesinin bu *in vivo* koşullarda androjen reseptörü (AR)-ligandı veya 5-alfa redüktaz inhibitörü olmadığını gösterir. Bununla birlikte, bu analizlerde etkiye neden olmayan bir test maddesi, yine de endokrin bozucu özelliklere ve diğer mekanizmaların aracılık ettiği üreme sistemi toksisitesi potansiyeline sahip olabilir. Uterotrofik ve Herschberger analizleri, yalnızca olgunlaşmamış (sağlam) hayvanlar kullanılıyorsa, bu endokrin bozucu etki şekilleri için NOEL/LOEL değerleri sağlamak üzere kullanılabilir. Sonuçlar ayrıca diğer çalışmalardan elde edilen bulguları destekleyebilir veya daha ileri çalışmalar ve incelemeler için tetikleyici olarak görev alabilir.

Deney hayvanlarında yapılan bir dizi deney, bir maddenin steroid üretimi ve pubertal analizler üzerinde etki kapasitesi hakkında bilgi sağlayabilir ve sağlam erkeklerde analiz, maddenin *in vivo* endokrin bozucu potansiyeli hakkında bilgi sağlayabilir (OECD Test Rehberi 150) . Bu analizlere dahil edilen çeşitli sonlanma noktaları üzerindeki etkiler, olumsuz olarak ve/veya insanlar için ilgili bir mekanizma üzerindeki bir etkiyi temsil ettiğine dair değerlendirilebilir ve daha ileri çalışmalar ve incelemeler için tetikleyici görevi görür.

Özetle, sağlam hayvanlardaki bu *in vivo* testler üreme üzerindeki olumsuz etkiler için tahmin edici olarak kabul edilebilirken, risk değerlendirmesi ile sınıflandırma ve etiketleme için üreme sistemi toksisitesi hakkında yeterli bilgi sağlamaz. 28 günlük tekrarlı doz oral toksisite çalışması (B.7, OECD Test Rehberi 407), (anti)östrojenik, (anti)androjenik ve (anti)tiroid mekanizmalar yoluyla etki gösteren maddeleri tanımlamayı amaçlayan parametreleri içerecek şekilde güncellenmiştir (2008). Doğrulama çalışmaları, gelişmiş tasarımın, gonadlar ve tiroid üzerindeki endokrin etki şekilleri yoluyla etki gösterme potansiyeli güçlü maddeleri güvenilir bir şekilde tanımlayabildiğini göstermektedir. Test edilen en yüksek doza kadar böyle bir çalışmada hiçbir etki olmadığını gösteren bir sonuç, güçlü endokrin aktivitesinin olmadığına dair bazı kanıtlar sağlar. Bununla birlikte, daha düşük bir endokrin bozucu etkinin neden olduğu etkiler göz ardı edilemez ve bu nedenle hiçbir etki göstermeyen bir sonuç, endokrin bozulma mekanizması yoluyla üreme sistemi toksisitesine neden olma kapasitesinin olmadığına ilişkin güvence sağlamaz. Özellikle, bu bağlamda, maruz kalmanın 28 günden 90 güne kadar uzatılmasının, endokrin etkilerinin saptanabilirliğini iyileştirmesi olası değildir (Gelbke ve ark., 2006). Tekrarlı doz toksisitesi çalışmasında görülen, potansiyel olarak endokrin bozucu etki şekli yoluyla gerçekleşen üreme organları üzerindeki etkilerin kanıtı, daha kapsamlı bir çalışmanın, yani genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının (B.56, OECD Test Rehberi 443) yürütülmesi için KKDİK Ek 9 içerisinde bir tetikleyici sağlar.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımını tanımlamak için kullanılacak endokrin bozucu etki şekilleri ile ilgili potansiyel tetikleyiciler, bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) içerisinde diğer tetikleyicilerle birlikte sunulmuştur.

Tarama çalışmaları (OECD Test Rehberi 421 veya 422), anogenital mesafe ölçümleri, meme başı/areola tutulumu ve tiroid hormonu) seviyeleri dahil olmak üzere endokrin bozucu etki şekilleri için ek parametrelerle birlikte benimsenebilir ¹⁴². Bu parametreler, endokrin bozucu etki şeklini gösterir ve üreme üzerindeki olumsuz etkiler için tahmin edici olabilir. Hayvanın vücut ağırlığı/boyutu ile açıklanamayan, anogenital mesafede istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik, antiandrojenik bir etki şeklini gösterir ve NOAEL değerini ayarlamak için kullanılmalıdır. Bu parametrenin olumsuzluğunu desteklemek için, insan üremesinde azalmayla bir ilişki rapor edilmiştir (Jain ve Singal, 2013; Eisenberg ve ark., 2011 ve 2012; Mendiola ve ark., 2011). Meme başı/areola tutulumunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik de, muhtemelen anogenital mesafeden farklı bir mekanizma spektrumu yoluyla olmak üzere antiandrojenik etki şeklini gösterir. Erkek sıçanlar ve insanlar arasındaki son meme başı sayısını kontrol etmedeki biyolojideki farklılık nedeniyle, sıçanlarda meme başı/areola tutulumu bulguları ile insanlarda anogenital mesafe için olumsuzluk arasındaki ilişkiyi incelemek mümkün değildir.

Bununla birlikte, farelerde meme başı/areola tutulumunu etkileyen varsayılan etki şekli (antiandrojenite) ve potansiyel altta yatan mekanizmalar da benzer etkilere neden olmasa da insanlar için de geçerli olduğundan, bu bulgunun olumsuz bir etkiyi öngördüğü düşünülebilir ve NOAEL belirlemek için kullanılabilir. Meme başı/areola tutulumu anogenital mesafe ile aynı etki şeklini (antiandrojenite) ölçer, ancak dokuya özgü farklı temel mekanizmalar ve muhtemel toksikokinetik farklılıklar nedeniyle meme başı/meme başı çevresi tutulumu, anogenital mesafeden daha fazla veya daha az hassas olabilir. Bu sonlanma noktalarının birlikte değerlendirilmesi tavsiye edilir.

¹⁴² OECD Test Rehberi 421 ve 422 revize edilme sürecindedir: 2015 sonunda kabul edilmesi ve yayınlanması beklenmektedir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, endokrin bozucu etki şekillerini tespit etmek için belirli parametreleri içeren daha kapsamlı bir üreme sistemi toksisitesi çalışması olduğundan, a) endokrin bozucu bir etki şeklini belirlemek, b) üreme sistemi üzerindeki bir olumsuz etkiyi tanımlamak mümkün olabilir ve c) hem (a) hem de (b) için nedensel bir ilişkinin gösterilmesi gerekmez. Üreme üzerinde olumsuz bir etki olmaksızın endokrin bozucu bir etki şekli belirlenirse (örn. yavrularda azalmış tiroid hormonu seviyesi), daha fazla çalışma veya eylem düşünülebilir. Üreme ile ilgili bulgular Kategori 1B üreme sistemine toksik madde sınıflandırma kriterlerini karşılıyorsa, endokrin bozucu etki şekline bakılmaksızın, madde buna göre sınıflandırılmalıdır.

R.7.6.4.3 Üreme sistemi toksisitesi üzerine insan verileri

Epidemiyolojik veriler, kontrollerin yeterliliğinin, sağlık etkilerinin ve maruz kalma değerlendirmelerinin kalitesinin ve yanlılık ve karıştırıcı faktörlerin etkisinin değerlendirilmesini içeren ayrıntılı bir eleştirel değerlendirme gerektirir. Epidemiyolojik araştırmalar genellikle nedensellik değil, yalnızca ilişkilendirme sağlayabilir çünkü bağlantıyı göstermek ve nedensellik olasılığını tahmin etmek mümkün olsa da, nihai bir kanıt veremez.

Epidemiyolojik çalışmalar, vaka raporları ve klinik veriler, kimyasalların Kategori 1A'da üreme sistemine toksik maddeler olarak sınıflandırılması ve NAEL veya LAEL tanımlanması dahil olmak üzere risk değerlendirmesi için yeterli zararlılık ve doz-cevap kanıtı sağlayabilir. Bu gibi durumlarda, normalde maddenin test edilmesine gerek olmayacaktır. Bununla birlikte, belirli bir madde için üreme sistemi toksisitesine dair inandırıcı insan kanıtı nadiren elde edilebilir, çünkü yalnızca ilgili maddeye maruz kalan/maruz kalmış olan, çalışmaya uygun bir popülasyonu belirlemek genellikle imkansızdır.

İnsan verileri, madde üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiğini gösteren sınırlı üreme sistemi toksisitesi kanıtı sağlayabilir; seçilen test yöntemi şüphelenilen potansiyel etkiye dayanmalıdır.

Hayvan çalışmalarından üreme sistemine zararlılığa ilişkin kanıt elde edildiğinde, maruz kalan insan popülasyonunda bu zararlılığa dair kanıt bulunmamasının hayvan modelinin ortaya koyduğu endişeleri ortadan kaldırması olası değildir. Bunun nedeni, genellikle insan verilerine yönelik metodolojik ve istatistiksel sınırlamalar olacak olmasıdır. Örneğin, istatistiksel güç hesaplamaları, 300 gebeliğin ilk trimesterinde iyi tanımlanmış maruz kalma ile ileriye dönük bir çalışmanın, yalnızca genel malformasyon sıklığında en az 10 kat artışa neden olan gelişimsel toksinleri belirleyebileceğini göstermektedir; yaklaşık 1000 gebelik içeren bir çalışma ise, yalnızca en az 2 kat artışa neden olan gelişimsel toksinleri belirleme gücüne sahip olacaktır (EMA/CHMP Rehberi, 2006). Kimyasala maruz kalma riskinin olmadığı sonucunu desteklemek için kapsamlı, yüksek kaliteli ve tercih edilir ileriye dönük veriler gereklidir.

Bu nedenle, hayvanlarda üreme sistemi toksisitesini tetikleyen doz seviyelerinin altındaki bir doz seviyesinde insanlarda etkilerin olmaması, hayvan modelinin ortaya koyduğu endişeleri ortadan kaldırmayacaktır.

R.7.6.4.4 DNEL ve DMEL değerlerinin türetilmesi

DNEL değerlerinin tanımlanması KKDİK Ek 1, 1.4 içerisinde belirtilmektedir. Mevcut bilgilere ve maruz kalma senaryosuna/senaryolarına bağlı olarak, her bir ilgili insan popülasyonu için (tüketiciler, profesyoneller, çalışanlar, çevre yoluyla dolaylı olarak maruz kalan insanlar ve belirli hassas alt popülasyonlar (çocuklar, hamile kadınlar) ve farklı maruz kalma yolları için ve tüm yollar bir arada olan durumlar için farklı DNEL değerlerinin belirlenmesi gerekli olabilir. Bazı durumlarda, çeşitli kaynaklardan maruz kalmanın dikkate alınması gerekebilir. Üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktaları için, hassas alt popülasyonlara ilişkin farklı DNEL değerlerinin türetmenin düşünülmesi özellikle önemlidir.

Genel olarak, üreme sistemi üzerindeki etkiler, bir eşiğe sahip olan ve dolayısıyla bir DNEL türetilmesine izin veren etkiler olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, eşik olmayan bir etki şekli olasılığının dikkate alınması gerekebilir (örneğin, bir madde, birincil biyolojik kontrol rolüne sahip bir hormona benzer şekilde (anti)hormonal aktiviteye sahipse ve vücudun düzenleyici kapasitesinde eksiklik endişesi varsa). Bu durumlar için DMEL türetilmesinin dikkate alınması gerekebilir.

KGD için uygun olması amacıyla, her bir maruz kalma senaryosu ve maruz kalan her popülasyon için uygun DNEL değerleri (doğurganlık için bir DNEL ve gelişim için bir DNEL) belirlenmelidir.

Tipik olarak, DNEL türetilirken, bir doz tanımlayıcısı, başlangıç noktasının değiştirilmesi ve değerlendirme faktörlerinin uygulanması dikkate alınır, bunlar için [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8 *İnsan sağlığı için doz [konsantrasyon]-cevap karakterizasyonu* (Bölüm R.8.4 ve Ek R.8-12) ve bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.3](#) incelenebilir. Ek R.8-12 Üreme sistemi toksisitesi, üreme sistemi toksisitesi çalışmaları için özel tavsiyeler sağlar.

R.7.6.5 Sınıflandırma ve etiketleme

Sınıflandırma ve etiketleme rehberi, [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) (Bölüm 3.7) içerisinde verilmektedir ve özellikle ebeveyn toksisitesi için Bölüm 3.7.2.2.1 *Ebeveyn toksisitesi varlığında sınıflandırma* incelenmelidir.

R.7.6.6 Üreme sistemi toksisitesi üzerine varılan sonuçlar

Üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktaları, risk değerlendirmesinde (doğurganlık ve gelişimsel toksisite sonlanma noktaları için) ve sınıflandırma için (cinsel fonksiyon ve doğurganlık; gelişimsel toksisite; ve emzirme) kullanılacak ilgili sonlanma noktası/noktaları ve NOAEL değerlerinin belirlenmesi için ayrı ayrı düşünülmelidir. En yüksek endişeyi ortaya çıkaran çalışma veya çalışmalar normalde DNEL değerlerini oluşturmak için kullanılmalıdır (bkz. KKDİK Ek 1, 1.2.4). Başka bir çalışma/diğer çalışmalar kullanılırsa, bu istisna için kabul edilebilir bir gerekçe sunulmalıdır. Olumsuz etkilerin eşik değeri olmayan bir etki şekli yoluyla ortaya çıkma olasılığı varsa, DMEL türetilmesi dikkate alınmalıdır.

Risk değerlendirmesi ve sınıflandırmanın belirlenmesi, mevcut olan ve üreme sistemi toksisitesiyle ilgili olabilecek tüm verilerin dikkate alınmasını içerir (farklı veri kaynakları için bu Rehberde Bölüm [R.7.6.3](#)). Risk değerlendirmesinin nasıl yapılacağına ve zararlılıklar için sınıflandırmanın nasıl belirleneceğine dair kesin kurallar olamaz çünkü bu süreç uzman değerlendirmesi içerir ve ayrıca belirli bir madde için mevcut olan bilgilerin karışımı ve güvenilirliği muhtemelen özgün olacaktır. Ayrıca diğer zararlılıklar üzerine yapılan çalışmalardan (örneğin tekrarlı doz toksisitesi) elde edilen veriler risk değerlendirmesinde ve üreme sistemi toksisitesinin sınıflandırılmasının belirlenmesinde dikkate alınmak için uygun olabilir.

Bir zararlılık sınıflandırması ve kategorisi hakkında sonuca varmak için, mevcut tüm bilgilerin dikkate alınması ve SEA Yönetmeliği Ek 1'deki kriterlerle karşılaştırılması gerekir (ayrıca bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#)). Bilgi, sınıflandırma ve etiketlemeye karar vermek için yeterli değilse, kayıt ettiren, yetersiz veriler (KKDİK Ek 6, 4.1 ve KKDİK Ek 6, 1.3.2) sonucu aldığı eylem veya kararı belirtmeli ve gerekçelendirmelidir.

Maddenin Üreme sistemi toksisitesi için uyumlaştırılmış bir sınıflandırması varsa (Ek 6, SEA içerisine dahil edilmiş) veya sınıflandırma kriterlerini karşılıyorsa ve tedarikçi sınıflandırmasına tabi ise, maruz kalma senaryoları oluşturulmalı ve maddenin kullanımının güvenli olduğunu belirtmek için risk karakterizasyon oranı (RKO) hesaplanmalıdır.

R.7.6.7 Üreme sistemi toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisi

Bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2](#), bilgi gerekliliklerini karşılamak ve üreme sistemi sağlığı ile ilgili maddelerin içsel özellikleriyle ilgili endişeleri ele almak için maddeler hakkında ilgili bilgilerin nasıl tanımlanıp üretileceğine dair rehberlik içerir.

Bir bütünleşik test stratejisi (BTS), bilgi gerekliliklerini karşılamak için bir veya daha fazla hayvan dışı yöntemi hayvan çalışmaları ile birleştiren veya yalnızca üreme sistemi toksisitesinin tüm anahtar yönlerini kapsayan hayvan dışı yöntemleri içeren bir yaklaşım olarak tanımlanabilir. Bu nedenle, KKDİK Ek 11 uyarlamaları (Bölüm 3.2.a - maddeye özgü maruz kalmaya bağlı testler hariç) üreme sistemi toksisitesi için bütünleşik test stratejilerinde önemli bir rol oynar.

BTS, kapsamlı bir risk değerlendirmesi ve/veya sınıflandırma ve etiketleme için kullanılabilir bilgiler üretmelidir. Blaauboer ve ark. (1999)¹⁴⁵ tarafından BTS için bir tanım sağlanmıştır. BTS kavramı Test ve Değerlendirme için Bütünleşik Yaklaşım (IATA) benzerdir. Prensipten olarak, BTS ve IATA, kanıt ağırlığını geliştirerek yeterli miktarda bilgi sağlamak amacıyla bilginin toplandığı, değerlendirildiği ve ağırlıklandırıldığı yaklaşımlardır. BTS ve IATA, KKDİK Ek 11, 1.2'nin zararlılık temelli bir yaklaşım olduğu ve maruz kalma ve risk temelli değerlendirme kullanılmayacağı dikkate alınarak, KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre (kanıt ağırlığı) bir veya daha fazla standart bilgi gerekliliğinin uyarlanmasının gerekçelendirilmesine izin vererek, adım adım bir yaklaşımla bilgi üretmek üzere kullanılabilir.

Üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktası için BTS'nin kapsamlı kullanımı, olası bir olumsuz etkinin sonucuyla ilgili tüm farklı mekanik adımlar ve süreçler hakkında bilgi gerektirir. Üreme sistemi toksisitesi, bir dizi potansiyel hedef doku ile ilgilidir ve bütünüyle bile bilinmeyen ve şu anda karmaşıklıkları açısından tam olarak anlaşılacak kadar çok sayıda etkileşim halindeki süreçleri içerir. Üreme sistemi toksisitesi etkilerinin tanımlanmasındaki bir diğer özel zorluk, sistemik toksisitenin doğurganlık üzerindeki ve anneden gelen toksisitenin yavruların gelişimi üzerindeki potansiyel etkisi ile ilgilidir. Embriyonun gelişimi sırasında belirli hassasiyete sahip pencerelerin varlığı, üreme sistemi toksisitesinin bir başka karakteristik özelliğidir. Bununla birlikte, halihazırda olumsuz etki oluşum yolları (AOP), her biri örneğin vaskülogenez ve yarık damak gibi belirli bir etkiyi kapsayan şekilde geliştirme aşamasındadır. Ayrıca yarıklar gibi özel etkilerin, birkaç farklı mekanizma ve karmaşıklığı artıran olumsuz etki oluşum yolları yoluyla oluşturulabileceği de belirtilmelidir. Olumsuz etki oluşum yolları, BTS/IATA tarafından ele alınması gereken toksisite yollarındaki anahtar olayları açıklamakta BTS/IATA için bir dayanak oluşturabilir.

Çeşitli yöntemler içeren birleşik yaklaşımlar, yalnızca standart bilgi gereklilikleri hakkında eşdeğer bilgi sağlamadıkları için ön adımlar olarak kullanılabilir. İlave olarak, KKDİK Ek 11, 1.2 yaklaşımına göre kanıt ağırlığı uyarlaması veya KKDİK Ek 11, 1.5 yaklaşımına göre destekleyici kategoriler ve çapraz okuma unsurları olabilirler. Ancak, bu birleşik yaklaşımlar, bilgilerin eksik kısımlarından dolayı daha fazla belirsizlik içerdiğinden; bu tür yaklaşımlar önerildiğinde bu ele alınmalıdır. Tüm potansiyel moleküler mekanizmalar ve düzenleyici mekanizmalar kapsamadığından, bu yaklaşımlar bir etkinin bulunmadığını kanıtlamak için uygun olmayabilir. Şu anda bir NOAEL türetilmesi bu yöntemlerle mümkün değildir.

R.7.6.8 Üreme sistemi toksisitesi için referanslar

Adori M, Kiss E, Barad Z, Barabas K, Kiszely E, Schneider A, Sziks E, Abraham IM, Matko J ve Saramay G (2010) Estrogen augments the T cell-dependent but not the T-independent immune response (Östrojenin T hücrelerine bağımlı bağışıklık cevabını arttırması ve T bağımsız bağışıklık cevabını arttırmaması). *Cell Mol Life Sci* 67:1661-74.

Bailey SA, Zidell RH, Perry RW (2004) Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint? (Sığanda organ ağırlığı ile vücut/beyin ağırlığı arasındaki ilişkiler: en iyi analitik sonlanma noktası nedir?) *Toxicol Pathol* 32:448-66.

Beekhuijzen M, de Raaf MA, Zmarowski A, van Otterdijk F, Peter B ve Emmen H (2014) The underestimated value of OECD 421 and 422 repro screening studies: putting it in the right perspective (OECD 421 ve 422 üreme sistemi tarama çalışmalarının az tahmin edilen değeri: doğru bakış açısı). *Reprod Toxicol* 48:81-7.

Blagojević J, Jovanović V, Stamenković G, Jojić V, Bugarski-Stanojević V, Adnađević T ve Vujošević M (2012) Age Differences in Bioaccumulation of Heavy Metals in Populations of the Black-Striped Field Mouse, *Apodemus agrarius* (Rodentia, Mammalia) (Siyah Çizgili Tarla Faresi, *Apodemus agrarius* (Rodentia, Mammalia) Popülasyonlarında Ağır Metallerin Biyobirikiminde Yaş Farklılıkları) *Int J Environ Res* 6: 1045-52.

¹⁴³ "Bütünleşik Test Stratejisi, zararlılığın değerlendirilmesine yönelik, mevcut bir hayvan prosedürünün azaltılmasına, iyileştirilmesine veya değiştirilmesine hizmet eden ve aşağıdakilerden iki veya daha fazlasının kullanımına dayanan herhangi bir yaklaşımdır: fizikokimyasal veriler, in vitro veriler, insan verileri (örneğin, epidemiyolojik, klinik vaka raporları), hayvan verileri (kaçınılmazsa), hesaplama yöntemleri (nicel yapı aktivite ilişkileri (QSAR) ve biyokinetik modeller gibi" (Blaauboer ve ark., 1999).

Blaauboer BJ, Barratt MD, Houston JB (1999) The integrated use of alternative methods in toxicological risk evaluation (Toksikolojik risk değerlendirmesinde alternatif yöntemlerin bütünleşik kullanımı). ECVAM Bütünleşik Test Stratejileri Çalışma Kolu Rapor 1. Altern Lab Anim 27:229-37.

Boverhof DR, Ladics G, Luebke B, Botham J, Corsini E, Evans E, Germolec D, Holsapple M, Loveless S, Lu H, van der Laan JW, White Jr KI ve Yang Y (2014) Approaches and considerations for the assessment of immunotoxicity for environmental chemicals: A workshop summary (Değerlendirme için yaklaşımlar ve düşünceler çevresel kimyasallar için immünotoksisite: Bir çalıştay özeti). Regul Toxicol Pharmacol 68:96-107.

Bonde JP (2010) Male reproductive organs are at risk from environmental hazards (Erkek üreme organlarının çevresel zararlılıklar nedeniyle risk altında olması). Asian J Androl 12:152.

Chapin RE ve Sloane RA (1997) Reproductive assessment by continuous breeding: evolving study design and summaries of ninety studies (Sürekli üreme yoluyla üreme sistemi değerlendirmesi: gelişen çalışma tasarımı ve doksan çalışmanın özetleri). Environ Health Perspect 105 Suppl 1:199-205.

De Groot DM, Bos-Kuipers MH, Kaufmann WS, Iamers JH, O'Callahan JP, Pakkenberg B, Pelgrim MT, Waalkens-Berendsen ID, Waanders MM, Gundersen HJ (2005) Regulatory developmental neurotoxicity testing: a model study focussing on conventional neuropathology endpoints and other perspectives (Düzenleyici gelişimsel nörotoksisite testi: konvansiyonel nöropatoloji sonlanma noktalarına odaklanan bir model çalışma ve diğer bakış açıları). Environ Toxicol Pharmacol 19:745-55.

De Groot MW, Westerink RH, Dingemans MM (2013) Don't judge a neuron only by its cover: neuronal function in in vitro development neurotoxicity testing (Bir nöron yalnızca kapağına bakarak değerlendirilmemeli: in vitro gelişimsel nörotoksisite testlerinde nöron fonksiyonu). Toxicol Sci 132:1-7.

De Jong W, Van Loveren H, (Ed.) (2007) Animal Models in Immunotoxicology. Methods Special Issue (İmmünotoksikolojide Hayvan Modelleri. Yöntemler Özel Sayısı) 41: 1-142.

DeWitt JC, Peden-Adams MM, Keil DE ve Dietert RR (2012a) Current status of developmental immunotoxicity: early-life patterns and testing (Gelişimsel immünotoksisitenin mevcut durumu: erken yaşam modelleri ve testler). Toxicol pathol 40:230-36.

DeWitt JC, Peden-Adams MM, Keil DE ve Dietert RR (2012b) Developmental immunotoxicity (DIT): assays for evaluating effects of exogenous agents on development on the immune system (Gelişimsel immünotoksisite (DIT): Eksojen ajanların bağışıklık sistemi gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için deneyler). Curr Protoc Toxicol Chapter 18:Unit 18.15.

Dietert RR (2014) Developmental immunotoxicity, perinatal programming, and noncommunicable disease: Focus on human studies (Gelişimsel immünotoksisite, perinatal programlama ve bulaşıcı olmayan hastalık: İnsan çalışmalarına odaklanma). Advances in Medicine Cilt 2014:18 sayfaları.

Dietert RR ve DeWitt J (2010) Developmental immunotoxicity (DIT): the why, when, and how of DIT testing (Gelişimsel immünotoksisite (DIT): DIT testlerinin neden, ne zaman ve nasılları). Methods Mol Biol 598:17-25.

Dietert RR ve Holsapple MP (2007) methodologies for developmental immunotoxicity (DIT) testing (Gelişimsel immünotoksisite için metodolojiler (DIT testleri). Methods 41:123-131.

ECHA SEA Kriterleri Uygulama Rehberi [<http://echa.europa.eu/web/guest/guidance-documents/guidance-on-clp>]

ECHA Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmesi rehberi: [<http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>]

EMA (Avrupa Tıbbi Ürünler Değerlendirme Ajansı) (2006) Beşeri üreme ve emzirme konusunda tıbbi ürünlerin risk değerlendirmesine ilişkin rehber: verilerden etiketlemeye. EMEA/CHMP/203927. Erişim adresi: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50_0003307.pdf

Eisenberg ML, Hsieh MH, Walters RC, Krasnow R ve Lipshultz LI (2011) The relationship between anogenital distance, fatherhood, and fertility in adult men (Yetişkin erkeklerde anogenital mesafe, babalık ve doğurganlık arasındaki ilişki). PLoS One 6(5):e18973.

Eisenberg ML, Jensen TK, Walters RC, Skakkebaek NE, Lipshultz LI (2012) The relationship between anogenital distance and reproductive hormone levels in adult men (Yetişkin erkeklerde anogenital mesafe ile üreme hormonu seviyeleri arasındaki ilişki). J Urol 187:594-8.

Evgeni E, Charalabopoulos K, Asimakopoulos B (2014) Human Sperm DNA Fragmentation and its Correlation with Conventional Semen Parameters (İnsan Sperm DNA Parçalanması ve Geleneksel Semen Parametreleri ile Korelasyonu). J Reprod Infertil 15:2-14.

Fryer CA, Bo E, Calamandrei G, Calzà L, Dessì-Fulgheri F, Fernández M, Fusani L, Kah O, Kajta M, Le Page Y, Patisaul HB, Venerosi A, Wojtowicz AK ve Panzica GC (2012) Endocrine disrupters : a review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems (Endokrin bozucular: davranış ve nöronedokrin sistemler üzerindeki bazı kaynakların, etkilerin ve etki mekanizmalarının incelemesi). J Neuroendocrinol 24:144-59.

Genschow E, Spielmann H, Scholz G, Pohl I, Seiler A, Clemann N, Bremer S ve Becker K (2004) Validation of the embryonic stem cell test in the international ECVAM validation study on three *in vitro* embryotoxicity tests (Üç *in vitro* embriyotoksisite testi üzerinde uluslararası ECVAM doğrulama çalışmasında embriyonik kök hücre testinin doğrulanması). Altern Lab Anim 32:209-44.

Genschow E, Spielmann H, Scholz G, Seiler A, Brown N, Piersma A, Brady M, Clemann N, Huuskonen H, Paillard F, Bremer S ve Becker K (2002) The ECVAM international validation study on *in vitro* embryotoxicity tests: results of the definitive phase and evaluation of prediction models (*In vitro* embriyotoksisite testleri üzerine ECVAM uluslararası doğrulama çalışması: kesin aşamanın sonuçları ve tahmin modellerinin değerlendirilmesi). Altern Lab Anim 30:151-76.

Alman Kimya Endüstrisi Derneği adına Gelbke H-P, Fleig H, Meder M (2004) SIDS Reprotoxicity screening test update: testing strategy and use (SIDS üreme sistemi toksisitesi tarama testi güncellemesi: test stratejisi ve kullanımı). Reg Toxicol Pharm 39:81-6.

Gelbke HP, Hofmann A, Owens JW ve Freyberger A (2006) The enhancement of the subacute repeat dose toxicity test OECD TG 407 for the detection of endocrine active chemicals: comparison with toxicity tests of longer duration (Endokrin aktif kimyasalların tespiti için subakut tekrarlı doz toksisitesi testi OECD Test Rehberi 407'nin geliştirilmesi: daha uzun süreli toksisite testleri ile karşılaştırma). Arch Toxicol 81:227-50.

Gupta RC (Ed.) (2011) Reproductive and Developmental Toxicology (Üreme ve Gelişimsel Toksikoloji). Elsevier Inc Academic Press, Amsterdam, Hollanda.

Hardin BD, Becker RA, Kavlock RJ, Seidenberg JM, Chernoff N (1987) Workshop on the Chernoff/Kavlock preliminary developmental toxicity test (Chernoff/Kavlock ön gelişimsel toksisite testi üzerine çalıştay). Teratog Carcinog Mutagen 7:119-27.

Hessel EV, Tonk ECM, Bos PM, van Loveren H ve Piersma AH (2015) Developmental immunotoxicity of chemicals in rodents and its possible regulatory impact (Kemirgenlerde kimyasalların gelişimsel immünotoksitesitesi ve olası düzenleyici etkisi). Crit Rev Toxicol 45:68-82.

Holsapple MP, Burns-Naas LA, Hastings KL, Ladics GS, Lavin AL, Makris SL, Yang Y ve Luster MI (2005) A proposed testing framework for developmental immunotoxicity (DIT) (Gelişimsel immünotoksitesite (DIT) için önerilen test çerçevesi). Toxicol Sci 83:18-24.

Hood RD (ed) (2011): Developmental and Reproductive Toxicology: A practical Approach (Gelişimsel ve Üreme Toksikolojisi: Pratik Bir Yaklaşım), Üçüncü Baskı. Informa Healthcare, Londra, İngiltere.

Jacobson-Kram D ve Keller KA (Eds) (2006) Toxicological Testing Handbook: Principles, Applications and Data Interpretation (Toksikolojik Test El Kitabı: İlkeler, Uygulamalar ve Veri Yorumlama), İkinci Baskı. Informa Healthcare, New York, NY, ABD. s. 220-221.

Jain VG ve Singal AK (2013) Shorter anogenital distance correlates with undescended testis: a detailed genital anthropometric analysis in human newborns (Daha kısa anogenital mesafenin inmemiş testis ile ilişki göstermesi: insan yenidoğanlarında ayrıntılı bir genital antropometrik analiz). Hum Reprod 9:2343-9.

Kerr JB, Loveland KL, O'Bryan MK, de Kretser DM (2006) Chapter 18 - Cytology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms (Bölüm 18 - Testis Sitolojisi ve İç Kontrol Mekanizmaları). *Kaynak:* Neill JD, Plant TM, Pfaff DW, Challis JRG, de Kretser DM, Richards JS ve Wassarman PM (ed.) Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Knobil ve Neill'in Üreme Sistemi Fizyolojisi), Üçüncü Baskı, s. 827-947. Elsevier Inc Academic Press, Amsterdam, Hollanda.

Korach KS (Ed.) (1998) Reproductive and Developmental Toxicology (Üreme ve Gelişimsel Toksikoloji). Marcel Dekker Inc, New York, ABD.

McGee EA ve Hsueh AJ (2000) Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles (Yumurtalık foliküllerinin ilk ve döngüsel olarak toplanması). Endocr Rev 21:200-14.

Mendiola J, Stahlhut RW, Jørgensen N, Liu F ve Swan SH (2011) Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in rochester, new york (Daha kısa anogenital mesafenin Rochester, New York'taki genç erkeklerde daha düşük sperm kalitesi öngörmesi). Environ Health Perspect 119:958-63.

Nielsen E, Ostergaard G ve Larsen JC (2008) Toxicological Risk Assessment of Chemicals: A Practical Guide (Kimyasalların Toksikolojik Risk Değerlendirmesi: Pratik Bir Rehber), CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s. 143.

NTP ile değişen tek nesil çalışmalar. Ulusal Toksikoloji Programı ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bakanlığı. <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/types/mog/index.html>

OECD (2006) OECD Rehber Dokümanı No 57. Tiroid hormonu bozukluğu analizleri hakkında ayrıntılı derleme makalesi. ENV/JM/MONO(2006)24. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2007) Test ve değerlendirme serisi, No. 71. Uterotrofik biyoanaliz hakkında rehber doküman - antiöstrojenisite test prosedürü. ENV/JM/MONO(2007)15. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2008a) OECD Rehber Dökümanı No. 43. Memeli üreme sistemi toksisitesi testi ve değerlendirmesi hakkında rehber doküman. ENV/JM/MONO(2008)16. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2008) Test ve değerlendirme serisi, No. 89. Gelişimsel nörotoksosite hakkındaki test rehberi 426 geriye dönük performans değerlendirmesi. ENV/JM/MONO(2008)15. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2009a) OECD Rehber Dökümanı No. 39. Akut soluma toksisitesi testi hakkında rehber doküman. ENV/JM/MONO(2009)28. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2009b) OECD Rehber Dökümanı No. 106. Kemirgenlerde endokrin ve üreme sistemi testlerinin histolojik değerlendirmesine ilişkin rehber doküman. ENV/JM/MONO(2009)11. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2009c) Sıçanlarda süten kesilen Hersberger biyoanalizlerine ilişkin OECD Rehber dokümanı: (anti)androjenik özellikler için kısa süreli tarama testleri. Test ve değerlendirme serisi, no. 115. ENV/JM/MONO(2009)41. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2011) OECD Rehber Dokümanı No 117. Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için test rehberi 443'teki dahili

tetikleyicilerin mevcut uygulamasına ilişkin rehber doküman 117. ENV/JM/MONO(2011)21.

Erişim adresi:
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2012) OECD Rehber Doküman No 150. Endokrin bozukluğuna ilişkin kimyasalların değerlendirilmesi için standartlaştırılmış test rehberlerine ilişkin rehber doküman. ENV/JM/MONO(2012)22.

Erişim adresi:
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2013a) OECD Rehber Döküman No. 151. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi testi hakkında OECD test rehberi 443'ü destekleyen rehber doküman.

ENV/JM/MONO(2013)10. Erişim adresi:
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2013b) OECD Rehber Döküman No. 184. Olumsuz etki sonuç yollarının geliştirilmesi ve değerlendirilmesine ilişkin rehber doküman. ENV/JM/MONO(2013)6. Erişim adresi:

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

OECD (2014) Test ve değerlendirme serisi, No. 207. Tiroid hormonu sinyallemesinin modülatörlerinin tanımlanması için *in vitro* ve *ex vivo* testler hakkında yeni kapsam belirleme belgesi.

ENV/JM/MONO(2014)23. Erişim adresi:
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentpublicationsbynumber.htm>

Pallarés ME, Adrover E, Imsen M, González D, Fabre B, Mesch V, Baier CJ ve Antonelli MC (2014) Maternal administration of flutamide during late gestation affects brain and reproductive organs development in the male rat offspring (Flutamidin geç gebelikte anneye uygulamasıyla erkek sıçan yavrularında beyin ve üreme organlarının gelişimini etkilenmesi). *Neurosci* 278:122-35.

Piersma AH, Genschow E, Verhoef A, Spanjersberg MQ, Brown NA, Brady M, Burns A, Clemann N, Seiler A ve Spielmann H (2004) Validation of the postimplantation rat whole-embryo culture test in the International ECVAM validation study on three *in vitro* embryotoxicity tests (Üç *in vitro* embriyotoksosite testi üzerinde Uluslararası ECVAM doğrulama çalışmasında implantasyon sonrası sıçan tüm embriyo kültür testinin doğrulanması). *Altern Lab Anim* 32:275-307.

Piersma AH (2006) Alternatives to animal testing in developmental toxicity testing (Gelişimsel toksisite testinde hayvan testlerine alternatifler). *Basic Clin Toxicol Pharmacol* 98:427-31.

Reuter U, Heinrich-Hirsch B, Hellwig J, Holzum B ve Welsch F (2003) Evaluation of OECD screening tests 421 (reproduction/developmental toxicity screening test) and 422 (combined repeated-dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test) (OECD tarama testleri 421 (üreme/gelişimsel toksisite tarama testi) ve 422 (üreme/gelişimsel toksisite tarama testi ile birleşik tekrarlı doz toksisitesi çalışması) değerlendirmesi). *Reg Toxicol Pharm* 38:17-26.

Rooney AA, Yang Y ve Makris SL (2009) Recent progress and diverge effects in developmental immunotoxicology: overview of a symposium at the 46th Annual SOT Meeting, Charlotte, NC (Gelişimsel immünotoksikolojide son gelişmeler ve farklı etkiler: 46. Yıllık SOT Toplantısında bir sempozyumun özeti, Charlotte, NC). *J Immunotoxicol* 5:395-400. Erratum in *J Immunotox* 6:74.

Russell LD, Ettlin RA, Sinha Hikim AP ve Clegg ED (Ed.) *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, Clearwater, FL (1990) (Testisin Histolojik ve Histopatolojik Değerlendirmesi, Cache River Press, Clearwater, FL (1990)).

Sellers RS, Morton, D, Michael B, Roome N, Johnson JK, Yano BL, Perry R ve Schafer K (2007) Society of Toxicological Pathology position paper: organ weight recommendations for toxicology studies (Toksikolojik Patoloji Derneği görüş raporu: toksikoloji çalışmaları için organ ağırlığı önerileri). *Toxicol Pathol* 35:751-5.

Sjöblom T, Parvinen M ve Lähdetie J (1995) Stage-specific DNA synthesis of rat spermatogenesis as an indicator of genotoxic effects of vinblastine, mitomycin C and ionizing radiation on rat spermatogonia and spermatocytes (Vinblastin, mitomisin C ve iyonlaştırıcı radyasyonun sıçan spermatogoni ve spermatozoidler üzerindeki genotoksik etkilerinin bir göstergesi olarak sıçan spermatogenezinin aşamaya özel DNA sentezi). *Mutat Res* 1995 331:181-90.

Smith SEP, Li J, Garbett K, Mirnics K ve Patterson PH (2007) Maternal immune activation alters fetal brain development through Interleukin-6 (anneden gelen bağışıklık aktivasyonunun İnterleukin-6 yoluyla fetal beyin gelişimini değiştirmesi). *J Neurosci* 27:10695-702.

Spielmann H, Genschow E, Brown NA, Piersma AH, Verhoef A, Spanjersberg MQ, Huuskonen H, Paillard F ve Seiler A (2004) Validation of the rat limb bud micromass test in the international ECVAM validation study on three *in vitro* embryotoxicity tests (Üç *in vitro* embriyotoksisite testi üzerinde uluslararası ECVAM doğrulama çalışmasında sıçan uzuv cisimciği mikro kütle testinin doğrulanması). *Altern Lab Anim* 32:245-74.

Spielmann H, Seiler A, Bremer S, Hareng L, Hartung T, Ahr H, Faustman E, Haas U, Moffat GJ, Nau H, Vanparys P, Piersma A, Riego Sintes J ve Stuart J (2006) The practical application of three validated *in vitro* embryotoxicity tests (Üç onaylanmış *in vitro* embriyotoksisite testinin pratik uygulaması). ECVAM/ZEBET çalıştay raporu ve önerileri (ECVAM çalıştay 57). *Altern Lab Anim* 34:527-38.

Trigunaite A, Dimo J, Jørgensen Tn (2015) Suppressiv effects of androgens on the immune system (Androjenlerin bağışıklık sistemi üzerindeki baskılayıcı etkileri). *Cell Immunol* 294:87-94.

Tyl RW, Crofton K, Moretto A, Moser V, Sheets LP ve Sobotka TJ (2008) Identification and interpretation of developmental neurotoxicity effects: a report from the ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Expert Working Group on Neurodevelopmental Endpoints (Gelişimsel nörotoksisite etkilerinin tanımlanması ve yorumlanması: Nörogelişimsel Sonlanma Noktaları üzerine ILSI Araştırma Vakfı/Risk Bilimi Enstitüsü Uzman Çalışma Grubundan bir rapor). *Neurotoxicol Teratol* 30:349-81.

Van Dartel DAM, Pennings JLA, van Schooten FJ, Piersma AH (2010) Transcriptomics-based identification of developmental toxicants through their interference with cardiomyocyte differentiation of embryonic stem cells (Embriyonik kök hücrelerin kardiyomyosit farklılaşması ile etkileşimleri yoluyla gelişimsel toksik maddelerin transkriptomik tabanlı tanımlanması). *Toxicol Applied Pharmacol* 243:420-28.

Worth A, Barroso J, Bremer S, Burton J, Casati S, Coecke S, Corvi R, Desprez B, Dumont C, Gouliarmou V, Goumenou M, Gräpel R, Griesinger C, Halder M, Janusch R, Kienzler A, Madia F, Munn S, Nepelska M, Paini A, Price A, Prieto P, Rolaki A, Schäffer M, Triebe J, Whelan M, Wittwehr C, Zuang V (2014) Alternative methods for regulatory toxicology – a state-of-the-art review (Düzenleyici toksikoloji için alternatif yöntemler - son teknoloji bir inceleme). Avrupa Komisyonu, JRC Bilim ve İlke Raporları. Rapor EUR 26797 EN. https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/echa_jrc_sla_report_public_05-09-14_withcover_ipo.pdf

DSÖ/IPCS (2012) Kimyasallar için İmmünotoksisite Risk Değerlendirmesi Rehberi, IPCS Uyumlaştırma Projesi Dokümanı No 10. Erişim adresi: <http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/immunotoxicity/en/>.

Bölüm R.7.6 için Ek R.7.6-1 ila 5



Okuyucu için NOT: Eklerde belirtilen referanslar Bölüm R.7.6.8 Üreme Sistemi Toksisitesi İçin Referanslar içerisinde verilmiştir.

Ek R.7.6–1 Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışması tasarımına katkıda bulunan bilgiler için kontrol listesi

Bu liste, KKDİK için genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımını belirleyen tetikleyicilerin ve koşulların bulunduğunu veya bulunmadığını belirlemek üzere kontrol edilmesi gereken bilgi (kaynakları) için bir "kontrol listesi"dir. Bunun verilerin nasıl değerlendirileceğine dair bir tavsiye olmadığı unutulmamalıdır.

Bilginin maddenin kendisinden türetilmesi beklenir, ancak çok bileşenli bir maddenin bir bileşeni gibi bir vekil ise, tüm bileşenlerden ve metabolitlerden gelen tetikleyiciler dikkate alınmalı ve gerçekleştirilmelidir.

Tetikleyicilere ilişkin daha fazla ayrıntı ve örnek, bu Rehberde [Ek R.7.6–2](#)'de (EOGRTS çalışma tasarımı) verilmiştir ve çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğu bu Rehberde [Ek R.7.6–3](#)'te tartışılmıştır.

Koşul/tetikleyici	Tetikleyicilerin ve koşulların bulunduğu veya bulunmadığına karar verecek bilgiler nerede bulunabilir?
E1: Tüketicilerin veya çalışanların önemli ölçüde maruz kalmasına yol açan kullanımlar (diğerlerinin yanı sıra eşyalardan tüketici maruz kalmasını dikkate alan)	<p>Bir maddenin saf (konsantre) olarak, bir karışım içinde, salınımı amaçlanan bir eşya içinde veya matristen istenmeden taşınarak bir eşya içinde <u>tüketici ve/veya çalışan kullanımları</u> (bir çok geniş kullanım veya birkaç sınırlı kullanım).</p> <p>Kayıt ettiren, yukarıdaki koşullardan herhangi birinin bulunduğunu veya bulunmadığını kaydetmeli ve gerekçelendirmelidir.</p> <p>Bunlardan herhangi biri aşağıdaki diğer üç koşuldan (E2, E3 veya E4) herhangi biri ile birlikte mevcutsa ve bu Rehberde Ek R.7.6–2 içerisinde detaylandırılan kriterleri yerine getiriyorsa, Kohort 1 B'nin uzatılması önerilmelidir.</p>
E2: Potansiyel olarak Mutajen Kategori 2 sınıflandırma kriterlerini karşılayan genotoksosite	<p><u>İn vivo mutajenite çalışmalarından elde edilen sonuçlar</u> (<i>in vitro</i> testlerden biri pozitifse, o zaman bir <i>in vivo</i> somatik hücre mutajenite testi yürütülmüş olmalıdır).</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve koşulun bulunduğunu veya bulunmadığını gerekçelendirmelidir.</p>
E3: Kararlı hal kinetiğine ulaşmak için uzun süre maruz kalmaya ihtiyaç olması.	<p><u>Kararlı hale ulaşmak için gereken maruz kalma süresi ile ilgili göstergeler çeşitli kaynaklardan elde edilebilir.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • hayvanlarda <u>toksikokinetik çalışmalar</u>. • <u>insan verileri</u>, örn. kandaki veya organlardaki madde veya metabolit/metabolitlerin seviyesi. • kısa maruz kalmayla yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında beklenmedik şiddeti veya bulguların ortaya çıktığını gösteren uzun maruz kalma süresi olan mevcut <u>in vivo çalışmalar</u>. • <u>log Pow</u> değerinden tahmin, <u>hayvan dışı yaklaşımlar</u> (QSAR tahminleri), <u>eko-toksosite</u> kaynaklı bilgiler (biotada yüksek seviyeler, besin zincirinin zirvesinde yüksek seviyeler, çok yavaş

	<p>arınma, biyobirikim etki gücü (B veya vB veya benzeri endişe), biyomagnifikasyon) gibi birikme potansiyeline ilişkin diğer herhangi bir gösterge</p> <p>Çok bileşenli maddenin (çok bileşenli veya UVCB maddeler) tüm bileşenleri ve metabolitleri dikkate alınmalı ve gerekçelendirilmelidir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve koşulun bulunduğunu veya bulunmadığını gerekçelendirmelidir.</p>
<p>E4: <i>In vivo</i> veya hayvan dışı yaklaşımlardan kaynaklanan endokrin bozukluğuna ilişkin etki şekillerinin göstergeleri</p>	<p><u>Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları ve üreme sistemi toksisitesi çalışmaları</u>, endokrin bozucu etki şekillerinin göstergelerini sağlayabilir. Endokrin etki şekilleri ile ilgili parametreler kontrol edilir.</p> <p>Endokrin (bozucu) etki şekilleri için <i>in vivo</i> testler kontrol edilir.</p> <p>Endokrin (bozucu) etki şekillerinin tahmini için <u>hayvan dışı yaklaşımlar</u> kontrol edilir.</p> <p>Endokrin (bozucu) etki şekillerinin tahmini için <u>eko-toksosite testlerinden</u> elde edilen veriler kontrol edilir</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve koşulun bulunduğunu veya bulunmadığını gerekçelendirmelidir.</p>
<p>N1: <i>In vivo</i> çalışmalardan veya hayvan dışı yaklaşımlardan nörotoksosite hakkında bilgiler.</p>	<p><i>In vivo</i> toksisite çalışmaları, nörotoksosite hakkında bilgi sağlayabilir. Sinir sistemi ile ilgili tüm parametreler kontrol edilir. (Gelişimsel) nörotoksosite tahmini için hayvan dışı yaklaşımlar kontrol edilir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel nörotoksosite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>
<p>N2: (Gelişimsel) nörotoksosite ile ilişkili özel etki mekanizması/şekilleri.</p>	<p>Bazı çalışmalar, mekanizmayı ortaya çıkaran ölçümleri içerebilir veya özel <u>mekanik çalışmalar</u> (<i>in vivo</i> veya <i>in vitro</i>) mevcut olabilir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel nörotoksosite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>
<p>N3: Yapısal olarak benzer maddelerden kaynaklanan (gelişimsel) nörotoksosite hakkında mevcut bilgiler</p>	<p><u>Yapısal olarak benzer maddeler</u> tanımlanmalı ve (gelişimsel) nörotoksosite gösteren etkilere ilişkin mevcut bilgiler kontrol edilmelidir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel nörotoksosite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>

<p>I1: <i>In vivo</i> çalışmalardan veya hayvan dışı yaklaşımlardan immünotoksisite hakkında bilgiler.</p>	<p><u><i>İn vivo</i> toksisite çalışmaları</u>, immünotoksisite hakkında bilgi sağlayabilir. Bağışıklık sistemi ile ilgili tüm parametreler kontrol edilir.</p> <p>(Gelişimsel) immünotoksisite tahmini için <u>hayvan dışı yaklaşımlar</u> kontrol edilir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel nörotoksisite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>
<p>I2: (Gelişimsel) immünotoksisite ile ilişkili özel etki mekanizması/şekilleri.</p>	<p>Bazı çalışmalar, mekanizmayı ortaya çıkaran ölçümleri içerebilir veya özel <u>mekanik çalışmalar</u> (<i>in vivo</i> veya <i>in vitro</i>) mevcut olabilir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel immünotoksisite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>
<p>I3: Yapısal olarak benzer maddelerden kaynaklanan (gelişimsel) immünotoksisite hakkında mevcut bilgiler</p>	<p><u>Yapısal olarak benzer maddeler</u> tanımlanmalı ve (gelişimsel) immünotoksisite gösteren etkilere ilişkin mevcut bilgiler kontrol edilmelidir.</p> <p>Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve tetikleyicilerin bulunduğunu veya bulunmadığını ve gelişimsel immünotoksisite için özel endişeyi gerekçelendirmelidir.</p>

Ek R.7.6–2 Genişletilmiş Tek Nesil Üreme Sistemi Toksikitesi Çalışma Tasarımı

Kayıt ettiren, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için çalışma tasarımını aşağıdaki özel durumlar ile önermelidir. Kohort 1B'nin uzatılması için koşulların ve Kohort 2A ve 2B ve Kohort 3 için tetikleyici/tetikleyicilerin bulunması veya bulunmaması dahil olmak üzere çalışma tasarımı için ilgili gerekçelere ihtiyaç vardır.

KKDİK Yönetmeliğindeki çalışma tasarımlarına yönelik özel durumlar aşağıdaki hususlar için gereklidir:

- 1) Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyesi seçimi;
- 2) Üreme sistemi toksisitesi Kohort 1B'yi genişletme ve F2 için sonlandırma süresini tanımlama ihtiyacı;
- 3) Gelişimsel nörotoksikite Kohortları 2A ve 2B'yi dahil etme ihtiyacı;
- 4) Gelişimsel immünotoksikite Kohort 3'ü dahil etme ihtiyacı.

Aşağıdaki metinde, her çalışma tasarımı için özel durumlar ve tetikleyiciler (koşullar) sunulmuştur. Bu Rehberde [Ek R.7.6–1](#)'deki Tablo, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımını belirlemek için tetikleyiciler hakkında bilgi sağlayabilecek çalışmalar/testlerin kısa bir listesini sağlamak amacıyla kayıt ettirenler için bir kontrol listesi sağlamaktadır. Bağımsız bir değerlendirmeye izin vermek için tetikleyicilerin (koşulların) varlığı veya yokluğu kaydedilmelidir.

Çalışma tasarımına, çalışma başlamadan önce karar verilmelidir. KKDİK için çalışma için tetikleyiciler önerilmez. Bununla birlikte, kayıt ettiren, ele alınması gereken bir endişeyi belirten yeni bilgilere (ÇŞB Değerlendirme kararı verildikten sonra ortaya çıkan) dayanarak çalışmayı genişletebilir. Genişletmenin gerekçesi belgelenmelidir.

OECD rehber dokümanı 151, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının (OECD 2013) kohortlarının yürütülmesi için rehberlik sağlar, ancak KKDİK ve SEA için geçerli çalışma tasarımı, KKDİK Ek 9 ve 10'da genel olarak tanımlanmış ve bu rehberde daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Test önerilerinde ihtiyaç duyulan özellikler:

1) Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyesi seçimi

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doğurganlığın yeterli değerlendirmesine izin vermesi gerektiğini ve çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seviyelerinin risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamak için uygun olması gerektiğini belirtir¹⁴⁴.

¹⁴⁴ KKDİK Yönetmeliği Ek 9 ve 10 girdi 8.7.3 kapsamında yürütülen üreme sistemi toksisitesi çalışmasının, doğurganlık üzerindeki olası etkilerin yeterli değerlendirmesine izin vermesi sağlanmalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve doz seçimi KKDİK Yönetmeliği ve SEA Yönetmeliği uyarınca risk değerlendirmesi ve sınıflandırma ve etiketleme amaçlarını karşılamaya uygun olmalıdır. "

Çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğu ve doz seviyesi ayarı, doğurganlık üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri yeterince değerlendirme olasılığını etkileyen hususlardır. Doğurganlık sonlanma noktasının değerlendirmesini yeterince ele almak için, çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğuna karar vermek için başlangıç noktası, çiftleşmeden önceki tüm spermatogenezi ve folikülojenezi kapsayacak şekilde on hafta olmalıdır ve bu şekilde, doğurganlık üzerindeki etkilerin anlamlı bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanır. Maruz kalma, hayvanlar yaklaşık 5 haftalık olduklarında başlatılabilir ve yaklaşık 15 haftalıkken çiftleştirilebilir. Bununla birlikte, maddeye özgü gerekçelere göre daha kısa bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi önerilebilir, ancak bu iki haftadan daha kısa olmamalıdır. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresi hakkında daha ileri tartışma bu Rehberde [Ek R.7.6-3](#) içerisinde verilmektedir. Kayıt ettiren başka bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresini tercih ederse, kabul edilebilir şekilde maddeye özel bir bilimsel gerekçe sunulmalıdır.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için en yüksek doz, bir miktar toksisiteye yol açmak (veya insanlar daha yüksek doz seviyelerine maruz kalmıyorsa 1000 mg/kg va/gün limit dozu kullanmak) amacıyla seçilmelidir, böylelikle üreme üzerindeki etkilerin gözlenen diğer toksik etkilerin ikincil, özel olmayan bir sonucu olup olmadığına dair bir sonuca varılabilir (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#), Aşama 4.1 (6) altındaki doz seviyesi seçimi). Ancak bu şekilde, maddenin üreme sistemi için toksik olup olmadığını ve/veya üreme üzerindeki etkilerin potansiyel olarak sistemik toksisite ile ilişkili olup olmadığını ve ne ölçüde ilişkili olduğunu değerlendirmek mümkündür.

B.56 (OECD Test Rehberi 443) ve OECD Rehberi 151'de belirtildiği gibi toksikokinetik verilere dayalı olarak en yüksek doz düzeyini seçme imkanı, sistemik toksisite ile doğurganlık üzerindeki olumsuz etkilerin karşılaştırılmasına izin vermeyebilir ve bu nedenle, kategorizasyon dahil olmak üzere sınıflandırma ve etiketleme amaçlı veri üretimini desteklemez. En yüksek doz seviyesi ile ilgili olarak, iki cinsiyette de üreme sistemi toksisitesinin göz ardı edilmemesini sağlamak için hem dişi hem de erkek hayvanlarda toksisitenin dikkate alınmasının sağlanması önemlidir.

On haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi ve toksisite tetikleme gerekliliğini karşılayan en yüksek doz seviyesi, SEA Yönetmeliğine göre cinsel fonksiyon ve doğurganlık için zararlılık sonlanma noktasına ilişkin kategorizasyon dahil sınıflandırma ve etiketleme konusunda sonuca varılmasına izin vermelidir.

2) Kohort 1B'nin uzatılması ve F2 için sonlandırma süresi

KKDİK Yönetmeliği, 1B kohortunun F2 neslini içerecek şekilde genişletilmesinin aşağıdaki durumlarda kayıt ettiren tarafından önerileceğini veya Bakanlık tarafından talep edilebileceğini belirtir:

a) "Maddenin, diğerlerinin yanı sıra eşyalardan tüketici maruz kalmasını dikkate alan, tüketicilerin veya çalışanların önemli ölçüde maruz kalmasına yol açan kullanımlara sahip olması ve

b) Aşağıdaki koşullardan herhangi birinin karşılanması:

- Maddenin, *in vivo* somatik hücre mutajenitesi testlerinde, Mutajen Kategori 2 olarak sınıflandırılmasına yol açabilecek genotoksik etkiler göstermesi veya
- Madde ve/veya metabolitlerinden herhangi birinin dahili dozunun test hayvanlarında ancak uzun süreli maruz kalmadan sonra kararlı hale ulaşacağına dair göstergeler olması veya
- Mevcut *in vivo* çalışmalardan veya hayvan dışı yaklaşımlardan endokrin bozukluğuna ilişkin bir veya daha fazla ilgili etki şekline ilişkin göstergeler olması.

Aşağıdaki listelerde, kayıt ettirenin F2 nesli üretmek üzere Kohort 1B hayvanlarını çiftleştirmek amacıyla Kohort 1B'nin uzatılmasını önermesi gereken kriterler için örnekler verilmiştir:

Önemli maruz kalmaya yol açan kullanımlar için rehber:

- Maddenin tüketiciler (yani halkın üyeleri) veya çalışanlar tarafından saf veya kimyasal bir karışım içinde kullanılması amaçlanıyorsa¹⁴⁵ ve potansiyel olarak birçok tüketiciyi ve/veya çalışanı etkileyen çok geniş bir kullanım veya birkaç sınırlı kullanım varsa , o zaman bu kriter karşılanmış olarak kabul edilir;
- Madde, tüketiciler veya çalışanlar tarafından kullanılan bir eşya içerisinde ise, maddenin tüketiciler veya çalışanlar tarafından eşyanın kullanımı sırasında eşyadan salınması amaçlanıyorsa ve potansiyel olarak birçok tüketiciyi ve/veya çalışanı etkileyen çok geniş bir kullanım veya birkaç sınırlı kullanım varsa, o zaman bu kriter karşılanmış olarak kabul edilir;
- Matristen önemli ölçüde taşınma gösteren ve deriden emilim için ilgili olan tüketici eşyalarındaki bir maddenin kullanımı.

Önemli maruz kalmaya yol açan kullanım kriterleri ile birlikte kullanılacak maddeye özel toksisite koşulları için rehber:

(i) "Maddenin, *in vivo* somatik hücre mutajenitesi testlerinde, Mutajen Kategori 2 olarak sınıflandırılmasına yol açabilecek genotoksik etkiler göstermesi":

- Potansiyel olarak Mutajen Kategori 2 sınıflandırma kriterlerini karşılayan, *in vivo* olarak gözlenen genotoksisite/mutajenite
 - Not: Madde Mutajen Kategori 1A/1B kriterlerini karşılıyorsa ve yeterli risk yönetimi önlemleri mevcutsa, üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının yürütülmesine gerek yoktur (KKDİK Ek 9/10, girdi 8.7, Sütun 2'deki uyarılama olasılıklarına göre);
 - *In vitro* mutajenite çalışmalarından biri pozitifse (yani mutajenite öngörüyorsa) bir *in vivo* mutajenite çalışması mevcut olmalıdır. *In vitro* mutajenite çalışmalarından biri pozitifse, Kohort 1B'yi genişletmek için diğer kriterler karşılanmazsa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımına karar vermeden önce bir *in vivo* mutajenite çalışması yapılmalıdır.

(ii) "Madde ve/veya metabolitlerinden herhangi birinin dahili dozunun test hayvanlarında ancak uzun süreli maruz kalmadan sonra kararlı hale ulaşacağına dair göstergeler olması":

Kararlı hale ulaşma süresinin uzaması, mevcut toksikokinetik bilgiler, fiziko-kimyasal özellikler ve (eko)toksikolojik verilerden elde edilen bilgilerle gösterilebilir. Cinsiyet ve yaşam aşamalarının etkisi de olarak değerlendirilebilir¹⁴⁶. Aşağıda belirtilen kaynaklardan bilgi edinilebilir:

- Maddenin toksikokinetik davranışının değerlendirilmesi:
 - Genel olarak, kararlı hale ulaşma süresinin bir haftadan uzun sürmesi uzatılmış olarak düşünülebilir (uygulamada kararlı hale 4 ila 6 yarı ömürden sonra ulaşabileceği düşünülebilir)¹⁴⁷;
 - Çok yavaş klirens belirtilerine de dikkat edilmelidir (örn. bir Kategori 1B üreme sistemine toksik madde olan perflorooktanoik asit (PFOA)).

¹⁴⁵ Kayıt ettiren, kaydını desteklemek için veri sağlayacaktır.

¹⁴⁶ Bkz. örn. Blagojević, J ve ark., Siyah Çizgili Tarla Faresi, Apodemus agrarius (Rodentia, Mammalia) Popülasyonlarında Ağır Metallerin Biyobirikiminde Yaş Farklılıkları *Int. J. Environ. Res.*, 6(4):1045- 1052, Sonbahar 2012).

¹⁴⁷ Eliminasyon hızı, uygulama hızına eşit olduğunda kararlı hale ulaşılır. Her yarı ömürde bir verilen bir madde için birikim faktörü 2'dir. Yavaş eliminasyon gösteren (örneğin yüksek oktanol-su katsayısına sahip ve öngörülen hidrofilik metabolitleri olmayan) bir madde için birikme beklenebilir. Lipofilik maddeler için, metabolizma yoksa atılım imkansız olabilir.

- Maddenin fiziko-kimyasal özellikleri:
 - Oktanol-su dağılım katsayısı (log Kow) değeri (örn. 4.5 üzerinde) madde hidrofilik metabolitlere tamamen metabolize edilmediği sürece maddenin ve/veya metabolitlerinin (deneysel olarak veya QSAR modelleriyle tahmin edilen) (biyo)birikim potansiyelini gösterir.
- Hayvanlarda veya insan biyo-izleme verilerinden (biyo)birikimle ilgili göstergeler:
 - Kan, süt veya yağ gibi insan vücut sıvıları veya dokularındaki yüksek madde/metabolit seviyeleri, birikim ve kalıcılık ile ilgili bir endişenin göstergesidir. Tamamen endojen kökenli maddeler ve yalnızca yüksek maruz kalma nedenli yüksek seviyeler hariç tutulmuştur;
 - Biyobirikim etki gücü, örneğin madde özellikleri [BG ve KGD Rehberi](#) - Bölüm C: PBT/vPvB değerlendirmesi Tablo C.4-1'de açıklanan biyobirikim tarama kriterlerini karşılıyorsa. Değerlendirme yaklaşımı, [BG ve KGD Rehberi](#) - Kısım R.11: PBT / vPvB değerlendirmesi; Bölüm R.11.4.1.2'de daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır;
 - Madde, KKDİK Ek 13'te açıklanan biyobirikim kriterini (B veya vB) karşılıyorsa;
 - Biyomagnifikasyon göstergeleri (maddenin organizmalarda etkili birikimi ve yavaş eliminasyonundan (yüksek salımdan değil) kaynaklanan besin zincirinin zirvesindeki karasal hayvanlarda veya biyotada yüksek seviyelerde madde). Bu, [BG ve KGD Rehberi](#) - Kısım R.11 PBT/vPvB değerlendirmesi, sayfa 52, Bölüm R.11.4.1.2'de 'Saha verileri ve biyomagnifikasyon' altında daha ayrıntılı tartışılmaktadır.
- Mevcut *in vivo* çalışmalardan, daha uzun maruz kalma süresinden sonra etkilerin, farklı maruz kalma sürelerine sahip çalışmalar arasında doz tanımlayıcısını tahmin etmek için genel olarak kullanılan değerlendirme faktörlerine dayalı olarak beklenenden daha şiddetli olduğu/daha düşük dozda meydana geldiğine dair göstergeler:
 - Örneğin, bir subkronik çalışmanın (90 günlük) NOAEL / LOAEL değeri, bir subakut çalışmadaki (28 günlük) NOAEL/LOAEL değerinden 3 kattan daha düşükse, doz seviyesi seçimi ve diğer farklılıklar hesaba katılarak;
 - Kronik çalışmalarda ancak daha ilerideki bir zaman noktasında gözlemlenen etkiler, böylelikle bir maddenin veya metabolitlerinin birikimi nedeniyle toksisiteye neden olmak için muhtemelen daha uzun bir maruz kalma süresine ihtiyaç duyulduğunu gösterir.

(iii) "Mevcut *in vivo* çalışmalardan veya hayvan dışı yaklaşımlardan endokrin bozukluğuna ilişkin bir veya daha fazla ilgili etki şekline ilişkin göstergeler olması. "

(Anti)östrojenisite, (anti)androjenisite veya tiroid hormonu aktivitesi üzerindeki etkiler gibi endokrin bozucu etki şekli/şekillerinin¹⁴⁸ veya üreme sistemi toksisitesiyle ilgili endokrin bozucu özelliklerle ilgili diğer etki şekillerinin göstergeleri. Bu etki şekilleri, doğurganlık, üreme performansı veya yavruların gelişimi üzerindeki olumsuz etkilerle ilişkilendirilmiştir. Tetikleyicilerin değerlendirilmesi için bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) incelenmelidir:

- Endokrin bozucu etki şekilleri, *in vivo* çalışmalardan 1) endokrin bozucu aktiviteye hassas organ ağırlığındaki değişiklikler (sağlam ve / sağlam olmayan hayvanlar),

¹⁴⁸ OECD Rehberi 150'de, östrojen reseptörü, androjen reseptörü ve tiroid hormonu aracılığı ve steroidogenez girişim yöntemlerini kapsayan endokrin bozucu kimyasallar için kapsamlı bir tarama ve test koleksiyonu sunulmaktadır. Hem toksisite hem de ekotoksisite için test sonuçları ilgili olabilir.

- 2) vücut ağırlığı (artışı), 3) hormon seviyelerinin ölçümleri veya 4) endokrin (bozucu) etki şekilleriyle ilişkili üreme sistemi üzerindeki etkiler yoluyla elde edilebilir;
- Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, özellikle 2008'de güncellenen 28 günlük tekrarlı doz toksisitesi çalışması (B.7, OECD Test Rehberi 407), endokrin (bozucu) etki şekillerinin göstergelerini sağlayabilir. Endokrin etki şekilleri ile ilgili parametreler kontrol edilir; örn.:
 - Üreme organları ve diğer endokrin organlardaki değişiklikler (örn. yumurtalıklar, testisler, rahim, serviks, epididimisler, seminal veziküller, koagülasyon bezleri, prostat, vajina, hipofiz, meme bezi, tiroid ve adrenal bez);
 - Vücut ağırlığındaki değişiklikler (artış);
 - Östrus döngüsündeki değişiklikler;
 - İlgili hormon seviyelerindeki değişiklikler.
 - Üreme sistemi toksisitesi çalışmaları (örn. bir tarama çalışması), endokrin etki şekillerinin göstergelerini sağlayabilir. Endokrin etki şekilleri ile ilgili parametreler kontrol edilir; örn.:
 - Üreme organları ve diğer endokrin organlardaki değişiklikler (yukarıya bakınız);
 - Anogenital mesafe, meme ucu tutulumu, meme bezi histopatolojisi veya hormonal etki şekillerinin herhangi bir göstergesinde değişiklikler;
 - Östrus döngüsündeki değişiklikler;
 - Gebelik uzunluğundaki değişiklikler;
 - Vücut ağırlığındaki değişiklikler (artış);
 - Yavru vücut ağırlığındaki değişiklikler (kardeş grubu boyutu azalmasına ikincil olmayan artış);
 - Muhtemel bir endokrin bozucu etki şeklini gösteren diğer etkiler.
 - Ekotoksikoloji çalışmaları ve endokrin (bozucu) etki şekillerini tahmin eden testlerden (özellikle tiroid, bkz. OECD Rehberi 150) endokrin etkileri;
 - Hayvan dışı yaklaşımlar ve özel hayvan çalışmaları, mekanik veriler, reseptör bağlanması hakkında bilgi, epigenetik veya endokrin (bozucu) etki şekilleri için diğer düzenleyici mekanizmalar sağlayabilir, örneğin:
 - Uterotrofik analiz (B.54, OECD Test Rehberi 440);
 - Hershberger analizi (B.55, OECD Test Rehberi 441);
 - Östrojen reseptörü agonistlerini tespit etmek için *in vitro* testlerde kararlı şekilde transfekte edilmiş transaktivasyon için performans dayalı test rehberi (OECD Test Rehberi 455);
 - H295R steroidogenez analizi (OECD 456);
 - Östrojen reseptörü agonistlerini ve antagonistlerini belirlemek için BG1Luc Östrojen reseptörü transaktivasyon test yöntemi;
 - Maya Östrojen Taraması (YES) ve Maya Androjen Taraması (YAS) Testleri;
 - Androjen reseptör bağlanma çalışması;
 - Aromataz analizi;
 - Endokrin organ kültürleri;
 - QSAR ve hesaplamalı tahminler, tetikleyici/tetikleyiciler olarak görev almak üzere yeterince güvenilir kabul edilmiştir.

Tanımlanan tetikleyiciler, mevcut verilerdeki diğer bulgularla çelişmemelidir. *İn vivo* çalışmalardan ve kullanılan hayvan dışı yaklaşımlardan gelen tetikleyicilerin uygunluğu ve kalitesi yeterince belgelendirilmeli ve gerekçelendirilmelidir. Tetikleyicilerin değerlendirilmesinde duruma göre değerlendirmeye ihtiyaç vardır; değerlendirme bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)'te tartışılmaktadır.

Kohort 1B'nin uzatılması ve F2 için sonlandırma süresi ile ilgili dikkate alınması gereken diğer hususlar:

Kohort 1B'nin F2'ye uzatılması, özellikle P0 ebeveyn / F1 yavrularındaki etki önemliyse, ancak Ürm. Sis. Tok. 1B için sınıflandırma kriterlerini karşılamıyorsa ve F1 çiftleşme çiftlerinde/F2 yavrularında daha şiddetli etkiler görülürse, böylelikle hem P0 ebeveyn/F1 yavrularını hem de F1 çiftleşme çiftlerini/F2 yavrularını etkiliyorsa, ancak F1 çiftleşme çiftlerinde/F2 yavrularında daha belirgin veya daha geniş/farklı bir yelpazeye sahipse, sınıflandırma, etiketleme ve kategorizasyon bağlamında ilgili kabul edilir. Bu, sınıflandırmada Ürm. Sis. Tok. 2'den Ürm. Sis. Tok. 1B'e değişikliğe yol açabilir.

Mutajen Kategori 2'ye göre sınıflandırmayı karşılayan maddeler, üreme sistemi toksisitesi ve özellikle ikinci neslin canlılığı ve sağlığı için endişeyi artıran özelliklere sahip olarak kabul edilir. Madde, rahim içi gelişim sırasında ilk eşey hücre gelişimi, çoğalması ve göçü üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilir ve bu daha sonra F1 hayvanlarında doğurganlığın azalması olarak gözlemlenebilir. Birçok genotoksik madde aynı zamanda üreme sistemi için toksik maddelerdir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için test yöntemi, kanıt ağırlığı yaklaşımına (mevcut verilerin bütünlük değerlendirmesi) dayalı olarak F2 neslini doğum sonrası 4. günde sonlandırma imkanı sağlar. Örneğin, sonuçlar Ürm. Sis. Tok. 1B'ye göre sınıflandırma kriterlerini zaten karşılıyorsa ve büyük olasılıkla emzirme döneminin geri kalanından (doğum sonrası 5-21. gün) sonuçların NOAEL değerinin daha düşük olmasına yol açmayacağı muhtemelse KKDİK Ek 11, 1.2'ye göre bir kanıt ağırlığı uyarılama yaklaşımı kullanılabilir. Kalan belirsizliği kapatmak için ek bir değerlendirme faktörü uygulanabilir.

Kohort 1B'yi F2 nesline genişletip genişletmeme kararı, belirtilen koşullar karşılandığında çalışmaya başlamadan önce verilir/verilmelidir. Kayıt ettiren tarafından sunulan test önerisi, gerekçelerle birlikte önerilen çalışma tasarımını içermelidir. Deneysel çalışmanın yürütülmesi sırasında, kayıt ettiren, çalışmanın genel tasarımını talep edildiği şekilde uygulamaktan, düzenleyici gereklilikleri karşılamak ve çalışmanın bilimsel bütünlüğünü test yöntemine uygun olarak sağlamak için çalışmanın yürütülmesi ve sonuçların yorumlanmasından sorumludur.

F2 neslini üretmek üzere Kohort 1B hayvanlarının çiftleştirilmesi için dahili tetikleyiciler veya çalışma içi tetikleyicilerin (OECD Test Rehberi 117'de açıklananlar gibi) KKDİK Yönetmeliğinde olduğu gibi kullanılmaları önerilmez. Ancak, kayıt ettiren, ele alınması gereken bir endişeyi belirten yeni bilgilere dayanarak çalışmayı genişletebilir. Genişletmenin gerekçesi belgelenmelidir.

3) Kohort 2A ve 2B Dahil Edilmesi

Kohort 2 (gelişimsel nörotoksosite) için tetikleyicilerin (koşulların) ana kavramları, (gelişimsel)¹⁴⁹ nörotoksosite¹⁵⁰ için özel bir endişeye dayanmaktadır.

¹⁴⁹ Hem nörotoksosite hem de gelişimsel nörotoksosite için özel endişeler ele alınabilir. Bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#) içerisinde "(gelişimsel) nörotoksosite ve/veya immünotoksosite araştırmasıyla ilgili genel hususlar" ve "Gelişimsel nörotoksosite veya immünotoksosite çalışmaları için öneriler" altındaki tartışma incelenebilir.

¹⁵⁰ (Nielsen ve ark., 2008) Standart akut veya tekrarlı doz toksisitesi testlerindeki nörotoksosite belirtileri, başka sistemik toksisiteye veya şişmiş veya tıkanmış sindirim sistemi gibi fiziksel etkilerden kaynaklanan rahatsızlığa ikincil olabilir. Ölümcüllüğe neden olanların yakınında veya üzerindeki doz seviyelerinde görülen sinir sistemi etkileri, tek başına, nörotoksitenin kanıtı olarak değerlendirilmemelidir. Yüksek dozların uygulandığı akut toksisite çalışmalarında, genellikle sinir sistemi üzerindeki etkileri düşündüren klinik belirtiler gözlenir (örneğin, uyuşukluk gözlemleri, duruş veya davranış değişiklikleri) ve özel ve özel olmayan nörotoksosite belirtileri arasında bir ayrım yapılmalıdır." "Tek veya birkaç birbirinden ilgisiz etkiden ziyade, tutarlı bir nörotoksik bulgu modeli nörotoksitenin ikna edici kanıtı olarak alınmalıdır."

Özel bir endişe, endişenin (gelişimsel) nörotoksositeye özgü olması gerektiği, ancak aynı zamanda endişenin belirli bir ciddiyet düzeyine ulaşması gerektiği anlamına gelir. KKDİK Ek 8, 8.6.1'deki metne dayanarak, örneğin ciddi veya şiddetli etkiler¹⁵¹ gibi özel bir endişenin belirtilebileceği anlaşılabilir. KKDİK Ek 9/10, 8.7.3, Sütun 2'deki yasal metinde verilen örnekler, "olumsuz etkilerin kanıtı" ve "olumsuz etkilerle ilişkili" bulgular gibi ifadelerle sahip özel bir endişe için tetikleyicilerin "ciddiyet seviyesi" hakkında rehberlik sağlar. Maddenin gelişimsel nörotoksik olabileceğine dair makul bir beklenti uyandırmak için tüm bilgileri tartan yeterli kanıt olmalıdır (tetikleyicilerin değerlendirilmesi için bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)).

KKDİK, (gelişimsel) nörotoksosite ile ilgili özel bir endişe varsa Kohort 2A ve 2B'yi (gelişimsel nörotoksosite kohortları) içeren genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının kayıt ettiren tarafından önerileceğini veya ÇŞB tarafından gerektirilebileceğini belirtir.

Gelişimsel nörotoksosite için özel bir endişenin koşulları:

- İlgili *in vivo* veya hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilen maddenin kendisi hakkındaki mevcut bilgiler veya
- (gelişimsel) nörotoksosite ile ilişkilendirilen maddenin belirli etki mekanizmaları/şekilleri veya
- bu tür etkileri veya etki mekanizmaları/şekillerini öneren yapısal olarak incelenen maddeye benzeyen maddelerin neden olduğu etkilere ilişkin mevcut bilgiler.

Kesin yasal metin için KKDİK yönetmeliği, Ek 9 ve 10, 8.7.3 incelenmelidir. Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve Kohort 2A ve 2B'yi dahil etme ihtiyacı için tetikleyicilerin varlığını veya yokluğunu gerekçelendirmelidir.

Gelişimsel nörotoksosite kohortunun dahil edilmesini gerekçelendiren özel bir endişeyi gösterebilecek maddeye özel bulgu örnekleri:

- merkezi sinir sisteminde veya sinirlerde görülen anormallikler
 - beyin ağırlığındaki veya vücut ağırlığına ikincil olmayan belirli nöral bölgelerdeki değişiklikler
 - beyin hacmindeki veya belirli nöral alanlardaki değişiklikler, örn. morfometri/stereoloji ölçümlerinden
 - beyin, omurilik ve / veya sinirlerdeki (örn. siyatik sinir) (histo)patolojik bulgular
- genel toksisiteye ikincil olma olasılığı olmayan, yetişkin çalışmalarında sinir sistemi üzerindeki herhangi bir davranışsal veya işlevsel olumsuz etki belirtisi (örn. tekrarlı doz ve akut toksisite çalışmaları ve nörotoksosite çalışmaları).
 - genel toksisite yokluğunda görülürse klinik ve/veya davranışsal belirtiler (anormal yürüyüş, narkoz, nöbetler veya başka herhangi bir değişen aktivite)
- (gelişimsel) nörotoksik etkilerle yakından bağlantılı belirli etki mekanizması/şekli (bkz. Gupta RC (2011), sayfa 835-862),
 - (yetişkin) beyin kolinesteraz inhibisyonu (%20 oranında);
 - tiroid hormon düzeylerindeki ilgili değişiklikler veya bu tür değişiklikleri gösteren tiroid toksisitesi belirtileri,

¹⁵¹ Ciddi veya şiddetli bir etki, düzenleyici sonuçları olan, yani NOAEL değerlerine yol açan ve/veya zararlılık sınıflandırmasına katkıda bulunan bir etkidir. Bu nedenle, özel bir endişe, maddenin düzenleyici karar vermeye katkıda bulunan (gelişimsel) nörotoksik özelliklere sahip olması beklentisidir. Bu aynı zamanda diğer sistemik toksisiteye ikincil olmadıkları anlamına gelir.

- östrojenisite (Fryer ve diğerleri, 2012) ve antiandrojenite (Pallarés ve diğerleri, 2014) gibi gelişmekte olan sinir sistemi ile açık bir ilişki içinde olan belirli hormonal etki mekanizmaları/şekilleri hakkında bilgi
- *İn vitro* gelişimsel nörotoksisite testi (bkz. de Groot, 2013) gibi (doğrulanmış) hayvan dışı yaklaşımlardan, gelişimsel nörotoksisiteyi tahmin eden bilgiler, örneğin:
 - Herhangi bir *in vitro* olumsuz nöronal farklılaşma belirtisi, örneğin:
 - Nörit büyümesi
 - Nöral kök hücre çoğalması
 - Nöronal farklılaşma, sinaptogenez ve diğer nörogelişimsel farklılaşma ile bağlantılı gen ifadesi (mRNA ve protein) biyobelirteçleri
 - Fonksiyonel sonlanma noktaları, örn. hücre zarı potansiyeli, uyarılabilirlik, elektriksel aktivite
 - *İn vivo* nörotoksik etkilere bağlanan özel etki şekilleri, *in vitro* doğrulanmamış deneylerle (örn. kolinesteraz inhibisyonu, nöropati hedef (nörotoksik) esteraz inhibisyonu) belirtilebilir.
- benzer etkilerin veya benzer etki mekanizmaları/şekillerinin kaydedilen madde için de geçerli olabileceğini düşündüren şekilde *in vivo* veya *in vitro* çalışmalarda (gelişimsel) nörotoksik etkiler gösteren yapısal olarak benzer maddeler ve (maddeye özel bulgular için yukarıdaki örnekler incelenmelidir)
 - benzer bir maddeden tetikleyici/tetikleyicileri kullanmak için bir yaklaşımın yeterliliği gerekçelendirilmelidir

Tanımlanan tetikleyiciler, mevcut verilerdeki diğer bulgularla çalışmamalıdır. *İn vivo* çalışmalardan ve kullanılan hayvan dışı yaklaşımlardan gelen tetikleyicilerin uygunluğu ve kalitesi yeterince belgelendirilmeli ve gerekçelendirilmelidir. Tetikleyicilerin değerlendirilmesi bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) 'te açıklanmaktadır.

Yetişkinler karşısında gelişimsel nörotoksisiteye ilişkin daha fazla değerlendirme, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#)'te "(Gelişimsel) nörotoksisite ve / veya immünotoksisitenin araştırılmasına ilişkin genel hususlar" başlığı altında verilmektedir.

4) **Kohort 3'ün Dahil Edilmesi**

Kohort 3 (gelişimsel immünotoksisite) için tetikleyicilerin (koşulların) ana kavramları, (gelişimsel) immünotoksisite için özel endişeye dayanır¹⁵². Özel bir endişe, endişenin (gelişimsel) immünotoksisiteye özgü olması gerektiği, ancak aynı zamanda endişenin belirli bir ciddiyet düzeyine ulaşması gerektiği anlamına gelir. KKDİK Ek 8, 8.6.1'deki metne dayanarak, örneğin ciddi veya şiddetli etkiler¹⁵³ gibi özel bir endişenin belirtilebileceği anlaşılabilir.

¹⁵² Hem immünotoksisite hem de gelişimsel immünotoksisite için özel endişeler ele alınabilir. Bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#) içerisinde "(gelişimsel) nörotoksisite ve/veya immünotoksisite araştırmasıyla ilgili genel hususlar" ve "Gelişimsel nörotoksisite veya immünotoksisite çalışmaları için öneriler" altındaki tartışma incelenebilir.

¹⁵³ Ciddi veya şiddetli bir etki, düzenleyici sonuçları olan, yani NOAEL değerlerine yol açan ve/veya zararlılık sınıflandırmasına katkıda bulunan bir etkidir. Bu nedenle, özel bir endişe, maddenin düzenleyici karar vermeye katkıda bulunan (gelişimsel) immünotoksik özelliklere sahip olması beklentisidir. Bu aynı zamanda diğer sistemik toksisiteye ikincil olmadıkları anlamına gelir.

KKDİK Ek 9/10, 8.7.3, Sütun 2'deki yasal metinde verilen örnekler, "olumsuz etkilerin kanıtı" ve "olumsuz etkilerle ilişkili" bulgular gibi ifadelerle sahip özel bir endişe için tetikleyicilerin "ciddiyet seviyesi" hakkında rehberlik sağlar. Maddenin gelişimsel immünotoksik olabileceğine dair makul bir beklenti uyandırmak için tüm bilgileri tartan yeterli kanıt olmalıdır (tetikleyicilerin değerlendirilmesi için bkz. bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#)).

KKDİK, (gelişimsel) immünotoksisite ile ilgili özel bir endişe varsa Kohort 3'ü (gelişimsel immünotoksisite kohortu) içeren genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının kayıt ettiren tarafından önerileceğini veya ÇŞB tarafından talep edilebileceğini belirtir.

Gelişimsel immünotoksisite için özel bir endişenin koşulları:

- İlgili *in vivo* veya hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilen maddenin kendisi hakkındaki mevcut bilgiler veya
- (gelişimsel) immünotoksisite ile ilişkilendirilen maddenin belirli etki mekanizmaları/şekilleri veya
- bu tür etkileri veya etki mekanizmaları/şekillerini öneren yapısal olarak incelenen maddeye benzeyen maddelerin neden olduğu etkilere ilişkin mevcut bilgiler.

Kesin yasal metin için KKDİK yönetmeliği, Ek 9 ve 10, 8.7.3 incelenmelidir. Kayıt ettiren, bulguları kaydetmeli ve Kohort 3'ü dahil etme ihtiyacı için tetikleyicilerin varlığını veya yokluğunu gerekçelendirmelidir.

Gelişimsel immünotoksisite kohortunun dahil edilmesini gerekçelendiren özel bir endişeyi gösterebilecek maddeye özel bulgu örnekleri:

- Hematoloji/klinik kimya ve/veya organ ağırlığındaki immünotoksisite ile bağlantılı en az iki (istatistiksel olarak anlamlı ve) biyolojik olarak anlamlı değişikliğin birleşimi, örn. dalak ağırlığında azalma ile birlikte lökosit sayısında azalma.
- Bir immünojen organına ilişkin istatistiksel ve/veya biyolojik olarak anlamlı bir şiddetli (bkz. dipnot 43) organ ağırlığı veya histopatolojik bulgu (örn. timus atrofisi).
- (solunum) hassasiyeti (yalnızca destekleyici faktör olarak)
- Doğuştan gelen (örn. NK hücre işlevi, fagositoz ve oksidatif patlama) veya edinilmiş bağışıklığı (örn. immünojenik bellek, sitotoksik T hücreleri ve antikor üretimi) içeren bağışıklık işlevindeki değişiklikler hakkında bilgi
- Östrojenisite (Adori ve ark., 2010) ve androjenite (Trigunaita ve ark., 2015) gibi bağışıklık sistemiyle açık bir şekilde ilişkilendirilen hormonal etki mekanizmaları/şekilleri hakkında bilgiler.
- Yapısal veya fonksiyonel immünotoksisiteye neden olan veya benzer bir etki mekanizması/şekli öneren bir maddeyle yapısal benzerlik (maddeye özgü bulgular için yukarıdaki örneklere bakın)
 - benzer bir maddeden tetikleyici/tetikleyicileri kullanmak için bir yaklaşımın yeterliliği gerekçelendirilmelidir

İmmünotoksisite için DSÖ Rehber dokümanı, immünotoksisite testi için potansiyel tetikleyicilere ilişkin başka örnekler sağlar (DSÖ, 2012). *In vivo* (yetişkin hayvanlar) bulunan veya *in vitro* veya *in silico* olarak tahmin edilen herhangi bir bağışıklık parametresi üzerindeki tüm etkiler, gelişmekte olan bağışıklık sistemi üzerinde etkiye sahip olabilir. Bu etkiler, bağışıklık için özel organları veya periferik kandaki hücre popülasyonlarını inceleyen hücre sayımlarında veya histopatolojide nicel veya nitel değişiklikler olarak tanımlanabilir, ancak aynı zamanda antikor üretimi, gecikmiş tip aşırı hassasiyet testi (sitotoksik T hücre aktivitesi araştırmak için), lenfosit çoğalması, NK hücre fonksiyonu, fagositoz ve oksidatif patlama gibi fonksiyonel sonlanma noktalarını da içerebilir.

Tanımlanan tetikleyiciler, mevcut verilerdeki diğer bulgularla çelişmemelidir. *In vivo* çalışmalardan ve kullanılan hayvan dışı yaklaşımlardan gelen tetikleyicilerin uygunluğu ve kalitesi yeterince belgelendirilmeli ve gerekçelendirilmelidir. Tetikleyicilerin değerlendirilmesi bu Rehberde [Ek R.7.6-5](#) 'te açıklanmaktadır.

Ek R.7.6–3 Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında çiftleşme öncesi maruz kalma süresi (B.56, OECD Test Rehberi 443)

1. Çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin önemi

Üreme sistemi toksisitesi çalışmasında, doğurganlık parametrelerinin ve dolayısıyla doğurganlık üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerin ne kadar iyi değerlendirilebileceğini etkileyen iki ana husus, çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğu ve doz seviyesi ayarlamasıdır.

Üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doğurganlık bölümü, hem risk değerlendirmesi hem de kategorizasyon dahil olmak üzere sınıflandırma için yeterli olacak şekilde doğurganlık hakkında bilgi sağlayabilmelidir. Sınıflandırma amacı için, doğurganlık üzerindeki etkilerin tam yelpazesini oluşturmak ve değerlendirmek önemlidir. Sadece en hassas etkiyi tespit etmek sınıflandırma kategorizasyonuna karar vermek için yeterli olmayabilir, çünkü karara yardımcı olmak için tüm etkilerin türü, büyüklüğü, görülme sıklığı ve şiddeti (MIST bilgileri) birlikte değerlendirilmelidir.

Kayıt ettiren, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında (B.56, OECD Test Rehberi 443) on haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi uygularsa, çiftleşme öncesi maruz kalma süresi için herhangi bir gerekçeye gerek yoktur. On haftadan daha kısa süre çiftleşme öncesi maruz kalma süresi öneriliyorsa, maddeye özel gerekçeler verilerle doğrulanmalıdır.

Kadın ve erkek üreme sistemi toksisitesi hakkında daha fazla bilgi, üreme sistemi toksikolojisi kitaplarının ilgili bölümlerinden elde edilebilir (Korach (1998) Üreme ve gelişim toksikolojisi; Gupta (2011) Üreme ve gelişim toksikolojisi gibi).

1.1 Doğurganlık üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi için ana parametreler

Çiftleşme/doğurganlık

Çiftleşme ve doğurganlık, çiftleşme davranışı ve doğurganlık sonucu üzerindeki etkileri içeren fonksiyonel parametrelerdir. Çiftleşme öncesi aralık, çiftleşme indeksi, doğurganlık indeksi, implantasyon öncesi kayıp, implantasyon sonrası kayıp, korpora lutea sayısı, implantasyon sayısı, rezorpsiyon sayısı, ölü fetüsler, düşükler, gebelik süresi, yavru boyutu ve canlı yavru sayısı gibi parametreler doğurganlık üzerindeki ölçülen etkilerdir (bu parametrelerden bazıları gelişimsel toksisiteyi de yansıtabilir).

Çiftleşme öncesi maruz kalma uzunluğu, eğer madde 1) ilk eşey hücresi gelişimi, bunların göçü ve/veya embriyo/fetüste çoğalması üzerinde olumsuz etkilere neden olursa, 2) sperm gelişimi ve olgunlaşması üzerinde olumsuz etkilere neden olursa, 3) folikül gelişimi ve/veya yumurta gelişimi üzerinde olumsuz etkilere neden olursa, 4) beynin cinsel gelişimi üzerinde olumsuz etkilere neden olursa, 5) hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerinde etkilere veya hormonal kontrol mekanizmaları üzerinde başka etkilere neden olursa, çiftleşme ve doğurganlık parametrelerini etkileyebilir.

İlk eşey hücreler, embriyonik gelişim sırasında halihazırda gelişmiş, göç etmiş ve çoğalmıştır. Gonadların histopatolojik analizine, organ ağırlığı ölçümlerine ve sperm parametresi analizine ek olarak, bu erken aşamalarda eşey hücresi gelişimi/göçü/çoğalması üzerindeki olumsuz etkiler ve ayrıca yukarıda listelenen diğer etkiler, yalnızca halihazırda rahim içinde (*in utero*) olan hayvanlar maruz bırakılarak ve sonra yetişkinliğe ve bunların çiftleşmesine kadar tam olarak değerlendirilebilir. Bu tam değerlendirme, Kohort 1B hayvanlarının çiftleşmesi ve yavru olması, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında tetiklenirse mümkündür (B.56, OECD Test Rehberi 443).

Doğurganlık üzerindeki etki, rahim içi, doğum sonrası dönemde veya yetişkinlikte maruz kalmaya bağlı olabilir. Bazı durumlarda, doğurganlık üzerindeki etkilerin gelişimsel kökenli olduğu sonucuna varmak mümkün olabilir. Hem ebeveyn hayvanlarda hem de yavrularında doğurganlık hakkında bilgi olması ve doğurganlık üzerindeki etkilerin sadece olgun yavrularda görülmesi buna bir örnektir.

Sperm parametreleri analizi

Sperm parametreleri analizi, örneğin, toplam kauda epididimal sperm sayısını, artan şekilde hareketli sperm yüzdesini, morfolojik olarak normal sperm yüzdesini ve hayvanlar için her bir tanımlanmış anormallik bulunan potansiyel sperm yüzdesini içerir. Sperm sayısı, kauda epididimis içerisindeki (bazen homojenleşmeye dirençli spermatid sayıları olarak testisten de olmak üzere) sperm sayısının sayılmasıyla ölçülür.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında (B.56, OECD Test Rehberi 443) bu parametreler, sonlandırma sırasında hem P hem de F1 erkekler için rapor edilecektir. Standart bilgi gereklilikleri olarak KKDİK Yönetmeliğinde gerekli olan diğer çalışmalar normalde sperm parametresi analizinden elde edilen sonuçları raporlamaz.

Sperm parametreleri analizi, kauda epididimal sperm sayısı ve bunların hareketlilik ve morfolojik normallik açısından kalitesi hakkında bilgi verir. Bir sperm parametresi analizinden elde edilen sonuçlar, maruz kalma bu iki dönemi de kapsayacak kadar uzunsa, testislerde spermatojenik döngü ve epididimal olgunlaşma sırasındaki etkileri yansıtır. Spermin yumurtaları dölleme, canlı ve sağlıklı yavrular üretme kabiliyeti, üreme sistemi toksisitesi çalışmalarında hayvanlar çiftleştirilerek ve yavru lamalarına izin verilerek incelenir. Sperm parametrelerinin ölçümü çiftleşmeye yakınsa, aynı yaşam aşamaları boyunca aynı maruz kalma geçmişi ile doğurganlık üzerindeki etkilerin değerlendirilmesine yardımcı olur ve destekler. Sperm parametreleri, insanlarda sperm kalitesinde/sayısında ufak bir azalmanın bile doğurganlık için kritik olabilmesi nedeniyle önemli bilgiler sağlayabilir.

Östrus döngüsü

Östrus döngüsü ölçümleri, dişilerin tepkiselliğini etkileyen hormonal seviye değişikliklerinin normalliğini yansıtır. Hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninin işlevi üzerine doğrudan ölçümler genellikle üreme sistemi toksisitesi çalışmalarında yapılmaz. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında, östrus döngüsünün çiftleşmeden önce ve ayrıca cinsel olgunluktan sonra ölçülmesi önemlidir.

Gonadlar ve yardımcı cinsel organların organ ağırlıkları

Diğer parametrelerle birlikte, gonadların ve yardımcı cinsel organların organ ağırlıkları, doğurganlık üzerindeki etkileri tahmin edebilir. Bu ölçümler yalnızca sonlandırma sırasında yapılabilir. Bu nedenle, bu bilgi P erkeklerinden çiftleşmeden hemen sonra, ancak P dişilerinden ancak süttten kesildikten sonra elde edilebilir. Bununla birlikte, ölçümler diğer bilgilerle mümkün olduğunca yakın yapılmalıdır çünkü aynı maruz kalma geçmişinden sonra çeşitli kaynaklardan gelen bilgiler, tüm verilere dayalı olarak doğurganlık üzerindeki etkilerin birleşik ve anlamlı bir şekilde değerlendirilmesine izin verir.

Gonadlar ve yardımcı cinsel organların histopatolojisi

Testis, yumurtalık ve yardımcı cinsel organların histopatolojisi ancak sonlandırma sırasında yapılabilir. Testislerin histopatolojik değerlendirmesi, Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve spermin çeşitli gelişim aşamaları bulunan seminifer tübüller dahil olmak üzere testislerin yapısal normalliğinin değerlendirilmesine izin verir (örn., Russell ve ark., 1990). Bilgiler genellikle niteldir ve nicel ölçümler yapılmaz ve test yöntemlerinde gerekli değildir. Bu nedenle, spermin çeşitli gelişim aşamalarının miktarı da dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinin miktarını yargılamak mümkün olmayabilir. Bir gelişim aşamasında spermde azalma olabilir, ancak değerlendirilmesi zor olabilir. Histopatolojik değerlendirme, çok çekirdekli hücrelerin mevcut olup olmadığını veya belirli hücre tiplerinin miktarında veya gelişim aşamalarında önemli bir azalma varsa sperm gelişimi üzerinde başka bir etki olup olmadığını ortaya çıkarmalıdır. Elde edilen bilgiler, testislerin morfolojik normalliği ile ilgilidir ancak fonksiyonel doğurganlık ve spermin yumurtaları dölleme yeteneği hakkında bilgi vermez.

Yumurtalıkların histopatolojik değerlendirmesi karmaşıktır. Yumurtalık yapısı düzenli değildir ve çeşitli gelişim aşamalarındaki foliküller, net bir sistem olmadan organa dağılır. Bu nedenle, farklı gelişim aşamalarındaki folikülleri saymak, histopatolojik inceleme için birkaç kesit gerektirir. Toksikite gösteren çeşitli hücre tiplerinin (örn. granüloza hücreleri ve teka hücreleri) nicel değerlendirmesi genellikle test yöntemlerinde yapılmaz veya gerektirilmez.

İlk foliküllerin sayısı (küçük büyüyen foliküller ile birleşebilir), genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında F1 hayvanlarında gelecekteki yumurtlamalar için potansiyel yumurta sayısını yansıtan şekilde sayılır.

İlk ve küçük büyüyen foliküllerin sayısı, dişilerin gerçek fonksiyonel doğurganlığı hakkında bilgi vermez, ancak folikül sayısı azalırsa bu gonad toksisitesinin açık bir göstergesidir ve doğurganlık üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde dikkate alınmalıdır.

Yardımcı cinsel organların histopatolojisi, bu organların nasıl geliştiği ve morfolojik normallikleri hakkında değerli bilgiler sağlar. Bilgiler diğer doğurganlık bulguları ile birlikte değerlendirilmelidir.

Etki yelpazesinin tam görünüşünü anlayabilmek için, çiftleşme dahil olmak üzere diğer etkilerle aynı maruz kalma süresi ve geçmişinden sonra histopatolojik bulguları analiz edebilmek önemlidir. Morfoloji hakkında bilgi, değerlendirmede önemli bir parametredir, ancak tek başına bir ölçüm olarak morfolojiye odaklanmak, doğurganlığın tüm ilgili yönlerinin kapsamlı bir resmini sağlamak için çok sınırlıdır. Bununla birlikte, sınıflandırma için yeterli olabilir (örneğin, tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından elde edilen histopatoloji bulguları, tek başına üreme sistemi toksisitesi için kategori 1B'ye sınıflandırma kriterlerini karşılayabilir).

1.2 On haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi

Sperm olgunlaşması olmadan tam spermatogenez ve folikülogenez, sıçanlarda sırasıyla 48-53 ve 62 gün sürer (örn. Kerr ve ark., 2006; McGee ve Hsueh, 2000). Spermatogeneze ek olarak, sıçanlarda sperm olgunlaşması epididimlerde yaklaşık iki hafta sürer. Maruz kalma yeterince uzun olduğunda, tüm aşamalar boyunca hem sperm hem de folikül gelişimini kapsar. On haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, tam spermatogenez ve olgunlaşmayı kapsar, yani sperm spermatogoniden olgun sperme doğru gelişim döngüsünün tamamı maruz kalır. Bu nedenle, on haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, aynı anda değerlendirilen erkeklerde olası tüm parametrelerden gelen bilgileri birleştirerek doğurganlık üzerindeki olumsuz etkilerin değerlendirilmesine olanak tanır. Benzer şekilde, yaklaşık 62 gün süren folikülogenez, ancak on hafta gibi uzun bir maruz kalma döneminden sonra tamamen kapsanır. Doğurganlık üzerindeki olası herhangi bir potansiyel olumsuz etkiyi değerlendirebilmek için, sperm ve foliküllerin tüm gelişim aşamalarını çiftleşmeden önce ortaya çıkarmak önemlidir. Spermatogenezin erken aşamalarının genellikle kimyasal ve radyasyona maruz kalmaya sonraki aşamalardan daha hassas olduğu bildirilmiştir (Sjöblom ve ark., 1995), bu da maruz kalmanın çiftleşmeden önceki tüm aşamaları kapsaması gerektiğini destekler.

Doğurganlık etkilerinin sınıflandırılmasına karar verirken sıklıkla ihtiyaç duyulan, doğurganlık üzerindeki etkilerin kapsamlı bir değerlendirmesi için, doğurganlık üzerindeki etkilerin tam yelpazesinin değerlendirilmesi gereklidir. Sınırlı sayıda parametreden elde edilen bilgiler, doğurganlık üzerinde etkilerinin olmadığı konusunda bir sonuca varılmasına izin vermez. En iyi sonuç, bir tam spermatogenez döngüsü (sperm olgunlaşması dahil) ve folikülogenez kapsayan bir maruz kalmadan sonra çiftleşmeye izin verildiğinde ve sperm parametrelerinin, organ ağırlıklarının ve gonadların ve yardımcı cinsel organların histopatolojisinin analizinin aynı maruz kalma geçmişinden sonra yaklaşık aynı zamanlarda yapıldığında elde edilebilir.

Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında (B.56, OECD Test Rehberi 443), sperm parametreleri analizi, organ ağırlıkları ve testis ve yardımcı cinsel organların histopatolojisi ile birlikte on haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi erkekler için aynı maruz kalma geçmişiyle elde edilebilir. Dişiler için organ ağırlığı ölçümleri ve gonadların ve yardımcı cinsel organların histopatolojik analizi ancak daha sonra yapılabilir ve çiftleşmeye yakın gerçekleştirilemez. Ancak, en önemli hususun dişi gonadların maruz kalma süresinin çiftleşmeden önce folikülogenezini kapsaması olduğu düşünülmektedir.

Gonadların organ ağırlıkları (örn. Bailey ve ark., 2004; Sellers ve ark., 2007; Hood ve ark., 2011) ve/veya histopatolojisi (ör. Jacobson-Kram ve Keller, 2006) erkek doğurganlığı için en hassas parametreler arasında olabilir. Örneğin, testis ağırlığı oldukça kararlı bir parametredir çünkü genellikle vücut ağırlığındaki küçük veya orta dereceli değişikliklerden etkilenmez.

Birden fazla çalışma, testislere karşı vücut ağırlığı ile testislere karşı beyin ağırlığı arasında bir ilişki kurmamıştır (Bailey ve ark., 2004). Bu nedenle, testis ağırlığındaki değişikliklerin testisler içindeki doğrudan etkilerle bağlantılı olacağı sonucuna varılabilir.

Olumsuz etkiyi gösteren en hassas parametre, NOAEL türetmek için kullanılır. Bununla birlikte, en hassas parametrelerden elde edilen bulgular, kategorizasyon da dahil olmak üzere sınıflandırmaya karar vermek için yeterli olmayabilir çünkü NOAEL değeri sınıflandırma için öngörücü değildir ve (diğer) etkiler, NOAEL değerine yol açan etkiden çok sınıflandırma amaçları için daha alakalı olabilir. Sınıflandırma ve etiketleme için önemli olan, gözlemlenen etkilerin açıklığı ve yelpazesidir. Bu nedenle, doğurganlığı kategorizasyon da dahil olmak üzere sınıflandırma ve etiketleme amaçları için ele almak üzere, mevcut tüm parametrelerin doğurganlık sonlanma noktasını ne kadar iyi ele aldığını değerlendirmek gerekir. Tüm etkilerin türü, büyüklüğü, görülme sıklığı ve şiddeti (MIST) hakkındaki bilgiler, kategorizasyon dahil olmak üzere sınıflandırma üzerindeki etki gösterir. Kritik üreme özelliklerini kapsayan maruz kalma süresinden sonra ve aynı maruz kalma geçmişinden sonra çeşitli parametrelerin değerlendirilmesi, değerlendirmenin kalitesini artırır.

Kimyasal maddeler, böcek ilaçları, yüksek sıcaklıklar ve radyasyon gibi çevresel faktörler kısır erkeklerde sperm DNA bütünlüğünün azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Evgeni ve ark., 2014). DNA parçalanması gibi sperm üzerindeki bazı etkilerin doğurganlığı etkileyebileceği ve rutin gonadal histopatoloji (morfoloji) veya sperm analizi ile incelenemeyeceği unutulmamalıdır. İnsan spermi DNA parçalanması ile konvansiyonel sperm parametreleri arasındaki olası ilişkiyi araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Çoğu, DNA parçalanma oranı ile sperm kalitesi arasında ters bir ilişki bulmuştur (Evgeni ve ark., 2014).

Buna karşılık, birçok yazar, DNA parçalanması ile sperm konsantrasyonu, hareketlilik ve morfoloji gibi standart sperm parametreleri arasında ilişki bulmada başarısız olmuştur (Evgeni ve ark., 2014). Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443), sperm DNA hasarı değerlendirmesini dikkate almaz ve sonuç olarak, sperm DNA bütünlüğünde azalmanın rutin histopatolojide veya sperm parametresi analizinde ortaya çıkmadığı vakaları tanımlamaz.

Kan testis bariyeri, seminifer tübüller içindeki kan ve sıvı arasında büyük proteinlerin ve bazı ksenobiyotiklerin serbest değişimini engeller (bkz. Gupta, 2011, sayfa 14). Bu, maddenin gelişmekte olan spermere ulaşması için gereken süreyi uzatabilir ve bu da uzun bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresini destekleyebilir. Bu nedenle, bir maddenin kan seviyesi ölçümleri, belirli bir zamanda seminifer tübüller içindeki maruz kalma seviyelerini yansıtmayabilir. Spermatogenezin çeşitli gelişim aşamalarını temsil eden tüm farklı hücre tipleri testiste aynı anda mevcuttur ve belirli bir gelişim aşaması veya aşamaları için olumsuz bir etkinin tespit edilmesine izin verebilir. Bununla birlikte, birkaç ardışık aşamada maruz kalmayı gerektiren potansiyel bir birikimli etki, sınırlı maruz kalma süresi ile tespit edilemez.

Özetle, on haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, uygun doz seviyesi seçimi ile birlikte, SEA Yönetmeliğine göre ve risk değerlendirmesi için cinsel fonksiyon ve doğurganlığa ilişkin zararlılık sonlanma noktası için kategorizasyon dahil sınıflandırma ve etiketleme amaçlı bilinçli bir karar vermek üzere veri üretimine izin veren unsurlardan biridir.

1.3 On haftadan daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresi

On haftadan daha kısa olan çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, maddeye özel gerekçelere dayanılarak kullanılabilir, ancak 2 haftadan kısa olamaz. Daha uzun bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin daha fazla veya daha şiddetli etkilere neden olmayacağını varsayılmasının nedenini dikkate almak ve belgelemek önemlidir.

İki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, olgunlaşan spermatozoanın epididimal geçiş süresine eşittir ve bu nedenle, sadece çiftleşmede sperm üzerindeki post-testiküler etkilerin saptanmasına izin verir (spermleşme ve epididimal sperm olgunlaşmasının son aşamalarında). İki haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma ile, yukarıda başlık 1.2 içerisinde açıklandığı gibi, spermatozoa gelişiminin bu erken aşamalarında maruz kalmanın fonksiyonel doğurganlık üzerindeki etkileri kapsanmayacaktır.

OECD Rehberi 151'e göre iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin erkek üreme sistemine toksik maddelerinin çoğunu tespit etmek için yeterli olduğu kabul edilir.

Dişiler için, iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi 2-3 östrus döngüsünü kapsar ve döngüsellik üzerindeki etkiler tespit edilebilir. Bir etkinin tespiti NOAEL türetilmesi için yeterli olabilir, ancak kategorizasyon dahil sınıflandırma ve etiketleme amaçları için, etkilerin büyüklüğü, görülme sıklığı, şiddeti ve tüm etki türleri hakkında bilgi, yani etkilerin tüm yelpazesi önemlidir (bkz. 1.2 başlığı altındaki metin).

Tam spermatojenik dönem ve yumurtalık folikülogenezinde maruz kalma, çiftleşme anında kapsamaz, bu nedenle, sadece iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi seçildiyse, spermatogenezin ve folikülogenezin erken aşamalarındaki etkiler fonksiyonel doğurganlık incelemesine yansıtılamaz. Bu bir dezavantajdır ve sınırlı bilgiler, doğurganlık üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerin kategorizasyon dahil sınıflandırılması için yeterli değerlendirmeye izin vermeyebilir. Tarama çalışması (OECD Test Rehberi 421 veya 422) için histopatolojik verilerin, tüm çalışmanın sınırlı süresi ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması gibi daha kapsamlı üreme sistemi toksisitesi çalışmasına kıyasla sınırlı istatistiksel güç nedeniyle de sınırlı olacağı unutulmamalıdır.

İki haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, maddenin kategori 1B üreme sistemine toksik madde kriterlerini karşılayıp karşılamadığına karar vermek üzere uygun sonuçları üretmek için çok kısa olabilir ve bu nedenle sınıflandırma ve etiketleme amaçları için yeterli olmayabilir. Aşağıda 2. madde altında, on haftadan daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uygulanabileceği durumlar için bazı hususlar sunulmuştur. Bu durumlarda, maddeye özel gerekçeler sağlanmalıdır.

2. On haftadan daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin yeterli olup olmadığına karar verirken dikkat edilecek hususlar

2.1 Başlangıç Noktası

Doğurganlık sonlanma noktasını yeterince değerlendirmek için, çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin uzunluğunu dikkate almaya başlamak için en iyi süre on hafta olmalıdır. On hafta, tam spermatogenez, sperm olgunlaşması ve folikülogenezi kapsayarak, aynı maruz kalma geçmişinden sonra etkilerin tam spektrumuyla anlamlı bir değerlendirme sağlar.

Maddeye özgü gerekçelere dayanarak, daha kısa bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi önerilebilir, ancak bu tür kinetik bilgiler mevcutsa (üreme organlarında) kararlı hale ulaşmak için iki haftadan daha kısa olmamalıdır ve yeterince uzun olmalıdır.

2.2 Mevcut bilgilerin on haftadan daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresini destekleyebileceği durumlara örnekler

Kayıt ettiren on haftadan başka bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresini tercih ederse, yeterli verilerle desteklenmiş kabul edilebilir maddeye özel bir bilimsel gerekçe sunulmalıdır.

Böyle bir mantık, *doğurganlık üzerindeki etkilerin zaten yeterince ele alındığı* ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının gelişimsel toksisiteyi ele almak için kullanıldığı durumda olabilir. (Bununla birlikte, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasına eşdeğer bilgi sağlamadığı ve bu nedenle doğum öncesi gelişim toksisitesi çalışmasının yerini alamayacağı belirtilmelidir)

İyi kalitede tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından (B.34, OECD Test Rehberi 415) veya doğurganlık parametrelerini ele alan benzer bilgilerden elde edilen mevcut bilgiler olabilir. İyi kalitede tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına ilişkin bilgi mevcutsa, doğurganlık parametreleri normal olarak yeterli istatistiksel güçle kapsar ve planlanmış genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında çiftleşme öncesi maruz kalma süresi daha kısa olabilir.

KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'teki standart bilgi gerekliliğini ele almak için genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına normalde hala ihtiyaç vardır çünkü tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.34, OECD Test Rehberi 415) F1 hayvanlarının uzatılmış maruz kalma süresi ve aynı parametreleri (örn. cinsel olgunluk ve hormonal aktivite) kapsamaz.

İlave olarak, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'ün 2. sütun hükümleri, tetiklenirse, tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması tarafından kapsamaz (daha fazla ayrıntı için, bkz. genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) ve ayrı gelişimsel nörotoksosite ve ayrı immünotoksosite çalışmaları için "Gelişimsel nörotoksosite veya immünotoksosite çalışmaları için öneriler" bölümü altında bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#)).

Doğurganlık parametrelerini ele alan kaliteli iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından (B.35, OECD Test Rehberi 416) elde edilen bilgiler mevcut olabilir. İyi kalitede iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması hakkında bilgi mevcutsa, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3'teki standart bilgi gerekliliği kapsar ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına ihtiyaç olmayabilir. Bununla birlikte, kayıt ettiren, tetikleyiciler karşılanırsa gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite ile ilgili sütun 2 hükümlerini yerine getirmelidir. Bu durumlarda kayıt ettiren, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması yerine ayrı gelişimsel nörotoksosite ve/veya gelişimsel immünotoksosite çalışması önererek uyarlama gerekliliklerini karşılamayı düşünebilir.

Benzer şekilde, mevcut bir iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında değerlendirilmeyen ancak genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında ölçülecek endokrin bozucu etki şekilleri/özellikleri ile ilgili endişeler varsa, kayıt ettiren bu endişeleri ayrı çalışmalarda ele almayı düşünebilir veya yürütülecek diğer çalışmalarla ilgili parametreler ekleyebilir (daha fazla ayrıntı için bkz. genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması için bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) ve ayrı gelişimsel nörotoksosite veya ayrı immünotoksosite çalışmaları için "Gelişimsel nörotoksosite ve immünotoksosite çalışmaları için öneriler" altında bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.3](#)).

Mevcut bilgilere dayanan doğurganlık etkilerinin Üreme sistemi toksisitesi Kategori 1B kriterlerini karşıladığı durumlar da olabilir, ancak sütun 2 uyarlaması (KKDİK Ek 9/10, 8.7) gelişimsel toksisite ile ilgili daha fazla endişeden dolayı uygulanamaz. Doğurganlık etkilerine ilişkin bu bilgiler, örneğin, iyi kalitede tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları (cinsel organ ağırlıkları, gonadların ve/veya yardımcı cinsel organların histopatolojisi, sperm parametreleri analizi), tarama çalışmaları (OECD Test Rehberi 421 veya 422; örn. azalmış doğurganlık, kardeş grubu boyutu) veya eşdeğeri çalışmalar kaynaklı olabilir. Bu durumlarda, doğurganlık halihazırda ele alındığı için, gelişimsel toksisiteyi ele almak için yapılırsa, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresi düşünülebilir. Bu çalışmalardan elde edilen etkiler sadece doğurganlık için Üreme sistemi toksisitesi Kategori 2 sınıflandırma kriterlerini karşılıyorsa, bulguların daha kapsamlı bir üreme sistemi toksisitesi çalışmasında (B. 56, OECD Test Rehberi 443) teyit edilmesi gerektiğinden, bunlar çiftleşme öncesi maruz kalma süresini azaltmak için bir savunma olarak kullanılmamalıdır.

Organ ağırlıklarında veya üreme organlarının histopatolojisinde hiçbir etki göstermeyen ve ayrıca spermatogenez ve folikülojenezi de kapsayan 90 günlük mevcut tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından iyi kalitede bilgiler olabilir. Bununla birlikte, bu bilgiler tek başına veya bir tarama çalışmasının sonuçlarıyla (OECD Test Rehberi 421 veya 422), on haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresini kısaltmak için yeterli güven sağlayamayabilir. Bunun nedeni, bir tarama çalışmasından elde edilen çiftleşme ve doğurganlık hakkındaki bilgilerin yanı sıra tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından elde edilen verilerin sınırlı olmasıdır. Tarama çalışmalarından elde edilen çiftleşme ve doğurganlık verileri (OECD Test Rehberi 421 veya 422), tam spermatogenez ve folikülojenezi kapsamayan iki haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresinden sonradır ve ayrıca hipotalamus-hipofiz-gonad eksenindeki toksisiteyi saptamak için yeterince uzun olmayabilir. Ek olarak, üreme sistemi toksisitesi hakkında kapsamlı bilgi sağlamayı amaçlamadıkları için bu çalışmalarda istatistiksel güç düşüktür. 90 günlük tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, organ ağırlıkları ve histopatoloji hakkında bilgi sağlayabilir ancak çiftleşme verileri sağlamaz. 90 günlük çalışmadaki istatistiksel güç, histopatoloji verileri de dikkate alındığında, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasından daha düşüktür. Ek olarak, maruz kalma süresi ve maruz kalma geçmişi, tarama çalışmalarında (OECD Test Rehberi 421 veya 422) ve 90 günlük çalışmalarda farklıdır. Bu nedenle, bu bilgilere dayanarak, söz konusu bir madde için iki haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin yeterli olduğu sonucuna varmak zor olabilir. Bununla birlikte, kayıt ettiren, çok düşük genel toksisite (mevcut çalışmalardan herhangi birinde 1000 mg/kg vücut ağırlığı/gün sınırına kadar hiçbir etkisi olmaması), hızlı eliminasyon, cinsel organlara, yardımcı cinsel organlara ve beyne dağılım olmaması ve eşey hücre toksisitesi/mutajenite ile ilgili hiçbir endişe olmaması (eşey hücre mutajenite testinde etki olmaması) gibi gerekçeleri birlikte destekleyebilecek unsurları sağlayabilecek ilave bilgilere sahip olabilir.

Maddeye özel gerekçeler, yeterli verilerle doğrulanmalıdır.

28 günlük bir tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından üreme organı ağırlıklarında ve histopatolojisinde hiçbir etki göstermeyen veya bir miktar etki gösteren sonuçlar genellikle on haftadan daha kısa bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresinin gerekçelendirilmesi için kesin bilgi sağlamaz. Öncelikle, çalışmanın uzunluğu sadece 28 gündür ve tam spermatogenez ve folikülogenezi kapsamamaktadır ve hayvan sayısının az olması nedeniyle istatistiksel güç düşüktür.

Son olarak, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında Kohort 1B'deki hayvanlar, F2 neslini üretmek için çiftleştirilirse, bu Kohort 1B hayvanları için çiftleşme öncesi maruz kalma süresi on hafta olacak ve doğurganlık üzerindeki tam etki yelpazesinin değerlendirmesine izin verecek şekilde doğurganlık parametreleri kapsanacaktır. Bu durumlarda, ebeveyn (P) hayvanlar için daha kısa çiftleşme öncesi maruz kalma süresi düşünülebilir. Göz önünde bulundurulması gereken, daha uzun bir çiftleşme öncesi maruz kalmadan sonra P hayvanlarından elde edilen bulguların (klinik belirtiler, klinik kimya, hematoloji gibi) F1 hayvanlarındaki bulguların yorumlanması için önemli bilgiler sağlayıp sağlamayacağını (örneğin bu tür bulguların potansiyel gelişimsel kaynağı göz önünde bulundurulduğunda) dikkate almaktır. Zararlılık sınıfı sınıflandırmasının sonuçlarının, sonuçların kaynağının yorumlanmasına dayalı olarak farklılık gösterebileceği unutulmamalıdır (belirli hedef organ toksisitesi ve gelişimsel toksisite için sınıflandırmadaki farklılıklar).

3. Özet

Doğurganlık üzerindeki etkileri tam olarak değerlendirmek için, tüm kritik yönler ve gelişim aşamaları üzerindeki etkiler kapsanmalıdır; bu sadece hayvanların rahim içindeyken (*in utero*) maruz bırakılarak ve daha sonra yetişkinliğe ve çiftleştirilmesine kadar yapılabilir. Bu tam değerlendirme, Kohort 1B hayvanlarının uzatılması (çiftleştirilmesi), genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasında tetiklenirse mümkündür (B.56, OECD Test Rehberi 443). On haftalık çiftleşme öncesi maruz kalma süresi, çiftleşmiş Kohort 1B hayvanlarında da kapsamaktadır.

Kohort 1B hayvanlarının uzatılması tetiklenmezse, başlangıç noktası on haftalık bir çiftleşme öncesi maruz kalma süresi olmalıdır. Bu, cinsel organlar (spermatogenez ve folikülojenez), yardımcı cinsel organları, hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerindeki erken etkilerin ve örneğin ilgili organ ve dokulara uzun süreli dağılım veya herhangi bir birikimin sonuçlarının değerlendirilmesine izin verir.

Kayıt ettiren, başka bir uzunlukta çiftleşme öncesi maruz kalma süresi tercih edebilir ve kısaltılmış çiftleşme öncesi maruz kalma süresini desteklemek için maddeye özel gerekçelere ihtiyaç vardır.

Ek R.7.6–4 Test yaklaşımları ve uyarılama için prosedür; Aşama 3 - Aşama 3.1.1 – 3.1.8

KKDİK Ek 11'in genel uyarılama kuralları ve Sütun 2'deki belirli özel uyarılama kuralları, testlerin atlanması için olanaklar sağlar. Aşama 1'de halihazırda verilenler haricinde bu kurallar burada sunulmuştur ve Aşamalar 3.1.1 - 3.1.8'e göre testleri atlama olasılıkları, test gerçekleştirilmeden (KKDİK Ek 8 seviye testi) veya teklif edilmeden (KKDİK Ek 9 ve 10 seviye testleri) araştırılmalıdır.

Aşama 3.1.1 İLU veya Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte belirtilen test yöntemlerine göre yürütülmeyen mevcut bilgilere dayalı uyarılama (KKDİK Ek 11, 1.1.2)

KKDİK standart bilgi gereklilikleri özel bir üreme sistemi çalışmaları serisine atıfta bulunsa da, bu standart protokoller tarafından kapsanan bazı sonlanma noktalarını ele alabilecek ve yeni hayvan testlerine olan ihtiyacı azaltabilecek halihazırda yapılmış başka çalışmalar olabileceği kabul edilmektedir (KKDİK, Ek 11 1.1.2 uyarınca uyarılama). Mevcut veriler, Bölüm R4'te ([BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R4: "Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi") ana hatlarıyla belirtildiği gibi tasarımın kapsamlı olması ve kalitesi dikkate alınarak kullanıma uygunluklarını dikkate almak amacıyla değerlendirilmelidir. Bu çalışmalardan elde edilen veriler (bir veya birkaç tane), KKDİK Ek 11, Bölüm 1.1.2'deki koşullar karşılanırsa, KKDİK standart test yöntemleriyle üretilen verilere eşdeğer kabul edilir. Bu koşulların açıklayıcı bir özeti aşağıda verilmiştir:

- 1) sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için yeterli;
- 2) anahtar parametrelerin yeterli ve güvenilir şekilde kapsanması;
- 3) maruz kalma süresi ilgili bir parametre ise, maruz kalma süresi karşılaştırılabilir veya daha uzun;
- 4) yeterli ve güvenilir belgelendirme;
 - a. test edilen doz seviyeleri dahil olmak üzere çalışma tasarımının yeterli ve güvenilir raporlanması.

Diğer çalışmaların örnekleri arasında şunlar yer alır: tercih edilen türlerin dışında yürütülen eski çalışmalar; Ulusal Toksikoloji Programının (NTP)¹⁵⁴ değiştirilmiş tek nesil çalışması; İLU dışı çalışmalar; veya NTP sürekli yetiştirme çalışması gibi rehber dışı araştırmalar (Chapin ve Sloane, 1997). Bu tür çalışmalar mevcut olabilir ve sağlanan bilgilerin test yöntemi tarafından sağlanan bilgilerle eşdeğer olup olmadığı sonucuna varmak için KKDİK Ek 11, Bölüm 1.1.2'deki kriterleri yerine getirme açısından değerlendirilmelidir. Ayrıca, henüz uluslararası kabul görmeyen yeni bir test yöntemine göre yapılan bir çalışma geçerli olabilir ve eşdeğer bilgiler sağlayabilir.

İki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına (B.35, OECD Test Rehberi 416) ilişkin mevcut bilgilerin, KKDİK Ek 9/10, 8.7.3 (B.56, OECD Test Rehberi 443) standart bilgi gerekliliğini yerine getirdiğinin düşünüldüğü belirtilmelidir, çünkü bu, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasını gerektiren REACH Eklerinin revizyonundan önceki standart bilgi gerekliliği olmuştur. Daha fazla ayrıntı için, bu Rehberde iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına ilişkin Bölüm [R.7.6.4.2.4](#) incelenmelidir (B.35, OECD Test Rehberi 416).

Eski yöntemlere göre yapılan testler, maddenin toksikolojik özellikleri dikkate alınarak duruma göre değerlendirilir. Örneğin eski çalışma, mevcut test yönteminden daha kısa maruz kalma süresine sahipse, kayıt ettiren, daha kısa maruz kalma süreli çalışmanın neden endişe yaratmadığını maddeye özel savunmalar kullanarak gerekçelendirmelidir; örnek için bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.2.2](#) incelenmelidir.

Benzer şekilde, tüm anahtar parametreler ölçülmediyse, ancak eksik bilgilerin endişe verici olmadığını gösteren yeterli maddeye özel gerekçeler varsa, eski çalışma kabul edilebilir. Yukarıda KKDİK Ek 11, 1.1.2 için özetlenen koşullar karşılanmazsa, çalışma veya test, örneğin KKDİK Ek 11, 1.2 kapsamında kanıt ağırlığı uyarlaması için bir unsur olarak kullanılabilir.

Aşama 3.1.2 Mevcut insan verilerine dayalı uyarlama (KKDİK Ek 11, 1.1.3)

Genel nüfusta veya meslek gruplarında yürütülen epidemiyolojik araştırmalar, bir kimyasala maruz kalma ile üreme üzerindeki olumsuz etkiler arasındaki olası ilişkiler hakkında bilgi sağlayabilir. Klinik veriler ve vaka raporları (örn. kaza sonucu madde salımından sonra biyo-izlem) da mevcut olabilir.

Geçmiş insan verilerinin yeterliliğini değerlendirme kriterleri KKDİK Ek 11, Bölüm 1.1.3'te listelenmiştir. İstisnai durumlarda, insan verileri Üreme sistemi toksisitesi Kategori 1A için sınıflandırma kriterlerini karşılayabilir ve risk değerlendirmesi için yeterli bilgi sağlayabilir.

Aşama 3.1.3 Kanıt ağırlığı yaklaşımındaki mevcut bilgilere dayalı uyarlama (KKDİK Ek 11, 1.2)

Kanıt ağırlığı uyarlamasını kullanmanın iki olasılığı mevcuttur:

- 1) birkaç bağımsız bilgi kaynağından yeterli kanıt; veya
- 2) yeni geliştirilen test yöntemlerinin kullanımından yeterli kanıt

bir maddenin belirli bir zararlı özelliğe sahip olup olmadığı sonucuna götürür.

KKDİK Ek 11, Bölüm 1.2'de açıklanan kanıt ağırlığı yaklaşımının maddeye ve duruma özel olması ve KKDİK Ek 7 ile 10'un ilgili standart bilgi gerekliliklerini ele alması gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca, zararlılık temellidir ve bu nedenle bir maddenin belirli bir zararlı özelliğe sahip olup olmadığı gösterilmelidir. Kanıt ağırlığı yaklaşımı zararlılık temelli olduğundan, bu, maruz kalma koşullarının veya risk hususlarının yaklaşımın bir parçası olmadığı anlamına gelir. Bir maddenin belirli bir zararlı özelliğini ele almak için, kanıt ağırlığı yaklaşımının önerildiği (standart) bilgi gerekliliğinin çalışmasının anahtar yönleri/parametreleri yeterli ölçüde ele alınmalıdır.

Her durumda, bilgilerin yeterli ve güvenilir belgelendirmesinin sağlanması gerekir.

Kanıt ağırlığı yaklaşımının yeterli şekilde raporlaması ECHA Uygulamalı Rehber 2 içerisinde (http://echa.europa.eu/documents/10162/13655/pg_report_weight_of_evidence_en.pdf) açıklanmıştır.

Üreme sistemi toksisitesi için bu uyarlama kuralına göre bir kanıt ağırlığı uyarlaması yaklaşımının unsurları, üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktalarını ele alan deneysel çalışmalardan, yapısal olarak benzer maddelerle yapılan üreme sistemi toksisitesi çalışmalarından ve uygun doğrulanmış *in vitro* yöntemler, geçerli nitel ve nicel yapı-aktivite ilişkisi modelleri ((Q)SAR) veya olumsuz etki oluşum yolları (AOP) gibi hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilebilir (hayvan dışı yaklaşımlar hakkında daha fazla bilgi için bkz. Aşama 3.1.4 ve 3.1.5).

Aşama 3.1.4 QSAR yaklaşımları ve in vitro yöntemler gibi hayvan dışı yaklaşımlara dayalı uyarlama (KKDİK Ek 11, 1.3 ve 1.4)

KKDİK Ek 11, Bölüm 1.3 "Nitel veya Nicel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) ve Bölüm 1.4 "*in vitro* yöntemler" potansiyel uyarlama olasılıklarıdır.

Bununla birlikte, mevcut yöntemler, bir hayvan testinin yerini alacak şekilde üreme sistemi toksisitesi üzerindeki karmaşık sonlanma noktalarını ele almak için şu anda yeterli değildir. QSAR ve *in vitro* yöntemler, gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımlarını desteklemek için kullanılabilir ve kanıt ağırlığı yaklaşımında rol oynayabilir. Daha fazla ayrıntı için bu Rehberde Bölüm [R.7.6.4.1.1](#) incelenmelidir.

Aşama 3.1.5 Gruplandırma ve çapraz okumaya dayalı uyarılama (KKDİK Ek 11, 1.5)

Maddelerin gruplandırılması ve çapraz okuma, KKDİK Yönetmeliğinin standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için bir olasılık sunar. Çapraz okuma yaklaşımı yeterliyse, gereksiz testlerden kaçınılabilir. Çapraz okuma yaklaşımı ayrıca bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı kullanılan bir KKDİK sonlanma noktası için bir sonucu destekleyebilir.

Gruplandırma kavramının uygulanması, fizikokimyasal özellikler, insan sağlığı etkileri ve/veya çevresel etkiler için KKDİK bilgi gerekliliklerinin grup içindeki referans madde/maddeler üzerinde yapılan testlerden, hedef madde/maddeler olarak adlandırılan gruptaki diğer maddelere interpolasyon yoluyla (gruplandırma için ekstrapolasyon genellikle tavsiye edilmez) yönelik olarak tahmin edilebileceği anlamına gelir ve buna çapraz okuma denir.

Çapraz okuma yaklaşımı, her sonlanma noktasının farklı karmaşıklığa (örn. anahtar parametreler, biyolojik hedefler) sahip olması nedeniyle sonlanma noktası bazında ele alınmalıdır. Bu, çapraz okumanın (ve kategori yaklaşımının) sonlanma noktasına özel olduğu anlamına gelir.

Analog yaklaşım terimi, çok sınırlı sayıda maddeden oluşan bir grup içinde çapraz okuma kullanıldığında kullanılır.

Her durumda çapraz okuma bilimsel olarak gerekçelendirilmeli ve kapsamlı bir şekilde belgelenmelidir. Vakayı güçlendirmek amacıyla çapraz okumayı gerekçelendirmek için kullanılan birkaç kanıt yolu olabilir.

Çapraz okumaya ilişkin rehber, [BG ve KGD Rehberi Bölüm R.6 "QSAR ve kimyasalların gruplandırılması"](#) içerisinde verilmektedir. Bu bağlantıda ise daha fazla rehberlik bulunabilir: <http://echa.europa.eu/support/grouping-of-substances-and-read-across>.

Aşama 3.1.6 Testin teknik olarak mümkün olmaması (KKDİK Ek 11, Bölüm 2)

Teknik olarak mümkün değilse, testlerin gerçekleştirilmesine gerek yoktur. Maddenin belirli bir nedenle uygulanması mümkün olmayabilir. Örneğin, madde havada alevlenir olabilir veya patlayıcı şekilde bozunabilir. Teknik nedenlerden dolayı yeterince yüksek maruz kalma seviyeleri üretmek de mümkün olmayabilir. Testlerin yapılmamasının gerekçesi gereklidir ve belgelenmelidir.

Aşama 3.1.7 Maddeye özel maruz kalmaya dayalı testler (KKDİK Ek 11, Bölüm 3)

KKDİK Ek 8, 9 ve 10 seviyelerinde üreme sistemi toksisitesi için bilgi gereklilikleri, *ilgili insan maruz kalması hariç tutulabilirse* ihmal edilebilir. Bu madde, Kimyasal Güvenlik Raporunda geliştirilen maruz kalma senaryolarına göre testlerin atlanabileceğini belirtir. Kriterler, gerekçelendirildiğinde ve gösterildiğinde standart bilgi gerekliliklerinde uyarlanmaya yol açabilecek üç alternatif koşul grubunu tanımlar (KKDİK Ek 11, 3.2. (a), (b) veya (c)).

KKDİK Ek 11 Bölüm 3.2.(a)'ya göre uyarılama, genellikle KKDİK Ek 9 ve 10 üreme sistemi toksisitesi çalışmaları için geçerli değildir çünkü üreme/gelişimsel toksisite tarama testinden türetilen bir DNEL, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çıkarılması için uygun görülmemelidir (bkz. KKDİK Ek 11, 3.2(a)(ii) dipnot).

KKDİK Ek 9 seviyesinde, ikinci bir tür üzerinde tetiklenen doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasının duruma göre gerekçelendirmeye dayalı olarak yürütülmesine gerek olmayabilir. Bu gerekçelendirme, ikinci bir tür üzerinde çalışma için tetikleyicilerin, tanımlanan ve belgelenen insan maruz kalmasına kıyasla yalnızca çok yüksek maruz kalma seviyelerinde olduğu ve kullanılan ilk türe kıyasla ikinci türün insanlar için daha hassas/ilgili olmayacağına dair maddeye özel gerekçelerin olduğu gözlemini içerebilir. Bu gibi durumlarda, ilk türden elde edilen sonuçlara dayalı olarak elde edilen DNEL, ikinci tür üzerinde çalışma için tetikleyiciler olmasına rağmen yeterli olabilir.

KKDİK Ek 11, 3.2(b) içerisinde açıklanan sıkı bir şekilde kontrol edilen koşulları izleyen maddeler için veya KKDİK Ek 11, 3.2(c)' ye göre sıkı bir şekilde bir eşyaya kalıcı olarak dahil edilen maddeler için, maddeye özel maruz kalmaya dayalı feragatin kullanılması mümkün olabilir.

Her durumda, yeterli gerekçelendirme ve belgelendirme sağlanmalıdır (bkz. KKDİK Ek 11, 3.2).

Aşama 3.1.8 Kanserojen, mutajen, üreme sistemine toksik sınıflandırması dışındaki 2. sütun kurallarına göre uyarılama

(a) KKDİK Ek 8 (yılda 10 ton veya üzerinde herhangi bir kayıt için geçerlidir)

Bir doğum öncesi gelişimsel toksisitesi çalışması (OECD Test Rehberi 414), genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) veya iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının (B.35, OECD Test Rehberi 416) mevcut olması durumunda üreme/gelişimsel toksisite için tarama testinin yapılması gerekmemektedir.

Üreme sistemi toksisitesi için tarama testi, üreme sistemi toksisitesi hakkında ilk bilgileri sağlar. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması veya iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, aynı ve daha yüksek istatistiksel güce sahip diğer anahtar parametreler hakkında daha kapsamlı bilgi sağlar. Dolayısıyla, bu çalışmaların tarama çalışmasının anahtar parametrelerini kapsayabileceği ve tarama çalışmasından üstün olduğu açıktır. Bununla birlikte, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması mevcutsa, embriyonik ve fetal gelişim ve annenin gebeliği sürdürme yeteneği hakkında bilgi sağlar, ancak doğurganlık (veya doğum sonrası gelişim) hakkında bilgi sağlamaz. Bu nedenle, doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması mevcut olsa da, doğurganlık sonlanma noktası¹⁵⁵ ve doğum sırasındaki/erken doğum sonrası gelişim hakkında ön bilgi elde etmek için tarama çalışmasının yürütülmesinin dikkate alınması şiddetle tavsiye edilir.

(b) KKDİK Ek 9 ve 10 (yılda 100 ton veya üzerindeki herhangi bir kayıt için geçerlidir)

Aşağıdaki kriterler karşılanırsa üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının (doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması/çalışmaları ve genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması) yapılmasına gerek yoktur:

1. Madde düşük toksikolojik aktiviteye sahipse (mevcut testlerin hiçbirinde toksisite kanıtı görülmezse) ve
2. Toksikokinetik verilerden, ilgili maruz kalma yolları aracılığıyla sistemik emilimin meydana gelmediği kanıtlanabilirse.

¹⁵⁵ Bu görüş, ilgili bir Ombudsman Vakası tarafından desteklenmektedir: "Bu nedenle, bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmesi R.7 sonlanma noktası özel KKDİK Rehberi, özellikle paragraf 7.6.6.3 ile uygun olarak, üreme sistemi toksisitesi için doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasına ek olarak bir tarama üreme/gelişimsel toksisite çalışması (OECD Test Rehberi 421 veya 422) yürütmeyi düşünmeniz şiddetle tavsiye edilir."

(örn. hassas bir yöntem kullanılarak tespit limitinin altındaki plazma/kan konsantrasyonları ve maddenin ve maddenin metabolitlerinin idrar, safra veya solunan havada bulunmaması) ve

3. Önemli insan maruz kalması yoksa veya hiç insan maruz kalması yoksa¹⁵⁶.

Her üç kriterin de karşılanması gereklidir. Başlangıç varsayımı, düşük toksikolojik aktiviteye sahip maddelerin üreme sistemi için toksik olma olasılığının daha düşük olabileceğidir. Üreme sistemi toksisitesi potansiyelinin bulunmaması olasılığı, sistemik emilim olmadığını kanıtlayan bilgiler gerektirilerek daha da artırılır ve güçlendirilir. Madde için ek olarak önemli bir insan maruz kalması yoksa, KKDİK Ek 9 ve KKDİK Ek 10 seviyelerinde üreme sistemi toksisitesi çalışmasından feragat etmenin güvenli olduğu kabul edilir.

¹⁵⁶ “İnsanların önemli ölçüde maruz kalmaması” toksisite ve miktar ve mevcut bilgilerin kalitesi ile ilişkili olarak düşünülmelidir.

Ek R.7.6–5 Tetikleyicilerin değerlendirilmesi

Tetikleyicilerin çoğu, standart bilgi gerekliliklerinin ötesinde bilgi gerekliliklerine yol açar. Üreme sistemi toksisitesi için, toksisite ile tetiklenen ve yalnızca tonaj seviyesi ile tetiklenmeyen tek standart bilgi gerekliliği (Sütun 1 gerekliliği), KKDİK Ek 9 Sütun 1, 8.7.3'te belirtildiği gibi tetiklenen uzatılmış tek nesil üreme sistemi toksisitesidir.

Bu Ekte, tetikleyicilerin çeşitli yönleri tartışılmaktadır.

Tetikleyici nedir?

Tetikleyiciler, mevcut toksisite veri tabanını zorlayan bulgulardır. Bu, mevcut tetikleyiciler nedeniyle, bir madde için olumsuz sağlık etkileri potansiyeli hakkında bir sonuca varmanın mümkün olmadığı ve endişeyi ele almak için, duruma bağlı olarak daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulabileceği veya duyulduğu anlamına gelir. Endişe yeterli bilgiyle ele alınmadan önce, endişe (yeterli) risk yönetimi önlemleri uygulanarak kapsanmalıdır.

Bu belgede genel bir tetikleyici terimi kullanılmaktadır. KKDİK Yönetmeliğinde kullanılan çeşitli olası terimlerin veya bir uyarı, koşul, gösterge, endişe belirtisi, ciddi endişe, özel bir endişe gibi diğer yerlerde kullanılan tüm olası terimlerin yerine kullanılır.

Tetikleyici, teorik maddeye özel bilimsel değerlendirmelere dayalı veya bir maddenin toksisiteye neden olabileceğine dair endişe oluşturan ancak bilgilerin bir sonuca varılmasına izin verecek kadar kapsamlı olmadığı deneysel veya gözlemsel veriler kaynaklı olan, var olan toksikolojik veri tabanında bulunan herhangi bir faktördür. Testin nerede geçerli standart bilgi gerekliliklerinin ötesine geçmesi gerekebileceğinin belirlenmesine yardımcı olur. Standart bir bilgi gerekliliğinin geçerli olduğu durumlarda, tetikleyicilerden bağımsız olarak bir uyarılama gerekçelendirilemediği sürece test gereklidir. Tetikleyicileri değerlendirirken duruma göre değerlendirmeye ihtiyaç vardır.

Tetikleyiciler varsa ne yapılması gerekir?

Tetikleyici terimi genel bir terim olarak kullanılır. Aşağıdaki gerekli eylemlerin neler olduğunu belirten yasal bir metnin olup olmamasına da dayanır. Örneğin, yasal metin "*koşullar karşılanırsa, kayıt ettiren...*" ifadesini içeriyorsa, bu, bir tetikleyici (koşul) varlığında kayıt ettirenin buna göre hareket etmesi gerektiği anlamına gelir. Öte yandan, yasal metin kayıt ettirenin bir göstergeye veya endişeye dayalı bir test önerebileceğini belirtirse, o zaman kayıt ettiren harekete geçebilir.

Bilgi gereklilikleri için KKDİK Ek metninde aşağıdaki terimler tetikleyici olarak kullanılmıştır:

- 1) **Koşul:** Koşullar karşılanırsa, kayıt ettiren harekete **geçmelidir**. Koşul, örn. **bir (olumsuz) etki**, **bir gösterge** veya **diğer ilgili** mevcut bilgiler olabilir; bu nedenle, örneğin aşağıda belirtilenler olabilir:
 - a. düzenleyici bir sonucu olan (olmuş) bir etki (NOAEL, sınıflandırma; örn. Muta. 2) veya
 - b. olumsuz olmayan bir etki (örn. hormon seviyesinde değişiklik, *in vitro* sonuçlar), diğer bilgiler (örn. toksikokinetik) veya
 - c. bir etkinin toksikolojik değerlendirme için yetersiz belirtileri veya
 - d. *in vivo* çalışmalardan veya hayvan dışı yaklaşımlardan etki şekillerinin göstergeleri
 - e. iki veya birkaç göstergenin birleşimi (örneğin bir etki şekli için)
 - f. bir sonlanma noktası için tüm ilgili verilerin tartışılmasının bir sonucu (örn. genotoksisite verileri)
- 2) **Özel bir endişe:** özel bir endişe varsa, kayıt ettiren harekete **geçmelidir**. Özel bir endişe, örn. **belirli** bir etki **türüne** odaklanan **ciddi/şiddetli** etkiler, **olumsuz** etkiler veya **diğer ilgili** mevcut bilgiler olabilir; bu nedenle, örneğin aşağıda belirtilenler olabilir:
 - a. düzenleyici bir sonucu olan (olmuş) bir etki (NOAEL, sınıflandırma; örneğin BHOT 1 veya 2) veya

- b. hayvan dışı yaklaşımlardan mevcut bilgiler
- c. belirli etki mekanizmaları/şekilleri
- d. Çeşitli farklı veri kaynaklarından etkilere ilişkin mevcut bilgiler (bazı durumlarda yapısal olarak benzer maddelerden de)
- e. tek bir kaynaktan bilgi, ciddi olduğunda veya olumsuz olarak değerlendirildiğinde yeterli olabilir
- f. iki veya birkaç göstergenin birleşimi (örneğin bir etki şekli için)
- g. tüm ilgili verilerin tartılmasının bir sonucu (örneğin (gelişimsel) nörotoksisite)

Bir istisna: KKDİK Ek 8, 8.7.1, Sütun 2'de, ciddi bir endişeye dayanarak kayıt ettiren harekete geçebilir

3) Göstergeler: aşağıda belirtilenler olabilir

- a. Bir koşul
- b. Olumsuz etkiler
- c. Olumsuz olmayan etkiler, örn. hormonal değişiklik
- d. Etki mekanizması/şekilleri
- e. Hayvan çalışmalarından
- f. Hayvan dışı yaklaşımlardan
- g. Göstergeler özel bir endişe ile aynı değildir, ancak bağlama bağlı olarak yine de kayıt ettirenden eylem gerektirebilir

Tetikleyiciler için kaynaklar

Tetikleyiciler, hayvan dışı yaklaşımlar, mekanik çalışmalar, yapısal olarak benzer maddeler ve *in vivo* çalışmalar ve insanlardan elde edilen bilgiler dahil olmak üzere çeşitli bilgi kaynaklarından kaynaklanabilir.

Sağlam olmayan hayvanlarda gözlemlenen bulgular, bulguların sağlam hayvanlar ve/veya insanlar için de geçerli olmayacağına dair kanıt olmadığı sürece, genellikle tetikleyici olarak kullanılmalıdır.

Sağlam olmayan hayvanlarla yapılan deneyler, yumurtalık (ovarietomi) gibi bir endokrin organın çıkarıldığı hayvanları içerebilir. Diğer bir olasılık, örneğin organ ağırlığının azalmasına veya artmasına yol açan hormonal değişikliklerdir. Bu hayvan modelleri, örneğin hormonal cevaptaki bir değişikliği tespit etmek için çok hassas olabilir, ancak aynıısının sağlam hayvanlar için geçerli olup olmadığı dikkate alınmalıdır.

Sınıflandırma ve tetikleyiciler

Kategori 1A veya 1B üreme sistemine toksik madde için sınıflandırma kriterlerini karşılayan olumsuz etkiler, tedarikçi sınıflandırmasını veya uyumlaştırılmış sınıflandırmayı tetiklemeleri ve KKDİK Ek 8-10, madde 8.7, Sütun 2 uyarılma kurallarına göre daha ileri üreme sistemi toksisitesi çalışmalarının atlanmasına izin verebilecek olmaları nedeniyle, daha ileri çalışmalar için tetikleyici değildir. Bununla birlikte, Kategori 2 üreme sistemine toksik madde için sınıflandırma kriterlerini karşılayan etkiler tetikleyici olabilir, çünkü daha yüksek bir kategori için sınıflandırma kriterlerinin karşılanabileceği endişesini oluşturabilirler.

Sınıflandırma kriterlerini karşılamayan olumsuz etkiler tetikleyici olabilir. Olumsuz olmadıkları yönünde değerlendirilen bulguların tetikleyici olarak görev alıp alamayacağı söz konusu parametre/parametrelere bağlıdır ve bu aşağıda tartışılmıştır. *In vivo* çalışmalardan ve kullanılan hayvan dışı yaklaşımlardan tetikleyicilerin uygunluğu ve kalitesi yeterince belgelendirilmeli ve gerekçelendirilmelidir.

Daha ileri çalışmalar için standart bilgi gereklilikleri ve tetikleyiciler

KKDİK Ek 10 içerisindeki tam (standart) bilgi gerekliliği, yani genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) (iki nesil üreme toksisitesi

çalışması; B.35 , OECD Test Rehber 416) ve iki türde gerçekleştirilen doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmaları (B.31, OECD Test Rehberi 414), yeterli şekilde yürütüldüğünde, normalde üreme sistemi toksisitesi özelliklerine ilişkin sonuç için güvenilir bilgiler sağlamalıdır. İlgili KKDİK Ek düzeyindeki (standart) bilgi gerekliliğinden herhangi bir sonuç çıkarılamıyorsa, kayıt ettiren, maddenin üreme sistemi potansiyeli üzerindeki belirsizliği açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışma önererek kalan endişeyi ele almalıdır.

Belirli çalışmalar için (örneğin, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması), çalışma tasarımı, koşulların/tetikleyicilerin bulunması/bulunmamasına dayanılarak tanımlanacaktır.

Tetikleyicilerin kalitesi ve ilgi düzeyi

KKDİK Ek 6-11 bağlamında toplanan mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin genel rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.4 "Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi" içerisinde sağlanmıştır.

Bölüm R.4 insan, hayvan ve hayvan dışı kaynaklar olmak üzere her tür bilgi için geçerlidir ve üreme sistemi toksisitesi sonlanma noktası hakkındaki bilgiler için de geçerlidir. Bölüm R.4'te açıklanan ilkeler, bir dereceye kadar tetikleyicilerin değerlendirilmesi için de geçerlidir, ancak bir tetikleyicinin, yukarıda tetikleyici tanımında belirtildiği gibi mevcut verileri zorlayan bir endişenin göstergesi olduğu ve mutlaka üreme sistemi sağlığı için zararlı özellikler hakkında bir sonuca - sınıflandırma veya NOAEL değerleri hakkında sonuca olanak tanımalarının gerekli olmadığı unutulmamalıdır.

Tetikleyicilerin değerlendirilmesine yardımcı olacak bazı genel önemli hususlar aşağıda sunulmuştur.

Tutarlılık

Tanımlanan tetikleyicilerin mevcut verilerdeki diğer bulgularla çelişmemesi önemlidir. Mevcut verilerin istatistiksel gücü ve genel kalitesi dikkate alınmalıdır. Bazen veriler az olduğunda, diğer verilerin potansiyel tetikleyici/tetikleyicilerle çelişip çelişmediğini belirtmekten daha fazla şekilde tutarlılığı değerlendirmek mümkün olmayabilir.

Tutarlılık değerlendirilirken mevcut çalışmalardaki farklılıklar dikkate alınmalıdır. Görünen tutarsızlıklar tür/suç farklılıkları, farklı uygulama yolu ve/veya doz seviyeleri, farklı maruz kalma süresi, parametrelerin ölçülmesinde metodolojideki farklılıklar vb. nedeniyle olabilir. Bu nedenle, tutarsızlıkların muhtemelen metodolojik farklılıklardan veya istatistiksel güçteki farklılıklardan kaynaklanıp kaynaklanmadığı ve sonuçlardaki gerçek tutarsızlıklar olup olmadığı açısından, sonuçlar tartışılmadan ve tetikleyicilerin var olup olmadığına karar verilmeden önce analiz edilmelidir.

İstatistiksel anlamlılık ve biyolojik ilgi

Doz cevabı, sadece bir doz grubundaki istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu olmaktan ziyade, daha fazla güven sağlar ve kimyasal aracılı bir etkinin göstergesini oluşturur. Tarama çalışmalarından (OECD Test Rehberi 421 veya 422) veya 28 günlük çalışmadan elde edilen sonuçların istatistiksel gücü oldukça düşüktür ve burada istatistiksel anlamlılıklardan ziyade aralıklara bakmak daha önemli olabilir. Ayrıca istatistiksel anlamlılığın biyolojik ilgililik ile aynı olmadığı da unutulmamalıdır. Örneğin, biyolojik açıdan ilgili olan ancak istatistiksel anlamlılığı olmayan bir parametrede %20 değişiklik olabilir. Öte yandan, biyolojik ilgisi olmayan istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu olabilir. Bir parametre için istatistiksel güç yüksekse ve biyolojik değişkenlik düşükse, bir değişikliğin biyolojik ilgisi yüksektir. İstatistiksel gücün bir parametrenin biyolojik değişkenliği açısından yeterli olup olmadığını değerlendirmek gereklidir. Geçmiş veriler normal aralıklar için rehberlik sağlayabilir, ancak çalışmanın kontrol grubu genellikle normal değerlere ve değişkenliğe karar verirken ana bilgi kaynağı olmalıdır.

Ayrıca, durum bazlı olarak, tekdüze olmayan bir doz-cevap eğrisi olasılığı da dikkate alınmalıdır.

Hayvan dışı yaklaşımlardan gelen bilgilerin biyolojik ilgisine karar vermek zor olabilir. Genel olarak bu tahmin yöntemleri, maddelerin zararlı özelliklerine ilişkin sonuçlardan ziyade olmak üzere gösterge/göstergeler ve tetikleyiciler sağlar. Hayvan dışı yaklaşım güvenilir değilse veya sonuçlar aşırı koşullarda gözleniyorsa (örn. biyolojik olarak makul maksimum konsantrasyondan 100 kat daha yüksek konsantrasyonlar), bu şekilde tek bir test sonucunun geçerliliği ve ilgi düzeyi sonuca varılmadan önce doğrulanmalıdır. En iyi koşullarda birbirini destekleyen iki veya daha fazla hayvan dışı yaklaşımdan elde edilen sonuçlar mevcuttur.

İnsanlar için ilgi düzeyi

Daha fazla bilgi ve kanıt olmadığında, hayvanlardaki biyolojik olarak ilgili bulguların da insanlarla ilgili olduğu varsayılmaktadır. Bulguların/etki şekillerinin/etki mekanizmalarının insanlarla ilgili olmadığını gerekçelendirmek için, insanlar üzerinde bilgiye ihtiyaç vardır. Konu yeterince araştırılmadıysa, insanlarda hayvanlarla aynı bulguların/etki şekillerinin/etki mekanizmalarının göstergesi olmadığını belirtmek yeterli değildir.

Tetikleyicilerin sistemik toksisite ile ilişkisi

Açık tetikleyiciler, (diğer) sistemik toksisite olmayan doz seviyelerinde ortaya çıkar. Bununla birlikte, tetikleyicilerle aynı doz seviyesinde meydana gelebilse de, sistemik toksisite ile ilişki her zaman net olmayabileceğinden, tetikleyiciler durum bazında düşünülmelidir. Tetikleyicilerin (diğer) sistemik toksisiteye neden ikincil olduğu gerekçelendirilemezse, genellikle tetikleyiciler, (diğer) sistemik toksisite bulgularıyla aynı doz seviyesinde gözlenirse bile ilgili kabul edilmelidir.

Çalışmaların ve testlerin kalitesi

Çalışmaların kalitesi veya bilginin güvenilirliği dikkate alınmalıdır. Örneğin, *in vivo* ve *in vitro* testlerden tetikleyiciler, biyolojik olarak ilgili malzeme ile kapsamlı bir sistemde test edilmiş olmalı ve verilerin yeterli kalitede olduğu belirlenmelidir. Örneğin, *in vitro* testler gibi pek çok hayvan dışı yaklaşım henüz doğrulanmamıştır, ancak bunlardan elde edilen sonuç, durum bazında güvenilir kabul edilirse kullanılabilir. Örneğin, nöronal farklılaşma için hiçbir *in vitro* test doğrulanmamıştır, ancak gelişimsel nörotoksitenin değerlendirilmesini motive etmek için tetikleyiciler olarak, bilimsel olarak değerlendirilmiş (hakemli) yayınlardan ve raporlardan elde edilen sonuçlar, ilgili olduğu düşünüldüğünde tetikleyici olarak kullanılabilir. Aynı durum, gelişimsel immünotoksisite ve endokrin bozucu etki şekilleri/mekanizmaları gibi diğer tetikleyiciler için *in vitro* testler için de geçerlidir.

Hayvan dışı yaklaşımlardan elde edilen sonuçları değerlendirirken, tahmin ve uygulanabilirlik alanı ve yaklaşımların potansiyel diğer sınırlamaları dikkate alınmalıdır. QSAR tahminleri gibi hayvan dışı yaklaşımlardan tetikleyicilerin yorumlanması, özellikle çeşitli yöntemler farklı sonuçlar gösterdiğinde zor olabilir. Genellikle, bir tetikleyicinin varlığına veya yokluğuna ilişkin güveni artırmak için birden fazla hayvan dışı yaklaşımdan tutarlı sonuçlara ihtiyaç vardır.

Yapısal olarak benzer maddelerden tetikleyiciler

Tetikleyiciler, yapısal olarak benzer maddelerden de kaynaklanabilir. Bu durumda, bilgiyi tetikleyici olarak kullanma yeterliliği dikkate alınmalı ve gerekçelendirilmelidir.

Tetikleyicilerin belirlenmesi için verilerin değerlendirilmesi:

Aşama 3.2.1 veri incelemesinin bir parçası olarak aşağıdaki sorular sorulmalıdır:

- Sütun 2'de belirtilen ileri çalışmalar/araştırmalar için tetikleyiciler var mı?
- Sütun 2'de belirtilmeyen üreme sistemi toksisitesi için tetikleyiciler var mı? (Yapısal olarak benzer maddeler de dikkate alındığında)

- Çalışma tasarımına dahil edilecek üreme sistemi toksisitesi ile ilgili özel özellikleri gösteren madde, kimyasal gruplar veya kategoriler hakkında herhangi bir bilgi var mı? Varsa hangisi?
- Üreme sistemi toksisitesi ile ilgili etki mekanizmaları/şekilleri için tetikleyiciler var mı? (Yapısal olarak benzer maddeler de dikkate alındığında)
- Sütun 2 özel uyarılma kuralları ve KKDİK Ek 11 genel uyarılma kuralları geçerliyse ve veriler, sınıflandırma, etiketleme ve risk değerlendirmesinin değerlendirilmesi ve sonuçlandırılması için yeterliyse, tetikleyicilerin değerlendirilmesine gerek yoktur. Bu, örn. bir madde, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#) Aşama 1'de tanımlanan kanserojen, mutajen, üreme sistemine toksik özelliklerinden herhangi biri için Kategori 1 için sınıflandırma kriterlerini karşılıyorsa ve Sütun 2'de açıklanan uyarılma kriterlerini karşılıyorsa, sonrasında tetikleyicilerin değerlendirilmesi üreme sistemi toksisitesi çalışmalarına gerek yoktur.

Bilimsel bir bakış açısıyla, belirli bir çalışmayı otomatik olarak tetikleyen veya sınıflandırma ve risk değerlendirmesi için açıkça tanımlanmış çıkarımları olan kapsamlı ve katı bir tetikleyici listesi oluşturmak mümkün değildir. Ancak, belirli koşullar KKDİK Eklerinde belirtilmiştir ve karşılandığında belirli bir çalışma veya çalışma tasarımının önerilmesini gerektirir.

Bir tetikleyici (veya tetikleyiciler) şunları tetikleyebilir:

- aksi takdirde yalnızca daha yüksek bir tonaj seviyesinde geçerli olan standart bir bilgi gerekliliğini karşılayacak bir çalışma; veya
- belirtilen koşullar karşılandığında belirli bir çalışma tasarımı (veya belirli bir bağımsız çalışma) (örneğin, Kohort 1B'nin F2'yi içerecek şekilde genişletilmesi veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasına Kohort 2 ve/veya 3'ün dahil edilmesi); veya
- belirli seçilmiş ek araştırma parametrelerinin bir aralık bulma çalışmasına veya (standart) bilgi gerekliliğinde gerekli olan bir çalışmaya dahil edilmesi (örn. tetikleyicinin/tetikleyicilerin endişeyi gidermek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmadan önce doğrulanması gereken koşullar altında immünotoksiste için seçilen parametreler); veya
- özel araştırma çalışmaları/testleri, örn. etki mekanizmaları/şekilleri üzerine çalışmalar.

Aşağıdaki tetikleyiciler, KKDİK Ek 9 8.7.3'te belirtilmiştir ve bilgi gerekliliğini tetikler:

- **KKDİK Ek 9 seviyesinde**, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması, Sütun 1'deki açıklamaya göre tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarından (tarama çalışmaları dahil) tetikleyiciler tarafından tetiklenebilir (daha fazla ayrıntı için bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#), Aşama 4.4 (iii)).

Üreme sistemi toksisitesi/gelişimsel nörotoksiste/gelişimsel immünotoksiste için Sütun 2 uyarılma kurallarında aşağıdaki tetikleyicilerden bahsedilir:

- **KKDİK Ek 8 seviyesinde**, üreme sistemi toksisitesi için tetikleyicilere dayalı olarak, gelişimsel toksiste veya doğurganlık için ciddi endişelere yol açan durumlarda¹⁵⁷, kayıt ettiren uygun şekilde "üreme/gelişimsel toksiste tarama" testi yerine bir doğum öncesi gelişimsel toksiste çalışması veya genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması **önerebilir**.

¹⁵⁷ Ciddi endişe, üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerin yüksek olasılıkta olduğunu yansıtır.

Uygun çalışma, endişenin doğum öncesi gelişimsel toksisite, doğum sonrası ortaya çıkan doğum öncesi gelişimsel toksisite, doğum sonrası gelişimsel toksisite veya doğurganlığa¹⁵⁸ bağlı olup olmadığına bağlıdır. Tetikleyiciler, örneğin ilgili hayvan dışı yaklaşımlardan¹⁵⁹ veya *in vivo* çalışmalardan kaynaklanabilir (örn. bu KKDİK Ek seviyesinde veya ilgili diğer bilgilerde gerekli olan 28 günlük tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından). KKDİK Ek 9/10 seviyesi çalışmaları için bir test önerisi gereklidir.

- **KKDİK Ek 9 seviyesinde**, doğum öncesi gelişim toksisitesi için tetikleyici/tetikleyiciler, Sütun 2 gerekliliği olarak ikinci bir tür üzerinde doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmasını tetiklemelidir. Bu çalışma için tetikleyici örnekleri, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#), Aşama 4.4 (ii) doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması içerisinde gösterilmektedir.
- KKDİK Ek 9 seviyesinde, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması tetiklenirse, Kohort 2 ve/veya 3 dahil Kohort 1B'yi genişletmek için tetikleyiciler Sütun 2'de verilmiştir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımı ve çalışmayı genişletmek için tetikleyiciler bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) 'de açıklanmaktadır.
- Aynı KKDİK Ek seviyesinde, bu KKDİK Ekinde (KKDİK Ek 9) veya bir sonraki KKDİK Ek seviyesinde (KKDİK Ek 10) ikinci bir tür veya suş üzerinde genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması başlatılabilir. Tetikleyicilerin örnekleri, bu Rehberde Bölüm [R.7.6.2.3.2](#), Aşama 4.4 (iii), genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması altında sunulmuştur.
- **KKDİK Ek 10 seviyesinde**, genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması bir (standart) bilgi gerekliliğidir. Kohort 2 ve/veya 3 dahil Kohort 1B'yi genişletmek için tetikleyiciler Sütun 2'de verilmiştir. Genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışmasının çalışma tasarımı ve çalışmayı genişletmek için tetikleyiciler bu Rehberde [Ek R.7.6-2](#) 'de açıklanmaktadır.
- KKDİK Ek 10 seviyesinde, tam bilgi gereklilikleri, yani genişletilmiş tek nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması (B.56, OECD Test Rehberi 443) (veya iki nesil üreme sistemi toksisitesi çalışması; B.35, OECD Test Rehberi 416) ve iki türde gerçekleştirilen doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmaları (B.31, OECD Test Rehberi 414), yeterli şekilde yürütüldüğünde, normalde yukarıda belirtildiği gibi üreme sistemi toksisitesi özellikleri hakkında sonuç için güvenilir bilgi sağlamalıdır.

(Standart) bilgi gerekliliğinden herhangi bir sonuç çıkarılamıyorsa, kayıt ettiren, maddenin üreme sistemi potansiyeli üzerindeki belirsizliği açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışma önererek kalan endişeyi ele almalıdır.

Maruz kalma tetikleyicileri/test gerekliliklerini yükseltme koşulları

- Maruz kalmaya dayalı uyarılma ve bilgi gerekliliklerinin tetiklenmesine ilişkin rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), *Kısım R.5: Bilgi gereksinimlerinin uyarlanması*, Bölüm R.5.1 içerisinde sağlanmaktadır.
- Kullanım şekli ve bir maddeye maruz kalma, duruma göre ilave bilgi gerekliliklerine duyulan ihtiyaç ile ilgili bir endişeyi gösterebilir. Örneğin,

¹⁵⁸ Bununla birlikte, bir doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması önerilmesi durumunda, kayıt ettirenin bir tarama çalışması yürütmeyi düşünmesi şiddetle tavsiye edilir, çünkü doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışması doğurganlık sonlanma noktası ve doğumdan kısa bir süre sonra ortaya çıkan gelişimsel toksisite üzerindeki etkileri ele almaz.

¹⁵⁹ "Ciddi endişe" oluşturduğunun kabul edilmesi için, hayvan dışı yaklaşımlardan gelen bilgilerin güvenilir, ilgili olması ve uygun uygulanabilirlik alanıyla doğrulanmış çalışmalardan elde edilmesi gerekir (QSAR modelleri için resmi bir doğrulama süreci gerekli değildir). Doğrulanmamış ve rehber dışı testlerden durum bazında bilimsel gerekçelendirme sonuçlarına dayalı olarak kabul edilebilir. Genellikle birkaç bilgi kaynağına ihtiyaç duyulabilir.

insanların, özellikle tüketicilerin maruz kalmasının insan sağlığına etkilerin beklenebileceği seviyelere yakın olduğuna dair ciddi endişeler olabilir. İnsan sağlığına yönelik bu tür endişelerin, zararlılık hakkında ek bilgi üreterek ele alınması gerekir. Çok istisnai durumlarda, bu tür endişeler, iyileştirilmiş risk yönetimi önlemleri ile tatmin edici bir şekilde ele alınabilir.

Tetikleyiciler/koşulların belgelendirme ve ele alınması

Üreme sistemi toksisitesi için tetikleyiciler veya Sütun 1 veya 2'de açıklanan koşullar daha ileri araştırmalar için karşılanırsa, dosyada bunlar ve ilgili sonlanma noktası bölümünde nasıl ele alındıkları açıklanmalıdır.

Somatik hücrelerde mutajenik olan maddeler, kendileri veya aktif metabolitleri eşey hücrelerinin genetik materyali ile etkileşime girebiliyorsa, kalıtsal etkiler oluşturabilir. Tersine, *in vivo* somatik hücrelerde mutasyon tetiklemeyen maddelerin, eşey hücre mutajenleri olması beklenmez.

Hayvanlarla yapılan uzun süreli çalışmalarda, maddelerin *in vivo* mutajenliği ile kanserojenliği arasında pozitif bir ilişki olduğuna dair önemli kanıtlar vardır. Genotoksik kanserojenler, en makul kanserojen etki mekanizmasını genotoksisiteyi içerdği maddelerdir.

R.7.7.2 Mutajenite üzerine bilgi gereklilikleri

Mutajenite hakkındaki bilgi gereklilikleri, kayıt ve değerlendirme amacıyla sunulması gereken bilgileri belirten KKDİK Ek 6-11'de açıklanmaktadır. Bu nedenle, > 1 ton/yıl (yıllık ton) miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için bilgi gereklidir. Daha yüksek bir tonaj seviyesine ulaşıldığında, ilgili Ek'in gereklilikleri dikkate alınmalıdır. Ancak, sadece imalat hacmini değil, aynı zamanda önceden var olan toksisite verilerini, maddenin tanımlanmış kullanımı hakkındaki bilgileri ve insanların maddeye maruz kalmasını içeren faktörler, kesin bilgi gerekliliklerini etkileyecektir. KKDİK Ekleri bu nedenle bir bütün olarak ve kayıt, değerlendirme ve özen göstermenin getirdiği yükümlülük görevinin genel gereklilikleri ile bağlantılı olarak düşünülmelidir.

KKDİK Ek 7-10 Sütun 1, sırasıyla > 1 ton/yıl, > 10 ton/yıl, > 100 ton/yıl ve > 1000 ton/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için standart bilgi gereklilikleri hakkında bilgi verir.

KKDİK Ek 7-10 Sütun 2, gerekli standart bilgilerin çıkarılabileceği, başka bilgilerle değiştirilebileceği, farklı bir aşamada sunulabileceği veya başka bir şekilde uyarlanabileceği özel kuralları listeler. Bu Ekler'in 2. sütununun uyarlamaya izin verdiği koşullar karşılanıyorsa, her bir uyarlama için gerçekler ve nedenleri kayıt dosyasında açıkça belirtilmelidir.

Mutajenite için standart bilgi gereklilikleri ve bu gerekliliklerin uyarlanması için özel kurallar [Tablo R.7.7-1](#) içerisinde sunulmaktadır.

Tablo R.7.7-1 Mutajenite için KKDİK bilgi gereklilikleri

SÜTUN 1 GEREKLİ STANDART BİLGİ	SÜTUN 2 SÜTUN 1'DEN UYARLAMA İÇİN ÖZEL KURALLAR
Ek 7: 1. Bakterilerde <i>in vitro</i> gen mutasyon çalışması.	Olumlu bir sonuç olması durumunda ilave mutajenite çalışmaları dikkate alınacaktır.
Ek 8: 1. Memeli hücrelerinde <i>in vitro</i> sitojenite çalışması veya <i>in vitro</i> mikronükleus çalışması. 2. Ek 7, 1 ve Ek 8, 1'de negatif sonuç çıkarsa, memeli hücrelerinde <i>in vitro</i> gen mutasyon çalışması.	1. Aşağıdaki koşullarda genellikle çalışma yürütülmesi gerekmez: <ul style="list-style-type: none">• bir <i>in vivo</i> sitojenite testinden yeterli veri mevcutsa veya maddenin kanserojen kategori 1A veya 1B veya eşey hücre mutajeni kategori 1A, 1B veya 2 olduğu biliniyorsa.• 2. Güvenilir bir <i>in vivo</i> memeli gen mutasyon testinden yeterli veri mevcutsa çalışmanın genellikle yürütülmesine gerek yoktur. Ek 7 veya 8'deki genotoksisite çalışmalarından herhangi birinde olumlu bir sonuç alınması durumunda uygun <i>in vivo</i> mutajenite çalışmaları dikkate alınacaktır.
Ek 9:	Ek 7 veya 8'deki <i>in vitro</i> genotoksisite çalışmalarının herhangi birinde pozitif bir sonuç varsa ve halihazırda bir <i>in vivo</i> çalışmadan elde edilen sonuç yoksa, kayıt ettiren tarafından uygun bir <i>in vivo</i> somatik hücre genotoksisitesi çalışması önerilecektir. Mevcut bir <i>in vivo</i> somatik hücre çalışmasından pozitif bir sonuç varsa, toksikokinetik kanıtlar da dahil olmak üzere mevcut tüm verilere dayanılarak eşey hücre mutajenitesi potansiyeli dikkate alınmalıdır. Eşey hücre mutajenitesi hakkında net bir sonuca varılamıyorsa, ek araştırmalar dikkate alınmalıdır.
Ek 10:	Ek 7 veya 8'deki <i>in vitro</i> genotoksisite çalışmalarının herhangi birinde pozitif bir sonuç varsa, mevcut tüm verilerin kalitesine ve ilgi düzeyine bağlı olarak ikinci bir <i>in vivo</i> somatik hücre testi gerekli olabilir. Mevcut bir <i>in vivo</i> somatik hücre çalışmasından pozitif bir sonuç varsa, toksikokinetik kanıtlar da dahil olmak üzere mevcut tüm verilere dayanılarak eşey hücre mutajenitesi potansiyeli dikkate alınmalıdır. Eşey hücre mutajenitesi hakkında net bir sonuca varılamıyorsa, ek araştırmalar dikkate alınmalıdır.

Bu özel kurallara ek olarak, gerekli standart bilgi seti Ek 11'de yer alan genel kurallara göre uyarlanabilir. Bu durumda da, her bir uyarılmanın gerçekleri ve nedenleri kayıta açıkça belirtilmelidir.

Bazı durumlarda, Ek 7 ila 11'de belirtilen kurallar, belirli testlerin tonajla tetiklenen gerekliliklerden daha önce veya bunlara ek olarak gerçekleştirilmesini gerektirebilir. Kayıt ettirenler, kayıtlı tonajdan bağımsız olarak Ek 9 veya 10'da belirtilen bir test için bir test teklifinin sunulması gerektiğini dikkate almalıdır. Bu tür bir test teklifinin incelenmesinin ardından, ÇŞB, üstlenilmeden önce değerlendirme kararında testi onaylamalıdır. Test gereklilikleri hakkında daha fazla rehberlik için bu Rehberde Bölüm [R.7.7.6](#) incelenmelidir.

R.7.7.3 Mutajenite üzerine bilgi kaynakları

Bir maddenin mutajenik potansiyelini kapsamlı bir şekilde değerlendirebilmek için, gen mutasyonlarını, yapısal kromozom bozukluklarını (klastojenite) ve sayısal kromozom anormalliklerini (anöjenisite) tetikleme kapasitesi hakkında bilgi gereklidir. Bu tür bilgilerin elde edilebileceği birçok test yöntemi mevcuttur. SAR, QSAR ve çapraz okuma yaklaşımları gibi test dışı yöntemler de bir maddenin mutajenik potansiyeli hakkında bilgi sağlayabilir.

Tipik olarak, *in vitro* testler kültürlenmiş bakteri hücreleri, insan veya diğer memeli hücreleri ile gerçekleştirilir. Testlerin hassasiyet ve özgülüğü farklı madde sınıflarına göre değişecektir ve test edilecek madde sınıfı için yeterli veri mevcutsa, bu veriler kullanılacak en uygun test sistemlerinin seçilmesine rehberlik edebilir. Mutajenik hale gelmek için metabolik olarak aktive edilmesi gereken maddelerin de mutajenik etkilerini tespit etmek için, genellikle *in vitro* testlerde ekzojen bir metabolik aktivasyon sistemi eklenir. Bu amaçla, yüksek konsantrasyonda metabolize edici enzimler içeren ve oksidatif P450 seviyelerini yükseltmek amacıyla indüklenmiş hayvanlardan alınan tüm karaciğer dokusu homojenatının post mitokondriyal 9000 x g süpernatantı (S-9 bölmesi) en yaygın şekilde kullanılır. Bir maddenin *in vivo* mutajenik potansiyeli hakkında bilgilerin gerekli olması durumunda, birkaç test yöntemi mevcuttur. *In vivo* testlerde, metabolizma ve toksikokinetik mekanizmaların genel olarak test hayvanının doğal bileşenleri olarak mevcut olduğu bütün hayvanlar kullanılır. Metabolizmadaki türe özel farklılıkların bilindiğine dikkat edilmelidir. Bu nedenle, farklı genotoksik cevaplar elde edilebilir. Transgenik kemirgen (TGR) somatik ve eşey hücreli gen mutasyon analizleri ve komet analizi gibi bazı *in vivo* genotoksisite testleri, bir hayvanın (çekirdekli hücreleri içeren) herhangi bir dokusunun genetik materyal üzerindeki etkilerinin teoride incelenebileceği yöntemleri kullanır. Bu, hedef dokuları (eşey hücreleri dahil) ve temas bölgesindeki dokuları (yani cilt, solunum veya mide-bağırsak yolu epitelini) inceleme imkanı verir. Bununla birlikte, belirli bir testin bilimsel olarak doğrulanmış olduğu dokuların sayısı ve türü ile ilgili farklılıklar olabilir. Örneğin, TGR analizleri eşey hücrelerini incelemek için kullanılabilirken, OECD test rehberinde açıklanan komet analizi şu anda bu amaç için önerilmemektedir.

Hepsi olmasa da, bazı test yöntemleri, test prosedürü için resmi olarak kabul görmüş AB ve/veya OECD Test Rehberine sahiptir. Bir test yöntemi için kabul görmüş AB veya OECD Test Rehberinin mevcut olmadığı durumlarda, Uluslararası Çevresel Mutajen Toplulukları Birliği şemsiyesi altında Uluslararası Genotoksisite Testi Çalıştayı (IWGT) gibi uluslararası kabul görmüş uzman grupları tarafından tanımlananlar gibi sıkı ve kapsamlı protokoller izlenmelidir. Ayrıca, bazı madde sınıfları için OECD Test Rehberlerinde değişiklikler geliştirilmiştir ve test sonuçlarının doğruluğunu artırmaya hizmet edebilir. Bu tür değiştirilmiş protokollerin kullanımı, uzman değerlendirmesine bağlıdır ve değerlendirilecek maddenin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterecektir. Benzer şekilde, bu standart test yöntemlerinin kapsamadığı doku/dokuların testleri için standart test yöntemlerinin kullanımı bilimsel olarak gerekçelendirilmelidir ve sonuçların geçerliliği yeterli deneyime ve geçmiş verilere dayanılarak (bu) doku/dokular için özel olarak geliştirilmiş olması gereken kabul edilebilirlik kriterlerinin uygunluğuna bağlı olacaktır.

R.7.7.3.1 Mutajenite üzerine insan dışı veriler

Mutajenite üzerine test dışı veriler

Bir maddenin mutajenitesi hakkındaki test dışı bilgiler, kimyasal yapının basit incelemesinden çeşitli çapraz okuma tekniklerine, uzman sistemlerin, metabolik simülasyonların kullanımından *küresel* veya *yerel* (Q)SAR kullanımına kadar çeşitli yollarla elde edilebilir. Bu tür tekniklerin yararlılığı, mevcut bilginin miktarı ve niteliğine ve ayrıca dikkate alınan belirli düzenleyici sorulara göre değişir.

Test verilerinin mevcut olduğu maddelerle ilgili olarak, test dışı bilgiler, belirli testlerde elde edilen sonuçların doğrulanmasına yardımcı olmak veya mutajenite mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmak için *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir. Bilgiler, ek testlerin gerekip gerekmediğine veya neyin gerekli olduğuna karar vermede faydalı olabilir. Diğer uçta, test verilerinin bulunmadığı durumlarda, benzer alternatif bilgi kaynakları, test önceliklerinin belirlenmesine yardımcı olabilir. Testin yapılmasının muhtemel olmadığı durumlarda (düşük maruz kalma, < 1 ton/yıl) bir zararlılık profili oluşturmak için mevcut tek seçenek bunlar olabilir.

Yakın kimyasal analoglar için test sonuçlarını dahil etmek üzere uzman değerlendirmesi kullanan *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımları, bir maddenin mutajenitesi üzerindeki düzenleyici görüşleri güçlendirmenin yollarıdır. Ashby-Tennant süper-mutajen molekülü (Ashby ve Tennant, 1988) gibi genotoksisite için genel *yapısal uyarıları* belirleyen yöntemler de faydalı olabilir.

Mutajenite için tahmin modelleri

Yakın ilişkili yapılara ilişkin genotoksik sonlanma noktaları için test sonuçlarını tahmin etmek üzere literatürde yüzlerce (Q)SAR modeli bulunmaktadır (Naven ve ark., 2012; Bakhtyari ve ark., 2013). Bunlar yerel (Q)SAR olarak bilinir. Bilgi alanının temel özellikleri açıkça temsil edildiğinde, bu modeller, bir dizi mutajenik/genotoksik sonlanma noktasını tahmin etmek için en iyi tahmin araçlarını oluşturabilir. Bununla birlikte, raporlamanın kalitesi modelden modele değişir ve tahmin gücü net şekilde belgelendirmeye dayanılarak duruma göre değerlendirilmelidir.

Avrupa Komisyonu'nun Ortak Araştırma Merkezi (JRC) tarafından geliştirilen QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF) ve QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF) gibi uyumlaştırılmış şablonların kullanımı (http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/predictive_toxicology/qsar_tools/QRf), (Q)SAR modelleri ve (Q)SAR modelleri tarafından oluşturulan maddeye özel tahminler hakkındaki anahtar bilgilerin özetlenmesi ve raporlanmasında tutarlılığın sağlanmasına yardımcı olabilir. JRC web sitesi ayrıca, Ortak Araştırma Merkezine sunulan (Q)SAR modellerinin geçerliliğine ilişkin bilgilerin bir envanteri olan JRC (Q)SAR Modeli Envanterine de ev sahipliği yapmaktadır (http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_databases/jrc-qsar_inventory).

Genel olarak, varsayılan mekanik tanımlayıcılar içeren (Q)SAR modelleri tercih edilir; ancak birçok model tamamen yapısal tanımlayıcılar kullanır. Bu tür modellerin tahmin gücü yüksek olsa da, istatistiksel yöntemlere dayanırlar ve tanımlayıcıların toksikolojik önemi belirsiz olabilir.

Mutajenite için (Q)SAR modelleri, sınırlı sayıda türdeş maddeye (yerel modeller) veya çok çeşitli türdeş olmayan maddelere (küresel modeller) uygulanabilir. Küresel nicel yapı aktivite ilişkileri genellikle bilgisayar programlarında uygulanır ve bir dizi yerel modeli içerebilir; bu küresel modeller ilk olarak girdi molekülünü ait olduğu kimyasal alana sınıflandırır ve ardından ilgili yerel tahmin modelini uygular. Bunlar uzman sistemler olarak bilinir.

Diğer global modeller, önceden ayırma olmaksızın tüm girdi moleküllerine aynı matematiksel algoritmayı uygular. Genel olarak, uygulanabilirlik alanı kavramının yararlı olduğu ve modellerin uygulanabilirlik alanları içindeki maddeler için sonlanma noktalarının, dışarıda kalan maddelere göre daha iyi tahmin edildiği gözlemlenmektedir.

Mutajenite için birçok küresel model ticaridir ve bu küresel modellerin tedarikçilerinden bazıları, modelleme setlerindeki verilerin tescilli olduğunu düşünmektedir. Tescilli, (Q)SAR modelini geliştirmek için kullanılan eğitim seti verilerinin kullanıcıdan gizlendiği anlamına gelir. Diğer durumlarda, düzenleyici makamlar tarafından kullanımın dışında dağıtılamayacağı anlamına gelir. Modeller her zaman onları içeren yazılıma eşit değildir ve yazılım genellikle uzman kullanımları için esnek seçeneklere sahiptir. Bu nedenle, (Q)SAR modellerinde ve derlenen veritabanlarında mevcut bilgi seviyesi, amaçlanan amaç için yeterli olmalıdır.

Ekotoksikolojik, toksikolojik ve çevresel sonlanma noktaları için mevcut (ücretsiz ve ticari) tahmin yazılımlarının bir listesi, mutajenite modelleri dahil, AB projesi Antares (<http://www.antares-life.eu/>) çerçevesinde derlenmiştir.

Küresel modeller için en yaygın genotoksisite sonlanma noktası, Ames testinin sonuçlarını tahmin etmektir. Bu sonlanma noktası için bazı modeller bir metabolik simülatör içerir.

Diğer birçok mutajenite sonlanma noktası için modeller vardır. Örneğin, Danimarka Çevre Koruma Ajansı ve Danimarka Teknik Üniversitesi (DTU) Gıda dahilindeki Danimarka QSAR grubu (Danimarka Teknik Üniversitesi Ulusal Gıda Enstitüsü), bir dizi mutajenite modelinden tahminler içeren bir (Q)SAR veritabanı geliştirmiştir. Çeşitli Ames modellerine ek olarak, veritabanı, kromozom bozuklukları (CHO ve CHL hücreleri), fare lenfoma/*tk*, CHO/hprt gen mutasyon analizleri ve UDS (sıçan hepatositleri) *in vitro* sonlanma noktaları ve Drosophila eşeye bağlı çekinik öldürücü, fare mikronükleus, kemirgen baskın öldürücü, kemik iliğinde fare kardeş kromatid değişimi ve fare komet analizi verileri *in vivo* sonlanma noktalarının tahminlerini içerir. Veritabanına <http://qsar.food.dtu.dk> adresinden ücretsiz olarak erişilebilir. Çevrimiçi veritabanı, 166.000'den fazla madde için tahminler içerir ve kimyasal yapı ve parametre aramaları için esnek bir sistem içerir. Eğitim seti bilgileri ve doğrulama sonuçları dahil olmak üzere ayrı ayrı modeller hakkında bilgiler içeren bir kullanım kılavuzu web sitesinde mevcuttur. Veritabanı aynı zamanda OECD (Q)SAR Araç Kutusu ile de bütünleştirilmiştir. 70.000'den fazla REACH ön kayıtlı maddesi dahil olmak üzere 600.000'den fazla yapı için modellenen sonlanma noktalarının her birine ilişkin farklı QSAR modellerinin kullanımı ve iyileştirilmiş bir kullanıcı arayüzü ile birlikte, fikir birliği tahminleriyle veri tabanına büyük bir güncellenmenin 2015 yılının başlarında yapılması planlanmıştır.

Mutajenite tahminlerine sahip başka bir veritabanı örneği, ABD Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından desteklenen Gelişmiş NCI Veritabanı Tarayıcısıdır (<http://cactus.nci.nih.gov>). Mutajenite için 250.000'den fazla maddeye yönelik tahminlerin yanı sıra mutajenik olmayan diğer sonlanma noktaları içerir, bunlardan bazıları değerli mekanik bilgiler sağlayabilir (örneğin alkilleme kapasitesi veya mikrotübül oluşum inhibisyonu). Aynı zamanda çok çeşitli parametreler ve yapı kombinasyonları ile de aranabilir.

Bu iki örnekten hiçbiri mükemmel değildir, ancak çoklu sonlanma noktalarının tahminlerine yönelik bir eğilim gösterirler ve test edilmemiş maddelerin mutajenik potansiyeline ilişkin *Kanıt Ağırlığı* kararları oluşturanlara yardımcı olabilirler. Farklı (Q)SAR modellerinin güçleri ve sınırlamaları hakkında daha ayrıntılı bilgi başka bir çalışmada bulunabilir (Serafimova ve ark., 2010).

OECD QSAR Araç Kutusu

(Q)SAR modellerinin düzenleyici kabulünü artırmak için OECD, (Q)SAR teknolojisini kolayca erişilebilir, şeffaf ve altyapı maliyetleri açısından daha az talepkar hale getirmek için bir QSAR Araç Kutusu geliştirmeye başlamıştır (<http://www.qsartoolbox.org/>). OECD QSAR Araç Kutusu, kimyasal zararlılık değerlendirmesi için genotoksisite ve genotoksik kanserojenite dahil (eko-)toksisite verilerindeki boşlukları doldurmak için gruplandırma ve çapraz okuma yaklaşımlarının pratik uygulamasını kolaylaştırır. Özellikle OECD QSAR Araç Kutusu, *in vitro* gen mutasyonu (Ames testi), *in vitro* kromozom bozukluğu, *in vivo* kromozom bozukluğu (mikronükleus testi) ve genotoksik kanserojenite sonlanma noktalarını kapsar. Tahminler, genotoksisite ve kanserojenite (maddeleri yaygın etki mekanizmaları veya şekilleri için hızlı bir şekilde değerlendirmek üzere) ile bağlantılı bir dizi profil oluşturucunun uygulanmasına ve deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlarla çok sayıda veri tabanının mantıksal bir iş akışı halinde birleştirilmesine (çapraz okuma ve eğilim analizini desteklemek için) dayanmaktadır. Araç Kutusu ve kullanım kılavuzu ücretsiz olarak mevcuttur. "Genetik toksisite ve genotoksik kanserojeniteyi değerlendirmek amacıyla veri boşluklarını doldurmaya ilişkin kimyasallar için stratejiler" isimli bir kullanıcı kılavuzu ve protein ve DNA bağları ve Ames testi mutajenitesi ile ilgili Araç Kutusu kullanımıyla maddelerin kategorizasyonu için çeşitli eğitimler de OECD QSAR Araç Kutusu web sitesinde mevcuttur.

[BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.6: QSAR ve kimyasalların gruplandırılması, nicel yapı aktivite ilişkilerinin temel kavramlarını açıklar ve düzenleyici amaçlar için doğrulama, yeterlilik ve belgelendirme hakkında genel rehberlik sağlar. Aynı zamanda çapraz okuma/gruplandırma ve (Q)SAR kullanımı için aşamalı bir yaklaşımı açıklar. Toksisite tahmini için kategori oluşumu ve çapraz okuma yaklaşımı hakkında daha fazla bilgi Enoch (2010) çalışmasında bulunabilir.

Mutajenite üzerine test verileri

Kullanım için tercih edilen test yöntemleri [Tablo R.7.7-2](#), [Tablo R.7.7-3](#) ve [Tablo R.7.7-4](#) içerisinde listelenmiştir. Genetik toksisite testine ilişkin OECD Test Rehberlerine giriş ve ilgili OECD Test Rehberlerinin bazıları OECD Test Rehberleri Programı (TGP) kapsamında revize edilmektedir. Ek olarak, genetik toksisite için analizlerin seçimi ve uygulanmasına ilişkin bir OECD Rehber Dokümanı geliştirilmektedir. Daha fazla bilgi için lütfen <http://www.oecd.org/env/testguidelines> adresini ziyaret edin.

In vitro veriler

Tablo R.7.7-2 *In vitro* test yöntemleri

Test yöntemi	Ölçülen GENOTOKSİK SONLANMA NOKTALARI/TEST YÖNTEMİNİN İLKESİ	AB/OECD rehberi ^a
Bakteriyel ters mutasyon testi	Gen mutasyonları / Test, gen mutasyonlarını (nokta mutasyonları ve çerçeve kaymaları) saptamak (tersine çevirmek) için bakteri suşlarını gerektiren şekilde amino asit kullanır.	AB: B.13/14 OECD: 471
<i>In vitro</i> memeli hücresi gen mutasyon testi – <i>hprt</i> testi	Gen mutasyonları / Test, oluşan hücre hatlarının <i>hprt</i> geninde gen mutasyonlarını tetikleyen maddeleri tanımlar.	AB: B.17 OECD: 476 ^b
<i>In vitro</i> memeli hücresi gen mutasyon testi – Fare lenfoma analizi	Gen mutasyonları ve yapısal kromozom bozuklukları / Test, L5178Y fare lenfoma hücre hattının <i>tk</i> geninde gen mutasyonlarına neden olan maddeleri tanımlar. Bir <i>tk</i> mutasyon testindeki koloniler, normal çoğalma (büyük) ve yavaş çoğalma (küçük) kolonilerin kriterlerini kullanılarak puanlanırsa, genel yapısal kromozom bozuklukları (yani klastojenik etki) ölçülebilir, çünkü hem de <i>tk</i> geninin yakınında bulunan çoğalma genlerinde hasar görmüş mutant hücreler, iki katına çıkma sürelerinde uzama gösterir ve küçük koloniler oluşturma olasılığı daha yüksektir.	AB: B.17 OECD: 476 ^b
<i>In vitro</i> memeli kromozom bozukluğu testi	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, kültürlenmiş oluşan memeli hücre hatlarında, hücre suşlarında veya birincil hücre kültürlerinde yapısal kromozom bozukluklarına neden olan maddeleri tanımlar. Poliploidi artışı, bir maddenin sayısal kromozom bozukluklarını tetikleme potansiyeline sahip olduğunu gösterebilir, ancak bu test sayısal bozuklukları ölçmek için optimum değildir ve bu amaçla rutin olarak kullanılmamaktadır. Buna göre, bu test rehberi sayısal bozuklukları ölçmek için tasarlanmamıştır.	AB: B.10 OECD: 473 ^b
<i>In vitro</i> mikronükleus testi	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, interfaz hücrelerinin sitoplazmasında mikroçekirdekleri tetikleyen maddeleri tanımlar. Bu mikroçekirdekler asentrik parçalardan veya tam kromozomdan kaynaklanabilir ve bu nedenle test hem klastojenik hem de anöjenik maddeleri tespit etme potansiyeline sahiptir.	AB: B.49 OECD: 487 ^b

^a AB rehberleri için bkz. 440/2008 (EC) sayılı Tüzük (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008R0440:en:NOT>) / OECD rehberleri için bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>

^b OECD Test Rehberi 473, 476 ve 487 revize edilmektedir (bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>)

Daha önce belirtildiği gibi, standart test rehberlerinde/yöntemlerinde kabul edilen değişiklikler, belirli madde sınıflarına yönelik test hassasiyetini artırmak için geliştirilmiştir. Bunlardan herhangi birinin kaydı yapılan belirli bir madde için uygun olup olmadığına karar vermek üzere uzman değerlendirmesi uygulanmalıdır. Örneğin, Ames testi için protokol değişiklikleri, gazlar, uçucu sıvılar, azo-boyalar, diazo bileşikler, glikozitler ve özel durumlar olarak kabul edilmesi gereken petrol yağından türetilmiş ürünler gibi maddeler için uygun olabilir.

Hayvan verileri

- Somatik hücreler

Tablo R.7.7-3 *İn vivo* test yöntemleri, somatik hücreler

Test yöntemi	Ölçülen GENOTOKSİK SONLANMA NOKTALARI/TEST YÖNTEMİNİN İLKESİ	AB/OECD rehberi ^a
<i>İn vivo</i> memeli kemik iliği kromozom bozukluğu testi	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, genellikle kemirgenler olmak üzere hayvanların kemik iliği hücrelerinde yapısal kromozom bozukluklarına neden olan maddeleri tanımlar. Poliploidi artışı, bir maddenin sayısal kromozom bozukluklarını tetikleme potansiyeline sahip olduğunu gösterebilir, ancak bu test sayısal bozuklukları ölçmek için optimum değildir ve bu amaçla rutin olarak kullanılmamaktadır. Buna göre, bu test rehberi sayısal bozuklukları ölçmek için tasarlanmamıştır.	AB: B.11 OECD: 475 ^b
<i>İn vivo</i> memeli eritrosit mikronükleus testi	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, genellikle kemirgenler olmak üzere hayvanların kemik iliğinden ve/veya periferik kan hücrelerinden alınan eritroblastlarda mikroçekirdeğe neden olan maddeleri tanımlar. Bu mikroçekirdekler asentrik parçalardan veya tam kromozomdan kaynaklanabilir ve bu nedenle test hem klastojenik hem de anöjenik maddeleri tespit etme potansiyeline sahiptir.	AB: B.12 OECD: 474 ^b
<i>İn vivo</i> memeli karaciğer hücreleri ile planlanmamış DNA sentezi (UDS) testi	DNA onarımı / Test, genellikle sıçanlarda olmak üzere hayvanların karaciğer hücrelerinde DNA hasarını ve ardından DNA onarımını (planlanmamış "DNA" sentezi olarak ölçülür) tetikleyen maddeleri tanımlar. Test genellikle trityum etiketli timidinin, bir hasar bölgesi içeren bir DNA parçasının eksizyonu ve çıkarılmasından sonra onarım senteziyle DNA'ya dahil edilmesine dayanır.	AB: B.39 OECD: 486
Transgenik kemirgen somatik ve eşey hücreli gen mutasyon analizleri	Gen mutasyonları ve kromozomal yeniden düzenlemeler (ikincisi özellikle plazmid ve Spi-analiz modellerinde) / Transgenler eşey hücreleri tarafından iletiğinden, her hücrede bulunurlar. Bu nedenle gen mutasyonları ve/veya kromozomal yeniden düzenlemeler, hedef dokular ve özel temas doku bölgesi dahil olmak üzere bir hayvanın neredeyse tüm dokularında tespit edilebilir.	AB: B.58 OECD: 488
DNA zinciri kırılmaları için <i>in vivo</i> alkali tek hücreli jel elektroforez analizi (komet analizi)	DNA zinciri kırılmaları / DNA zinciri kırılmaları, DNA ile doğrudan etkileşimlerden, alkali değişken bölgelerden veya eksik eksizyon onarımının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle, alkali komet analizi, gen mutasyonlarına ve/veya kromozom bozukluklarına yol açabilecek birincil DNA hasarını tanır, ancak aynı zamanda etkili bir şekilde onarılabilen veya hücre ölümüne yol açabilen DNA hasarını da tespit eder. Komet analizi, özel temas doku bölgesi dahil olmak üzere, tek hücre veya çekirdek süspansiyonlarının yapılabildiği bir hayvanın hemen hemen her dokusuna uygulanabilir.	AB: yok OECD: 489

^a AB rehberleri için bkz. 440/2008 (EC) sayılı Tüzük (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008R0440:en:NOT>) / OECD rehberleri için bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>

^b OECD Test Rehberi 474 ve 475 revize edilmektedir (bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>)

OECD için, somatik hücrelerde bu tür analizlerin nasıl gerçekleştirileceğine dair tavsiyeler de dahil olmak üzere, transgenik hayvan modeli analizlerinin ayrıntılı bir incelemesi üretilmiştir (Lambert ve ark., 2005; OECD, 2009).

Son yıllarda, alkali tek hücreli jel elektroforez testinde DNA zinciri kırılmaları için (komet analizi) elde edilen verilerin daha iyi uyumlaştırılması için önemli olan deneysel faktörleri tanımlayan doğrulama çalışmaları ve öneriler yayınlanmıştır (Ersson ve ark., 2013; Azqueta ve ark., 2013; Forchhammer ve ark., 2012; Azqueta ve ark., 2011a; Azqueta ve ark., 2011b; Forchhammer ve ark., 2009; Collins ve ark., 2008).

Özellikle, çeşitli uluslararası gruplar, *in vivo* alkali komet analizini gerçekleştirmek için protokoller ve öneriler önermişlerdir (Tice ve ark., 2000; Hartmann ve ark., 2003; McKelvey-Martin ve ark., 1993; Brendler-Schwaab ve ark., 2005 ; Burlinson ve ark., 2007; Smith ve ark., 2008; Rothfuss ve ark., 2010; Burlinson, 2012; Vasquez, 2012; Johansson ve ark., 2010; Kirkland ve Speit, 2008; EFSA, 2012). *In vivo* alkali tek hücreli jel elektroforez analizi üzerine uluslararası bir doğrulama çalışması, 2006'dan 2012'ye kadar Japonya Alternatif Yöntemlerin Doğrulanması Merkezi (JaCVAM) tarafından koordine edilmiştir. Doğrulama çalışması raporu OECD tarafından hakemli olarak incelenmiş ve bir OECD uzman grubu, Nisan 2014'te OECD Test Rehberleri Programı Ulusal Koordinatörler Çalışma Grubu (WNT) tarafından onaylanan komet OECD Test Rehberini hazırlamıştır. Komet OECD Test Rehberi 489 kabul görmesi beklenirken, EFSA (2012) tarafından yayınlanan komet analizinin kabulü için minimum kriterler kullanılabilir.

- Eşey hücreler

Eşey hücrelerde testler geçmişte sadece çok nadir durumlarda yapılmıştır (bkz. bu Rehberde Bölüm R.7.7.6).

Tablo R.7.7-4 *In vivo* test yöntemleri, eşey hücreler

Test yöntemi	Ölçülen GENOTOKSİK SONLANMA NOKTALARI/TEST YÖNTEMİNİN İLKESİ	AB/OECD rehberi ^a
Memeli spermatogonial kromozom bozukluğu testi	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, memelilerde, genellikle kemirgenlerde, spermatogoni hücrelerinde yapısal kromozom bozukluklarına neden olan maddeleri tanımlar ve bu nedenle eşey hücrelerde kalıtsal mutasyonların tetiklenmesini öngörmesi beklenir. Poliploidi artışı, bir maddenin sayısal kromozom bozukluklarını tetikleme potansiyeline sahip olduğunu gösterebilir, ancak bu test sayısal bozuklukları ölçmek için optimum değildir ve bu amaçla rutin olarak kullanılmamaktadır. Buna göre, bu test rehberi sayısal bozuklukları ölçmek için tasarlanmamıştır.	AB: B.23 OECD: 483 ^b
Kemirgen baskın öldürücü analiz	Yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları / Test, genellikle erkek olmak üzere maruz kalan bir ebeveynin eşey hücrelerinde tetiklenen kalıtsal baskın öldürücü mutasyonlardan kaynaklanan embriyonik veya fetal ölüme neden olan baskın öldürücü etkilere yol açan maddeleri tanımlar. Baskın öldürücülerin yapısal ve sayısal kromozom bozukluklarından kaynaklandığı genel olarak kabul edilir. Test türü olarak sıçanlar veya fareler önerilir.	AB: B.22 OECD: 478 ^b
Transgenik kemirgen somatik ve eşey hücreli gen mutasyon analizleri	Gen mutasyonları ve kromozomal yeniden düzenlemeler (ikincisi özellikle plazmid ve Spi-analiz modellerinde) / Transgenler eşey hücreleri tarafından iletildiğinden, her hücrede bulunurlar. Bu nedenle gen mutasyonları ve/veya kromozomal yeniden düzenlemeler, özel temas doku bölgesi ve eşey hücreler dahil olmak üzere bir hayvanın neredeyse tüm dokularında tespit edilebilir. Spermatogenezin farklı aşamalarındaki mutasyonları tespit etmek için uzatılmış örnekleme sürelerinin dikkate alınması gerekebilir.	AB: yok OECD: 488

^a AB rehberleri için bkz. 440/2008 (EC) sayılı Tüzük (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008R0440:en:NOT>) / OECD rehberleri için bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>

^b OECD Test Rehberi 478 ve 483 revize edilmektedir (bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>)

OECD için, eşey hücrelerde bu tür analizlerin nasıl gerçekleştirileceğine dair tavsiyeler de dahil olmak üzere, transgenik hayvan modeli analizlerinin ayrıntılı bir incelemesi üretilmiştir (Lambert ve ark., 2005; OECD, 2009). Tek bir çalışmada somatik ve eşey hücrelerin örneklemesini dahil etme kapasitesi, bu tür bilgileri elde etmek için ek çalışmalar yapma ihtiyacını önemli ölçüde azaltır, böylece 3R ilkelerine (yerine geçme, azaltma ve iyileştirme ilkeleri) uyulur. OECD Test Rehberi 488'de belirtildiği gibi, spermatogenezin tüm aşamalarını kapsamak için ek örnekleme sürelerine ihtiyaç duyulabilir. Transgenik erkek farelere uygulamanın yavrulara mutasyon taşımasına neden olabileceğinden, test ayrıca mutasyonların yavruya aktarımını araştırmak için de kullanılabilir (Barnett ve ark., 2002).

Transgenik bir fare modeli kullanılarak epididimal spermatozoada mutajenite araştırmasının bir örneği yayınlanmıştır (Olsen ve ark., 2010).

Standart alkali komet analizinin eşey hücrelere uygulanabilirliği OECD tarafından tartışılmıştır. OECD Test Rehberi 489'da (bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>) açıklanan test, olgun eşey hücrelerde DNA zinciri kırılmalarını ölçmek için uygun olarak değerlendirilmez. DNA hasarında yüksek ve değişken temel seviyeler, eşey hücre genotoksitesisi için komet analizinin kullanımına ilişkin bir literatür taramasında bildirildiğinden (Speit ve ark., 2009), olgun eşey hücreler (örneğin sperm) üzerinde yapılan komet analizinin test rehberine dahil edilebilmesinden önce gelişmiş standartlaştırma ve doğrulama araştırmaları ile birlikte protokol değişiklikleri önce gerekli görülmektedir. İlave olarak, bu rehberde açıklanmış önerilen maruz kalma rejimi optimal değildir ve olgun spermde DNA zinciri kırılmalarının anlamlı bir analizi için daha uzun maruz kalma veya örnekleme süreleri gerekli olacaktır. Farklı farklılaşma aşamalarında testis hücrelerinde komet analizi ile ölçülen genotoksik etkiler literatürde açıklanmıştır (Zheng ve ark., 1997; Cordelli ve ark., 2003). Bununla birlikte, gonadların somatik ve eşey hücrelerinin bir karışımını içerdiği unutulmamalıdır. Bu nedenle, tüm gonaddaki (testis) pozitif sonuçlar, eşey hücresi hasarını yansıtmayabilir, ancak test edilen kimyasalların gonada ulaştığını gösterirler.

DeneySEL veri bulunan veri tabanları

Mutajenite ve kanserojenlik üzerine deneysel bilgiler içeren birkaç açık kaynaklı veri tabanı vardır (iki sonlanma noktası genellikle kolayca ayrılamaz). Bu veri tabanlarının bir incelemesi Serafimova ve ark. (2010) çalışmasında bulunabilir.

R.7.7.3.2 Mutajenite üzerine insan verileri

Zaman zaman, örneğin kaza, meslek veya klinik çalışmalar (örn. vaka raporları veya epidemiyolojik çalışmalardan) yoluyla maruz kalan insanlarda genotoksik etkilere ilişkin çalışmalar mevcut olabilir. Genel olarak, kan dolaşımındaki hücreler, çeşitli türlerde genetik değişikliklerin meydana gelmesi açısından araştırılır.

R.7.7.4 Mutajenite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Genotoksitesite karmaşık bir sonlanma noktasıdır ve uzman görüşü ile değerlendirmeyi gerektirir. Etki değerlendirmesinin her iki basamağı için, yani zararlılık tanımlama ve doz (konsantrasyon) - cevap (etki) değerlendirmesi için, verilerin yeterliliği ve eksiksizliği açısından değerlendirilmesi çok önemlidir. Yeterlilik değerlendirmesi, giriş bölümünde ana hatlarıyla belirtildiği gibi, verilerin güvenilirliğini ve uygunluğunu ele almalıdır. Verilerin eksiksizliği, mevcut yeterli bilgi ile maddenin uygulanabilir tonaj seviyesi için KKDİK hükümleri kapsamında gerekli olan bilgiler arasındaki karşılaştırmanın sonucunu ifade eder. Bu sonuç, mevcut bilgileri kullanılan yöntemlere dayanılarak kategorilere ayıran *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımlarına dayanır: *rehber testleri*, *rehber dışı testler* ve standart test rejiminin uyarlanmasına gerekçe gösterebilecek diğer bilgi türleri. Bu *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı aynı zamanda mevcut verilerin bir bütün olarak, yani toksikolojik sonlanma noktaları boyunca değerlendirilmesini de içerir (örneğin, mevcut kanserojenlik verileri, tekrarlı doz toksitesisi verileri ve genotoksitesite verilerinin birlikte dikkate alınması bir maddenin genotoksik veya genotoksik olmayan kanserojen bir madde olup olmadığını anlamaya yardımcı olabilir).

Bu yaklaşım, belirli verilerin yetersiz görüldüğü veya mevcut olmadığı sonlanma noktaları hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç olup olmadığına veya gereksinimlerin karşılanıp karşılanmadığına karar vermek için bir dayanak sağlar.

R.7.7.4.1 Mutajenite üzerine insan dışı veriler

Mutajenite üzerine test dışı veriler

Daha resmi bir yaklaşımda, belgelendirme, endişe veya endişe olmaması sonucuna götüren ilgili bir madde veya madde grubuna atıf içerebilir. Bu, bilimsel mantığa göre (çapraz okuma) veya bazen kimyasal benzerliğin matematiksel bir ilişkisi olarak sunulabilir.

İyi belgelenmiş ve uygulanabilir (Q)SAR verileri mevcutsa, aşağıdaki bölümde açıklanan karar noktalarına ulaşmaya yardımcı olmak için kullanılmalıdır. Çoğu durumda, bu tür yöntemlerin doğruluğu, bir test veya belirli bir düzenleyici kararın alınmasına yardımcı olmak veya izin vermek için yeterli olacaktır. Diğer durumlarda, olası bir hatanın ciddi sonuçları nedeniyle belirsizlik kabul edilemez olabilir. Bu, yüksek maruz kalma potansiyeli veya toksikolojik endişeler dahil olmak üzere birçok faktörden kaynaklanıyor olabilir.

Test verisi bulunmayan veya teknik olarak test edilmesi mümkün olmayan maddeler, test dışı verilere güvenmenin mutlak olabileceği özel bir durumu temsil eder. Yapılan bir teste dayanmayan bir sonuca ulaşmada test dışı yöntemlerin kabul edilebilirliğini birçok faktör belirleyecektir. Çoklu genotoksinite ve kanserojenite tahminlerine dayalı *Kanıt Ağırlığı* kararlarının bir veya iki *in vitro* testle elde edilenlere eşit olup olmayacağı veya bunları aşip aşamayacağı ve KKDİK Ek 11'de açıklanan standart test rejiminin uyarlanması için genel kuralların bu tür tahminlere dayanarak gerekli olup olmadığı tartışılabilir. Bu, duruma göre dikkate alınmalıdır.

Mutajenite üzerine test verileri

Genotoksinite testi verilerinin değerlendirilmesi özenle yapılmalıdır.

Pozitif bulgularla ilgili olarak, belirli noktalar dikkate alınmalıdır:

- *in vitro* memeli hücre analizlerindeki test koşulları (örn. pH, ozmolalite, çökeltiler) *in vivo* koşullarla ilgili mi?
- *in vitro* çalışmalar için, kullanılan hücre hattı, test edilen en yüksek konsantrasyon, kullanılan toksisite ölçüsü veya kullanılan metabolik aktivasyon sistemi gibi memeli hücre analizlerinin özgüllüğünü etkilediği bilinen faktörler dikkate alınmalıdır.
- yalnızca yüksek düzeyde toksik/sitotoksik dozlarda veya konsantrasyonlarda üretilen cevaplar dikkatle (yani OECD rehberlerinde tanımlanan kriterler dikkate alınarak) yorumlanmalıdır
- bir doz (konsantrasyon)-cevap ilişkisinin varlığı veya yokluğu dikkate alınmalıdır

Negatif test sonuçlarını değerlendirirken dikkate alınması gereken belirli noktalar şunları içerir:

- kullanılan test maddesinin dozları veya konsantrasyonları (yeterince yüksek mi? *in vivo* çalışmalar için, toksisite belirtilerini tetikleyen yeterince yüksek bir doz seviyesi kullanılmış mı? *in vitro* çalışmalar için yeterli düzeyde sitotoksisiteye ulaşılmış mı?)
- kullanılan test sistemi, beklenen genotoksik değişikliklerin doğasına duyarlı mı? Örneğin, bazı *in vitro* test sistemleri nokta mutasyonlarına ve küçük silinmelere karşı hassasken, büyük silinmelere neden olan mutajenik olaylara karşı hassas olmayacaktır.
- test maddesinin uçuculuğu (konsantrasyonlar *in vitro* yapılan testlerde muhafaza edilmiş mi?)

- *in vitro* çalışmalar için, karaciğer dışı organlardaki çalışmalar dahil olmak üzere test sisteminde metabolizmanın uygun olmaması olasılığı
- *in vitro* çalışmalar için kullanılan test sistemi tarafından test maddesi alınmış mı?
- *in vitro* çalışmalar için yeterli hücre puanlanmış mı/örnekleilmiş mi? Kabul edilen negatif sonucun istatistiksel anlamlılığını desteklemek için uygun sayıda numune/teknik tekrar puanlanmış mı?
- *in vivo* çalışmalar için, madde hedef organa ulaşmış mı? Veya madde, yüksek reaktivitesi veya yetersiz sistemik mevcudiyeti nedeniyle yalnızca temas bölgesinde hareket edebilecek bir konumda mı (toksikokinetik verileri de dikkate alarak, *örn.* hidroliz hızı ve elektrofilitiklik dikkate alınması gereken faktörler olabilir)?
- *in vivo* çalışmalar için örnekleme uygun mu? (Yeterli sayıda hayvan kullanılmış mı? Yeterli örnekleme süreleri kullanılmış mı? Yeterli sayıda hücre puanlanmış mı/örnekleilmiş mi?)

Farklı test sistemleri arasındaki farklı sonuçlar, bireysel önemi açısından değerlendirilmelidir. Dikkate alınması gereken hususlara örnekler aşağıdaki gibidir:

- memeli dışı sistemlerde ve memeli hücre testlerinde elde edilen farklı sonuçlar, madde alımı ve metabolizmasındaki veya genetik materyal düzeni ve onarım yeteneğindeki olası farklılıklar dikkate alınarak ele alınabilir. Memeli testlerinin sonuçları daha yüksek önem arz etse de, farklılıkları açıklamak için ek verilere ihtiyaç olabilir
- varsayımsal DNA lezyonlarını (*örn.* DNA bağlanması, DNA hasarı, DNA onarımı; kardeş kromatid değişimi) tespit eden gösterge testlerinin sonuçları, mutajenite testlerinde elde edilen sonuçlarla uyumlu değilse, uygun mutajenite testlerinin yürütülmesi koşuluyla mutajenite testlerinin sonuçları genellikle daha yüksek önem taşır. Bu, uzman değerlendirmesine bağlıdır.
- *in vitro* ve *in vivo* farklı bulgular elde edilirse, genel olarak *in vivo* testlerin sonuçları daha yüksek bir güvenilirlik derecesine işaret eder. Bununla birlikte, *in vivo negatif* sonuçların değerlendirilmesi için, en uygun dokulardan numune alıp alınmadığı ve hedef doku maruz kalmasına dair yeterli kanıt olup olmadığı dikkate alınmalıdır.
- Farklı test sistemlerinin hassasiyeti ve özgüllüğü, farklı madde sınıfları için değişiklik gösterir. Diğer ilgili maddeler için mevcut test verileri, değerlendirilen madde sınıfı için farklı testlerin performansının değerlendirilmesine izin veriyorsa, daha doğru yanıtlar ürettiği bilinen test sisteminden elde edilen sonuca daha yüksek öncelik verilecektir.

Farklı laboratuvarlar tarafından veya farklı durumlarda gerçekleştirilen aynı testten farklı sonuçlar da elde edilebilir. Bu durumda, verileri değerlendirmek ve genel bir sonuca varmak için uzman görüşü kullanılmalıdır. Özellikle, her bir çalışmanın ve sağlanan verilerin kalitesi, çalışma tasarımı, verilerin tekrarlanabilirliği, doz (konsantrasyon) - etki ilişkileri ve bulguların biyolojik uygunluğu dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Test maddesinin kimliği ve saflığı da hesaba katılması gereken bir faktör olabilir. Bir test yöntemi için bir AB/OECD rehberinin mevcut olması durumunda, değerlendirilen madde için standart test rehberinden belirli sapmaların gerekçelendirilmesi için ikna edici bilimsel kanıt sağlanmadığı sürece, bu yöntemi kullanan bir çalışmanın kalitesi rehberde belirtilen gerekliliklere uygun olarak yürütülmüşse daha yüksek kabul edilir. Dahası, İLU dışı çalışmalarla karşılaştırıldığında, aynı test için İLU ile uyumlu çalışmalar genellikle çalışma güvenilirliği/kalitesi değerlendirilirken dikkate alınması gereken önemli faktörler olan daha fazla belgeleme ve çalışma detayı sağlar.

Bir maddenin potansiyel mutajenitesi hakkında bir değerlendirme yapılırken veya daha ileri testlere ihtiyaç olduğu düşünüldüğünde, çeşitli testlerden ve genotoksik sonlanma noktalarından veriler bulunabilir. Kanıtın hem ağırlığı hem de gücü dikkate alınmalıdır. En güçlü kanıt, uluslararası kabul görmüş test rehberleri/yöntemleri ile modern, iyi yürütülen çalışmalarla sağlanacaktır. Her test türü ve her genotoksik sonlanma noktası için ayrı bir *Kanıt Ağırlığı* analizi yapılmalıdır. Olumlu mutajenite kanıtının sadece bir test tipinde veya sadece bir sonlanma noktası için bulunması alışılmadık bir durum değildir. Bu gibi durumlarda, farklı sonlanma noktaları için pozitif ve negatif sonuçlar çelişkili değildir, ancak mutajenik potansiyele sahip maddeleri tanımlama olasılığını artırmak amacıyla çeşitli genetik değişiklikler için test yöntemlerini kullanmanın avantajını gösterir. Bu nedenle, farklı genotoksik sonlanma noktalarını test eden yöntemlerden elde edilen sonuçlar genel bir *Kanıt Ağırlığı* analizinde birleştirilmemeli, ancak her sonlanma noktası için bu tür bir analize ayrı ayrı tabi tutulmalıdır. Veri setinin tamamına dayalı olarak, veri boşluklarının olup olmadığı dikkate alınmalıdır: veri boşlukları varsa, daha fazla test yapılması düşünülmelidir, aksi takdirde uygun bir sonuç/değerlendirme yapılabılır.

R.7.7.4.2 Mutajenite üzerine insan verileri

İnsan verileri, durum bazında dikkatlice değerlendirilmelidir. Bu tür verilerin yorumlanması önemli ölçüde uzmanlık gerektirir. Özellikle maruz kalma bilgilerinin yeterliliğine, karıştırıcı faktörlere, birlikte maruz kalmalara ve çalışma tasarımında veya olayda yanlılık kaynaklarına dikkat edilmelidir. Testin istatistiksel gücü de düşünülebilir. İnsan verilerine dayanılarak bugüne kadar hiçbir eşey hücre mutajeninin tanımlanmadığı söylenebilir.

R.7.7.4.3 Mutajenite için kalan belirsizlikler

İyi tasarlanmış ve yürütülen çalışmalardan *in vitro* ve *in vivo* olarak güvenilir veriler elde edilebilir. Bununla birlikte, insan verilerinin mevcut olmaması ve testlerin doğasında her zaman var olan belirsizlik derecesi nedeniyle, bu test verilerini insanlardaki etkiye göre tahmin ederken belirli bir düzeyde belirsizlik kalır.

R.7.7.5 Mutajenite için varılan sonuçlar

R.7.7.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme için sonuç

Mutajeniteye ilişkin uygun bir sınıflandırma ve etiketleme konumuna karar vermek için, mevcut veriler SEA Yönetmeliği Ek 1 kriterleri kullanılarak değerlendirilmelidir (ayrıca bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#) Bölüm 3.5)

R.7.7.5.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç

Test sistemlerindeki mutajenik maddelerin doz (konsantrasyon) cevap şekilleri ve etki şekli ile ilgili hususlar

Doz (konsantrasyon)-cevap ilişkisi ve olası etki mekanizmalarına ilişkin hususlar, bir risk değerlendirmesinin önemli bileşenleridir. Genotoksik maddeler için varsayılan varsayım, uzun süredir doğrusal bir doz (konsantrasyon)-cevap ilişkisine sahip olmaları olmuştur. Bununla birlikte, bu varsayıma son zamanlarda hem doğrudan hem de dolaylı etkili genotoksinlerin doğrusal olmayan veya eşikli doz (konsantrasyon)-cevap eğrilerine sahip olabileceğini gösteren deneysel kanıtlar tarafından sorgulanmıştır.

Doğrusal olmayan veya eşikli doz (konsantrasyon) cevap ilişkileri yoluyla genotoksisiteye yol açtığı gösterilebilen DNA dışı reaktif mekanizmaların örnekleri arasında DNA sentezinin inhibisyonu, DNA onarımında değişiklikler, savunma mekanizmalarının aşırı yüklenmesi (antioksidanlar veya metal homeostatik kontroller), anöploidi, topoizomeraz inhibisyonu, yüksek sitotoksisite, metabolik aşırı yüklenme ve fizyolojik rahatsızlıklara (örn. eritropoeiz indüksiyonu) yol açan mikrotübül düzeneği ile etkileşim bulunabilir.

Alkilleiyici ajanlar gibi bazı DNA reaktif genotoksik maddeler için doğrusal olmayan veya eşikli doz (konsantrasyon) cevap ilişkilerinin altında yatan mekanizmalar, DNA onarım kapasitesi ile bağlantılı görünmektedir.

Bu tür mekanizmaların aracılık ettiği genotoksik cevaplara atanacak önemin değerlendirilmesi, ilgili *in vivo* koşullar altında meydana gelmesi beklenebilecek madde konsantrasyonlarında temel mekanizmanın tetiklenip tetiklenemeyeceğinin bir değerlendirmesini içerecektir.

Genel olarak, genotoksisite analizlerinde birkaç konsantrasyon/doz test edilir. Genotoksisite için OECD test rehberlerinde önerildiği gibi en az üç deneysel konsantrasyon/doz test edilmelidir. Deneysel doz (konsantrasyon)-etki ilişkilerin belirlenmesi, bir maddenin genotoksik potansiyelini değerlendirmek için önemli olan birkaç deneysel bilgiden biridir ve aşağıda belirtildiği gibi kullanılabilir. Bu hususların tümünün *in vivo* verilere uygulanamayacağı kabul edilmelidir.

- OECD genotoksisite testi rehberlerine giriş, açık pozitif bulguların belirlenmesi için ilgili kriterleri listeler: (i) genotoksik cevaptaki artış konsantrasyon veya dozla ilişkilidir, (ii) veri noktalarından en az biri eşzamanlı negatif kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış sergiler ve (iii) istatistiksel olarak anlamlı sonuç, geçmiş negatif kontrol verilerinin dağılımının dışındadır (*örn.*, %95 güven aralığı). Uygulamalarda, genotoksisitede doza (konsantrasyon) bağlı artış kriteri en çok *in vitro* testler için yardımcı olacaktır, ancak bazı deneysel sistemlerde bir doz (konsantrasyon)-cevap ile ilgili etkiden sapmalara neden olabilecek sitotoksisiteyi veya hücre döngüsü gecikmesini kontrol etmek için özen gösterilmesi gerekir.
- genotoksisite testleri etki olmayan seviyeyi elde etmek için tasarlanmamıştır. Ancak, gözlemlenen bir etkiye sahip en düşük dozun büyüklüğü (yani Etkinin Gözlemlendiği En Düşük Doz veya LOED), belirli durumlarda risk değerlendirmesinde yardımcı bir araç olabilir. Bu, özellikle eşikli mekanizmaların neden olduğu genotoksik etkiler için geçerlidir (*örn.* anöjenisite). Dahası, söz konusu testteki maddenin mutajenik gücüne dair bir gösterge verebilir. Ek doz veya konsantrasyon noktaları ve geliştirilmiş istatistiksel güç ile değiştirilmiş çalışmalar bu açıdan faydalı olabilir. Kıyaslama dozu (BMD) yaklaşımı NOED/LOED yaklaşımına göre çeşitli avantajlar sunar ve doz (konsantrasyon)-cevap değerlendirmesi için alternatif bir strateji olarak kullanılabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8)
- Olağandışı doz (konsantrasyon) - cevap eğrisi şekilleri, genotoksisitenin özel mekanizmalarının tanımlanmasına katkıda bulunabilir. Örneğin, aşırı derecede dik artışlar, daha fazla araştırma ile doğrulanabilecek dolaylı bir etki şekli veya metabolik değişim olduğunu düşündürür.

İnsanların mutajenik maddelere maruz kalmasıyla ilişkili genetik risklere ilişkin hususlar

İnsanların mutajenlere (düşük) maruz kalmasıyla ilişkili sağlık risklerini tahmin etmek için resmi olarak kabul edilmiş yöntemler yoktur. Aslında, günümüzde kullanılan testlerin tümü değilse de çoğu, kendi başına mutajenik zararlılığın tanımlanması için maddenin mutajenik özelliklerini tanımlamak üzere geliştirilir ve uygulanır. Günümüzün düzenleyici uygulamalarında, mutajenik maddelere maruz kalmadan kaynaklanan insan sağlığı risklerinin değerlendirilmesinin, bu maddelerin kanserojen risklerinin değerlendirilmesi ve düzenlenmesi ile kapsandığı düşünülmektedir. Bunun nedeni, bu kanserojen etkilerin altında mutajenik olayların yatmasıdır. Bu nedenle, mutajenite verileri, risk değerlendirme amacıyla doz tanımlayıcıları türetmek için kullanılmaz ve okuyucu, mutajenik maddeler için kimyasal güvenliğin nasıl değerlendirileceğine ilişkin rehberlik için Bölüm [R.7.7.8](#) 'i (Kanserojenite) bu yönden incelemelidir.

R.7.7.5.3 Bilgilerin yeterli olmaması

KKDİK kapsamındaki tonajla tetiklenen bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, gerekliliklerin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi benimsenebilir.

R.7.7.6 Mutajenite için Bütünleşik Test Stratejisi

R.7.7.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu test stratejisi, maddelerin mutajenik potansiyeline ilişkin zararlılığın tanımlanması için esnek, adım adım bir yaklaşımı açıklar, böylece sınıflandırma ve etiketleme dahil olmak üzere yeterli risk karakterizasyonu için yeterli veri elde edilebilir. Bilimsel titizlikle tutarlı olduğu sürece hayvanların kullanımını ve maliyetleri en aza indirmeye yardımcı olur. Test stratejisinin bir akış şeması [Şekil R.7.7-1](#)'de sunulmuştur ve farklı test veri setlerine dayalı takip prosedürlerine ilişkin tavsiyeler [Tablo R.7.7-5](#)'te verilmiştir. Bu bölümde daha ileride belirtildiği gibi, ilgili maddeler için mevcut veriler, alternatif test stratejilerinin *in vivo* mutajenite için daha fazla hassasiyet ve özgüllük sağlayan sonuçlar verdiğini gösteriyorsa, bu stratejiden sapmalar düşünülebilir.

Strateji, çoğu maddenin potansiyel mutajenitesi hakkında yeterli güvence sağlamak için yeterli olduğu düşünülen bir bilgi düzeyini tanımlar. Aşağıda açıklandığı gibi, KKDİK Yönetmeliğinde belirtilen Ek 8 tonaj seviyesindeki çoğu madde için bu bilgi seviyesi gerekli olacaktır, ancak verilerin Ek 7'deki maddeler için gerekli olabileceği durumlar açıklanmıştır.

Bazı maddeler için, diğer kaynaklardan/testlerden elde edilen ilgili veriler de mevcut olabilir (*örn.* fiziko-kimyasal, toksikokinetik ve toksikodinamik parametreler ve diğer toksisite verileri; iyi araştırılmış, yapısal olarak benzer maddelerle ilgili veriler). Bunlar gözden geçirilmelidir çünkü bazen madde üzerinde standart bilgi gerekliliklerinde tanımlanandan daha fazla veya daha az genotoksikite çalışmasına ihtiyaç duyulduğunu gösterebilir; yani, özel testlere/test sistemlerinin seçilmesine izin verebilirler. Örneğin, inorganik metal bileşiklerinin bakteriyel mutajenez analizleri, metal iyonlarının alımına yönelik sınırlı kapasite ve/veya potansiyel olarak mutantlarda artan bir ölüm oranına yol açan bakterilerdeki metaller tarafından büyük DNA silinmelerinin tetiklenmesi nedeniyle sıklıkla negatiftir. Metal bileşikleri için yanlış negatiflerin yüksek yaygınlığı, bakteri hücrelerinin aksine memeli hücreleriyle yapılan mutajenez analizlerinin, Ek 7 maddelerinin bu sınıfının test edilmesi için tercih edilen başlangıç noktası olacağını gösterebilir.

Özetle, stratejinin temel bir kavramı, ilk genotoksikite testlerinin ve test rehberlerinin/yöntemlerinin, değerlendirilmekte olan bileşik sınıfı için en doğru test stratejisini belirleyen mevcut veriler dikkate alınarak seçilmesi gerektiğidir. O zaman bile, ilk testler her zaman yeterli bilgi vermeyebilir ve bazen kullanım modeli de dahil olmak üzere maddeye ilişkin mevcut tüm ilgili bilgiler ışığında daha fazla testin gerekli olduğu düşünülebilir. Herhangi bir *in vitro* testte pozitif sonuçlara neden olan maddeler için normal olarak daha fazla test yapılması gerekecektir.

Uygun test sistemlerinde mevcut verilerden yeterli bir genotoksikite değerlendirmesinden negatif sonuçlar elde edilirse, ek genotoksikite testleri yapmaya gerek olmayabilir.

SEA Yönetmeliği Ek 6'ya göre eşey hücre mutajenitesi için kategori 1A, 1B veya 2'de ve/veya kanserojenite için kategori 1A veya 1B'de uyumlaştırılmış bir sınıflandırmaya sahip maddeler, memeli hücrelerinde *in vitro* sitojenite çalışması için Ek 8 gerekliliklerini karşılamak üzere genellikle ek test gerektirmez. Uygun risk yönetimi önlemlerinin uygulanması şartıyla, Ek 10 gerekliliklerini karşılamak için kanserojenite çalışması (bkz. bu Rehberde Bölüm [R.7.7.2](#)) ve Ek 8 ila 10 gerekliliklerini karşılamak için üreme sistemi toksisitesi çalışmaları (bkz. Rehberde Bölüm [R.7.7.6](#)) eşey hücre mutajenitesi için kategori 1A veya 1B'de sınıflandırılan maddeler için de ihmal edilebilir.

Kayıt ettirenin bir maddenin sınıflandırmasına ilişkin resmi konumdan emin olmadığı veya kendisi bir sınıflandırma önerisi yapmak istediği durumlarda, başka herhangi bir teste geçmeden önce uygun bir düzenleyici kurumdan tavsiye alınmalıdır.

Ek 9 veya 10 gerekliliklerini karşılamak için ek testlerin gerekli olması durumunda, kayıt ettiren ilk olarak Çevre ve Şehircilik Bakanlığı'na bir test önerisi sunmalı ve herhangi bir test başlatılmadan önce önceden izin almalıdır.

Genotoksisite testleri için strateji üzerine tavsiyelerin yakın zamanda diğer yetkili kuruluşlar tarafından da yayınlandığına dikkat edilmelidir (EFSA, 2011; EMA, 2012; UK COM, 2011). Bu stratejiler ya adım adım yaklaşıma ya da test serisi yaklaşımına dayanmaktadır. İlkeleri temelde bu Rehberde detaylandırılana benzerdir, yani; tek bir testin tüm genotoksik mekanizmaları tespit etme kapasitesine sahip olmaması nedeniyle bir maddenin genotoksik potansiyelinin kapsamlı bir değerlendirmesi için test dışı veriler ve *in vitro* ve *in vivo* testlerden elde edilen sonuçlar dahil olmak üzere farklı bilgi parçalarının kullanılmasını içerir. Bununla birlikte, bu stratejiler farklı düzenlemelere ve amaçlara hizmet etmeyi amaçladığından, aralarında, özellikle önerilen *in vitro* ve *in vivo* testlerin listesi ve bunları kullanma şekli açısından bazı farklılıklar olabilir. Örneğin, UK COM ve EFSA artık *in vitro* genotoksisite değerlendirmesi için iki testlik çekirdek bir serinin (yani bir *in vitro* mikronükleus testiyle birleştirilmiş bir bakteriyel ters mutasyon testi) kullanılmasını tavsiye ederken, KKDİK Yönetmeliği ve bu Rehberde, Ames testine ek olarak, yasal bir gereklilik olarak *in vitro* memeli hücreli gen mutasyon testi ve her ikisi de negatifse *in vitro* sitojenite testi belirtilmektedir. Dahası, *in vitro* kromozom bozukluğu testi KKDİK kapsamında *in vitro* mikronükleus testine olası bir alternatif olarak kabul edilirken, *in vitro* kromozom bozukluğu testinin sayısal kromozom bozukluklarını ölçmek için optimum olmaması nedeniyle artık genel olarak bu testlerin eşdeğer olmadığı kabul edilmektedir.

Bu rehber, genotoksisite testi alanındaki en son bilimsel gelişmeleri uygulamayı amaçlasa da, asıl amacı, KKDİK kapsamındaki yasal gerekliliklere uyması için kayıt ettirene tavsiye ve destek sağlamaktır ve bu nedenle bu Yönetmelik ile uyumludur.

R.7.7.6.2 Ön hususlar

Bir maddenin potansiyel mutajenitesinin kapsamlı bir şekilde kapsanması için, gen mutasyonları (baz değişimleri ve silmeler/eklemeler), yapısal kromozom bozuklukları (kırılmalar ve yeniden düzenlemeler) ve sayısal kromozom bozuklukları (anöploidi olarak tanımlanan kromozom kaybı veya artışı) hakkında bilgi gereklidir. Bu, maddenin kendisi üzerindeki mevcut verilerden veya testlerden veya bazen uygun *in silico* teknikler kullanılarak tahmin yoluyla elde edilebilir (örn. kimyasal gruplandırma, çapraz okuma veya (Q)SAR yaklaşımları).

Test maddesinin fiziko-kimyasal özellikleri hakkında bilinen her şeyin, uygun bir test stratejisi geliştirmeden önce hesaba katılması önemlidir. Bu tür bilgiler, hem kullanılacak test sistemlerinin seçimini hem de kullanılan test protokollerindeki değişiklikleri etkileyebilir. Bir maddenin kimyasal yapısı, mutajenik potansiyelin ilk değerlendirmesi için bilgi sağlayabilir. Fotomutajenite ile ilgili özel testlere duyulan ihtiyaç, bazı özel durumlarda bir molekülün yapısı, ışık emilimi potansiyeli veya ışıkla aktive olma potansiyeli ile gösterilebilir. Uzman görüşü kullanılarak, bir maddenin veya bir maddenin potansiyel bir metabolitinin bilinen mutajenlerle yapısal özelliklerinin aynı olup olmadığını belirlemek mümkün olabilir. Bu, bir maddenin mutajenik potansiyelinin karakterizasyonu için daha yüksek veya daha düşük bir öncelik düzeyini doğrulamak üzere kullanılabilir. Mutajenite için kanıt seviyesinin özellikle güçlü olduğu durumlarda, yalnızca yapı-aktivite ilişkilerine dayalı olarak ek testler yapılmadan KKDİK Ek 1 uyarınca kesin bir zararlılık değerlendirmesi yapmak mümkün olabilir: bu durumda, kayıt ettiren, Ek 7 ila 10 gerekliliklerini karşılamak için hala yeterli bilgi sağlamalıdır, ancak kayıt dosyasında bilimsel olarak gerçekleştirilmiş ve usulüne uygun olarak belgelenmişse, bu bağlamda test yerine kullanmak istediği sonuçların sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için yeterli olduğunu göstererek standart test rejiminin uyarlanması için Ek 11'in genel kurallarına başvurabilir.

In vitro testler, bir maddenin potansiyel mutajenitesini anlamak için özellikle yararlıdır ve bu test stratejisinde kritik bir role sahiptirler. Bununla birlikte, sınırlamaları da mevcuttur. Pozitif bulguların uygunluğunun açıklığa kavuşturulması için ve *in vitro* olarak yeterince taklit edilemeyen özel metabolik yolların olması durumunda genel olarak hayvan testlerine ihtiyaç duyulacaktır.

Test maddesinin toksikokinetik ve toksikodinamik özellikleri, hayvan testleri gerçekleştirilmeden veya değerlendirilmeden önce dikkate alınmalıdır. Bu özelliklerin anlaşılması, standart testler için, özellikle araştırılacak doku/dokular, madde uygulama yolu ve test edilen en yüksek doz ile ilgili olarak uygun protokollerin geliştirilmesini sağlayacaktır. Bu aşamada bir test maddesinin sistemik yararlanımı hakkında çok az nokta anlaşılırsa, toksikokinetik araştırmalar veya modelleme gerekli olabilir.

Özellikle metabolik aktivasyon olmadığında *in vitro* pozitif sonuçlar veren yüksek oranda elektrofilik maddeler gibi, daha önce belirtilenlere ek olarak bazı maddeler özel dikkat gerektirebilir. Bu maddelerin *in vivo* olarak proteinler ve suyla reaksiyona girebilmesine ve bu nedenle birçok dokuya karşı inaktif hale gelmesine rağmen, vücutla ilk temas bölgesinde mutajenik potansiyellerini ifade edebilirler. Sonuç olarak, solunum yolu, üst mide-bağırsak sistemi ve cilde uygulanabilen şekilde, transgenik hayvanlar kullanılan komet analizi veya gen mutasyon analizleri gibi test yöntemlerinin kullanılması uygun olabilir. Bu durumlarda özel test yöntemlerinin uygulanması gerekebilir ve bunların tanınmış, uluslararası geçerliliğe sahip test rehberleri olmayabilir. Bu tür testlerin geçerliliği ve faydası ve protokol seçimi, duruma göre uygun uzmanlar veya merciler tarafından değerlendirilmelidir.

Sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanması için kriterler (örneğin, açıkça pozitif ve açıkça negatif sonuçların nasıl tanımlanacağı) normalde test rehberlerinde/yöntemlerinde tanımlanmıştır. Açıkça pozitif veya negatif bir yanıtın doğrulanmasına gerek yoktur. Cevabın açıkça pozitif veya açıkça negatif olmadığı durumlarda ve bir sonucun biyolojik ilgisinin belirlenmesine yardımcı olmak için (örn. zayıf veya sınırdaki bir artış), veriler uzman değerlendirmesi ve/veya daha ileri araştırmalarla değerlendirilmelidir. Böyle bir cevap veren bir madde, normalde aynı test yöntemi kullanılarak, ancak kesin sonuçlar elde etmek için koşullar değiştirilerek hemen yeniden araştırılmalıdır. Ancak, daha fazla araştırmadan sonra bile veri seti pozitif veya negatif bir sonuca varmayı engelliyorsa, sonuç belirsiz olarak sonuçlanacaktır. Mümkün olduğunda, bir sonraki adıma geçmeden önce stratejik prosedürün bir adımı için net sonuçlar alınmalıdır. Bunun mümkün olmadığı ve çalışmanın örn. test veya prosedürün bazı sınırlamaları sonucunda sonuçsuz kaldığı durumlarda, stratejiye uygun olarak başka bir test yapılmalıdır.

Teknik olarak mümkün değilse veya mevcut bilimsel bilgiler ışığında gerekli görülüyorsa testlerin yapılmasına gerek yoktur. Stratejinin gerektirdiği testleri yapmamanın bilimsel gerekçeleri her zaman belgelenmelidir. Testlerin mümkün olduğunca OECD Rehberlerinde veya Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelikte açıklandığı şekilde kullanılması tercih edilir. Alternatif olarak, diğer testler için, uluslararası kabul görmüş uzman grupları, örn. Uluslararası Genotoksisite Testi Çalıştayı (Uluslararası Çevresel Mutajen Toplulukları Birliği çatısı altında IWGT) testlerin bilimsel olarak gerekçelendirilmesi şartıyla kullanılabilir. Bir mutajenik cevabı tespit etme potansiyelini en üst düzeye çıkarmak, negatif sonuçların güvenle kabul edilebilmesini ve testler farklı laboratuvarlarda yürütüldüğünde sonuçların karşılaştırılabilir olmasını sağlamak için tüm testlerin titiz protokollere göre yapılması esastır. Bu rehberin yazılması sırasında, aşağıda açıklanan *in vivo* komet analizi için standart bir test rehberi/yöntemi oluşturulacaktır. Bu nedenle, bu test yapılacaksa ve komet analizi OECD Test Rehberi 489'un kabul görmesini beklerken, uygun bir uzman veya merci ile protokol üzerine istişare yapılması tavsiye edilir.

Kayıt ettiren, Ek 9 veya 10 tonaj seviyelerindeki maddeler için omurgalı hayvanların kullanılmasını gerektiren herhangi bir test yapmak isterse, önce ÇŞB'a bir test önerisi sunması gerekir.

Test, ancak ÇŞB test teklifini resmi bir kararla kabul ettikten sonra yapılabilir.

R.7.7.6.3 Mutajenite için test stratejisi

Ek 7'deki standart bilgi gerekliliği

KKDİK Yönetmeliği Ek 7 tonaj seviyesindeki maddeler için bir ön mutajenite değerlendirmesi gereklidir. Mevcut tüm bilgiler dahil edilmelidir, ancak, analog maddeler için mevcut veriler bunun uygun olmadığını göstermedikçe, asgari olarak, normalde bakterilerdeki bir gen mutasyon testinden elde edilen veriler olmalıdır. Bakteriler için önemli toksisiteye sahip, bakteriler tarafından alımı olmayan veya bakterilerdeki gen mutasyon testinin yeterince gerçekleştirilemediği maddeler için, alternatif bir test olarak *in vitro* memeli hücreleri gen mutasyon testi kullanılabilir.

Bakteriyel testin sonucu pozitif olduğunda, maddenin memeli hücrelerinde genotoksik olma olasılığını göz önünde bulundurmak önemlidir. Bu olasılığı Ek 7 tonaj seviyesinde açıklığa kavuşturmak için daha fazla test verisine duyulan ihtiyaç, maddenin genotoksitesisiyle ilgili tüm mevcut bilgilerin değerlendirilmesine bağlı olacaktır.

Ek 8'deki standart bilgi gerekliliği

Bir maddenin potansiyel mutajenitesinin kapsamlı bir şekilde kapsanması için, KKDİK Yönetmeliği Ek 8 tonaj seviyesindeki maddeler için gen mutasyonları ve yapısal ve sayısal kromozom bozuklukları hakkında bilgi gereklidir.

Gerekli minimum bilgi seviyesinin sağlanabilmesi için bakterilerde gen mutasyon testine ek olarak en az bir ek test yapılması gerekmektedir. Bu, hem yapısal hem de sayısal kromozom bozukluklarını saptayabilen bir *in vitro* memeli hücre testi olmalıdır.

Bu ilk memeli hücreleri testi için KKDİK Yönetmeliğine göre alternatif seçenekler olarak görülebilecek esasen iki farklı yöntem vardır:

- Bir *in vitro* kromozom bozukluğu testi (OECD Test Rehberi 473), yani metafaz analizi kullanılarak yapısal kromozom bozuklukları için bir sitogenetik analiz. Poliploidi artışı, bir maddenin sayısal kromozom bozukluklarını tetikleme potansiyeline sahip olduğunu gösterebilir, ancak bu test sayısal bozuklukları ölçmek için optimum değildir ve bu amaçla rutin olarak kullanılmamaktadır. Buna göre, bu test rehberi sayısal bozuklukları ölçmek için tasarlanmamıştır.
- Bir *in vitro* mikronükleus testi (OECD Test Rehberi 487). Bu, yalnızca yapısal kromozomal bozuklukları değil, aynı zamanda anöploidi için de saptama avantajına sahip sitogenetik bir analizdir. Bir sitokinez bloğunun kullanılması, sentromerik DNA için problemlerle floresan yerinde (*in situ*) hibridizasyon veya kinetokor proteinlerinin immünokimyasal etiketlenmesi, kromozom hasarı ve mikroçekirdek oluşumu mekanizmaları hakkında bilgi sağlayabilir. Etiketleme ve hibridizasyon prosedürleri, anöjenlerin klastojenlerden ayırt edilmesini sağlayabilir. Bu bazen risk karakterizasyonu için faydalı olabilir. Bir maddenin anöjen olduğu kanıtlanırsa, eşiklenmemiş genotoksitesinin aksine, genotoksitesisi için eşik olduğu varsayılır. Her iki tür genotoksitesite mekanizması, risk değerlendirmesi gerçekleştirilmesinin farklı yollarını tetikler.

Diğer *in vitro* testler ilk memeli hücreleri testi olarak kabul edilebilir, ancak bunların kaydedilen maddeye uygunluklarını ve yapısal ve/veya sayısal kromozom bozukluklarına neden olan maddeler için bir tarama olarak güvenilirliklerini değerlendirmek için özen gösterilmelidir. Bu diğer testlerden herhangi birine kayıt için destekleyici bir gerekçe sunulmalıdır.

İlk *in vitro* memeli hücresi testine alternatif olarak bir *in vivo* sitogenetik testten (yani daha önce yapılmış bir çalışma veya çalışmalardan) mevcut verileri sunmak mümkündür. Örneğin, yeterli şekilde gerçekleştirilen bir *in vivo* mikronükleus testi halihazırda mevcutsa, bir alternatif olarak sunulabilir. Bununla birlikte, *in vivo* sitogenetik veriler mevcut olsa bile, *in vitro* memeli hücresi testinin hala gerekçelendirilebileceği özel durumlar olabilir. Örneğin, *in vivo* mikronükleus testinde, bazı maddeler düşük biyoyararlanım veya özel doku/organ dağılımı nedeniyle kemik iliğine ulaşamayabilir ve negatif sonuç verebilir. İlave olarak, kemik iliğindeki ana bileşiğin biyoyararlanımı gösterilebilse bile, karaciğer metabolizması gerektiren ve bunun için oluşan reaktif metabolitlerin kemik iliğine ulaşamayacak kadar kısa ömürlü olduğu bir klastojen, *in vivo* mikronükleus testinde negatif bir sonuç verebilir. Bu durumda, örneğin maddenin *in vitro* klastojenik (veya anöjenik) olup olmadığını ve genotoksik olması için özel bir metabolizma gerektirip gerektirmediğini anlamak amacıyla, *in vitro* testler maddenin etki şekline ilişkin yararlı bilgiler sağlayabilir. *In vivo* veriler halihazırda mevcut olduğunda, *in vitro* testin gerekçesi duruma göre değerlendirilmelidir.

Memeli hücrelerinde bir *in vitro* gen mutasyon çalışması (OECD Test Rehberi 476), Ek 8 tonaj seviyesinde kayıt için gerekli olan standart bilgi setinin ikinci parçasıdır. Zaten test edilmiş maddeler için, bu bilgi memeli hücrelerinde gen mutasyonlarının tetiklenmesine ilişkin olarak mutajenite için her zaman genel *Kanıt Ağırlığının* bir parçası olarak sunulmalıdır. Diğer maddeler için, bu ikinci *in vitro* memeli hücre testi normalde yalnızca bakteriyel gen mutasyon testinin sonuçları ve memeli hücrelerindeki ilk çalışmanın (yani bir *in vitro* kromozom bozukluğu testi veya bir *in vitro* mikronükleus testi) sonuçları negatif olduğunda gerekli olacaktır. Bu, diğer iki testte negatif sonuçlar veren *in vitro* mutajenleri tespit etmek içindir.

Özel koşullar altında, memeli hücrelerinde ikinci *in vitro* çalışmayı atlamak mümkün olabilir, yani bu memeli hücre testinin bir maddenin potansiyel *in vivo* mutajenitesi hakkında daha fazla yararlı bilgi sağlamayacağı gösterilebilirse, o zaman yürütülmesi gerekmez. İlk iki *in vitro* testin hassasiyetinin üçüncü testin gerçekleştirilmesiyle iyileştirilemeyeceğini göstermek için kesin verilerin sağlanabileceği bileşik sınıfları olabileceğinden, bu durum vaka bazında değerlendirilmelidir.

Gen mutasyonlarını tespit edebilen güvenilir bir *in vivo* çalışmadan yeterli bilgi elde edilirse, *in vitro* memeli hücresi gen mutasyon testi genellikle gerekli olmayacaktır. Bu tür bilgiler, bir TGR gen mutasyon analizinden gelebilir. Bir komet analizi veya bir karaciğer UDS testi de yeterli olabilir. Bununla birlikte, bu iki test varsayılan DNA lezyonlarını tespit eden gösterge analizleri olduğu için, kullanımları duruma göre gerekçelendirilmelidir, örneğin, karaciğer hücrelerinde birincil DNA onarımının saptanmasıyla sınırlı olduğundan, UDS yalnızca karaciğerin hedef organ olduğu makul bir şekilde varsayılabilirdiğinde kullanılmalıdır.

In vitro testlerin olumsuz sonuçlar vermesi koşuluyla, normalde Ek 8'deki standart bilgi gerekliliklerini karşılamak için hiçbir *in vivo* test gerekmeyecektir. Bununla birlikte, örneğin *in vitro* olarak tatmin edici testler yapmak teknik olarak mümkün olmadığında *in vivo* test yapmanın uygun olduğu ender durumlar olabilir. Örneğin fiziko-kimyasal özellikleri, kimyasal reaktiviteleri veya toksisiteleri nedeniyle *in vitro* testlerden bir veya daha fazlasında test edilemeyen maddeler, duruma göre değerlendirilmelidir. Aynı şekilde, *in vitro* olarak kullanılan S9 fraksiyonunun bazı maddelerin *in vivo* metabolizmasını taklit etmesi her zaman mümkün olmayabilir ve bu maddeler için *in vitro* negatif sonuçların ilgi düzeyi duruma göre değerlendirilmelidir. Ek olarak, şüpheli *in vitro* sonuçlar veya farklı *in vitro* çalışmalardan farklı sonuçlar, mutajenite konusunda net bir sonuca ulaşmak için daha fazla test yapılmasını gerektirebilir. Bu tür vakalar için, *in vivo* testin uygun olup olmadığını belirlemek üzere uzman görüşü gerekecektir.

Ek 7 ve 8 için belirtilen standart seviyelerin ötesinde test gerekliliği

Giriş yorumları

In vitro testlerden elde edilen pozitif sonuçlardan kaynaklanan endişeler genellikle daha fazla test yapılmasını gerektirir. Maddenin kimyası, benzer maddelerle ilgili veriler, toksikokinetik ve toksikodinamik veriler ve diğer toksisite verileri, daha sonraki testlerin zamanlamasını ve modelini de etkileyecektir.

Halihazırda bir *in vivo* çalışmadan uygun sonuçlar olmadıkça, standart *in vitro* test setinin ötesinde testler normalde ilk olarak *in vivo* somatik hücrelerde mutajenite potansiyelini araştırmaya yöneliktir. *In vivo* somatik hücrelerde pozitif sonuçlar, eşey hücrelerinde genotoksitenin potansiyel ifadesinin araştırılması için bir tetikleyici oluşturur.

Bununla birlikte, omurgalı hayvanlarda gereksiz testlerden kaçınmak ve maliyet nedenlerinden dolayı, TGR analizleri, uyarlanmış örnekleme süreleri sağlayan tek bir çalışmada somatik ve erkek eşey hücrelerinin örneklenmesini dahil etme olanağı sağladığından (ayrıntılar için bkz. OECD Test Rehberi 488), bu tür numuneleri TGR analizleri için test teklifine dahil etmek ve test edilen somatik dokulardan herhangi birinde pozitif bir sonuç olması durumunda daha sonraki analizler için eşey hücre numunelerini uygun şekilde saklamak tavsiye edilir.

Standart *in vitro* test setinde negatif olan maddeler

Genel olarak, KKDİK Ek 7 ve 8'de belirtilen *in vitro* testlerin tüm setinde negatif olan maddelerin genotoksik olmadığı düşünülür. *In vivo* olarak genotoksik olduğu belirlenen ancak standart *in vitro* testlerde bulunmayan sadece çok sınırlı sayıda madde vardır. Bunların çoğu, hücre döngüsü düzenlemesi de dahil olmak üzere hücresel düzenlemenin yollarını etkilemek için tasarlanmış farmasötik maddelerdir ve bu kanıt, endüstriyel kimyasalların rutin *in vivo* testlerini gerekçelendirmek için yetersiz olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, bazen, bir maddenin metabolik profili hakkındaki bilgiler, standart *in vitro* testlerin yeterince güven verici olmadığını gösterebilir ve mutajenite potansiyelinin yeterince araştırıldığından emin olmak için başka bir *in vitro* test veya bir *in vivo* test gerekebilir (örn., sıçan karaciğeri S9 karışımına bir alternatifin, bir indirgeyici sistemin, metabolik olarak aktif bir hücre hattının veya genetik olarak tasarlanmış hücre hatlarının kullanılması uygun olarak değerlendirilebilir).

In vitro testi pozitif olan maddeler

Sadece bakteriyel gen mutasyon testi yapılmış ve sonucu pozitif olan KKDİK Ek 7 maddeleri üzerinde Ek 8 gerekliliklerine göre daha fazla çalışılmalıdır.

Ek 8 ile ilgili olarak, her iki memeli hücre testi de negatifse ancak bakteri testinde pozitif bir sonuç varsa, duruma göre başka herhangi bir testin gerekli olup olmadığına karar vermek gerekecektir. Örneğin, bakteriyel testte gözlemlenen özgün bir pozitif yanıtın, test maddesinin özel bir bakteriyel metabolizmasına nedenli olduğuna ilişki şüphe, *in vitro* araştırma yapılarak daha ayrıntılı araştırılabilir. Alternatif olarak, bir *in vivo* test gerekli olabilir (aşağıya bakınız).

KKDİK Ek 8'de, bir *in vitro* memeli hücresi mutajenite testinde pozitif bir sonucun ardından, bu potansiyelin *in vivo* ifade edilip edilemeyeceğini tespit etmek için yeterli şekilde gerçekleştirilen somatik hücre *in vivo* testinin yapılması gerekir. Pozitif bir *in vitro* bulgunun *in vivo* durumlar için uygun olmadığına yeterince anlaşılabilir durumlarda (örn. test maddesinin pH veya hücre canlılığı üzerindeki etkisinden dolayı, *in vitro* özel metabolizma: ayrıca bkz. Bölüm R.7.7.4.1) veya yalnızca *in vivo* şekilde ulaşılamayacak yüksek konsantrasyonlarda devreye giren açık bir eşik mekanizmasının tanımlandığı durumlarda (örn. DNA dışı hedeflere yüksek konsantrasyonlarda hasar), *in vivo* test gerekli olmayacaktır.

Ek 8, Sütun 2, genotoksisite çalışmalarında olumlu sonuçların elde edildiği durumlarda kayıt ettirenin halihazırda Ek 8 tonaj seviyesinde uygun mutajenite *in vivo* çalışmalarını dikkate almasını gerektirir. Bunun, *in vivo* somatik hücre genotoksisitesi çalışmaları gibi Ek 9 veya 10'da belirtilen testleri içerdiği durumlarda, test önerilerinin kayıt ettiren tarafından sunulması ve test başlatılmadan önce ÇŞB tarafından resmi bir kararla kabul edilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Ek 9 ve 10'a göre standart bilgi gerekliliği

Ek 9 ve 10 gerekliliklerine göre, Ek 7 veya 8'deki *in vitro* çalışmalardan herhangi birinde olumlu bir sonuç varsa ve halihazırda bir *in vivo* çalışmadan elde edilen uygun sonuçlar yoksa, uygun bir *in vivo* somatik hücre genotoksisitesi çalışması teklif edilmelidir.

İn vivo test ihtiyacına ilişkin herhangi bir karar verilmeden önce, *in vitro* test sonuçlarının ve test maddesinin toksikokinetik ve toksikodinamik profiline ilişkin mevcut tüm bilgilerin gözden geçirilmesi gerekir. Belirli bir *in vivo* test, yalnızca test maddesinin tüm özelliklerinden ve önerilen test protokolünden, belirli hedef dokunun test maddesine ve/veya metabolitlerine yeterince maruz kalacağına makul bir şekilde beklendiği durumlarda yapılmalıdır. Gerekirse, *in vivo* teste geçmeden önce hedefli bir toksikokinetik araştırması yapılmalıdır (*örn.* emilimin gerçekleştiğini ve uygun bir doz yolunun kullanıldığını doğrulamak için bir ön toksisite testi).

Genotoksisite testlerinde kullanılan hayvan sayısının minimumda tutulmasını sağlamak amacıyla hem erkek hem de dişiler otomatik olarak kullanılmamalıdır. Standart rehberlere uygun olarak, yalnızca bir cinsiyette test maddesinin genel toksisite açısından araştırılması ve cinsiyete özgü toksisitede herhangi bir farklılık gözlenmemesi durumunda mümkündür. Test, önemli ölçüde deneyime ve geçmiş verilere sahip bir laboratuvarda gerçekleştirilirse, tüm zaman noktaları için (*örn.* mikronükleus testinde hem 24 saat hem de 48 saat zaman noktası için) eşzamanlı bir pozitif kontrol ve eşzamanlı bir negatif kontrolün gerçekten gerekli olup olmayacağı dikkate alınmalıdır (Hayashi ve ark., 2000).

Yeterli sistemik yararlanıma sahip test maddeleri için (yani, hedef hücreler için yeterli yararlanıma dair kanıt) *in vivo* testler için birkaç seçenek vardır:

- Kemirgen kemik iliği veya fare periferik kan mikronükleus testi (OECD Test Rehberi 474) veya kemirgen kemik iliği kromozom bozukluğu testi (OECD Test Rehberi 475). Mikronükleus testi, yalnızca yapısal kromozomal bozukluklarını (klastojenite) değil, aynı zamanda sayısal kromozomal bozukluklarını (anöploidi) tespit etme avantajına sahiptir. Potansiyel türe özel etkiler, tür seçimini ve kullanılan test yöntemini de etkileyebilir.
- Bir transgenik kemirgen (TGR) mutasyon analizi (OECD Test Rehberi 488). TGR analizleri, her dokuda bulunan haberci genleri kullanarak gen mutasyonlarını ve kromozomal yeniden düzenlemelerini (özellikle plazmid ve Spi-analiz modellerinde) ölçer. Prensipte olarak, hedef dokular ve belirli temas doku bölgesi dahil olmak üzere her dokudan numune alınabilir.
- DNA zinciri kırılmalarını ve alkali kararsız DNA lezyonlarını saptayan bir komet analizi (tek hücreli jel elektroforezi) (OECD Test Rehberi 489). Yukarıda bahsedilen *in vivo* mikronükleus testinin ve *in vivo* kromozom bozukluğu testinin aksine, bu analizin kemik iliği hücreleriyle sınırlı olmama avantajı vardır. Prensipte olarak, tek hücre veya çekirdek süspansiyonlarının hazırlanabildiği her doku, belirli temas doku bölgesi dahil olmak üzere örneklenebilir.
- Diğer DNA zinciri kırılma analizleri, komet analizine alternatif olarak sunulabilir. Tüm DNA zinciri kırılma testleri, DNA'da kalıcı değişiklikleri tespit etmeleri gerekmediği için yedek testler olarak düşünülmelidir.
- Bir sıçan karaciğeri Planlanmamış DNA sentezi (UDS) testi (OECD Test Rehberi 486). UDS testi, karaciğer hücrelerindeki birincil hasarın DNA onarımını ölçen bir gösterge testidir, ancak gen mutasyonları için tek başına bir yedek test değildir. UDS testi, *in vivo* gen mutasyonunu tetikleyen bazı maddeleri tespit edebilir, çünkü bu test bazı (ancak hepsi değil) DNA onarım mekanizmalarına duyarlıdır.

Bununla birlikte, UDS testinde tüm gen mutajenleri pozitif değildir ve bu nedenle sadece bazı madde sınıfları için faydalıdır. UDS testinde pozitif bir sonuç, karaciğer DNA'sının maruz kaldığını ve araştırılan maddenin DNA hasarına neden olduğunu gösterebilir, ancak madde tarafından gen mutasyonunun tetiklenmesi hakkında sonuca varmak için yeterli bilgi değildir. UDS testindeki negatif bir sonuç, tek başına bir maddenin gen mutasyonuna neden olmadığını bir kanıtı değildir.

Yukarıda bahsedilen testler için sadece ilk iki seçenek, sırasıyla *in vivo* kromozomal ve gen mutajenitesine dair kanıt sağlamak için doğrudan kullanılabilir. Diğer test yöntemleri, *in vivo* mutajenite ve yokluğu hakkında kesin sonuçlara varmak için kullanılacak *in vitro* mutajenite çalışmalarından elde edilen sonuçlar gibi özel destekleyici bilgileri gerektirir.

3R ilkeleri çerçevesinde, *in vivo* genotoksisite çalışmalarının kombinasyonu veya *in vivo* genotoksisite çalışmalarının tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarıyla bütünleştirilmesi, mümkün olduğunda ve bilimsel olarak gerekçelendirildiğinde, KKDİK Ek 8 tonaj seviyesinin gerekliliklerini karşılamak için yapılacaksa şiddetle tavsiye edilir. Somatik hücreler için yukarıda bahsedilen *in vivo* testlerin tümü prensipte bu tür bir bütünleşmeye uygundur, ancak tüm testler için henüz yeterli deneyim mevcut değildir. İki veya daha fazla sonlanma noktasının tek bir *in vivo* çalışmada birleştirilmesi ve böylece kaynaklardan ve kullanılan hayvanların sayısından tasarruf edilmesi mümkündür. Komet analizi ve *in vivo* mikronükleus testi tek bir akut çalışmada birleştirilebilir, ancak uygulama ve örnekleme sürelerinde bazı değişiklikler yapılması gerekir (Hamada ve ark., 2001; Madrigal-Bujaidar ve ark., 2008; Pfuher ve ark., 2009; Bowen ve ark., 2011,). Bu aynı sonlanma noktaları, tekrarlı doz (örn. 28 günlük) toksisite çalışmalarıyla bütünleştirilebilir (Pfuher ve ark., 2009; Rothfuss ve ark., 2011; EFSA, 2011).

Bu testlerden herhangi biri yapılabilir, ancak buna, duruma göre uzman görüşü kullanılarak karar verilmesi gerekir. *In vivo* çalışma seçilirken orijinal *in vitro* cevap/cevapların doğası (yani gen mutasyonu, yapısal veya sayısal kromozom bozukluğu) dikkate alınmalıdır. Örneğin, test maddesi *in vitro* klastojenite kanıtı gösteriyorsa, bunun bir mikronükleus testi veya kromozom bozukluğu testi veya bir komet analizi ile izlenmesi uygun olacaktır. Bununla birlikte, *in vitro* mikronükleus testinde pozitif bir sonuç elde edilirse, kemirgen mikronükleus testi, klastojenik ve anöjenik potansiyeli en iyi şekilde ele almak için uygun olacaktır.

Tercihen gen mutasyonlarına yol açtığı görülen maddeler için TGR analizleri, *in vitro* gen mutasyonu pozitif sonucunu takip etmek ve *in vivo* gen mutasyonunu tetikleyen maddeleri saptamak için en uygun ve genellikle tercih edilen testlerdir. 3R prensibi ile ilgili olarak ve somatik hücrelerde pozitif bir sonucun eşey hücre testi potansiyelini değerlendirme ihtiyacını tetiklediği dikkate alınarak, bir TGR çalışması yapıldığında, mümkünse, eşey hücreler her zaman toplanmalıdır. Sıçan karaciğer UDS testi uzun bir kullanım geçmişine sahiptir ve bazı özel durumlarda *in vitro* gen mutasyonu pozitif sonucunu izlemek için yeterli olabilir, ancak karaciğer dışındaki dokular için geçerli olmayabilir. UDS testinin hassasiyeti sorgulanmıştır (Kirkland ve Speit, 2008) ve bu testin kullanımı duruma göre gerekçelendirilmeli ve maddeye özel hususlar dikkate alınmalıdır. Komet analizinin önerilen kullanımı OECD düzeyinde tartışılmıştır ve ilgili OECD Test Rehberinde belirtilmiştir (bkz. <http://www.oecd.org/env/testguidelines>). Bu üç analizden herhangi birinin seçimi, yalnızca analizde incelenen doku/dokuların test maddesine (veya metabolitlerine) yeterince maruz kaldığı gösterilebilirse gerekçelendirilebilir. Bu bilgiler toksikokinetik verilerden veya toksikokinetik verilerin mevcut olmaması durumunda ilgili organdaki uygulamayla ilişkili etkilerin gözlemlenmesinden elde edilebilir. Organ maruz kalmasına dair kanıtları destekleyebilecek başka bir veri türü, belirli madde sınıflarının (örneğin aromatik aminler için karaciğer) hedef organı/organları hakkındaki bilgidir. Kayıt ettiren tarafından *in vivo* komet analizinin kullanılması veya önerilmesi durumunda, izlenen veya önerilen test protokolü ayrıntılı olarak açıklanmalı ve üretilen verilerin kabul edilebilirliğini sağlamak için mevcut bilimsel en iyi uygulamaya uygun olmalıdır. Komet OECD Test Rehberi 489'un kabul görmesini beklerken, kayıt ettiren, komet analizinin kabul görmesi için minimum kriterleri belirten EFSA rehberini (2012) ve ayrıca birleşik komet-mikronükleus testi için Bowen ve ark. (2011) tarafından tanımlanan 3 günlük uygulama programını takip etmelidir.

TGR ve komet analizleri, en önemlisi maddenin toksikokinetiği ve toksikodinamiği hakkında bilinenlere dayanarak çalışmak amacıyla bir dizi doku seçme olasılığı açısından UDS testinden daha fazla esneklik sunar. UDS ve komet testlerinin gösterge analizleri olduğu anlaşılmalıdır: komet analizi DNA lezyonlarını tespit ederken UDS analizi DNA onarım yamalarını (dahil olan DNA onarım yoluna ve araştırılan hücre tipinin yeterliliğine bağlı olarak) tespit ederek dolaylı olarak DNA lezyonlarını gösterir. Bunun tersine, TGR gen mutasyon analizleri mutasyonları, yani DNA'daki kalıcı aktarılabılır değişiklikleri ölçer.

İlave olarak, somatik hücrelerde *in vivo* DNA eklenti oluşumu için kanıtlar ve *in vitro* mutajenite testlerinden elde edilen pozitif sonuçlar, bir maddenin bir *in vivo* somatik hücre mutajeni olduğu sonucuna varmak için yeterlidir. Bu gibi durumlarda, *in vitro* mutajenite testlerinden elde edilen pozitif sonuçlar, *in vivo* somatik doku testini daha fazla tetiklemeyebilir ve madde en azından kategori 2 mutajen olarak sınıflandırılır. Eşey hücrelerinde etki olasılığı daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyacaktır (bkz. Bölüm [R.7.7.6.3](#), *Somatik hücrelerde genotoksik etkiler için in vivo testte pozitif sonuçlar veren maddeler*).

Yayınlanmış literatür tarafından desteklenen standart dışı çalışmalar bazen kanıtlanmış analizlerden daha uygun ve bilgilendirici olabilir. Yeni çalışmalara başlamadan önce uygun bir uzman veya merciden rehberlik alınmalıdır. Ayrıca, etki mekanizmasını destekleyen veya açıklığa kavuşturan ek veriler, daha fazla test etmeme kararını haklı gösterebilir.

In vitro olarak gen mutasyonunu veya kromozom bozukluğunu tetikleyen ve yeterli sistemik yararlanıma dair hiçbir gösterge sunulmayan veya kısa ömürlü veya reaktif olan maddeler için, vücutla ilk temas bölgelerindeki dokulara odaklanan çalışmaları içeren alternatif bir strateji değerlendirilebilir. Hangi testlerin en uygun olduğuna karar vermek için vaka bazında uzman görüşü kullanılmalıdır. Ana seçenekler, *in vivo* komet analizi, TGR gen mutasyon testleri ve DNA eklenti çalışmalarıdır. Herhangi bir madde için, mevcut tüm toksikolojik bilgilere dayanan uzman görüşü, bu testlerden hangisinin en uygun olduğunu gösterecektir. İnsanların maruz kaldığı zararlılığın değerlendirilmesine en iyi şekilde izin veren maruz kalma yolu seçilmelidir. Çözünmeyen maddeler için, aktif moleküllerin sindirim yolunda salımı olasılığı, oral uygulama yolunu içeren bir testin özellikle uygun olduğunu gösterebilir.

Yukarıda açıklanan test stratejisi izlenmişse ve ilk *in vivo* test negatifse, başka bir *in vivo* somatik hücre testine duyulan ihtiyaç dikkate alınmalıdır. İkinci *in vivo* test, ancak o zaman; yani, *in vitro* veriler maddenin hem gen hem de kromozom mutasyonlarını tetikleme potansiyeline sahip olduğunu gösteriyorsa ve ilk *in vivo* test bunu kapsamlı bir şekilde ele almamışsa, araştırılan maddenin genotoksik potansiyeli hakkında bir sonuca varılması gerekiyorsa önerilmelidir. Bu bağlamda, vaka bazında, hedef doku maruz kalmasının yeterliliği de dahil olmak üzere mevcut tüm toksikolojik verilerin kalitesine ve uygunluğuna dikkat edilmelidir.

Yeterli ölçüde yürütülen, uygun *in vivo* test/testlerde negatif sonuçlar veren bir madde için, bu strateji ile tanımlandığı gibi, normalde maddenin *in vivo* mutajen olmadığı sonucuna varmak mümkün olacaktır.

Somatik hücrelerde genotoksik etkiler için in vivo testte pozitif sonuçlar veren maddeler

Hem *in vitro* hem de *in vivo* sitogenetik testlerde pozitif sonuçlar veren maddeler, özellikle anöjenler olarak hareket edip etmediklerini ve dolayısıyla, eğer halihazırda yeterli ölçüde belirlenmemişse, genotoksik aktiviteleri için eşiklerin tanımlanıp tanımlanamayacağını belirlemek için daha fazla incelenebilir. Bu, *in vitro* yöntemler kullanılarak yapılmalıdır ve risk değerlendirmesine yardımcı olacaktır.

Somatik hücrelerde genotoksik etkilere yönelik *in vivo* testlerde pozitif sonuçlar veren maddelerin eşey hücrelerini etkileme potansiyeli her zaman dikkate alınmalıdır.

Aynısı, SEA Yönetmeliği kapsamında kategori 2 mutajenler olarak sınıflandırılan maddeler için de geçerlidir (SEA Yönetmeliği kapsamında eşey hücre mutajenitesi için maddelerin sınıflandırılmasına ilişkin kriterler hakkında ayrıntılı bilgi için, bkz. [SEA Kriterleri Uygulama Rehberi](#), Bölüm 3.5). İlk adım, test maddesinin mevcut tüm toksikokinetik ve toksikodinamik özelliklerinin bir değerlendirmesini yapmaktır. Bu aşamada, maddenin eşey hücreleri için mutajenik bir zararlılık oluşturduğu sonucuna varmak için yeterli bilgi olup olmadığını değerlendirmek üzere uzman görüşüne ihtiyaç vardır. Durum böyleyse, maddenin kalıtsal genetik hasara neden olabileceği sonucuna varılabilir ve daha fazla test gerekli değildir.

Sonuç olarak, madde kategori 1B mutajen olarak sınıflandırılır. Eşey hücrelerinde mutajenik potansiyelin değerlendirilmesi kesin değilse, ek araştırma gerekli olacaktır. Maddenin toksikokinetiği hakkında ek bilginin sorunu çözmesi durumunda, bunu ele almak için özel olarak hazırlanmış toksikokinetik araştırma (yani tam bir toksikokinetik çalışma değil) yapılmalıdır. Mutajenite için zararlılık sınıfı esas olarak eşey hücrelerine atıfta bulunsa da, yeterli sistemik yararlanım veya eşey hücrelerde mevcudiyet belirtisi sunulmayan maddeler tarafından temas dokularında genotoksik etkilerin uyarılması da önemlidir ve sınıflandırma için dikkate alınır. Bu tür maddeler için, somatik hücrelerde en az bir pozitif *in vivo* genotoksikite testi, *in vivo* pozitif etki *in vitro* mutajenite testlerinin pozitif sonuçlarıyla destekleniyorsa, Kategori 2 eşey hücre mutajenleri içerisinde sınıflandırmaya ve 'genetik hasara yol açma şüphesi var.' şeklinde etiketlemeye yol açabilir. Kategori 2 eşey hücre mutajeni olarak sınıflandırmanın, potansiyel kanserojenlik sınıflandırması için etkileri olabilir.

Özel eşey hücre testi yapılacaksa, en uygun test stratejisini seçmek için uzman görüşü kullanılmalıdır. Kemirgen spermatogoni hücrelerinde klastojeniteyi araştırmak ve baskın öldürücü test için uluslararası kabul görmüş rehberler mevcuttur.

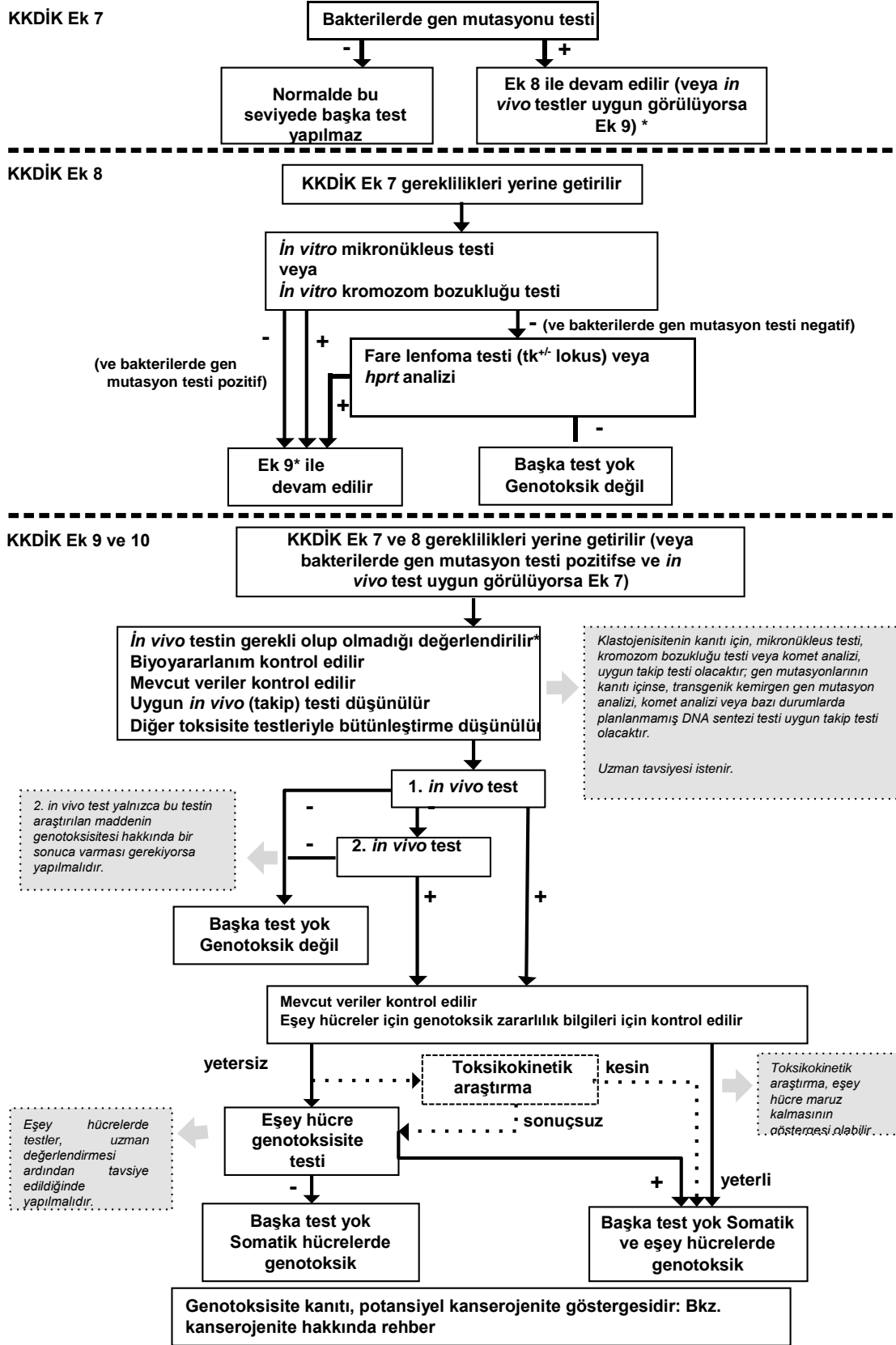
Baskın öldürücü mutasyonların öncelikle yapısal veya sayısal kromozom bozukluklarından kaynaklandığına inanılmaktadır.

Alternatif olarak, uzman görüşü tarafından uygun görülmesi halinde başka yöntemler de kullanılabilir. Bunlar, TGR gen mutasyon analizlerini (spermatogenezin farklı aşamalarındaki etkileri saptamak için OECD Test Rehberi 488'de belirtildiği gibi değiştirilmiş örnekleme süreleri ile) veya DNA eklenti analizini içerebilir. Prensipte olarak, araştırılması gereken, bir sonraki nesile aktarılabilecek etkilerin potansiyelidir, ancak geçmişte aktarılan etkileri araştırmak için kullanılan testler (kalıtsal translokasyon testi ve özel lokus testi) çok fazla sayıda hayvan kullanır.

Nadiren kullanılırlar ve normalde KKDİK kapsamında kayıtlı maddeler için önerilmemelidirler.

Hayvan kullanımını en aza indirmek için, *in vivo* mutajenite çalışmalarına hem ilgili somatik hem de eşey hücre dokularından (örn. testisler) alınan hücre örneklerinin dahil edilmesi önerilir: önce somatik hücre örnekleri araştırılabilir ve pozitiflerse daha sonra da eşey hücre dokuları analiz edilebilir. Son olarak, üreme toksisitesi testini *in vivo* mutajenite testi ile birleştirme olasılığı düşünülebilir.

Şekil R.7.7-1 Mutajenite test stratejisinin akış şeması



* Kayıt ettirenler, kayıtlı tonajdan bağımsız olarak Ek 9 veya 10'da belirtilen bir test için bir test teklifinin sunulması gerektiğini dikkate almalıdır. Bu tür bir test teklifinin incelenmesinin ardından, ÇŞB, üstlenilmeden önce değerlendirme kararında testi onaylamalıdır.

Tablo R.7.7–5 Mutajenite test stratejisine göre genotoksisite/mutajenite hakkında sonuca varmak için farklı test veri setleri ve takip prosedürleri örnekleri

Mevcut *in vitro* ve *in vivo* test sonuçlarına ve ilgili KKDİK Ek/Eklerine bağlı olarak, mutajenite için standart bilgi gerekliliklerini karşılamak ve genotoksisite/mutajenite hakkında bir sonuca ulaşılmasına izin vermek için daha fazla test gerekebilir. Bu farklı durumlarda yapılması gerekenlere veya özel olarak bakılması gerekenlere ilişkin tavsiyeler, uygulanabilir olduğunda özel uyarılma kurallarıyla birlikte tabloda belirtilmiştir (ayrıntılı rehberlik için ayrıca ana metne bakınız).

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılma için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar
1	neg				Ek 7: başka teste gerek yoktur. Ek 8, 9 ve 10: bir CABvitro veya tercihen bir MNTvitro ve eğer bu negatifse bir GMvitro yürütülür.	Ek 7: genotoksik değil		Ek 8, 9 ve 10: Daha ileri testler, diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirme sağlayacağı şekilde seçilir.
2	neg	neg			Ek 7: başka teste gerek yoktur. Ek 8, 9 ve 10: GMvitro yürütülür.	Ek 7: genotoksik değil		Ek 8, 9 ve 10: Testler, diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirme sağlayacağı şekilde seçilir.
3	neg		neg		Ek 7: başka teste gerek yoktur. Ek 8, 9 ve 10: CABvitro veya tercihen MNTvitro yürütülür	Ek 7: genotoksik değil		Ek 8, 9 ve 10: Testler, diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirme sağlayacağı şekilde seçilir.

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılama için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar
4	neg	neg	neg			Ek 7, 8, 9 ve 10: başka test gerekli değildir.	genotoksik değil	Mevcut metabolik kanıtlar, nadir durumlarda, <i>in vitro</i> testlerin yetersiz olduğunu gösterebilir; <i>in vivo</i> test gereklidir. Uzman tavsiyesi istenir. Ek 8, 9 ve 10: Testler, diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirme sağlayacağı şekilde seçilir.
5	poz					Ek 7, 8, 9 ve 10: CABvitro veya tercihen MNTvitro ile <i>in vitro</i> testler tamamlanır.		<i>In vivo</i> mutajenite zararlılığını anlamak, risk değerlendirmesi yapmak ve S&E gerekçeli olup olmadığını belirlemek için daha fazla test yapılması gerektiği dikkate alınır.

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılama için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar
6	poz	neg			<p>Ek 7 ve 8: Sadece özel koşullar altında bir GMvitro yürüterek <i>in vitro</i> testler tamamlanır (bkz. 'Uyarılama için özel kurallar' sütunu)</p> <p>Ek 9 ve 10: Sistemik yararlanım güvenilir bir şekilde belirlenemiyorsa, <i>in vivo</i> testlere geçmeden önce araştırılmalıdır.</p> <p><i>İn vivo</i> gen mutasyonlarını (TGR, komet veya gerekçeli ise UDSvivo) araştırmak için yeterli somatik hücre <i>in vivo</i> testi seçilir. TGR somatik dokularda yapılacaksa, mümkünse eşey hücre örnekleri alınmalı, dondurulmalı ve yalnızca somatik hücrelerde pozitif sonuç olması durumunda mutajenite açısından analiz edilmelidir.</p> <p>Gerekliyse uzman tavsiyesi istenir.</p>		<p>GMBakt içerisinde gözlemlenen pozitif bir yanıtın, test maddesinin özel bir bakteriyel metabolizmasına bağlı olduğu şüphesi, <i>in vitro</i> araştırma yapılarak daha ayrıntılı araştırılabilir.</p>	<p>Diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkileri için kapsamlı bir değerlendirmeyi mümkün kıldığından emin olunur.</p> <p><i>İn vivo</i> mutajenite zararlılığını anlamak, risk değerlendirmesi yapmak ve S&E gerekçeli olup olmadığını belirlemek için daha fazla test yapılması gerektiği duruma göre dikkate alınır.</p>
7	neg	poz			<p>Ek 7, 8, 9 ve 10: Sistemik yararlanım güvenilir bir şekilde belirlenemiyorsa, <i>in vivo</i> testlere geçmeden önce araştırılmalıdır.</p> <p>Yapısal veya sayısal kromozom bozukluklarını (<i>in vitro</i> klastojenler ve/veya anöjenler için MNTvivo veya komet veya <i>in vitro</i>-klastojenler için CABvivo) araştırmak için yeterli somatik hücre <i>in vivo</i> testi seçilir</p> <p>Gerekliyse uzman tavsiyesi istenir.</p>			<p>Diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkileri için kapsamlı bir değerlendirmeyi mümkün kıldığından emin olunur.</p> <p><i>İn vivo</i> mutajenite zararlılığını anlamak, risk değerlendirmesi yapmak ve S&E gerekçeli olup olmadığını belirlemek için daha fazla test yapılması gerektiği dikkate alınır.</p>

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılama için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar
8	poz	poz			Ek 7, 8, 9 ve 10: Sistemik yararlanım kabul edilebilir güvenilirlikle belirlenemiyorsa, <i>in vivo</i> testlere geçmeden önce araştırılmalıdır. Yapısal veya sayısal kromozom bozukluklarını ve gen mutasyonlarını araştırmak için yeterli somatik hücre <i>in vivo</i> testi seçilir. Gerekliyse uzman tavsiyesi istenir.		Genel olarak, her iki genotoksik sonlanma noktası da araştırılmalıdır. İlk <i>in vivo</i> test pozitifse, diğer genotoksik sonlanma noktasını doğrulamak için ikinci bir <i>in vivo</i> testin gerçekleştirilmesine gerek yoktur. İlk <i>in vivo</i> test negatifse, birinci testin sonlanma noktalarını kapsamlı bir şekilde ele almaması durumunda ikinci bir <i>in vivo</i> test gereklidir.	Diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirmeyi mümkün kıldığından emin olunur. <i>In vivo</i> mutajenite zararlılığını anlamak, risk değerlendirmesi yapmak ve S&E gerekçeli olup olmadığını belirlemek için daha fazla test yapılması gerektiği dikkate alınır.
9	neg	neg	poz		Ek 7, 8, 9 ve 10: Sistemik yararlanım güvenilir bir şekilde belirlenemiyorsa, <i>in vivo</i> testlere geçmeden önce araştırılmalıdır. <i>In vivo</i> gen mutasyonlarını (TGR, komet veya gerekçeli ise UDSvivo) araştırmak için yeterli somatik hücre <i>in vivo</i> testi seçilir. TGR somatik dokularda yapılacaksa, mümkünse eşey hücre örnekleri alınmalı, dondurulmalı ve yalnızca somatik hücrelerde pozitif sonuç olması durumunda mutajenite açısından analiz edilmelidir. Gerekliyse uzman tavsiyesi istenir.			Diğer mevcut bilgilerle birlikte tüm testlerin, gen mutasyonları ve kromozom yapısı ve sayısı üzerindeki etkiler için kapsamlı bir değerlendirmeyi mümkün kıldığından emin olunur. <i>In vivo</i> mutajenite zararlılığını anlamak, risk değerlendirmesi yapmak ve S&E gerekçeli olup olmadığını belirlemek için daha fazla test yapılması gerektiği duruma göre dikkate alınır.
10	poz	neg		neg	Ek 7, 8, 9 ve 10: başka test gerekli değildir.	genotoksik değil		Mevcut verilerin kalitesine ve uygunluğuna bağlı olarak daha fazla <i>in vivo</i> test gerekli olabilir.
	neg	poz		neg				

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılama için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar
11	poz	neg			poz	Ek 7, 8, 9 ve 10: Somatik hücrelerde daha fazla test yapılmasına gerek yoktur. Eşey hücre mutajenitesi testleri düşünülmelidir. Gerekirse, toksikokinetik ve toksikodinamik ile ilgili mevcut tüm verilerin etkileri ve uygun eşey hücre mutajenitesi testinin seçimi konusunda uzman tavsiyesi alınır.	genotoksik Bu aşamada, maddenin eşey hücreleri için mutajenik bir zararlılık oluşturduğu sonucuna varmak için yeterli bilgi olup olmadığını değerlendirmek üzere uzman görüşüne ihtiyaç vardır. Durum böyleyse, maddenin kalıtsal genetik hasara neden olabileceği sonucuna varılabilir ve daha fazla test gerekli değildir.	Eşey hücrelerinde mutajenik potansiyelin değerlendirilmesi kesin değilse, ek araştırma gerekli olacaktır. Risk değerlendirmesi ve S&E tamamlanabilir.
	neg	poz		poz				
	neg	neg	poz		poz			
12	poz	poz	(poz)	poz		genotoksik Ek 7, 8, 9 ve 10: Somatik hücrelerde daha fazla test yapılmasına gerek yoktur. Eşey hücre mutajenitesi testleri düşünülmelidir. Gerekirse, toksikokinetik ve toksikodinamik ile ilgili mevcut tüm verilerin etkileri ve uygun eşey hücre mutajenitesi testinin seçimi konusunda uzman tavsiyesi alınır.	Bu aşamada, maddenin eşey hücreleri için mutajenik bir zararlılık oluşturduğu sonucuna varmak için yeterli bilgi olup olmadığını değerlendirmek üzere uzman görüşüne ihtiyaç vardır. Durum böyleyse, maddenin kalıtsal genetik hasara neden olabileceği sonucuna varılabilir ve daha fazla test gerekli değildir.	Eşey hücrelerinde mutajenik potansiyelin değerlendirilmesi kesin değilse, ek araştırma gerekli olacaktır. Risk değerlendirmesi ve S&E tamamlanabilir.
	poz	poz	(poz)		poz			
13	poz	poz	(poz)	neg		Ek 7, 8, 9 ve 10: Yapısal veya sayısal kromozom bozukluklarını ve gen mutasyonlarını araştırmak için yeterli somatik hücre <i>in vivo</i> testi seçilir Gerekliyse uzman tavsiyesi istenir.		
	poz	poz	(poz)		neg			

GM bakt.	Sit vitro	GM vitro	Sit vivo	GM vivo	Gerekli standart bilgi Genel takip prosedürü	Varılan Sonuç	Uyarılama için özel kurallar [testlerin zamanlaması dahil ayrıntılı rehberlik için ana metne bakın]	Yorumlar	
14	poz	poz	(poz)	neg	neg	Ek 7, 8, 9 ve 10: başka test gerekli değildir.	genotoksik değil	Mevcut verilerin kalitesine ve uygunluğuna dayanılarak daha fazla <i>in vivo</i> test gerekli olabilir.	Risk değerlendirmesi ve S&E tamamlanabilir.
15	poz	poz	(poz)	neg	poz	Ek 7, 8, 9 ve 10: Somatik hücrelerde daha fazla test yapılmasına gerek yoktur. Eşey hücre mutajenitesi testleri düşünülmelidir.	genotoksik	Bu aşamada, maddenin eşey hücreleri için mutajenik bir zararlılık oluşturduğu sonucuna varmak için yeterli bilgi olup olmadığını değerlendirmek üzere uzman görüşüne ihtiyaç vardır. Durum böyleyse, maddenin kalıtsal genetik hasara neden olabileceği sonucuna varılabilir ve daha fazla test gerekli değildir.	Eşey hücrelerinde mutajenik potansiyelin değerlendirilmesi kesin değilse, ek araştırma gerekli olacaktır. Risk değerlendirmesi ve S&E tamamlanabilir.
	poz	poz	(poz)	poz	neg	Gerekirse, toksikokinetik ve toksikodinamik ile ilgili mevcut tüm verilerin etkileri ve uygun eşey hücre mutajenitesi testinin seçimi konusunda uzman tavsiyesi alınır.			

Kısaltmalar: poz: pozitif; neg: negatif; (poz): takip, bu testin sonucundan bağımsızdır; GM_{bakt}: bakterilerde gen mutasyon testi (Ames testi); Cyt_{vitro}: memeli hücrelerinde sitogenetik analiz; CAb_{vitro}: *in vitro* kromozom bozukluğu testi; MNT_{vitro}: *in vitro* mikronükleus testi; GM_{vitro}: memeli hücrelerinde gen mutasyon analizi; Cyt_{vivo}: deney hayvanlarında sitogenetik analiz; GM_{vivo}: deney hayvanlarında gen mutasyon analizi; CAb_{vivo}: *in vivo* kromozom bozukluğu testi (kemik iliği); MNT_{vivo}: *in vivo* mikronükleus testi (eritrositler); UDS_{vivo}: *in vivo* planlanmamış DNA sentezi testi; TGR: transgenik kemirgen ile *in vivo* gen mutasyon testi; komet: komet analizi.

R.7.7.7 Mutajenite için referanslar

Ashby J ve Tennant RW (1988) Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the U.S. NCI/NTP (ABD NCI/NTP tarafından kemirgenlerde test edilen 222 kimyasal arasında genotoksik karsinogenezin göstergeleri olarak kimyasal yapı, Salmonella mutajenitesi ve kanserojenite derecesi). Mutat Res 204: 17-115.

Azqueta A, Gutzkow KB, Brunborg G ve Collins AR (2011a) Towards a more reliable comet assay: optimising agarose concentration, unwinding time and electrophoresis conditions (Daha güvenilir bir komet analizine doğru: agaroz konsantrasyonu, çözülme süresi ve elektroforez koşulları optimizasyonu). Mutat Res 724: 41-5.

Azqueta A, Meier S, Priestley C, Gutzkow KB, Brunborg G, Sallette J, Soussaline F ve Collins A (2011b) The influence of scoring method on variability in results obtained with the comet assay (Puanlama yönteminin komet analizi ile elde edilen sonuçlardaki değişkenlik üzerindeki etkisi). Mutagenesis 26: 393-9.

Azqueta A, Gutzkow KB, Priestley CC, Meier S, Walker JS, Brunborg G ve Collins AR (2013) A comparative performance test of standard, medium- and high-throughput comet assays (Standart, orta ve yüksek verimli komet analizlerinin karşılaştırmalı performans testi). Toxicol In Vitro 27: 768-73.

Bakhtyari NG, Raitano G, Benfenati E, Martin T ve Young D (2013) Comparison of in silico models for prediction of mutagenicity (Mutajenite tahmini için in silico modellerin karşılaştırılması). J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev 31: 45-66.

Bowen DE, Whitwell JH, Lillford L, Henderson D, Kidd D, Mc Garry S, Pearce G, Beevers C ve Kirkland DJ (2011) Work conducted at Covance Laboratories Ltd., Harrogate. Evaluation of a multi-endpoint assay in rats, combining the bone-marrow micronucleus test, the Comet assay and the flow-cytometric peripheral blood micronucleus test (Covance Laboratories Ltd., Harrogate'de yürütülen çalışma. Kemik iliği mikronükleus testini, Komet analizi ve akış sitometrik periferik kan mikronükleus testini birleştiren, sıçanlarda çok sonlanma noktalı bir testin değerlendirilmesi). Mutat Res 722: 7-19.

Brendler-Schwaab S, Hartmann A, Pfuher S ve Speit G (2005) The *in vivo* comet assay: use and status in genotoxicity testing (*İn vivo* komet analizi: genotoksisite testinde kullanım ve durum.) Mutagenesis 20: 245-54.

Burlinson B, Tice RR, Speit G, Agurell E, Brendler-Schwaab SY, Collins AR, Escobar P, Honma M, Kumaravel TS, Nakajima M, Sasaki YF, Thybaud V, Uno Y, Vasquez M ve Hartmann A (2007) Fourth International Workgroup on Genotoxicity Testing: result of the in vivo Comet assay workgroup (Dördüncü Uluslararası Genotoksisite Testi Çalışma Grubu: in vivo Komet analizi çalışma grubunun sonucu). Mutat Res 627:31-5.

Burlinson B (2012) The *in vitro* and *in vivo* comet assays (*İn vitro* ve *in vivo* komet analizleri). Methods Mol Biol 817:143-63.

Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivão I, Giovannelli L, Kruszewski M, Smith CC, Stetina R (2008) The comet assay: topical issues (Komet analizi: topikal sorunlar). Mutagenesis 23: 143-51.

Cordelli E, Fresegna AM, Leter G, Eleuteri P, Spano M, Villani P (2003) Evaluation of DNA damage in different stages of mouse spermatogenesis after testicular X irradiation (Testiküler X ışınımı sonrası fare spermatogenezinin farklı aşamalarında DNA hasarının değerlendirilmesi). Radiat Res 160:443-451.

EFSA, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (2011) Gıda ve yem güvenliği değerlendirmesi için geçerli genotoksisite testi stratejileri üzerine Bilimsel Komitenin Bilimsel Görüşü. EFSA Journal 2011 9(9):2379 [69 s.] Erişim adresi: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (2012) *In vivo* alkali Komet Analizi Raporlarının kabulü için Minimum Kriterler. EFSA Journal 2012 10(11):2977 [12 s.] Erişim adresi: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EMA, Avrupa İlaç Ajansı (2012) Beşeri Kullanıma Yönelik Farmasötik Ürünlerin Kaydedilmesi için Teknik Gerekliliklerin Uyumlaştırılmasına İlişkin Uluslararası Konferans, beşeri kullanıma yönelik farmasötik ürünler için genotoksisite testleri ve verilerin yorumlamasına ilişkin rehber S2 (R1) - Adım 5. Erişim adresi: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/12/WC500119604.pdf

Enoch SJ (2010) Chemical Category Formation and Read-Across for the Prediction of Toxicity (Toksosite Tahmini için Kimyasal Kategori Oluşturma ve Çapraz Okuma) *Kaynak:* Puzyn T, Leszczynski J ve Cronin MTD (editörler), *Recent Advances in QSAR Studies*, Cilt 8, s. 209-219.

Ersson C, Møller P, Forchhammer L, Loft S, Azqueta A, Godschalk RW, van Schooten FJ, Jones GD, Higgins JA, Cooke MS, Mistry V, Karbaschi M, Phillips DH, Sozeri O, Routledge MN, Nelson-Smith K, Riso P, Porrini M, Matullo G, Allione A, Stepanik M, Ferlińska M, Teixeira JP, Costa S, Corcuera LA, López de Cerain A, Laffon B, Valdiglesias V, Collins AR ve Möller L (2013) An ECVAG inter-laboratory validation study of the comet assay: inter-laboratory and intra-laboratory variations of DNA strand breaks and FPG-sensitive sites in human mononuclear cells (Komet analizinin ECVAG laboratuvarlar arası doğrulama çalışması: insan mononükleer hücrelerinde DNA zinciri kırılmalarının ve FPG'ye hassas bölgelerin laboratuvarlar arası ve laboratuvar içi çeşitleri). *Mutagenesis* 28: 279-86.

Johansson C, Møller P, Forchhammer L, Loft S, Godschalk RW, Langie SA, Lumeij S, Jones GD, Kwok RW, Azqueta A, Phillips DH, Sozeri O, Routledge MN, Charlton AJ, Riso P, Porrini M, Allione A, Matullo G, Palus J, Stepanik M, Collins AR ve Möller L (2010) An ECVAG trial on assessment of oxidative damage to DNA measured by the comet assay (Komet analizi ile ölçülen DNA üzerindeki oksidatif hasarın değerlendirilmesi hakkında bir ECVAG araştırması). *Mutagenesis* 25: 125- 32.

Forchhammer L, Johansson C, Loft S, Möller L, Godschalk RW, Langie SA, Jones GD, Kwok RW, Collins AR, Azqueta A, Phillips DH, Sozeri O, Stepanik M, Palus J, Vogel U, Wallin H, Routledge MN, Handforth C, Allione A, Matullo G, Teixeira JP, Costa S, Riso P, Porrini M ve Møller P (2010) Variation in the measurement of DNA damage by comet assay measured by the ECVAG inter-laboratory validation trial (ECVAG laboratuvarlar arası doğrulama araştırması ile ölçülen komet analizi ile DNA hasarının ölçümündeki değişkenlik). *Mutagenesis* 25: 113-23.

Forchhammer L, Ersson C, Loft S, Möller L, Godschalk RW, van Schooten FJ, Jones GD, Higgins JA, Cooke M, Mistry V, Karbaschi M, Collins AR, Azqueta A, Phillips DH, Sozeri O, Routledge MN, Nelson-Smith K, Riso P, Porrini M, Matullo G, Allione A, Stepanik M, Komorowska M, Teixeira JP, Costa S, Corcuera LA, López de Cerain A, Laffon B, Valdiglesias V ve Møller P (2012) Inter-laboratory variation in DNA damage using a standard comet assay protocol (Standart bir komet analizi protokolü kullanılarak DNA hasarındaki laboratuvarlar arası değişkenlik). *Mutagenesis* 27: 665-72.

Hamada S, Sutou S, Morita T, Wakata A, Asanami S, Hosoya S, Ozawa S, Kondo K, Nakajima M, Shimada H, Osawa K, Kondo Y, Asano N, Sato S, Tamura H, Yajima N, Marshall R, Moore C, Blakey DH, Schechtman LM, Weaver JL, Torous DK, Proudlock R, Ito S, Namiki C ve Hayashi M (2001) Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day treatment protocol: Summary of the 13th Collaborative Study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Environmental Mutagen Society of Japan (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS) (Kemirgen mikronükleus testinin 28 günlük uygulama protokolü ile değerlendirilmesi: Mikronükleus Testi (CSGMT) / Japonya Çevresel Mutajen Topluluğu (JEMS) - Memeli Mutajenitesi Çalışma Grubu (MMS) için Ortak Çalışma Grubu tarafından yapılan 13. Ortak Çalışmanın Özeti. *Environ Mol Mutagen* 37:93-110.

Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, Collins A, Smith A, Speit G, Thybaud V ve Tice RR (2003) Recommendations for conducting the *in vivo* alkaline Comet assay (*In vivo* alkali Komet analizinin yürütülmesi için tavsiyeler). *Mutagenesis* 18: 45-51.

Hayashi M, MacGregor JT, Gatehouse DG, Adler ID, Blakey DH, Dertinger SD, Krishna G, Morita T, Russo A ve Sutou S (2000) *In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay. II. Some aspects of protocol design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring (*In vivo* kemirgen eritrosit mikronükleus analizi II. Tekrarlanan uygulamalar, toksosite testi ile bütünleştirme ve otomatik puanlama gibi protokol tasarımının bazı yönleri). *Environ Mol Mutagen* 35: 234-52.

Kirkland D ve Speit G (2008) Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens III. Appropriate follow-up testing in vivo (Üç in vitro genotoksisite testinden oluşan bir serinin kemirgenlere kanserojen ve kanserojen olmayan maddeleri ayırt etme kapasitesinin değerlendirilmesi III. İn vivo uygun takip testi). Mutat Res 654:114-32.

Lambert IB, Singer TM, Boucher SE ve Douglas GR (2005) Detailed review of transgenic rodent mutation assays (Transgenik kemirgen mutasyon analizlerinin ayrıntılı incelemesi). Mutat Res 590: 1-280.

Madrigal-Bujaidar E, Madrigal-Santillán EO, Alvarez-Gonzalez I, Baez R ve Marquez P (2008) Micronuclei induced by imipramine and desipramine in mice: a subchronic study (Farelerde imipramin ve desipramin ile tetiklenen mikroçekirdekler: subkronik bir çalışma). Basic Clin Pharmacol Toxicol 103:569-73.

McKelvey-Martin VJ, Green MH, Schmezer P, Pool-Zobel BL, De Méo MP ve Collins A (1993) The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review (Tek hücreli jel elektroforez deneyi (komet analizi): bir Avrupa incelemesi). Mutat Res 288:47- 63.

Naven RT, Greene N ve Williams RV (2012) Latest advances in computational genotoxicity prediction (Bilgisayarlı genotoksisite tahmininde son gelişmeler). Expert Opin Drug Metab Toxicol 8: 1579-87.

OECD (2009) Transgenik Kemirgen Mutasyon Testleri hakkında Ayrıntılı İnceleme Belgesi, Test ve Değerlendirme Serileri, No. 103, ENV/JM/MONO(2009)7.

Olsen AK, Andreassen A, Singh R, Wiger R, Duale N, Farmer PB ve Brunborg G (2010) (Fare eşey hücre hattının çevresel maruz kalması: Spermatozoada DNA eklentileri ve spermatogenez sırasında de novo mutasyonların oluşumu). PLoS One 5:e11349.

Pfuhler S, Kirkland D, Kasper P, Hayashi M, Vanparys P, Carmichael P, Dertinger S, Eastmond D, Elhajouji A, Krul C, Rothfuss A, Schoening G, Smith A, Speit G, Thomas C, van Benthem J ve Corvi R (2009) Reduction of use of animals in regulatory genotoxicity testing: Identification and implementation opportunities—Report from an ECVAM workshop (Düzenleyici genotoksisite testlerinde hayvan kullanımının azaltılması: Tanımlama ve uygulama fırsatları - Bir ECVAM çalıştıyından rapor). Mutat Res 680: 31-42.

Rothfuss A, O'Donovan M, De Boeck M, Brault D, Czich A, Custer L, Hamada S, Plappert-Helbig U, Hayashi M, Howe J, Kraynak AR, van der Leede B-J, Nakajima M, Priestley C, Thybaud V, Saigo K, Sawant S, Shi J, Storer R, Struwe M, Vock E ve Galloway S (2010) Collaborative study on fifteen compounds in the rat-liver Comet assay integrated into 2- and 4-week repeat-dose studies (2 ve 4 haftalık tekrarlı doz çalışmalarında bütünleştirilmiş sıçan-karaciğer Komet analizindeki on beş bileşik üzerinde ortak çalışma). Mutat Res 702: 40-69.

Rothfuss A, Honma M, Czich A, Aardema MJ, Burlinson B, Galloway S, Hamada S, Kirkland D, Heflich RH, Howe J, Nakajima M, O'Donovan M, Plappert-Helbig U, Priestley C, Recio L, Schuler M, Uno Y ve Martus HJ (2011) Improvement of in vivo genotoxicity assessment: combination of acute tests and integration into standard toxicity testing (İn vivo genotoksisite değerlendirmesinin iyileştirilmesi: akut testlerin birleşimi ve standart toksisite testinde bütünleştirme). Mutat Res 723:108-20.

Serafimova R, Fuat Gatnik M ve Worth A (2010) Genotoksisite ve kanserojenlik tahmini için QSAR modellerinin ve yazılım araçlarının incelemesi. JRC Teknik Rapor no. EUR 24427 EN. Avrupa Birliği Yayın Ofisi, Lüksemburg. Erişim adresi: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/predictive_toxicology/doc/EUR_24427_EN.pdf

Smith CC, Adkins DJ, Martin EA ve O'Donovan MR (2008) Recommendations for design of the rat comet assay (Sıçan komet analizinin tasarımı için öneriler). Mutagenesis 23: 233-40.

Somers CM, Yauk C, White PA, Parfett CLJ ve Quinn JS (2002) Air pollution induces heritable DNA mutations (Hava kirliliğinin kalıtsal DNA mutasyonlarına neden olması). Proc Natl Acad Sci USA 99: 15904-15907.

Speit G, Vasquez M, Hartmann A (2009) The comet assay as an indicator test for germ cell genotoxicity (Eşey hücre genotoksisitesi için bir gösterge testi olarak komet analizi). Mutat Res 681:3-12.

Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E,

Ryu J-C ve Sasaki F (2000) Single cell gel/Comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing (Tek hücreli jel/Komet analizi: *in vitro* ve *in vivo* genetik toksikoloji testleri için rehber). Environ Mol Mutagen 35: 206-221.

UK COM, Kimyasalların Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Mutajenitesi Komitesi (2011) Kimyasal maddelerin genotoksisite testleri için bir strateji hakkında rehber. Erişim adresi: <http://www.iacom.org.uk/guidstate/documents/COMGuidanceFINAL2.pdf>

Vasquez MZ (2012) Recommendations for safety testing with the *in vivo* comet assay (*İn vivo* komet analizi ile güvenlik testleri için öneriler). Mutat Res 747:142-56.

Yauk C (2004) Advances in the application of germline tandem repeat instability for in situ monitoring (Yerinde izleme için eşey hücre hattı tandem tekrarlı kararsızlığın uygulanmalarındaki gelişmeler). Mutat Res 566: 169-182.

Zheng H, Olive PL (1997). Influence of oxygen on radiation-induced DNA damage in testicular cells of C3H mice (Oksijenin C3H farelerinin testis hücrelerinde radyasyona bağlı DNA hasarı üzerindeki etkisi). Int J Radiat Biol 71:275-282.

R.7.7.8 Kanserojenite

R.7.7.8.1 Kanserojenitenin tanımı

Kimyasallar, tümörlere neden olursa, tümör görülme sıklığını ve/veya kötü huyluluğu arttıırırlarsa veya tümör oluşum süresini kısaltırlarsa kanserojen olarak tanımlanır. Kötü huylu tümörlere ilerleme potansiyeline sahip olduğu düşünölen iyi huylu tümörler, genellikle kötü huylu tümörlerle birlikte değerlendirilir. Kimyasallar, herhangi bir maruz kalma yolu (örneğin solunduğunda, yutulduğunda, cilde uygulandığında veya enjekte edildiğinde) ile kansere yol açabilir, ancak kanserojen potansiyel ve etki gücü, maruz kalma koşullarına (örneğin, maruz kalma yolu, seviyesi, modeli ve süresi) bağlı olabilir. Kanserojenler, epidemiyolojik çalışmalardan, hayvan deneylerinden ve/veya (Nicel) Yapı-Aktivite İlişkileri ((Q)SAR) analizleri ve/veya yapısal olarak benzer maddelerden ekstrapolasyon (çapraz okuma) içerebilecek diğer uygun yollardan tanımlanabilir. Potansiyel kanserojenlerin tanımlanmasına yönelik her strateji, bu raporun ilerleyen kısımlarında ayrıntılı olarak tartışılacaktır. Bir kimyasalın kanserojen potansiyelinin belirlenmesi, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımına dayanır. Sınıflandırma kriterleri SAE Yönetmeliğinde verilmiştir.¹⁶⁰

Karsinogenez süreci, hem genetik değişiklikleri (yani mutasyon¹⁶¹) hem de genetik olmayan olayları içeren bir dizi aşama yoluyla normal hücrelerin kanser hücrelerine geçişini içerir. Genetik olmayan olaylar, birincil DNA dizisini etkilemeyen ve yine de tümörlerin görülme sıklığını artıran veya tümörlerin ortaya çıkması için gecikme süresini azaltan mekanizmaların aracılık ettiği değişiklikler/süreçler olarak tanımlanır. Örneğin; değişen büyüme ve ölüm oranları, değiştirilmiş veya hedef hücrelerin farklılaşması/normale dönmesi ve neoplastik potansiyelin (örn. tümör baskılayıcı genler veya anjiyogenez faktörleri) ifadesi ile ilişkili özel genlerin ifadesinin değişikliğe uğratılmasında karsinogenez sürecinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir ve kanser görülme sıklığını arttırmak üzere genetik değişikliklerin yokluğunda kimyasal bir ajan tarafından değişikliğe uğratılabilir.

Kanserojen kimyasallar, varsayılan etki şekline göre geleneksel olarak genotoksik veya genotoksik olmayan kimyasallar halinde iki kategoriye ayrılmıştır¹⁶³. Genotoksik etki şekilleri, birincil DNA dizisinde bir değişikliğe neden olmak için doğrudan DNA ile etkileşime giren kimyasalın neden olduğu genetik değişiklikleri içerir. Bir kimyasal ayrıca diğer hücre sel süreçlerle etkileşimin ardından (örn. oksidatif stresin indüksiyonuna ikincil olarak) dolaylı olarak genetik değişikliklere neden olabilir. Genotoksik olmayan etki şekilleri arasında epigenetik değişiklikler, yani DNA'da değişiklikler içermeyen ancak gen ifadesini, değiştirilmiş hücre-hücre iletişimini veya kanserojen süreçte yer alan diğer faktörleri etkileyebilen etkiler bulunur. Örneğin, ardından gelen yenileyici hücre çoğalması ile birlikte kronik sitotoksite, tümör gelişiminin artırılabileceği bir etki şekli olarak kabul edilir: sıçanlarda mesane tümörlerinin indüksiyonu, bazı durumlarda, kalıcı tahriş/yanğı, doku erozyonu ve mesane taşlarının oluşumunu takiben ürotelyumun rejeneratif hiperplazisine neden olabilir. Genotoksik olmayan diğer etki şekilleri, özel reseptörleri (örneğin, kemirgenlerdeki karaciğer tümörleri ile ilişkili olan PPAR α ; veya çeşitli hormonal mekanizmalarla oluşan tümörler) içerebilir. Diğer genotoksik olmayan etki şekillerinde olduğu gibi, bunların hepsinin bir eşik değeri olduğu varsayılabilir.

R.7.7.8.2 Kanserojenite hakkında rehberin amacı

Kimyasalların kanserojenitesini araştırmanın amacı, potansiyel insan kanserojenlerini, bunların etki şekilleri ve etki güçlerini belirlemektir.

¹⁶⁰ SAE Yönetmeliğı, 11/12/2013 tarihli ve 28848 (Mükerrer) sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan SEA Yönetmeliğı ile yürürlükten kaldırılmış ve yerini SEA Yönetmeliğı almıştır.

¹⁶¹ Mutajenite ve genotoksite terimleri hakkında bir tanım ve temel bilgiler için Bölüm [R.7.7.1.1](#) incelenmelidir.

Kanserojenlik potansiyeli ve etki gücü ile ilgili olarak, en uygun bilgi kaynağı doğrudan insan epidemiyolojisi araştırmalarından elde edilmiştir (örn. kohort, vaka kontrol çalışmaları). İnsan verilerinin olmadığı durumlarda, hayvanlarda kanserojenite testleri kanserojen maddeleri kanserojen olmayanlardan ayırmak için kullanılabilir.

Bununla birlikte, bu çalışmaların sonuçlarının daha sonra hem nitel hem de nicel olarak insanlara ekstrapole edilmesi gerekir. Bu, kimyasal metabolizma ve toksikokinetikteki farklılıklar gibi türe özel faktörlere ve hayvan biyoanalizlerinde kullanılan yüksek dozlardan normalde insanlar tarafından deneyimlenenlere ekstrapolasyonun doğasında var olan zorluklara bağlı olarak, hem etki gücü hem de insanlarla ilgisi açısından belirsizlik getirir.

Bir kimyasalın kanserojen olduğu tespit edildiğinde, altta yatan etki şeklini, yani kimyasalın doğrudan genotoksik olup olmadığını açıklamaya ihtiyaç vardır. Risk değerlendirmesinde, farklı kanserojen türleri arasında bir ayırım yapılır (yukarıya bakınız).

DNA ile doğrudan etkileşim sergileyen genotoksik kanserojenler için, altında kansere yol açmayan biyolojik bir eşik değerinin mevcut olabilmesine rağmen, eşik değerinin konumunu, bir doz-cevap eğrisi üzerindeki *etki gözlemlenmeyen seviyeden* çıkarmak genellikle mümkün değildir.

Genotoksik olmayan kanserojenler için, *etki gözlemlenmeyen eşik değerlerinin* var olduğu ve ayırt edilebilir olduğu varsayılır (örneğin, kritik genotoksik olmayan etkiler için uygun şekilde tasarlanmış doz cevap çalışmaları yürütülüyorsa). Diğer hücrel süreçlerle etkileşimin ardından DNA üzerinde dolaylı etkiler yoluyla genetik değişikliklere neden olan belirli kanserojenler için de etki gözlemlenmeyen eşikler mevcut olabilir (örn. kanserojen risk, yalnızca hücrel süreçlerde kimyasal olarak tetiklenen değişiklikler fizyolojik veya homeostatik kontrollerin telafi kapasitesini aştıktan sonra ortaya çıkacaktır). Bununla birlikte, ikinci durumda, bu dolaylı genotoksik etki şeklini ikna edici bir şekilde desteklemek için gereken bilimsel kanıtlara ulaşmak daha zor olabilir. İnsan çalışmaları genellikle yukarıda belirtilen etki şekilleri arasında bir ayırım yapmak için mevcut değildir; ve buna ilişkin bir sonuç, aslında, mutajenite/genotoksisite testlerinin ve diğer mekanik çalışmaların sonucuna bağlıdır. Buna ek olarak, hayvan çalışmaları (örn. kanserojenite çalışması, tekrarlı doz çalışmaları ve başlatma-destekleme protokolleri ile deneysel çalışmalar) da temel kanserojen etki şekli hakkında bilgi verebilir.

Kanser zararlılığı ve etki şekli, maruz kalma yolu gibi maruz kalma koşullarına da büyük ölçüde bağlı olabilir. Örneğin bir pulmoner kanserojen, kronik solunum maruz kalmasını takiben sıçanlarda akciğer tümörlerine neden olabilir, ancak dermal maruz kalmayla ilişkili hiçbir kanser zararlılığı olmayabilir. Bu nedenle, insan maruz kalma koşullarına ilişkin tüm ilgili etki verileri ve bilgiler, düzenleyici kararlara dayanak oluşturmak için bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında değerlendirilir.

R.7.7.9 Kanserojenite üzerine bilgi gereklilikleri

Kanserojenite sonlanma noktası için, standart bilgi gereklilikleri ≥ 1000 ton/yıl miktarlarında imal veya ithal edilen maddeler için özel olarak tanımlanmıştır (Ek 10). Kesin bilgi gereklilikleri, halihazırda mevcut olan toksisite bilgilerine ve söz konusu madde için kullanım ve insan maruz kalmasının ayrıntılarına göre maddeden maddeye farklılık gösterecektir. KKDİK Ek 6 ila 11 bir bütün olarak ve kayıt ve değerlendirmenin genel gereklilikleri ile bağlantılı olarak düşünülmelidir.

Ek 10 2. Sütunu, gerekli standart bilgilerin çıkarılabileceği, yerini başka bilgilerin alabileceği, farklı bir aşamada sunulabileceği veya başka bir şekilde uyarlanabileceği özel kuralları listelemektedir. Bu Ek'in 2. sütunundaki uyarlamalar için koşullar karşılanırsa, her bir uyarlamanın gerçekleri ve nedenleri kayıta açıkça belirtilmelidir.

Kanserojenite için standart bilgi gereklilikleri ve bu gerekliliklerin uyarlanması için özel kurallar [Tablo R.7.7-6](#)'da sunulmaktadır.

Tablo R.7.7-6 Kanserojenite için standart bilgi gereklilikleri ve bu gerekliliklere ilişkin uyarılama için özel kurallar

SÜTUN 1 GEREKLİ STANDART BİLGİLER	SÜTUN 2 SÜTUN 1'DEN UYARILAMA İÇİN ÖZEL KURALLAR
Ek 7-9	
Ek 10: 1. Kanserojenite çalışması.	<p>1. Aşağıdaki durumlarda, kayıt ettiren tarafından bir kanserojenite çalışması önerilebilir veya Madde 36 veya 37 uyarınca ÇŞB tarafından istenebilir:</p> <ul style="list-style-type: none"> - maddenin yaygın dağılımlı kullanımı var veya sık veya uzun süreli insan maruz kalmasına dair kanıtlar varsa; ve - madde mutajen kategori 3 olarak sınıflandırılmışsa veya maddenin hiperplazi ve/veya pre-neoplastik lezyonlara neden olabildiğine dair tekrarlı doz çalışmasından/çalışmalarından elde edilen kanıt varsa. <p>Madde, mutajen kategori 1 veya 2 olarak sınıflandırılırsa, varsayılan varsayım, kanserojenite için genotoksik bir mekanizmanın muhtemel olduğu olacaktır. Bu durumlarda, normalde bir kanserojenite testi gerekli olmayacaktır.</p>

R.7.7.10 Kanserojenite üzerine bilgi kaynakları

Kimyasalların insanlar için kanserojen olma potansiyeline ilişkin çıkarımlar yapılmasına izin verebilecek birçok farklı bilgi kaynağı vardır. Açıkça, bu kaynaklar sadece potansiyel kanserojen aktivitenin tanımlanmasına izin vermekle kalmaz, aynı zamanda bir maddenin olası bir kanserojen olarak tanımlanması durumunda, aynı zamanda temel etki şekli ve olası kanserojen etki gücü açısından da bilgilendirici olmalıdır. KKDİK gereklilikleri, uygun sınıflandırma ve etiketlemenin yanı sıra, kimyasalın güvenli kullanımının meydana gelebileceği koşullara ilişkin sonuçların çıkarılmasına izin veren nicel bir risk değerlendirmesi gerektirir: yani veriler, eşikli veya eşiksiz etki şekli ve tercihen nicel terimlerle bazı doz tanımlayıcılar (doz cevabını karakterize eden) hakkında sonuca varılmasına izin vermelidir.

Çeşitli kaynakların zararlılığın tanımlanması, etki şekli veya kanserojen etki gücü yönleri hakkında farklı bilgi verdiği ifade edilir (ve aşağıda belirtilmiştir).

R.7.7.10.1 Kanserojenite üzerine insan dışı veriler

Kanserojenite üzerine test dışı veriler

Standart kemirgen kanseri biyoanalizini gerçekleştirme kapasitesi, ekonomik, teknik ve hayvan refahı hususları ile sınırlıdır, öyle ki alternatif, hayvan dışı test yöntemlerinin geliştirilmesine daha fazla vurgu yapılmaktadır. Bununla birlikte, test dışı verilerin kullanımı yoluyla kanserojenlik tahminleri şu anda çok sayıda olası mekanizma nedeniyle aşırı bir zorluk teşkil etmektedir. İnsanlarda kanserojenitenin tahmini özellikle sorunludur.

Önemli zorluklar devam etse de, kanserojen süreci anlamada önemli olan mekanik, toksikokinetik veya toksikodinamik faktörleri aydınlatmak için geniş bir test dışı teknikler yelpazesi mevcuttur. Bunlar, uzman değerlendirmesinden yapısal benzerliklerin ve analogların değerlendirilmesine (yani çapraz okuma ve gruplandırma), kanserojenite için (Q)SAR modellerinin kullanımına kadar uzanır.

Bu tür bilgiler, öncelik belirleme, zararlılık tanımlaması, etki şeklinin aydınlatılması, etki gücü tahmini ve/veya *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesine dayalı test stratejileri hakkında kararlar alınmasında yardımcı olabilir.

Genotoksisite, kimyasal karsinogenez için önemli bir mekanizma olmaya devam etmektedir ve bunun bir kimyasala yönelik kesin gösterimi, genellikle risk değerlendirme metodolojisinin seçiminde belirleyicidir. Genotoksisite için test dışı seçenekler hakkında bir yorum Bölüm [R.7.7.1](#)'de verilmiştir. Bazı kimyasal yapıların veya parçaların, genellikle DNA-reaktif mekanizmalar yoluyla kanserojeniteyle ilişkilendirilebileceği uzun zamandır bilinmektedir. DNA reaktif mekanizmalar yoluyla kanserojenite ile ilişkili yapılar ve parçalar için faydalı rehberlik, ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin "Eşik Değerlendirme Rehberi, Ek 1, Kanserojen Yapı Rehberi" (ABD FDA, 1986); Ashby-Tennant "süper mutajen modeli" (örn. Ashby ve Tennant, 1988); ve daha sonra bu model üzerine yapılandırılanlar (örn. Ashby ve Paton, 1993; Munro ve ark., 1996) ile sağlanmıştır. Yapısal kategoriler hakkında ek bilgi "Kimyasalların İnsan için Kanserojen Riskinin Değerlendirilmesine İlişkin IARC Monografıları" (IARC, 2006) içerisinde bulunabilir.

Yakın ilişkili yapılar için genotoksik sonlanma noktalarına ilişkin test sonuçlarını tahmin eden modeller, *yere/* veya türdeş nicel yapı aktivite ilişkileri olarak bilinir. Bu türdeş modeller, kanserojenite için mutajeniteden daha az yaygındır. Franke ve ark. (2001), bir dizi genotoksik kanserojen için böyle bir modelin bir örneğini sağlar.

Genotoksik olmayan kanserojenite için durum, dahil olabilecek çok sayıda farklı mekanizma nedeniyle çok daha karmaşıktır. Bununla birlikte, östrojen reseptörlerine bağlanma, peroksizomal proliferasyonun başlatılması ve tübülün proteinlerine bağlanma yoluyla etki gösteren bileşik sınıflarının aktivitesinin tahmin edilmesinde ilerleme kaydedilmektedir. Potansiyel olarak yararlı birçok model bulunmasına rağmen, bunların uygulanabilirliği büyük ölçüde önerilen mekanizmaya ve kimyasal sınıfa bağlı olacaktır.

Çeşitli (türdeş olmayan) madde gruplarının kanserojen zararlılığını tahmin etmeye (kendi alanlarında) çalışan birkaç *küresel* (türdeş olmayan) model mevcuttur (örn. Matthews ve Contrera, 1998). Bu modeller aynı zamanda tarama, öncelik belirleme, test stratejilerine karar verme ve/veya *Kanıt Ağırlığına* dayalı zararlılık veya risk değerlendirmesine yardımcı olabilir. Çoğu ticaridir ve Onco-Logic® (mevcut durumda ABD-EPA tarafından sağlanmıştır) ve DEREK gibi uzman sistemleri, MULTICASE yapay zeka sistemleri ve TOPKAT programını içerir. Geçmişte, bu tür modellerin performansı karışıktır ve modeli geliştirmek ve test etmek için kullanılan maddeler arasındaki kanserojenitenin kesin tanımına büyük ölçüde bağlıdır. Bunlar ECETOC (2003) ve Cronin ve ark. (2003) tarafından gözden geçirilmiştir.

Ücretsiz kanserojen tahmin kaynakları, Danimarka EPA (Q)SAR veritabanını içerir (Avrupa Komisyonu Kimyasallar Bürosu: ECB <http://qsar.food.dtu.dk>) aracılığıyla erişilebilir. Bu veritabanındaki 166.000 bileşiğe yönelik tahminler arasında sekiz MULTICASE FDA kanser modeli, bir dizi genotoksisite tahmini, kemirgen karsinogenik etki gücü, hepato-özünlük, östrojenisite ve aril hidrokarbon (AH) reseptör bağlanması bulunmaktadır. Kanserojenite tahminlerinin bir başka kaynağı, ABD Ulusal Kanser Enstitüsü'nün sponsorluğunu yaptığı Gelişmiş NCI veritabanı "*Tarayıcı*"dır. Genel kanserojenite, mutajenite ve belirli durumlarda potansiyel mekanik ilgi alanı olabilecek ek sonlanma noktaları dahil içinde 250.000 kimyasal tahmin vardır (<http://cactus.nci.nih.gov>).

Kanserojenite modelleri hakkında daha fazla bilgi, kimyasal maddelerin araştırma ve geliştirme araçlarını belirleme çabasıyla listelendikleri OECD Kimyasal Risk Değerlendirme Modelleri Veritabanında <http://www.olis.oecd.org/comnet/env/models.nsf/-MainMenu?OpenForm>) mevcuttur.

(Q)SAR ve Kimyasalların Gruplandırılmasına ilişkin rehber (bkz. sırasıyla Bölüm R.6.2 ve R.6.1), gruplandırma ve nicel yapı aktivite ilişkilerinin temel kavramlarını açıklar ve düzenleyici amaçlar için doğrulama, yeterlilik ve belgelendirme hakkında genel rehberlik sağlar.

Rehber ayrıca çapraz okuma/gruplandırma ve nicel yapı aktivite ilişkilerinin kullanımı için aşamalı bir yaklaşımı açıklamaktadır.

Yukarıda belirtilen tüm kaynakların potansiyel olarak olası kanserojen zararlılık ve temel etki şekli ve ayrıca kanserojen etki gücü hakkında bilgi verebileceği belirtilmektedir.

Kanserojenite üzerine test verileri

İn vitro veriler

Bir maddenin kanserojen potansiyelinin değerlendirilmesinde ve (potansiyel olarak) altta yatan etki şekilleri hakkında doğrudan veya dolaylı bilgi sağlayan aşağıdaki *in vitro* veriler mevcut olabilir. Tek başına hiçbir sonlanma noktası veya etki, kanserojen potansiyeli değerlendirmek için olağandışı bir öneme sahip değildir, ancak Bölüm [R.7.7.11.1](#)'de açıklandığı gibi, değerlendirme altındaki bir maddenin genel toksikolojik etkileri bağlamında değerlendirilmelidir. Belirtilenler dışında, standartlaştırılmış protokoller, belirtilen *in vitro* sonlanma noktalarının çoğu için mevcut değildir. Bunun yerine, çalışmalar, maddeye, hedef dokuya ve hücre tipine veya değerlendirilen hayvan türlerine göre uyarlanmış protokoller kullanılarak uzman değerlendirmesine uygun olarak yürütülür.

genotoksisite çalışmaları: Maddelerin mutasyonlar veya genotoksisiteye neden olma kapasitesi (Bölüm [R.7.7.1](#)'de tanımlandığı gibi) kanserojen potansiyelin göstergesi olabilir. Bununla birlikte, *in vitro* çalışmaların aksine, *in vivo* uygun şekilde tasarlanmış çalışmalarda etkiler gözlemlendiğinde, mutajenite/genotoksisite ve karsinogenez arasındaki ilişki daha güçlüdür.

***in vitro* hücre dönüşüm analizi sonuçları:** bu tür analizler, kimyasalların neoplastik veya pre-neoplastik lezyonların *in vivo* gelişimine eşlik eden fenotipik değişikliklere benzer olduğu varsayılan kültürlenmiş memeli hücrelerinin morfolojik ve çoğalma özelliklerinde değişiklikler uyandırma kapasitesini değerlendirir (OECD, 2006). Bu tür analizlerle saptanan değişmiş hücreler, uygun konakçı hayvanlara enjekte edildiğinde tümörler olarak çoğalma kabiliyetine sahip olabilir veya daha sonra elde edebilir. *İn vitro* tahlillerde olduğu gibi, hücre dönüşüm analizleri, hücresel düzeyde kimyasalların etkilerinin tespiti ile sınırlıdır ve sağlam dokular veya organizmalar seviyesinde uygulanan etkilerin aracılık ettiği kanserojen aktiviteye karşı hassas olmayacaktır.

mekanik çalışmalar:

- hücre çoğalması: sürekli hücre çoğalması, neoplastik/pre-neoplastik hücrelerin çoğalmasını kolaylaştırabilir ve/veya neoplastik gelişimi teşvik eden kendiliğinden değişikliklere elverişli koşullar yaratabilir.
- değişmiş hücreler arası ara bağlantı iletişimi: normal ve neoplastik/pre-neoplastik hücreler arasında çoğalma baskılayıcı veya diğer küçük düzenleyici moleküllerin ara bağlantılar yoluyla el değiştirmesinin, neoplastik potansiyelin fenotipik ifadesini baskıladığından şüphelenilmektedir. Floresan boya aktarımı veya hücreler arasında küçük moleküllerin el değiştirmesi için çeşitli analizler dizisi ile değerlendirildiği üzere ara bağlantı fonksiyonunun bozulması, normal hücreler tarafından neoplastik potansiyelin baskılanmasını zayıflatabilir.
- hormon- veya diğer reseptör bağlanması; bir dizi ajan, hücrelerin çoğalmasını değiştiren ve/veya neoplastik hücrelerin çoğalmasını kolaylaştıran genlerin ifadesini kontrol eden düzenleyici maddeler için hormon reseptörlerine veya bölgelere bağlanarak hareket edebilir. Bu nitelikteki etkileşimler çeşitlidir ve genellikle çok özgündür.

diğer hedeflenen etki mekanizmaları:

- bağışıklık baskılayıcı aktivite: neoplastik hücreler sıklıkla, normal bağışıklık sistemi işlevi ile saptanmalarına ve ortadan kaldırılmasına izin veren antijenik özelliklere sahiptir.

Normal bağışıklık fonksiyonunun baskılanması, bu *bağışıklık gözetim* fonksiyonunun etkinliğini azaltabilir ve ekzojen faktörler veya kendiliğinden değişikliklerle uyarılan neoplastik hücrelerin çoğalmasına izin verebilir.

- apoptozu inhibe etme veya uyarma kapasitesi: apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, çoğu zaman hücre çekirdeğindeki DNA'nın bozunması ile sonuçlanan özel enzimlerin salımı ile hücrelerin ölümüyle sonuçlanan bir moleküler olaylar dizisini oluşturur. Apoptoz, birçok dokuda hücre çoğalması ve farklılaşmasının kontrolünün ayrılmaz bir parçasıdır. Apoptoz uyarılması, aksi takdirde neoplastik hücrelerin çoğalmasını baskılayabilecek hücreleri ortadan kaldırabilir; apoptozun inhibisyonu, pre-neoplastik/neoplastik hücrelerin, aksi takdirde ortadan kaldırılmalarına neden olabilecek düzenleyici kontrollerden kaçmasına izin verebilir.
- anjiyogenez veya anjiyogenez faktörlerinin salgılanmasını uyarma kapasitesi: katı tümörlerde pre-neoplastik/neoplastik hücrelerin çoğalması, tümör büyümesinin beslenme gerekliliklerini desteklemek için damar oluşumunun yokluğunda kısıtlanacaktır. Anjiyogenez faktörlerinin salgılanması, katı tümör dokusunun damarlanmasını uyarır ve sürekli tümör büyümesini sağlar.

Hayvan verileri

Bir maddenin insanlara kanserojen potansiyelini değerlendirmede yararlı doğrudan veya dolaylı bilgi sağlayabilen çok çeşitli çalışma kategorileri mevcut olabilir. Bunlar aşağıda belirtilenleri içerir:

kanserojenlik çalışmaları (deney hayvanlarında geleneksel uzun süreli veya yaşam boyu çalışmalar): Kanserojenite testleri tipik olarak sıçanlar ve fareler kullanılarak ve daha az yaygın olarak Gine domuzu, Suriye hamsteri ve bazen mini domuzlar, köpekler ve primatlar gibi hayvanlarda gerçekleştirilir. Standart kemirgen kanserojenite biyoanalizi, uygulama gruplarına rastgele atanan sıçanlar veya fareler kullanılarak yürütülecektir. Test maddelerine maruz kalma ağızdan, soluma veya deri yoluyla maruz kalma yollarıyla olabilir. Maruz kalma yolunun seçimi, genellikle, belirli bir maruz kalma yolunun ilgisini gösterebilecek, insanlara ve/veya diğer veri kaynaklarına (örn., epidemiyoloji çalışmaları veya tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları) ilişkin maruz kalma yolları için ön varsayımlarla belirlenir. Bu tür çalışmalar için standartlaştırılmış protokoller geliştirilmiş ve iyi doğrulanmıştır (örn. OECD Test Rehberi 451, 453 veya ABD-EPA 870.4200).

kısa ve orta süreli biyoanaliz verileri (örneğin, fare deri tümörü, sıçan karaciğer odak modeli, neonatal fare modeli): özel dokularda varsayılan pre-neoplastik değişikliklerin saptanmasına ve miktarının belirlenmesine izin veren çok sayıda analiz geliştirilmiştir. Bu tür pre-neoplastik odakların tetiklenmesi kanserojen potansiyelin göstergesi olabilir. Bu tür çalışmalar genellikle geleneksel kanser biyoanalizlerine ek olarak kabul edilir ve daha az doğrulanmış ve standardize edilmiş olsalar da, risk değerlendirmesi için yararlı olabilecek tamamlayıcı mekanik ve doz cevap bilgileri elde etmek için vaka bazında uygulanabilir (Enzmann ve ark., 1998).

Genetiği değiştirilmiş (transgenik) kemirgen modelleri (örn. *Xpa*^{-/-}, *p53*^{+/-}, *rasH2* veya *Tg.AC*): hayvanlar, çok aşamalı karsinogenez sürecinin tamamlanması için gerekli olan moleküler değişikliklerin bir veya daha fazlasına sahip olacak şekilde genetik olarak tasarlanabilir (Tennant ve ark., 1999). Bu, hayvanların kanserojenlere hassasiyetini artırabilir ve/veya kendiliğinden veya uyarılmış tümörlerin gözlemlendiği gecikmeyi azaltabilir. Belirli bir mühendislik ürünü hayvanın suşundaki genetik değişiklikler, geniş bir doku yelpazesinde karsinogeneze duyarlılığı artırabilir veya bir veya sadece sınırlı sayıda dokuda neoplastik gelişim için gerekli değişikliklere özel olabilir (Jacobson-Kram, 2004; Pritchard ve ark., 2003; ILSI/HESI, 2001).

Bu modellerden elde edilen veriler, bir kimyasalın kanserojenliğine ilişkin *Kanıt Ağırlığı* analizinde kullanılabilir.

in vivo genotoksisite çalışmaları: maddelerin mutasyonları veya genotoksisiteyi uyarma kapasitesi (Bölüm R.7.7.1.1'de tanımlandığı üzere) kanserojen potansiyelin göstergesi olabilir. Genel olarak, *in vivo* pozitif genotoksisite bulguları ile hayvan kanserojenite biyoanaliz sonuçları arasında iyi bir korelasyon vardır.

tekrarlı doz toksisitesi testleri: toksisite ve sonraki kanserojen etkiler için özel hedefler olabilecek dokuları belirleyebilir. Tümör gelişimine yardımcı olduğundan ve doz-etki ilişkilerinin geliştirilmesine yardımcı olabileceğinden şüphelenilen pre-neoplastik değişikliklerin (örneğin hiperplazi veya metaplazi) gözlemlenmesine özellikle önem verilebilir (Elcombe ve ark., 2002).

Sürekli hücre çoğalması indüksiyonu üzerine çalışmalar: maddeler, toksisiteden zarar görmüş dokuları sürekli olarak yenileyen telafi edici süreçler yoluyla sürekli hücre çoğalmasını indükleyebilir. Bazı maddeler ayrıca dokuya özgü mitojenler olabilir ve açık toksik etkilerin yokluğunda hücre çoğalmasını uyarır. Mitojenik etkiler sıklıkla tümör destekleyicilerin etkisiyle ilişkilendirilir. Hem yenileyici hücre çoğalması hem de mitojenik etkiler tümör gelişimi için gerekli olabilir, ancak yeterli olmayabilir, ancak meydana gelenin değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken yeterince farklı mekanik temele sahiptir (Cohen ve Ellwein, 1991; Cohen ve ark., 1991).

bağışıklık baskılayıcı aktivite üzerine çalışmalar: daha önce belirtildiği gibi, normal bağışıklık gözetim fonksiyonlarının baskılanması, neoplastik hücreleri tanımlamaya ve ortadan kaldırmaya hizmet eden normal bağışıklık sistemi fonksiyonlarına girişimde bulunabilir.

toksikokinetik çalışmaları: toksisite için hedef olabilecek dokuları veya uygulama yollarını belirleyebilir ve belirli organlarda maruz kalma ve metabolizma hakkında veri sağlayabilir. Sonraki kanserojen etkilere bağlantılar mevcut olabilir veya olmayabilir, ancak bu tür veriler, karsinogenez çalışmalarının belirli doku tipleri veya hayvan türlerine odaklanmasına hizmet edebilir.

mekanizmalar/etki şekilleri üzerine diğer çalışmalar, örn. OMIC çalışmaları (toksikogenomik, proteomik, metabonomik ve metabolomik): karsinogenez, gen ifadesindeki, transkripsiyonel düzenlemedeki, protein sentezindeki ve diğer metabolik değişikliklerdeki çoklu değişikliklerle ilişkilidir. Kanserojen potansiyeli teşhis eden özel değişiklikler henüz doğrulanmamıştır, ancak bu hızla gelişen çalışma alanları, bir gün potansiyel kanserojenlerin tanımlanmasında yararlı olabilecek geniş bir moleküler değişiklik dizisinin değerlendirilmesine izin verebilir.

Yukarıdaki testlerin zararlılık tanımlaması, etki şekli veya kanserojen etki konusunda farklı bilgi verdiği belirtilmektedir. Örneğin, geleneksel biyoanalizler zararlılık tanımlaması ve etki gücü tahmini için kullanılırken (yani bir doz tanımlayıcısının türetilmesi), genetik mühendisliği sonucu elde edilen hayvanları kullanan çalışmalar potansiyel zararlılık ve muhtemel etki şekli hakkında bilgi verir, ancak tümör indüksiyonuna oldukça duyarlı oldukları düşünüldüklerinden kanserojen etki gücü olarak daha zayıftır.

R.7.7.10.2 Kanserijenite üzerine insan verileri

İnsan verileri, maddenin potansiyel kanserojenitesi hakkında doğrudan bilgi sağlayabilir. Yeterli kalitede ilgili insan verileri, eğer varsa, türler arasında veya yüksek dozdan düşük doza kadar herhangi bir ekstrapolasyon gerekmediğinden hayvan verilerine tercih edilir. Epidemiyolojik veriler normalde yeni maddeler için mevcut olmayacaktır, ancak onlarca yıldır kullanımda olan maddeler için mevcut olabilir. Modern mesleki hijyen önlemlerinin uygulanmasından önce yaygın kullanıma sahip maddeler için, bazı kanserojenlere insan maruz kalmasının yoğunluğu, kanser görülme sıklığında oldukça anlamlı, doza bağlı artışlar üretmek için yeterli olmuştur.

Bir dizi temel epidemiyolojik çalışma tasarımı mevcuttur ve kohort, vaka kontrolü ve kayıt tabanlı korelasyonel (örn. ekolojik) çalışmaları içerir. Kimyasal karsinogenez ile ilgili en kesin epidemiyolojik çalışmalar, genellikle mesleki olarak maruz kalan popülasyonların ve daha az sıklıkla genel popülasyonun kohort çalışmalarıdır.

Kohort çalışmaları, belirli bir maddeye maruz kaldığı bilinen başlangıçta sağlıklı birey gruplarını değerlendirir ve zaman içinde kanser görülme sıklığı veya ölüm oranının gelişimini izler. Bireylerin deneyimlediği maruz kalma yoğunluğu hakkında yeterli bilgi ile, genel kohortta kanser görülme sıklığı veya ölüm oranı ile doza bağlı ilişkiler kurulabilir. Vaka kontrol çalışmaları, belirli bir kanser türü geliştiren bireyleri geriye dönük olarak araştırır ve kimyasal maruz kalmalarını hastalık geliştirmemiş bireylerle karşılaştırır. Vaka kontrol çalışmaları genellikle kohort çalışmalarının yürütülmesi ile iç içedir ve fazla görülen kanserin belirli bir maddeyle ilişkilendirilebileceği kesinliği artırmaya yardımcı olabilir. İlişkisel veya ekolojik çalışmalar, belirli bir maddeye maruz kaldığı varsayılan birey gruplarında kanser görülme sıklığını/ölüm oranını değerlendirir, ancak bireylerin deneyimlediği maruz kalma ölçüleri mevcut olmadığından genellikle daha az kesindir. Kanser kümelerinin gözlemleri ve nadir tümörlerin vaka raporları da bazı durumlarda yararlı destekleyici bilgiler sağlayabilir, ancak daha resmi ve titiz kohort çalışmalarının yürütülmesi için sıklıkla itici bir güç oluşturur.

Epidemiyolojik çalışmalar, kanserojenlerin tanımlanmasının yanı sıra, temsili (veya geçmiş) şekilde işyerlerinde ve/veya çevrede gerçek maruz kalma ve kanser indüksiyonu için ilişkili doz-cevap hakkında bilgi sağlayabilir. Bu bilgiler, risk karakterizasyonu için çok değerli olabilir.

Bilinen insan kanserojenlerinin tanımlanmasında etkili olmasına rağmen, epidemiyoloji çalışmaları, hassasiyetlerinde bir dizi teknik faktörle sınırlıdır. Maruz kalma geçmişi (örneğin bireysel maruz kalma ölçümleri) veya bir kohort içindeki sağlık durumunun diğer belirleyicileri ile ilgili mevcut bilgilerin kapsamı ve/veya kalitesi genellikle sınırlıdır. Bir kanserojene maruz kalma ile klinik hastalığın başlangıcı arasındaki uzun gecikme süresi göz önüne alındığında, kanserojen etki gücünün kapsamlı tahminlerinin oluşturulması zor olabilir. Benzer şekilde, mesleki ve çevresel olarak maruz kalan kohortlar genellikle belgelenmemiş (veya tam olarak belgelenmemiş) kanserojen maddelere birlikte maruz kalmaktadır. Bu, işlenmekte olan hammaddelerde eser kirleticiler olarak bulunan bilinen kanserojenlerle (örn. arsenik) birlikte maruz kalmayı gerektirdiği artık bilinen köklü endüstri sektörleri (örn. ana metal üretimi) üzerinde yapılan çalışmalarda özellikle sorunlu olabilir. Bu tür sektörler için geriye dönük hijyen ve maruz kalma analizleri, genellikle üretilen ana malzemelere maruz kalmayı tahmin edebilir, ancak kirleticileri izlemek için kritik ortak maruz kalmayı belgeleyen veriler mevcut olmayabilir. Bu tür ortamlarda artmış kanser riski gözlemlenebilir, ancak artan riskin kaynağını belirlemek zor olabilir. Son olarak, çeşitli yaşam tarzı karıştırıcıları (sigara içme ve alkol kullanma alışkanlıkları, beslenme alışkanlıkları ve etnik köken) kanser görülme sıklığını etkiler, ancak genellikle yeterli karıştırıcı kontrolüne yönelik olarak yetersiz şekilde belgelenir. Bu nedenle, karıştırıcılardan etkilendiği bilinen doku bölgelerinde (örn. akciğer ve mide) kanserdeki mütevazı artışların yorumlanması zor olabilir.

Biyolojik izleme teknikleri ve moleküler epidemiyoloji hızla gelişmektedir. Bu yeni geliştirilen araçlar, bireysel duyarlılığın biyobelirteçleri, kritik hedef organ maruz kalması ve etkilerin düşük maruz kalma seviyelerinde meydana gelip gelmediği hakkında bilgi sağlamayı vaat etmektedir. Bu tür yardımcı bilgiler, epidemiyoloji çalışması sonuçlarının yorumlanmasına ve doz cevap ilişkilerinin tanımlanmasına yardımcı olabilir. Örneğin, hemoglobin moleküllerinde kimyasal eklentilerin oluşumunun izlenmesi (Birner ve ark., 1990; Albertini ve ark., 2006), hasarlı DNA bazlarının idrarla atılımı (Chen ve Chiu, 2005) ve genotoksisite biyobelirteçlerinin indüksiyonu (mikronükleus veya kromozom bozuklukları; Boffetta ve ark., 2007) şu anda klasik epidemiyolojik çalışma tasarımlarıyla birlikte kullanım için değerlendirilmekte ve/veya doğrulanmaktadır. Bu tür veriler genellikle belirli kimyasal maddelere uygulanmasında sınırlıdır, ancak bu tür teknikler, özellikle potansiyel etki mekanizmalarını tanımlayan hayvan verileri ve kanserojen risk göstergesi olabilecek ilişkili biyobelirteçler ile birleştirildiğinde sonuçta daha yaygın olarak kullanılabilir hale gelebilir. Kanser sürecinin altında yatan moleküler olayların izlenmesi, aynı zamanda doz cevap ilişkilerinin iyileştirilmesini kolaylaştırabilir ve nihayetinde potansiyel kanser riskinin erken göstergeleri olarak hizmet edebilir. Bununla birlikte, bir genelleme olarak, bu tür biyo-izleme araçları, rutin kullanım için gerekli olan hassasiyeti henüz göstermemiştir.

R.7.7.10.3 Kanserojenite üzerine maruz kalma hususları

Maruz kalma, kullanım ve risk yönetimi önlemlerine ilişkin bilgiler, KKDİK Madde 10 ve Ek 6 uyarınca toplanmalıdır.

KKDİK Ek 10 içerisinde, maddenin yaygın dağılımlı kullanımı olduğunda veya sık veya uzun süreli insan maruz kalmasına dair kanıt mevcut olduğunda, ÇŞB tarafından talep edilebilecek (veya kayıt ettiren tarafından önerilmiş) bir kanserojenite çalışmasının olabileceği belirtilmiştir. Potansiyel hedef dokular ve söz konusu kimyasalla ilişkili olan ilgili maruz kalma yollarına dair özel soruları ele almak için ilk olarak ön toksikokinetik çalışmalar gerekebilir.

Öte yandan, bir kimyasalın kanserojen özelliklerine ilişkin araştırmalar, kimyasalın sadece kapalı bir sistemde kullanıldığı ve insan maruz kalmasının ihmal edilebilir olduğunun ÇŞB'a tatmin edici şekilde gösterilebilmesi halinde ertelenebilir (yani, madde üzerindeki risk azaltma önlemleri, kategori 1 ve 2'deki yüksek etki gücüne sahip kanserojen maddelere uygulananlara zaten eşdeğerdir. Bunun nedenleri, katı maruz kalma rejimlerinin uygulandığı veya zorunlu olduğu diğer maddelerin varlığını içerebilir). Elbette, testten muaf tutulma gerekçesinin kayıt sırasında açıkça belgelenmesi gerekir.

Ayrıca, maruz kalma ile ilgili hususlar, örneğin gerçek maruz kalma yoluna uygulanabilir olan bilgilerin aramasını etkileyebilir. Örneğin, maruz kalma senaryolarından sadece tek bir özel yolun dahil olduğu açıksa, bu yol için toksisite verileri veri toplama ve değerlendirmede diğer yollara göre daha önemlidir. Ayrıca, partiküllere soluma yoluyla maruz kalmanın dahil olması, uygun bir zararlılık değerlendirmesi ve risk değerlendirmesi sağlamak için toksisite bilgisi gerekliliklerine öncelik verecektir.

R.7.7.11 Kanserojenite üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Bu sonlanma noktası karmaşıktır ve uzman görüşü ile değerlendirme gerektirir.

Bu değerlendirmenin amacının, maddenin kanserojen potansiyeli; yani maddenin kanserojen olup olmadığı ve öyleyse, temel etki şeklinin ne olduğu (eşikli veya değil) ve kanserojen etki gücünün ne olduğu (yani bir doz tanımlayıcısının tanımlanmasına ihtiyaç olması) hakkında bilgi edinmek olduğuna dikkat edilmelidir.

Yukarıda belirtilen özelliklere ilişkin bir değerlendirme, Bölüm [R.7.7.10](#) 'da (ve aşağıda) belirtildiği gibi çeşitli bilgi türlerinin bir birleşimini gerektirir. Böyle bir değerlendirme, sonuçlara varmak için bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımına, yani mevcut çeşitli bilgi parçalarının dikkatli bir şekilde toplanması, ayrıştırılması ve tartılmasına ihtiyaç duyar. Bu uygulama özellikle karmaşıktır ve bu nedenle uzman değerlendirmesi girdisi gerektirir.

R.7.7.11.1 Kanserojenite üzerine insan dışı veriler

Kanserojenite üzerine test dışı veriler

Düzenleyici kararlar için test dışı verilerin kullanımı oldukça yeni olduğundan, test dışı verilerdeki maddelerin değerlendirilmesi konusunda bugüne kadar çok az deneyim mevcuttur. Bu nedenle, potansiyel kimyasal toksisite değerlendirmesinin her aşamasında, uzman görüşü gereklidir. Bununla birlikte, test dışı verilerin potansiyel olarak tüm kanserojen özellikler (yani etki şekli ve etki gücü dahil) hakkında bilgi verebileceği kabul edilmektedir.

Belgeler, endişeye veya endişe olmamasına yol açan ilgili bir kimyasala veya kimyasal gruplarına atıf içermelidir. Bu, bilimsel mantığa göre (çapraz okuma) veya kimyasal benzerliğin matematiksel bir ilişkisi olarak sunulabilir.

Bazı durumlarda, bir maddenin oluşturduğu kanserojen potansiyel, karmaşık bir karışımda risk oluşturduğuna inanılan bileşenlerin bağıl konsantrasyonlarının analizine dayanarak değerlendirilebilir.

Örneğin, bazı karmaşık kömür ve petrol türevi maddelerin kanserojen olarak sınıflandırılması, gösterge kanserojenlerin (benzen, 1,3-bütadien ve benzen) içeriğinin bir fonksiyonu olarak değişebilirken, diğerleri için DMSO çözücü ekstraksiyonunu takiben ölçülen polisiklik aromatik hidrokarbonların düzeyine bağlıdır. (bkz. SAE Yönetmeliği Ek 1). Uygun şekilde doğrulandığında, bu tür kimyasal özütleme ve analiz teknikleri, hayvan kanserojenite çalışmalarında elde edilecek sonuçları büyük ölçüde tahmin eder.

İyi belgelenmiş ve uygulanabilirse, nicel yapı aktivite ilişkileri, aşağıdaki bölümde açıklanan karar noktalarına ulaşmaya yardımcı olmak için kullanılabilir. Bu tür yöntemlerin doğruluğu, bir test veya belirli bir düzenleyici kararın alınmasına yardımcı olmak veya izin vermek için yeterli olabilir. Bu tespit için uzman değerlendirmesine ihtiyaç vardır.

Test verilerinin bulunmadığı kimyasallar, test dışı yöntemlere güvenmenin mutlak olabileceği özel bir durum sunar. Bir teste dayanmayan bir sonuca ulaşmada test dışı yöntemlerin kabul edilebilirliğini birçok faktör belirleyecektir. Çoklu genotoksiste ve kanserojenite tahminlerine (örn. (Q)SAR modellerinden) dayalı kanserojenitenin *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesi, bazı durumlarda bir kimyasalın bir veya iki *in vitro* testte deneysel olarak test edilmesiyle elde edilebilecek karar dayanağına eşit veya daha fazla olabilir. Bu, duruma göre dikkate alınmalıdır.

Hem nitel (yani sınıflandırma ve etiketleme) hem de nicel değerlendirme (yani bazı doz tanımlayıcı değerlerinin belirlenmesi) için Kimyasalların Gruplandırılması ve (Q)SAR kullanımı hakkında daha fazla rehberlik sırasıyla Bölüm R.4.3.2 ve R.6.2'de verilmektedir ve ayrıca düzenleyici amaçlar için kullanılan temel kavramları, doğrulama durumunu, yeterlilik ve belgelendirme ihtiyaçlarını içerir.

Kanserojenite üzerine test verileri

In vitro veriler

In vitro veriler, bir maddenin kanserojen potansiyeli ve olası temel etki şekilleri hakkında yalnızca ön bilgi verebilir. Örneğin, *in vitro* genotoksiste çalışmaları, maddenin *in vivo* genotoksik ve dolayısıyla potansiyel bir genotoksik kanserojen (bkz. Bölüm [R.7.7.1](#)) olma olasılığı olup olmadığı ve bununla birlikte kanserojenliğin altında yatan potansiyel etki şekli (eşikli veya eşiksiz) hakkında bilgi sağlayabilir.

Genotoksiste verilerinin yanı sıra, *in vitro* hücre dönüşümü gibi diğer *in vitro* veriler (Bölüm [R.7.7.10.1](#)'de açıklanan), bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinde, bir kimyasalın kanserojen bir potansiyele sahip olup olmadığına karar vermeye yardımcı olabilir. Hücre dönüşümü sonuçları, tek hücre düzeyinde uygulanan etkilerin saptanmasıyla sınırlandırıldığından ve mekanik olarak farklı işlemlerle üretilebildiğinden, tek başlarına gerçek temel etki şekli/şekilleri hakkında bilgi vermezler.

Maddelerin karsinogenezi kolaylaştırdığı düşünülen süreçleri etkileme kapasitesini değerlendirmek için çalışmalar da yapılabilir. Bu sonlanma noktalarının çoğu, henüz resmi olarak doğrulanmamış ve/veya sürekli gelişen temel araştırmaların ürünleri olan deneysel sistemler tarafından değerlendirilir. Resmileştirilmiş ve onaylanmış protokoller, bu testlerin yürütülmesi ve yorumlanmasında eksiktir. Mevcut testlerin çeşitliliği ve gelişen doğası nedeniyle her test için genel bir rehberlik vermek zor olsa da, bunları duruma göre değerlendirmek ve testin nasıl yürütüldüğüne ilişkin bağlamı dikkatlice değerlendirmek önemlidir.

Bazı test sonlanma noktaları, neoplastik gelişime katkıda bulunabilecek mekanizmaları değerlendirir, ancak her sonlanma noktasının bağıl önemi, değerlendirilen maddenin genel toksikolojik profilinin bir fonksiyonu olarak değişecektir. Ayrıca, *in vitro* verilerin bir *in vivo* duruma ekstrapole edilmesiyle ilişkili önemli belirsizlikler olduğu da not edilmelidir.

Bu tür *in vitro* veriler, birçok durumda, kanserojen potansiyeli ve/veya mekanizmaları tanımlamak için yapılabilecek *in vivo* çalışmaların doğasına ilişkin bilgiler sağlayacaktır.

Hayvan verileri

In vivo veriler, bir maddenin kanserojen potansiyeli, olası temel etki şekilleri ve etki gücü hakkında doğrudan bilgi verebilir.

Kanserojenite testi, standart test protokollerine veya rehberlerine (örn. OECD Test Rehberi 451, 453 veya ABD-EPA 870.4200) göre geleneksel olarak sıçan veya fare gruplarında gerçekleştirilir ve sonuç, kimyasal uygulanan hayvanlar ve kontrollerdeki neoplazm oluşumlarının görülme sıklığı, doğası ve meydana gelme zamanının karşılaştırılmasına dayanır.

Kullanılan hayvan suşu için geçmişteki tümör görülme sıklığı bilgisi önemlidir (laboratuvara özel veriler tercih edilir). Ayrıca kullanılan çalışma tasarımına da dikkat edilmesi, istatistiksel analizlerin gerekli olması nedeniyle önemlidir. Kanserojenite çalışmalarından bildirilen verilerin kalitesi, bütünlüğü ve eksiksizliği, çalışmaların sonraki analizi ve değerlendirilmesi için gereklidir. Çalışma raporlarının kabul edilebilirliğinin nitel bir değerlendirmesi, bu nedenle bağımsız değerlendirme sürecinin önemli bir parçasıdır. Bu konudaki rehberlik kaynakları IEH (2002), CCCF (2004) ve OECD (2002) içerisinde bulunabilir. Mevcut çalışma raporu standart test rehberinin gerektirdiği tüm bilgileri içermiyorsa, deneysel prosedürün kabul edilebilir olup olmadığına ve gerekli bilgilerin eksik olup olmadığına karar vermek için muhakeme gerekir.

Bir kanserojenite biyoanalizinin son tasarımı, analog maddelerin test edilmesindeki uzman görüşü ve deneyimi protokollerin değiştirilmesini destekliyse OECD rehberlerinden sapabilir. Standart protokollerde yapılan bu tür değişiklikler, değerlendirilmekte olan malzemenin belirli özelliklerinin bir işlevi olarak düşünülebilir.

Kanserojenite verileri bazen standart test rehberlerinde belirtilenler dışındaki türlerde bulunabilir (örn. Gine domuzu, Suriye hamsteri ve bazen mini domuzlar, köpekler ve primatlar). Bu tür çalışmalar, sıçanlarda ve farelerde yapılan çalışmalara ek veya onların yerine olabilir ve herhangi bir değerlendirmede dikkate alınmalıdır.

Yenidoğan veya genetik mühendisliği sonucu elde edilen (transgenik) hayvanlarla yapılan kısa ve orta süreli kanserojenite analizleri gibi geleneksel olmayan kanserojenite çalışmalarından elde edilen veriler de mevcut olabilir (CCCF, 2004; OECD, 2002). Genetiği değiştirilmiş hayvanlar, karsinogenezin çok aşamalı sürecinde değiştiğine inanılan genlerde mutasyonlara sahiptir, böylece kimyasal olarak uyarılan tümörlere karşı hayvan hassasiyetini artırır. Çeşitli transgenik hayvan modelleri mevcuttur ve yeni modeller sürekli olarak geliştirilmektedir. Özel bir hayvan modelindeki genetik değişiklik/değişiklikler, çok çeşitli doku tiplerinde neoplastik gelişimi kolaylaştırdığından şüphelenilenler olabilir veya değişiklikler, karsinogenezin dokuya özel yönlerinde yer aldığından şüphelenilen genlerde olabilir. İkincisi, hem deneysel yapılarının hem de değerlendirmek için tasarlandıkları özel mekanik yolların tanınmasıyla uygulanmalıdır. Örneğin mezotelyoma indüksiyonuna duyarlı bir transgenik hayvan modeli, karaciğer kanserojeni olduğu şüphesi bulunan bir kimyasalın çalışmasında sınırlı değere sahip olacaktır. Bu tür hayvan modeli sistemleri, kanserojenlerin daha kısa sürede ve daha az hayvan kullanılarak tespiti için umut vaat ederken, hassasiyet ve özgüllükleri henüz belirlenmemiştir. Göreceli bir doğrulama eksikliğinden dolayı, bu tür deneyler, geleneksel ömür boyu kanserojenlik çalışmalarına alternatif olarak henüz kabul edilmemiştir, ancak tarama amacıyla veya 2 yıllık bir kemirgen biyoanalizine olan ihtiyacı belirlemek için yararlı olabilir. Bu tür çalışmaların çeşitli değerlendirmeleri yayınlanmıştır (örn. Jacobson-Kram, 2004; Pritchard ve ark., 2003; ILSI/HESI (2001)).

Kabul edilebilir kalitede birden fazla çalışmadan veri elde edildiğinde, bulguların tutarlılığı sağlanmalıdır. Tutarlı olduğunda, özellikle çalışmalar birden fazla türde ise veya tek bir çalışmada kötü huylu tümörlerin açıkça uygulamayla ilişkili bir görülme sıklığı varsa, bir sonuca varmak genellikle kolaydır.

Yalnızca tek bir çalışma varsa ve test maddesi kanserojen değilse, (a) bu çalışmanın ilgili olup olmadığına veya (b) kanserojen olarak kabul edilmemesi gerektiğine dair güven sağlamak için ek bilgi gerekip gerekmediğine karar vermek üzere bilimsel gerekçeye ihtiyaç vardır.

Çalışma bulguları, onaylanmış çalışma rehberleri izlense bile, kanserojen potansiyeli açıkça gösteremeyebilir. Örneğin, sadece iyi huylu tümörlerin veya kontrol hayvanlarında arka planda görülme sıklığı yüksek olan tümörlerin görülmesinin sıklığında bir artış olabilir. Kötü huylu ve nadir tümörlerde bir artıştan daha az ikna edici olmasına ve bu modelin potansiyel aşırı hassasiyetinin kabul edilmesine rağmen (Haseman, 1983; Ames ve Gold, 1990), bu tür pozitif bulguların ilgili olmadığı düşünülüp göz ardı edilmeden önce ayrıntılı ve kanıtlanmış bir gerekçe verilmelidir.

Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, bir maddenin kansere neden olma potansiyeline sahip olup olmadığını belirlemek için toplanan *Kanıt Ağırlığı* ve altta yatan potansiyel etki şekilleri için yardımcı olacak ek bilgiler sağlayabilir (Elcombe ve ark., 2002). Örneğin, hiperplazinin indüksiyonu (sitotoksikite ve yenileyici hücre çoğalması, mitojenite veya hücre kontrol mekanizmalarına müdahale yoluyla) ve/veya pre-neoplastik lezyonların indüksiyonu, kanserojen potansiyel için *Kanıt Ağırlığına* katkıda bulunabilir. Toksikite çalışmaları ayrıca, kronik maruz kalma koşulları altında tümör gelişimini destekleyen bir durum olan bağışıklık baskılayıcı aktivite için kanıt sağlayabilir.

Son olarak, toksikokinetik veriler, ilgili yapısal uyarılarla birlikte metabolitlerin oluşumunu ortaya çıkarabilir. Maddenin emilimi, dağılımı, metabolizması ve/veya boşaltımındaki farklılıklara dayalı olarak, bir türde toplanan kanserojenite ve ilgili verilerin etki gücü ve ilgi düzeyi ve başka bir türe ekstrapolasyonu hakkında da önemli bilgiler verebilir. Bu tür faktörlerin aracılık ettiği türe özel farklılıklar, deneysel çalışmalar veya toksikokinetik modelleme uygulamasıyla gösterilebilir.

Hayvanlarda pozitif kanserojen bulgular dikkatli bir değerlendirme gerektirir ve bu, diğer toksikolojik verilere (örn. *in vitro* ve/veya *in vivo* genotoksikite çalışmaları, toksikokinetik veriler, mekanik çalışmalar, (Q)SAR değerlendirmeleri) ve maruz kalma koşullarına (örn. uygulama yolu) ilişkin olarak gerçekleştirilmelidir. Bu tür karşılaştırmalar, belirli etki mekanizmaları için kanıt sağlayabilir; bu, mümkün olduğunda dikkate alınması gereken önemli bir faktördür ve daha sonra insanlar için uygunluk açısından değerlendirilebilir.

Kanserojenlerin etki şekline ilişkin *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesine yapılandırılmış ve şeffaf bir yaklaşım sağlayan kavramsal bir çerçeve geliştirilmiştir (bkz. Sonich-Mullin ve ark., 2001; Boobis ve ark., 2006). Etki mekanizması bir kanserojen madde için geliştirilen risk değerlendirmesinin anahtarı olduğunda ve bir maddenin kansere genotoksik veya genotoksik olmayan mekanizmalar yoluyla neden olup olmadığının belirlenmesinde özellikle kritik olabileceğinde, bu çerçeve takip edilmelidir.

Örneğin, bir madde *in vivo* sınırlı genotoksikite sergileyebilir, ancak bu özelliğin kanserojenite ile ilgisi, karsinogenezin hedefi olan dokularda genotoksikite gözlenmezse veya genotoksikite maruz kalma koşulları ile ilgili olmayan yollarla (örn. intravenöz enjeksiyon) gözlenirse belirsizdir, ancak bu madde kanser oluşturduğu bilinen uygulama yolları yoluyla uygulandığında geçerli değildir. Bu tür durumlarda, maddenin belirgin genotoksik özellikleri, tümör indüksiyonunun altında yattığına inanılan mekanizma/mekanizmalar ile ilgili olmayabilir. Örneğin, bazı inorganik metal bileşiklerin oral yoldan uygulanması, organa özel toksisite ve zorlanmış hücre çoğalması içerdiğine inanılan bir mekanizma yoluyla böbrek tümörlerini indükleyecektir. İntravenöz enjeksiyon yoluyla karsinogenez için hedef olmayan dokularda genotoksik yanıtla neden olunabilmesine rağmen, bu renal karsinogenezin genotoksik mekanizma gerektirdiğini gösteren sınırlı kanıt vardır (IARC, 2006). Bu tür mekanik çıkarımların yapılmasında *kanıt yükü* yüksek olabilir, ancak risk değerlendirmesinde yapılan temel varsayımlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir.

Genel olarak, genotoksik bir mekanizma (bilinen veya tahmin edilen) tarafından indüklenen tümörler, daha fazla bilgi bulunmadığında, doğrudan insan eşdeğeri olmayan dokularda gözlemlendiğinde bile insanlarla ilgili olarak kabul edilir. Genotoksik olmayan bir mekanizma tarafından indüklendiği gösterilen tümörler, prensipte, insanlarla da ilgili kabul edilir, ancak bazı genotoksik olmayan etki şekillerinin insanlarda meydana gelmediği kabul edilmektedir (bkz. OECD, 2002). Bu, örneğin, kemirgene özel etki şekilleri tarafından indüklenen bazı özel kemirgen böbrek, tiroid, idrar kesesi, ön mide ve glandüler mide tümörü türlerini, yani insanlarda işlev görmeyen veya aşırı veya insanlarda gerçekçi olmayan koşullarda işleyen etki mekanizmaları/şekillerini içerir. İnsan sağlığı ile ilgili olmayan bu kemirgene özel mekanizmaları oluşturmak için gerekli olan temel biyokimyasal ve histopatolojik olayları içeren ayrıntılı bir karakterizasyon sağlayan şekilde, bu tümör türlerinden bazıları için incelemeler mevcuttur (bkz. IARC Teknik Yayın Serileri). Son zamanlarda, IPCS bir çerçeve geliştirmiştir ve hayvanlarda varsayılan bir etki şeklinin insanlarla olan ilişkisinin nasıl değerlendirileceğine dair bazı örnekler sağlamıştır (ILSI RSI, 2003; Boobis ve ark., 2006).

Test ve/veya test dışı verilere dayalı olarak kanserojen olarak tanımlanan maddeler için mevcut bilgiler, sonrasında uygun bir nicel risk değerlendirmesine izin vermek için, altta yatan etki şekli/şekillerini ve etki gücünü belirleme çabasıyla daha fazla değerlendirilmelidir (bkz. Bölüm R.7.7.12.2). Daha önce belirtildiği gibi, standart olmayan hayvan modellerinin (örn. transgenik veya neonatal hayvanlar) kullanımı, zararlılık ve risk değerlendirme amaçları için elde edilen sonuçların nasıl uygulanacağına dair uzman görüşü ile dikkatli bir değerlendirmeye ihtiyaç duyar; bu tür değerlendirmeler için rehberlik sağlamak mümkün değildir.

R.7.7.11.2 Kanserojenite üzerine insan verileri

Epidemiyolojik veriler potansiyel olarak zararlılık tanımlama, maruz kalma tahmini, doz cevap analizi ve risk değerlendirmesi için kullanılabilir. Bir maddenin kanserojen potansiyeline ilişkin her çalışmanın güvenilirlik derecesi, Hill (1965) çalışmasının gibi kabul edilmiş nedensellik kriterleri kullanılarak değerlendirilmelidir. Bir çalışmadaki maruz kalma verilerine ve kontrol popülasyonunun seçimine özel dikkat gösterilmelidir. Maruz kalma verilerinin yetersiz raporlanması nedeniyle, bir maddenin kesin olarak kanserojen olarak tanımlanmasında genellikle önemli düzeyde belirsizlik vardır. Şans, önyargı ve karıştırıcı faktörler sıklıkla göz ardı edilemez. Maddenin açık bir şekilde tanımlanması, diğer maddelere eş zamanlı maruz kalma varlığı veya yokluğu ve ilgili doz seviyelerini değerlendirmek için kullanılan yöntemler açıkça belgelenmelidir. Aynı tümör tipinin benzer aşırılıklarını ortaya çıkaran bir dizi çalışma, istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile, pozitif bir ilişki önerebilir ve çalışmaların böyle bir değerlendirme için yeterince benzer olması koşuluyla, hassasiyeti artırmak için uygun bir ortak değerlendirme (meta-analiz) kullanılabilir. Farklı çalışmaların sonuçları tutarsız olduğunda, olası açıklamalar aranmalı ve çeşitli çalışmalar, kullanılan yöntemlere göre değerlendirilmelidir.

Epidemiyoloji çalışmalarının yorumlanması dikkatle yapılmalıdır ve maruz kalma sınıflandırmasının yeterliliği, özel ilgi konusu doku bölgelerindeki beklenen tümör sıklığına göre çalışma kohortunun boyutu, ve çalışma tasarımının temel unsurlarının uygun olup olmadığının bir değerlendirmesini içermelidir (örn. eğer indüklenen kanser yüksek bir başarılı tedavi oranına sahipse bir mortalite çalışmasının hassasiyeti sınırlı olacaktır). Bu tür bir dizi faktör, belirli bir çalışmanın hassasiyetini sınırlayabilir - bir maddenin insanlarda kanserojen olmadığının açık bir şekilde gösterilmesi zordur ve ayrıntılı ve kesin maruz kalma ölçümleri, uygun kohort boyutu, yeterli maruz kalma yoğunluğu ve süresi, potansiyel endişe nedeni kanserlerin tespiti ve teşhisi için yeterli takip süresi ve sağlam prosedürler gerektirir. Tersine, belirli bir çalışmada aşırı kanser riskini, ilgili birlikte maruz kalma ve karıştırıcılar yeterince belgelenmemişse yorumlamak da zor olabilir. Kanser sonlanma noktalarını bilinen pre-neoplastik lezyonlar veya kanser riskinin moleküler göstergeler (biyobelirteçler) hakkındaki verilerle birleştirerek geleneksel epidemiyolojik yöntemlerin hassasiyeti ve özgünlüğünü iyileştirme çabaları devam etmektedir.

İnsan verilerine dayanarak kanserojen bir madde olarak tanımlandıktan sonra, iyi gerçekleştirilmiş epidemiyoloji çalışmaları, hayvanlara kıyasla insanların bağıl hassasiyeti hakkında bilgi sağlamak için değerli olabilir ve/veya insan kanser riskinde bir üst sınırın gösterilmesinde faydalı olabilir. Temel etki şekillerinin tanımlanması - sonraki risk değerlendirmesi için gerekli (bkz. Bölüm [R.7.7.12.2](#)) - çoğu zaman mevcut test ve / veya test dışı bilgilere kritik şekilde bağlıdır.

R.7.7.11.3 Kanserojenite üzerine maruz kalma hususları

Maruz kalma değerlendirmeleri, mevcut bilgilerin ve/veya test stratejisinin değerlendirilmesinin uyarlanmasına yol açabilir.

Daha önce belirtildiği gibi, kanserojenlik çalışmalarından feragat etmek, örneğin maddenin yalnızca kapalı sistemlerde üretildiği ve kullanıldığı gösterilebildiğinde geçerli olabilir, bu, diğer nedenlerin yanı sıra, katı maruz kalma rejimlerinin uygulandığı veya zorunlu kılındığı diğer maddelerin varlığından kaynaklanabilir. Öte yandan, maddenin yaygın dağılımlı bir kullanımı olduğunda veya sık veya uzun süreli insan maruz kalmasına dair kanıt varsa ve kanserojen özelliklerine ilişkin bilgi diğer yollardan (mevcut etki bilgilerinden) elde edilemiyorsa bir kanserojenite çalışması gerekli olabilir (ÇŞB tarafından veya kayıt ettiren tarafından önerilir). İlgili kimyasal için uygun çalışmaların tasarımına rehberlik edecek potansiyel hedef dokuları ve maruz kalma yollarını belirlemek için ilk olarak ön toksikokinetik çalışmalar gerekli olabilir.

İlk durumda, yani madde yalnızca kapalı sistemlerde üretildiğinde ve kullanıldığında, güvenli kullanım ve işleme ile ilgili sonuçlar, yapısal olarak ilişkili kanserojenlerin risk değerlendirmelerine çapraz okuma veya sözde Toksikolojik Kaygı Eşiği (TTC) kavramının kullanılması ile doğrulanabilir (bkz. Ek R.7-1): Bu kavram, genotoksik kanserojenler dahil tüm kimyasallar için, altında herhangi bir kimyasal için insan sağlığına ilişkin kayda değer bir risk olmayan *de minimis* maruz kalma değerini tanımlar. Maruz kalmaların bu değerlerin altında olduğu gösterilebilirse, gerekli testlerin yapılmaması için iyi bir neden vardır. Açık şekilde, tüm bu durumlarda iyi kalitede maruz kalma bilgileri gereklidir.

R.7.7.11.4 Kanserojenite için kalan belirsizlikler

Önceki bölümlerde belirtildiği gibi, bir kimyasalın kanserojen özelliklerini değerlendirmek için yeterli insan verileri çoğu zaman mevcut değildir ve alternatif yaklaşımlar kullanılmalıdır.

Önceki bölümlerde ve Bölüm [R.7.7.1](#)'de de belirtildiği gibi, genotoksik kanserojenlerin tanımlanmasına yönelik test sistemleri oldukça iyi gelişmiştir ve bu özelliği yeterince kapsamaktadır.

Genotoksik bir etki şekli ile hareket eden hayvan kanserojenlerinin, hayvanlarda mutajenite ve kanserojeniteye neden olan mekanizmaların insanlarla ilgili olmadığına dair ikna edici kanıtlar olmadıkça, makul bir şekilde insan kanserojenleri olarak kabul edilebileceği konusunda fikir birliği vardır. Bununla birlikte, hayvanlarda ve insanlarda kanserojen etki gücü arasındaki ilişki net değildir ve burada bazı belirsizlikler ortaya çıkarmaktadır.

Öte yandan, kanserojenite biyoanalizinden ayrı olarak, genotoksik olmayan kanserojenleri tanımlamak için hassas ve seçici test sistemleri eksikliği vardır. Yapısal olarak ilgili kimyasalların kanserojenitesine ilişkin test dışı bilgilerin yokluğunda, olası kanserojen özelliklere yönelik göstergeler, mevcut tekrarlı doz toksisitesi verilerinden veya *in vitro* hücre dönüşüm analizlerinden gelebilir. Bununla birlikte, önceki veri kaynağının hassasiyeti düşük olsa da (örn. 28 günlük bir çalışma durumunda), ikincisinin kanserojen potansiyelin aşırı tahmin edilmesine yol açma olasılığı vardır. Bu konuda daha fazla genel rehberlik sağlamak için yetersiz veri mevcuttur.

Genotoksik olmayan kanserojenlerin, hayvan kanserojenite test verilerinin yokluğunda tanımlanması zor olabilir. Bununla birlikte, mevcut koruyucu (ihtiyatlı) risk değerlendirme metodolojisinin, bu etki şekli aracılığıyla kanserojen etkiler riskini de kapsamaması gerektiği tartışılabilir: yani, birçok genotoksik olmayan kanserojen için mevcut risk değerlendirmeleri, belirsizliği ele almak için koruyucu değerlendirme faktörlerinin uygulanmasıyla öncül etkiler için NOAEL değerlerine veya hedef organ toksisitesine dayanmaktadır. Örneğin, kumarin için risk değerlendirmesi incelenmelidir (EFSA, 2004; Felten ve ark., 2006). Bu tür bir risk değerlendirmesi, bu maddenin başka herhangi bir özellik için zararlı olarak sınıflandırılmaması durumunda gerçekleştirilmez.

Genotoksik olmayan bir kanserojen olarak tanımlandıktan sonra (test veya test dışı verilerden), bu gözlemin insanlarla ilgisi, yani temel etki şeklinin insanlarla ilgisi konusunda belirsizlik olabilir. Bununla ilgili özel verilerin yokluğunda, hayvan üzerindeki gözlemler insanlarla ilgili olarak alınır. Bununla birlikte, hayvanlarda ve insanlarda kanserojen etki gücü arasındaki ilişki için ek belirsizlik olacaktır; bu belirsizlik insan standartlarının türetilmesi prosedüründe ele alınacaktır (ILSI RSI, 2003).

Son olarak, hayvanlarda geleneksel kanserojenite deneylerinin, bazı iyi bilinen insan kanserojen maddelere (örneğin asbest ve arsenik bileşikleri) karşı hassas olmadığı bulunmuştur. Bu maddelerin, test koşulları değiştirildiğinde kanserojen olduğu gösterilebilir, bu da bir kimyasalın insanlarda kanserojen bir zararlılık oluşturabileceği ancak geleneksel hayvan çalışmalarında gözden kaçabileceği olasılığının her zaman olduğunu gösterir. Bu aynı zamanda diğer toksikolojik sonlanma noktaları için de geçerlidir ve risk yöneticileri tarafından, özellikle çalışanlara ve/veya tüketicilere özellikle yüksek maruz kalma gösteren senaryoların kabul edilebilirliği hakkında karar verirken dikkate alınmalıdır.

R.7.7.12 Kanserojenite için varılan sonuçlar

R.7.7.12.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

Kanserojeniteye ilişkin uygun bir sınıflandırma ve etiketleme konumuna karar vermek için, mevcut veriler SEA Yönetmeliği kriterleri ve ilgili rehberler kullanılarak değerlendirilmelidir¹⁶².

R.7.7.12.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

Bir kimyasalın hayvan verilerinden, epidemiyolojik verilerden veya her ikisinden de kanserojen bir ajan olarak tanımlanmasının yanı sıra, belirli maruz kalma koşulları veya senaryoları için kanserojen riskleri karakterize etmek üzere doz cevap değerlendirmesi önemli bir ileri adımdır. Bu değerlendirmedeki kritik bir unsur, daha önce Bölüm [R.7.7.11.1](#)'de açıklandığı gibi, gözlenen tümör oluşumunun altında yatan etki şeklinin (tümörlere bu şekilde neden olunmasının bir genotoksik mekanizma yoluyla olup olmadığının) belirlenmesidir.

Düzenleyici çalışmalarda, genel olarak, aksine veri olmaması durumunda, DNA ile doğrudan etkileşim sergileyen genotoksik kanserojenler için bir etki eşliğinin belirlenemeyeceği varsayılır, yani, bu tür maddeler tarafından neden olunan kanserojenite için etki gözlemlenmeyen seviye tanımlamak mümkün değildir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, bu bileşikler için bile, düşük dozlu bölgede kanserojenlik için bir eşik değeri belirlenebilir: örn. bazı durumlarda, lokal kronik sitotoksikite ve rejeneratif hiperplazi ile ilişkili olanların altındaki maruz kalmalarda tümörlerde bir artışın meydana gelmediği açıkça gösterilmiştir. Genetik değişikliklere neden olan genotoksik kanserojenler için, temel genotoksik etkiye ilişkin pratik bir eşik değerinin bulunabileceği de kabul edilmektedir.

¹⁶² SAE yürürlükten kaldırılmış ve yerini Küresel Uyumlaştırılmış Sistemi (GHS) uygulayan Maddelerin ve Karışımların Sınıflandırılması, Etiketlenmesi ve Ambalajlanması Hakkında Yönetmelik (SEA Yönetmeliği) almıştır.

Örneğin, bunun anöjenler (anöploidiye - kromozom sayısında değişikliklere neden olmak için bütün halindeki kromozomların kazanılması veya kaybedilmesine neden olan maddeler) veya DNA üzerinde başka bir etkiye ikincil dolaylı etkilere neden olan kimyasallar için geçerli olduğu gösterilmiştir. (örneğin, doğal antioksidan savunma mekanizmalarını aşan oksidatif stres yoluyla).

Genotoksik olmayan kanserojenler, etkilerini doğrudan DNA reaktivitesini içermeyen mekanizmalar yoluyla gösterir. Genel olarak, bu etki şekillerinin eşik dozlarla ilişkili olduğu varsayılır ve altta yatan endişe nedeni toksik etkiler için etki gözlemlenmeyen seviyelerin tanımlanması mümkün olabilir. Genotoksik olmayan kanserojenitede rol oynadığı düşünülen birçok farklı etki şekli vardır. Bazıları özel reseptörlerle (örneğin östrojen reseptörleri) doğrudan etkileşimi içerirken, reseptör aracılı olmadığı görülmektedir. Sonradan yenileyici hücre çoğalması ile birlikte kronik sitotoksosite, tümör gelişimine neden olabilecek bir etki şekli olarak kabul edilir: örneğin, sıçanlarda mesane tümörlerinin uyarılması, bazı durumlarda, kalıcı tahriş/yangı/erozyon ve sonunda tümör oluşumuna neden olan mesane taşlarının oluşumunu takiben ürotelyumun rejeneratif hiperplazisi nedeniyle olabilir. Neoplastik/pre-neoplastik hücrelerin klonal büyümesini kolaylaştırmak için hücreler arası iletişimin engellenmesi gibi özel hücresel etkiler de önerilmiştir.

Bir kanserojenin etki şeklinin belirlenmesi, genotoksosite testlerindeki (*in vitro* ve *in vivo*) sonuçların ve hayvan deneylerindeki gözlemlerin (örn. tümör bölgesi ve tipi ve patolojik ve mikroskopik analizlerden paralel gözlemler) birleşimine dayanır. Epidemiyolojik veriler buna nadiren katkıda bulunur.

Tümör oluşumu etki şeklinin bir eşişe sahip olup olmadığı belirlendiğinde, kimyasal güvenlik değerlendirilmesine karar vermek amacıyla bir doz tanımlayıcısı türetilmelidir. Eşik mekanizmaları için, tümör oluşumu veya temel (toksik) etkiye ilişkin Olumsuz Etki Gözlemlenmeyen Seviye (NOAEL) veya Olumsuz Etkinin Gözlemlendiği En düşük Seviye (LOAEL) (bu tanımlayıcıların tanımı ve türetilmesi için genel giriş bölümü incelenmelidir), daha sonra güvenli maruz kalma seviyelerini belirlemek için güvenlik değerlendirmesinde kullanılan Türetilmiş Etki Gözlemlenmeyen Seviyenin (DNEL) türetilmesine olanak tanımak üzere oluşturulmalıdır ([BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8).

Tümör oluşumunun etki şekli eşiksiz olarak tanımlanırsa, T25, BMD10 veya BMDL10 gibi doz tanımlayıcıları (bu tanımlayıcıların tanımı ve türetilmesi için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Ek R.8-6 ila Bölüm R.8) oluşturulmalıdır, bunlar daha sonra asgari endişe düzeyine sahip maruz kalma seviyelerini belirlemek için güvenlik değerlendirmesinde kullanılan Türetilmiş Minimum Etki Seviyesinin (DMEL) türetilmesine izin verir (rehberlik için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.8).

Esas olarak hayvan verilerinden türetilse de, epidemiyolojik veriler ayrıca bazen bir DNEL veya DMEL türetilmesine izin veren doz tanımlayıcıları da sağlayabilir (örn. Bağlı Risk (RR) veya Odds Oranı (OR)).

Özellikle düşük tonaj seviyeli maddeler için kanserojeniteye ilişkin maddeye özel veriler normalde bulunmayacaktır. Bölüm [R.7.7.11.1](#)'de belirtildiği gibi, test dışı veriler (çapraz okuma, gruplandırma ve/veya (Q)SAR) bazen bu sonlanma noktasına karar vermek için, yani sınıflandırma için, ancak aynı zamanda temel etki şeklini oluşturmak ve kanserojen etki gücünü potansiyeli tahmin etmek için yeterli kabul edilebilir. Bu, özellikle ele alınması uzman değerlendirmesi gerektiren doz tanımlayıcı değeri ile ilgili olarak bazı ek belirsizliklere neden olabilir; bu konudaki deneyimin son derece sınırlı olduğu belirtilmektedir. Çapraz okuma ve/veya gruplandırma ve (Q)SAR kullanımına ilişkin rehberlik [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.6'da sırasıyla Bölüm R.6.2 ve R.6.1'de verilmektedir.

R.7.7.12.3 Bilgilerin yeterli olmaması

KKDİK kapsamındaki tonajla kademeli bilgi gereklilikleri ile mevcut yeterli bilgiyi karşılaştıran bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı, bilgi/veri gerekliliklerinin yerine getirilmediği sonucuna varabilir. Daha fazla bilgi toplamaya devam etmek için aşağıdaki test ve değerlendirme stratejisi benimsenebilir.

R.7.7.13 Kanserojenite için Bütünleşik Test Stratejisi

R.7.7.13.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu stratejinin amacı, gerektiği yerde; yani kanserojen özelliklere sahip maddeleri, bunlarla ilişkili temel etki şeklini ve etki gücünü belirlemek amacıyla, KKDİK kapsamında kayda tabi olan tüm maddeler için kanserojenitenin nasıl değerlendirilmesi gerektiğini açıklamaktır. Özellikle kanserojenite konusunda önceden var olan epidemiyolojik veya toksikolojik verileri bulunmayan maddeler için rehberlik sağlanmaktadır.

Strateji, standart bir hayvan kanserojenite çalışmasının veya başka herhangi bir ileri testin gerekli olup olmadığına karar vermek için mantık sağlar. Standart kanserojenite testlerinin yürütülmesi ve raporlanmasının önemli ölçüde zaman aldığı, pahalı olduğu ve çok sayıda hayvanın kullanılmasını gerektirdiği kabul edilmektedir. Sonuç olarak, KKDİK kapsamındaki maddelerin potansiyel kanserojenitesi hakkındaki kararların, mümkün olduğunca bu tür testler yapılmadan alınması tercih edilir.

Strateji, mevcut bilgilerin maddeden maddeye farklılık göstereceğini kabul eder. Bu, söz konusu madde ve/veya analogları/yapısal olarak ilgili kimyasallar için çeşitli farklı toksisite bilgilerini içerebilir. Maddenin kullanımı ve insan maruz kalma potansiyeli ile ilgili ayrıntılar da mevcut olacaktır. Tüm bunların daha fazla veri toplama ihtiyacı üzerinde etkisi olacaktır. Kanserojenite testi için öneriler, insan sağlığına yönelik potansiyel risk ile ilgili olarak ve fiili veya amaçlanan üretim ve/veya kullanım modeli dikkate alınarak yapılmalıdır.

KKDİK yalnızca Ek 10 tonaj seviyesindeki maddeler için bir kanserojenite testini belirtir (≥ 1000 ton/yıl; bkz. Bölüm [R.7.7.9](#)). Bununla birlikte, KKDİK ayrıca tüm tonaj seviyelerindeki kanserojen maddelerin, mevcut tüm ilgili kaynaklardan gelen bilgiler dikkate alınarak yüksek önem arz eden maddeler olarak tanımlanmasını gerektirir (bkz. Bölüm [R.7.7.10](#)).

1000 ton/yıl altındaki tonaj seviyelerinde asıl endişe genotoksik olan kimyasallardır. Kimyasallar, diğer toksisite türlerine ikincil olarak kansere neden olabilir, ancak insan sağlığının altta yatan toksisiteye (örn. tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından belirlendiği üzere) karşı korunması, bu toksisiteye ikincil olan kansere karşı da koruma sağlayacaktır. Bununla birlikte, bu genotoksik olmayan kanserojenlerin bazılarının, başka herhangi bir özellik için sınıflandırılmadıklarında ve (sınırlı) tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında bu şekilde tanımlanmadıklarında tanımlanamayacakları kaydedilmektedir; bu aynı zamanda insan maruz kalmasıyla ilişkili riskleri de ilgilendirir.

Son olarak, strateji kanserojen sürecin karmaşık çok aşamalı bir süreç olduğunu kabul etmektedir. Kimyasal olarak indüklenen kanser, farklı sayıda yollar veya etki şekilleri ile indüklenebilir ve bu, kanserojenite değerlendirmesine yönelik çeşitli farklı yaklaşımlara izin verir.

Genotoksik kanserojen olarak etki etme potansiyeline sahip maddeler, Bölüm [R.7.7.1](#)'de açıklandığı gibi *in vitro* ve *in vivo* mutajenite testleri ile tanımlanabilir. Genotoksik olmayan etki şekilleriyle hareket eden kanserojenlerin belirlenmesi daha zordur, çünkü çok sayıda ilgili potansiyel etki şekli için karşılaştırılabilir, iyi doğrulanmış, kısa süreli testler genellikle mevcut değildir ve mevcut testler KKDİK standart bilgi gerekliliklerinin bir parçası olarak gerekli değildir.

Stratejinin akış şeması [Şekil R.7.7-2](#)'de sunulmuştur.

R.7.7.13.2 Ön hususlar

Başlangıç noktası olarak, mutajenite ile ilgili olarak toplanan bilgiler olacaktır. Varsa, bir literatür taramasından elde edilen test ve test dışı veriler ve mümkünse, uygulanabilir bir kimyasal kategori üyelerinden veya (Q)SAR analizinden alınan veriler dikkate alınmalıdır.

Mutajenik aktiviteye ilişkin herhangi bir endişe bulunmayan ve kanserojenite için endişe verici başka toksikolojik göstergeler olmayan maddeler için (yani maddenin kendisi veya yapısal olarak ilgili maddeler için), kanserojen potansiyelin daha fazla değerlendirilmesine gerek yoktur. Bu, Ek 10 tonaj seviyesindeki maddeler için daha düşük tonaj seviyelerindekilere eşit olarak geçerlidir.

Bununla birlikte, genotoksik olmayan maddeler için endişe verici toksikolojik göstergeler mevcutsa (örneğin, maddenin kendisinin ve/veya yakından ilgili maddelerin tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında hiperplastik veya pre-neoplastik lezyonlar), bunlar duruma göre daha ayrıntılı araştırılmalıdır. Daha ileri testlere ilişkin herhangi bir karar, kanserojenite göstergelerinin türüne ve gücüne, potansiyel etki mekanizmasına ve bunların insanlarla ilgisine ve insan maruz kalmasının türüne ve düzeyine bağlıdır (bkz. Bölüm [R.7.7.10.2](#)).

Maddenin potansiyel genotoksisitesiyle ilgili bir sonuca varılamazsa, genel olarak, kanserojen potansiyelin ne zaman ve nasıl daha fazla araştırılması gerektiği duruma göre belirlenecektir. Yine, bu kanserojenite göstergelerinin türüne ve gücüne, potansiyel etki mekanizmasına/mekanizmalarına ve insan maruz kalmasının türüne ve seviyesine bağlı olacaktır.

En azından daha yüksek tonaj seviyelerindeki maddeler için, subkronik ve/veya kronik çalışmalar, olası kanserojen etkiler hakkında ek önemli bilgiler sağlayabilir. Örneğin, doz-cevap özellikleri dahil, peroksizomal proliferasyonun veya hiperplastik veya pre-neoplastik cevapların göstergeleri olabilir. Bunlar, kanserojenite göstergelerinin tipine ve gücüne, potansiyel etki mekanizmasına ve insanlarla ilgisine ve insan maruz kalmasının türüne ve düzeyine dayalı olarak, halihazırda belirtildiği gibi durum bazında daha ayrıntılı araştırılmalıdır.

Bazen başka testlerin yapılmasını önermek uygun olabilir (örn. mevcut test dışı verilerle çapraz okuma seçeneğini test etmek için). Bunlar, *in vitro* hücre dönüşümü veya hücre çoğalması için olanlar gibi kısa süreli testleri veya genetik olarak tasarlanmış (transgenik) veya neonatal modeller gibi orta süreli testleri içerebilir. Bu şekilde üretilen verilerin bu çapraz okumayı mevcut test dışı verilere desteklediği ve bununla birlikte madde için kanserojen etki gücünün çapraz okumadan türetilmiş bir tahminine ve ayrıca deneyimlenen maruz kalma seviyeleri ile ilişkili risklerin büyüklüğüne yeterli güven sağlaması da mümkündür. Üretilen veriler çapraz okumanın dayanağını zayıflatabilir veya hatta çürütebilir. Bu konuda bugüne kadarki deneyimin çok sınırlı olduğu belirtilmektedir (Bölüm [R.7.7.11.1](#)'de belirtildiği gibi). Çapraz okuma ve/veya gruplandırma ile ilgili rehber, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.6'da Bölüm R.6.2'de verilmektedir.

Doğrulanmış test prosedürleri henüz mevcut olmadığından ve OECD test rehberi programında yayınlanmadığından, bu diğer testlerin herhangi birinin uygulanması ve uygunluğuna ilişkin uygun uzman tavsiyesinin aranması önemlidir.

Kanserojenite endişesi yalnızca pozitif genotoksisite verilerine dayalı olan maddeler, ilk adımda, genotoksisite zararlılığının tanımlanması için özetlenen yaklaşıma göre değerlendirilecektir (bkz. Bölüm [R.7.7.5](#)).

Resmi olarak, kategori 1 veya 2 mutajen olarak sınıflandırılan bir madde için, normalde bir kanserojenite çalışması gerekli olmayacaktır (bkz. Bölüm [R.7.7.9](#)); yani genotoksik bir kanserojen olarak kabul edilecektir.

Yaygın insan maruz kalmasıyla ilişkili potansiyel kanser risklerinin büyüklüğünün bir değerlendirmesine izin vermek için, mevcut test dışı verilerin (çapraz okuma, gruplandırma, (Q)SAR) risklerin değerlendirilebileceği şekilde bir maddenin kanserojenik etki gücünün (yani çapraz okuma ile) yeterince yararlı bir tahminini sağlaması iyi olabilir. Çapraz okuma ve/veya gruplandırma ve (Q)SAR kullanımına ilişkin rehberlik sırasıyla Bölüm R.6.2 ve R.6.1'de sağlanmaktadır.

Böyle bir yaklaşımın mümkün olmaması durumunda, kabul edilebilir maruz kalma koşullarının bir tahmini, alternatif olarak hayvan toksisite çalışmalarından elde edilen mevcut veriler kullanılarak; yani, sub-kronik çalışmalarda minimum toksik dozu belirleyerek (eğer varsa, doz tanımlayıcısı için vekil değer olarak) ve büyük bir değerlendirme faktörü uygulayarak elde edilebilir; daha fazla rehberlik için Gold ve ark. (2003) çalışması incelenmelidir. Burada kesinlikle uzman değerlendirmesine ihtiyaç duyulduğu vurgulanmaktadır.

Çok nadir durumlarda, mutajenite için kategori 1 veya 2 içerisinde sınıflandırılmış maddeler için hayvanlarda kanserojenite çalışması yapma üzere bir vaka oluşturulabilir. Böyle bir vaka, çalışmanın neden kritik derecede önemli olduğunu (örneğin insan maruz kalmasıyla ilişkili kanserojen riskin netleştirilmesi bağlamında) açıklamalıdır.

Kategori 3 mutajenler olarak sınıflandırılan ve kanserojenite çalışması olmayan maddeler için, ilk önce mutajenite için kategori 2'de sınıflandırmanın mümkün olup olmadığının bir değerlendirmesi yapılmalıdır. Böyle bir sınıflandırma yapılırsa, kanserojenite açısından yukarıda açıklanan yaklaşım izlenebilir. Bazen kategori 2 mutajen olarak sınıflandırmanın uygun olmadığı tespit edilebilir. Bu tür durumlarda, maddenin kanserojen potansiyele sahip olduğu otomatik olarak varsayılmamalıdır. Bununla birlikte, aksini gösteren açık bir kanıt olmadıkça, bu maddelerin genotoksik kanserojen olarak kabul edilmesi beklenmektedir.

Önceki paragrafın da işaret ettiği gibi, *in vivo* mutajenik potansiyel her zaman kanserojen potansiyelin güvenilir bir göstergesi değildir. Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, pre-neoplastik değişikliklerin (örn. hiperplazi, kanser öncesi lezyonlar) meydana geldiğini gösterirse, kanserojenik aktivitenin ifade edilme olasılığı artar. Çapraz okuma ve (Q)SAR gibi test dışı veriler de bu değerlendirmeye katkıda bulunabilir.

KKDİK Ek 10 tonaj seviyesindeki maddeler için, standart bir hayvan testine duyulan ihtiyaç veya bu testten feragat, madde ve/veya diğer ilgili maddeler hakkındaki mevcut tüm toksikolojik ve hijyen bilgileri dikkate alınarak açıkça açıklanmalıdır. Örneğin, maddenin yalnızca kapalı bir sistemde kullanıldığı ve insan maruz kalmasının ihmal edilebilir olduğu gösterilebilirse, kanserojenite için başka bir test yapılamamasını önermek mümkündür.

Bir kanserojenite biyoanalizinin gerekli olduğu durumlarda, çalışma tasarımının ve test protokolünün test önerisini sunmadan önce iyi düşünülmesi önerilir (örneğin OECD Test Rehberi 453).

Mevcut tüm verilere dayalı olarak, kanserojenite testinde kullanılacak tür ve suş seçimi, maruz kalma yolu ve doz seviyesi seçimine özel önem verilmelidir. Ayrıca, bir kanserojenite testi yapılacaksa, kronik toksisite araştırmasının, mümkün olduğunda, çalışma protokolünün bir parçasını oluşturması önerilir.

Son olarak, ikinci tür olarak fare analizinin sınırlı değeri bunda dikkate alınmalıdır (Doe ve ark., 2006).

Aşağıda ana hatları verilen yaklaşımlar, bir maddenin insanlar için potansiyel kanserojen riskinin değerlendirilmesinde ve kanserojenite testinin gerekip gerekmediğine ve gerekiyorsa ne zaman gerektiğine karar vermeye yardımcı olmak için kullanılabilir.

R.7.7.13.3 Kanserojenite için test stratejisi

Diğer sonlanma noktaları için, aşağıdaki üç adım KKDİK Ek 7 ila 10'da belirtilen her bir tonaj seviyesindeki maddeler için kanserojenitenin (yani zararlılık, altta yatan etki şekli ve etki gücü) değerlendirilmesi için geçerlidir.

- i. Çapraz okuma/uygun kimyasal kategori ve uygun tahmin modellerinden mevcut tüm test ve test dışı veriler toplanır ve değerlendirilir. Kanserojenite ile ilgili *Kanıt Ağırlığı* incelenir.
- ii. Standart bilgi gerekliliklerinin yerine getirilip getirilmediği dikkate alınır.
- iii. Ek 7 ve 8'deki bilgi gerekliliklerinin karşılandığından emin olunur; Ek 9 ve 10'a uygun tekliflerde bulunulur.

Farklı tonaj seviyelerinin her birinde izlenecek prosedürler hakkında daha fazla ayrıntı aşağıda açıklanmıştır.

Ek 7, 8 ve 9'daki Maddeler

Ek 7, 8 ve 9 tonaj seviyelerinde bulunan verilerden kanserojenitenin kesin bir değerlendirmesi genellikle mümkün değildir. Bununla birlikte, tüm maddeler için, çapraz okuma veya kimyasal gruplandırma gibi tahmin tekniklerinden gelen bilgilerle birlikte halihazırda mevcut olan ilgili test verileri, bu önemli zararlılık sonlanma noktası hakkında bir gerekçe oluşturmak için kullanılmalıdır.

Bu sonlanma noktası ile ilgili olarak Ek 7, 8 ve 9 tonaj seviyelerinde sağlanacak minimum bilgi, mutajenite sonlanma noktası için gerekli olana eşdeğerdir (bkz. Bölüm [R.7.7.2](#)): *in vitro* mutajenite çalışmalarından elde edilen pozitif sonuçlar olası kanserojenlik için bir uyarı sağlar ve *in vitro* ve/veya *in vivo* mutajenite testlerle daha ileri testler yoluyla onaylanması gerekir. Bu nedenle, bu, bir maddenin kanserojen olarak sınıflandırılmasına yol açmaz, ancak bu kanıt risk değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır: *in vivo* mutajen olduğu gösterilen maddelerin potansiyel olarak kanserojen olduğu varsayılmalıdır.

Ayrıca, tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarının ve/veya üreme/gelişimsel toksisite testlerinin sonuçları olası bir kanserojen potansiyel hakkında bilgi verici olabilir: bu çalışmalarda hiperplazi veya diğer pre-neoplastik etkiler gözlemlenebilir. Bu gözlemler ayrıca kanserojen etkinin altında yatan potansiyel etki şekilleri hakkında bilgi verici olabilir.

Maddeye özgü kanserojenite verilerinin yokluğunda kanserojenite sınıflandırması için kriterler karşılanamayabilirse de, olası kanserojeniteye ilişkin mevcut bilgilerden elde edilen kanıtlar, bu sonlanma noktası için risk değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır: testi gerçekleştirilmeden insan maruz kalmasıyla ilişkili potansiyel kanser risklerinin büyüklüğünün değerlendirilmesine izin veren yollar Bölüm [R.7.7.13.2](#)'de belirtilmiştir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.8'de DMEL ve DNEL değerlerinin türetilmesine ilişkin Bölüm).

1000 t/y altındaki tonaj seviyelerinde asıl endişenin genotoksik olan kimyasallar olduğuna dikkat etmek önemlidir. Yukarıda bahsedilen tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, diğer toksisite türlerine ikincil olan kanserleri gösterebilir. İnsan sağlığının altta yatan toksisiteye karşı korunması, toksisiteye ikincil olan kansere karşı da koruma sağlayacaktır. Bununla birlikte, bu genotoksik olmayan kanserojenlerin bazılarının, başka herhangi bir özellik için sınıflandırılmadıklarında ve (sınırlı) tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında bu şekilde tanımlanmadıklarında tanımlanamayacakları belirtilmektedir; bu aynı zamanda insan maruz kalmasıyla ilişkili riskleri de ilgilendirir.

Ek 10'daki maddeler

Bu tonajdaki tüm maddeler kanserojenite açısından değerlendirilmelidir.

Tüm toksisite çalışmalarından elde edilen tüm ilgili veriler, gerekirse alternatif yöntemler (yani kimyasal gruplandırma ve çapraz okuma gibi tahmin teknikleri ve (Q)SAR kullanımı) de dahil olmak üzere maddenin kanserojenitesi hakkında yeterince güvenilir bir değerlendirmenin mümkün olup olmadığını görmek için değerlendirilmelidir.

Bazı durumlarda, bir kanserojenite çalışmasına olan ihtiyacı ortadan kaldırmak için bu tahmin yaklaşımlarının *in vitro* veya alternatif kısa süreli *in vivo* araştırmalarla desteklenmesi önerilebilir. Bu genellikle bir maddenin kanserojen olabileceğine dair *Kanıt Ağırlığına* ekleme bağlamında olmalıdır.

Resmi olarak, madde kategori 1 veya 2 mutajen (GHS kategori 1) olarak sınıflandırılırsa, normalde bir kanserojenite çalışması gerekli olmayacaktır. Kategori 3 mutajen (GHS kategori 2) olarak sınıflandırılan bir madde için, önce daha yüksek bir sınıflandırma seviyesi için bir vaka oluşturulup oluşturulmayacağı belirlenmelidir.

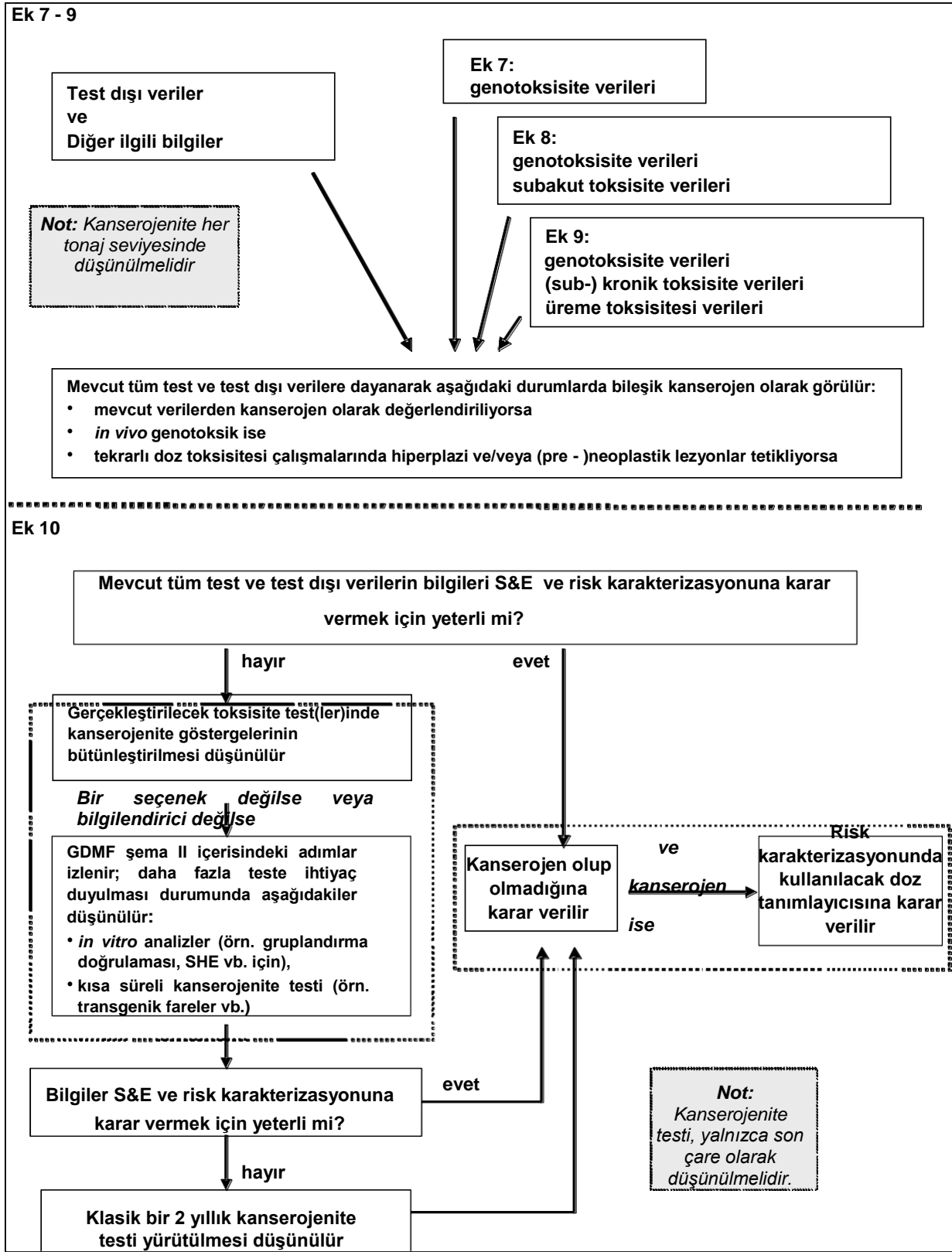
Sonrasında, risk değerlendirmesi için, aksi yönde bilimsel kanıt olmadıkça tüm maddeler genotoksik kanserojen olarak kabul edilir. Test gerçekleştirilmeden insan maruz kalmasıyla ilişkili potansiyel kanser risklerinin büyüklüğünün değerlendirilmesine izin veren yollar Bölüm [R.7.7.13.2](#)'de belirtilmiştir. (DMEL ve DNEL değerlerinin türetilmesi için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.8).

Zaman zaman, bir kanserojenite çalışması gerekçelendirilebilir. Maddenin kanserojen olabileceğine dair açık şüpheler varsa ve mevcut bilgiler (test ve test dışı verilerden) hem zararlılık hem de etki gücü açısından bu konuda kesin değilse, o zaman bir kanserojenite çalışmasına olan ihtiyaç araştırılmalıdır. Özellikle, yaygın dağılımlı kullanıma sahip maddeler için veya sık veya uzun süreli insan maruz kalmasına neden olan maddeler için böyle bir çalışma gerekli olabilir. Ancak, yalnızca son çare olarak düşünülmelidir.

Bununla birlikte, başka herhangi bir özellik için sınıflandırılmadığında ve (sınırlı) tekrarlı doz toksisitesi çalışmalarında potansiyel kanserojen olarak tanımlanmadığında bazı genotoksik olmayan kanserojenlerin tanımlanamayacağına dikkat edilmelidir; bu aynı zamanda insan maruz kalmasıyla ilişkili riskleri de ilgilendirir.

Herhangi bir durumda daha fazla teste ihtiyaç duyulursa, kayıt ettiren iyi düşünülmüş bir test teklifi (bkz. Bölüm [R.7.7.6.2](#)) ve bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için bir zaman çizelgesi hazırlamalı ve sunmalıdır.

Şekil R.7.7-2 Kanserojenite için bütünlük test stratejisi



R.7.7.14 Kanserojenite için referanslar

Albertini R, Bird M, Doerr N, Needham L, Robison S, Sheldon L ve Zenick H (2006) The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessments (Maruz kalma ve insan sağlığı risk değerlendirmelerinde biyo-izleme verilerinin kullanımı). *Environ Health Perspect* 114:1755-62.

Ames BN ve Gold LS (1990) Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogens (Kimyasal karsinogenez: çok fazla kemirgen kanserojeni). *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7772-6.

Ashby J, Paton D (1993) The influence of chemical structure on the extent and sites of carcinogenesis for 522 rodent carcinogens and 55 different human carcinogen exposures (522 kemirgen kanserojeni ve 55 farklı insan kanserojen maruz kalması için kimyasal yapının karsinogenezin kapsamı ve bölgeleri üzerindeki etkisi). *Mutation Res* 286:3-74.

Ashby J ve Tennant RW (1988) Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the U.S. NCI/NTP (ABD NCI/NTP tarafından kemirgenlerde test edilen 222 kimyasal arasında genotoksik karsinogenezin göstergeleri olarak kimyasal yapı, Salmonella mutajenitesi ve kanserojenite derecesi). *Mutat Res* 204:17-115.

Boffetta P, van der Hel O, Norppa H, Fabianova E, Fucic A, Gundy S, Lazutka J, Cebulska-Wasilewska A, Puskaierova D, Znaor A, Kelecsenyi Z, Kurtinaitis J, Forni A, Vermeulen R ve Bonassie S (2007) Chromosomal aberrations and cancer risk: Results of a cohort study from Central Europe (Kromozomal bozuklukları ve kanser riski: Orta Avrupa'dan bir kohort çalışmasının sonuçları). *Am J Epidemiol* 165:36-43.

Boobis AR, Cophen SM, Dellarco V, McGregor D, Meek ME, Vickers C, Willcocks D ve Farland W (2006) IPCS framework for analysing the relevance of a cancer mode of action for humans (İnsanlar için bir kanser etki şekli ilgililiğini analiz etmek için IPCS çerçevesi). *Crit Rev Toxicol* 36:781-92.

Chen HJ ve Chiu WL (2005) Association between cigarette smoking and urinary excretion of 1,N²-ethenoguanine measured by isotope dilution liquid chromatography-electrospray ionization/tandem mass spectrometry (İzotop seyreltme sıvı kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon/tandem kütle spektrometresi ile ölçülen 1, N²-etenoguaninin idrarla atılımı ve sigara kullanımı arasındaki ilişki). *Chem Res Toxicol* 18:1593-9.

Cohen SM ve Ellwein LB (1991) Genetic errors, cell proliferation and carcinogenesis (Genetik hatalar, hücre çoğalması ve karsinogenez). *Cancer Res* 51:6493-505.

Cohen SM, Purtilo DT ve Ellwein LB (1991) Pivotal role of increased cell proliferation in human carcinogenesis (İnsan karsinogenezinde hücre çoğalması artışının temel rolü). *Mod Pathol* 4:371-5.

Kimyasalların Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Kanserojenitesi Komitesi (2004) Kimyasal Kanserojenlerin Risk Değerlendirmesine Yönelik Strateji Rehberi.

Cronin MTD, Jaworska JS, Walker JD, Comber MHI, Watts CD ve Worth AP (2003) Use of quantitative structure-activity relationships in international decision-making frameworks to predict health effects of chemical substances (Kimyasal maddelerin sağlık üzerindeki etkilerini tahmin etmek için uluslararası karar verme çerçevelerinde nicel yapı-aktivite ilişkilerinin kullanımı). *Environ Health Perspect* 22:1391-1401.

Doe JE, Lewis RW ve Botham PA (2006) Comments on a scientific and animal welfare assessment of the OECD health effects test guidelines for the safety testing of chemicals under the European Union REACH system (Avrupa Birliği REACH sistemi kapsamında kimyasalların güvenlik testleri için OECD sağlık etkileri testi rehberlerinin bilimsel ve hayvan refahı değerlendirme üzerine yorumlar). *Altern Lab Anim* 34:111-4.

ECETOC (2003) QSAR: Kimyasal yönetim uygulamaları açısından insan sağlığı ve çevre sonlanma noktaları için piyasadaki mevcut yazılımın değerlendirilmesi. ECETOC Teknik Rapor No. 89.

EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) (2004) Kumarin ile İlgili Komisyonun Talebi üzerine Gıda Katkı Maddeleri, Tatlandırıcı, İşlem Yardımcıları ve Gıda ile Temas Eden Malzemeler (AFC) üzerine Bilimsel Panel Görüşü. Soru No. EFSA-Q-2003-118. Kabul tarihi: 6 Ekim 2004. The EFSA Journal 104, 1-36. Erişim adresi: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/104.htm>.

Enzmann H, Bomhard E, Iatropoulos M, Ahr HJ, Schleuter G ve Williams GM (1998) Short- and intermediate-term carcinogenicity testing – a review (Kısa ve orta süreli kanserojen test - bir inceleme). Food Chem Toxicol 36:979-95.

Elcombe CR, Odum J, Foster JR, Stone S, Hasmall S, Soames AR, Kimber I ve Ashby J (2002) Prediction of rodent non-genotoxic carcinogenesis: evaluation of biochemical and tissue changes in rodents following exposure to nine non-genotoxic NTP carcinogens (Kemirgenlerin genotoksik olmayan karsinojenezinin tahmini: dokuz genotoksik olmayan NTP kanserojenine maruz kaldıktan sonra kemirgenlerdeki biyokimyasal ve doku değişikliklerinin değerlendirilmesi). Env Health Perspect 110:363-70.

Felter SP, Vassallo JD, Carlton BD ve Daston GP (2006) A safety assessment of coumarin taking into account species-specificity of toxicokinetics (Toksikokinetiğin türe özgüllüğünü dikkate alan bir kumarin güvenlik değerlendirmesi). Food Chem Toxicol 44:462-75.

Franke R, Gruska A, Giuliani A ve Benigni R (2001) Prediction of rodent carcinogenicity of aromatic amines: a quantitative structure-activity relationships model (Aromatik aminlerin kemirgen kanserojenliğinin tahmini: bir nicel yapı-aktivite ilişkileri modeli). Carcinogenesis 22:1561-71.

Gold LS, Gaylor DW ve Slone TH (2003) Comparison of cancer risk estimates based on a variety of risk assessment methodologies (Çeşitli risk değerlendirme metodolojilerine dayalı olarak kanser riski tahminlerinin karşılaştırılması). Regul Toxicol Pharmacol 37:45-53.

Haseman JK (1983) A re-examination of false-positive rates for carcinogenesis studies (Karsinojenez çalışmaları için yanlış pozitif oranların yeniden incelenmesi). Fundam Appl Toxicol 3:334-9.

Hill AB (1965) The environment and disease: Association or causation? (Çevre ve hastalık: İlişki mi yoksa nedensellik mi?) Proc R Soc Med 58:295-300.

IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) (2006). İnsanlara Yönelik Kanserojen Risklerin Değerlendirilmesine İlişkin IARC Monografıları. Önsöz. Lyon. Erişim adresi: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf>

IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) (1999). Tiroid, Böbrek ve İdrar Kesesi Karsinojenezinde Tür Farklılıkları. Capen CC, Dybing E, Rice JM ve Wilbourn JD (Ed.). IARC Scientific Publications 147, Lyon.

IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) (2006). Monograf 87: İnorganik ve Organik Kurşun Bileşikleri. IARC, Lyon.

ILSI/HESI (2001) Alternatives to carcinogenicity testing project (Kanserojenite testi projesine alternatifler). Toxicol Pathol 29(Ek):1- 351.

ILSI RSI (2003) Kanserojen etki şekilleri hakkındaki bilgilerin insanlarla ilgililik analizi için bir çerçeve). Meek ME, Bucher JR, Cohen SM, Dellarco V, Hill RN, Lehman-McKeeman LD, Longfellow DG, Pastoor T, Seed J ve Patton DE. Crit Rev Toxicol 33:591-653.

Çevre ve Sağlık Enstitüsü (2002) Assessment of Chemical Carcinogens: Background to general principles of a weight of evidence approach (Kimyasal Kanserojenlerin Değerlendirilmesi: Kanıt ağırlığı yaklaşımının genel ilkelerinin temeli), ISBN 1899110 37 2.

Jacobson-Kram D, Sistare FD, Jacobs AC (2004) Use of transgenic mice in carcinogenicity hazard assessment (Kanserojenite zararlılık değerlendirmesinde transgenik farelerin kullanımı). *Toxicol Pathol* 32(Suppl 1):49-52.

Matthews EJ, Contrera JF (1998) A New Highly Specific Method for Predicting the Carcinogenic Potential of Pharmaceuticals in Rodents Using Enhanced MCASE QSAR-ES Software (Gelişmiş MCASE QSAR-ES Yazılımını Kullanarak Kemirgenlerde Farmasötik Ürünlerin Kanserojen Potansiyelini Tahmin Etmek İçin Yeni Bir Özel Yöntem). *Regul Toxicol Pharmacol* 28:242-64.

Munro IC, Ford RA, Kennepohl E ve Sprenger JG (1996) Thresholds of toxicological concern based on structure-activity relationships (Yapı-aktivite ilişkilerine dayalı toksikolojik endişe eşikleri). *Drug Metab Rev* 28:209-17.

OECD (2002) Kronik Toksikite ve Kanserojenite Çalışmalarının Analizi ve Değerlendirilmesi için Rehber Notları, OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 35 ve Pestisitler Serisi No. 14.

OECD (2006) Kimyasal kanserojenlerin saptanması için hücre dönüşüm deneyleri üzerine taslak OECD inceleme belgesi. OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 31, Paris (Fransa).

Pritchard JB, Fransız JE, Davis BJ, Haseman JK (2003) The role of transgenic mouse models in carcinogen identification (Transgenik fare modellerinin kanserojen tanımlamadaki rolü). *Environ Health Perspect* 111:444-54.

Sonich-Mullin C, Fielder R, Wiltse J, Baetcke K, Dempsey J, Fenner-Crisp P, Grant D, Hartley M, Knaap A, Kroese D, Mangelsdorf I, Meek E, Rice JM ve Younes M (2001) IPCS conceptual framework for evaluating a mode of action for chemical carcinogenesis (Kimyasal karsinogenez için bir etki şeklini değerlendirmek amacıyla IPCS kavramsal çerçevesi). *Reg Toxicol Pharmacol* 34:146-52.

Tennant RW, Stasiewicz S, Mennear J, French JE ve Spalding JW (1999) Genetically altered mouse models for identifying carcinogens (Kanserojenleri tanımlamak için genetiği değiştirilmiş fare modelleri). *Kaynak: McGregor DB, Rice JM, Venitt S (Ed.). Kanserojenlere yönelik kısa ve orta süreli testlerin ve kanserojen zararlılık değerlendirmesinde genetik etkilere ilişkin verilerin kullanılması*. Lyon, Fransa: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı.

ABD FDA (1986) Gıda üreten hayvanlarda kullanılan bileşiklerin güvenliğini değerlendirmek için genel ilkeler. Ek 1. Kanserojen yapı rehberi. Washington: ABD Gıda ve İlaç Dairesi

